



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ÁREA ACADÉMICA DE FARMACIA



**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA  
DE ANÁLOGOS INDOLACÉTICOS EN UN MODELO DE  
DOLOR VISCERAL Y DE SU EFECTO A NIVEL  
GASTROINTESTINAL EN RATÓN**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN FARMACIA**

**PRESENTA:**

**ADRIANA TÉLLEZ TÉLLEZ**

**DIRECTOR DE TESIS: DRA. MINARDA DE LA O ARCINIEGA**

**Pachuca de Soto, Hgo., Mayo 2011**

La parte experimental de esta tesis se realizó en el área laboratorios de investigación y docencia del Bioterio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, bajo la dirección de la Dra. Minarda De la O Arciniega.

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo económico de una Beca otorgada por la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo mediante el Programa P/PIFI 2007-14-06 Consolidación del Instituto de Ciencias de la Salud (Segunda Etapa)-Ayuda Económica y Estímulo a Estudiantes que Participen en Investigación.

La evaluación biológica se realizó con el financiamiento del Proyecto Conacyt Núm. 83723 “Remoción de grupos funcionales carbamato mediante el uso de *t*-BuNH<sub>2</sub>/MeOH/ácido de Lewis y radiación de microondas” del Dr. Oscar Rodolfo Suárez Castillo, del Área Académica de Química de UAEH.

*“El Señor sana y alivia de la enfermedad con sus remedios;  
el Farmacéutico es el que los prepara;  
con eso las obras del Señor no tienen fin  
y se derrama por la tierra el bienestar.”*

*Sirácides 38, 7-8*

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios por haberme brindado el don de la vida y permitirme llegar hasta éste momento y sobretodo por que permitió conocerlos a todos Ustedes*

*A mi mami Anton, que día a día me ofrece su cariño, amor y comprensión. Gracias por que en los momentos difíciles me has llevado contigo y por enseñarme a valorar las cosas buenas de ésta vida. Te amo mami*

*A mi papiringo Adrián, que me ha brindado su apoyo a lo largo de estos años. Te quiero mucho papi. Dios siempre te bendiga donde quiera que éstes*

*A la familia Téllez Rodríguez que siempre ha estado conmigo en los buenos y malos momentos; sé que siempre estarán ahí para apoyarme. Los quiero!*

*A la Dra. Mini De la O, por todo el apoyo brindado para la elaboración de ésta tesis, por sus enseñanzas, consejos, paciencia y desvelos. Mil gracias!!*

*A los miembros del Jurado, que amablemente realizaron observaciones valiosas para la conclusión de éste trabajo*

*Al personal del Bioterio de ICSa por el apoyo brindado para la realización de la parte experimental, en especial al Dr. Héctor Hernández*

*Al personal del Laboratorio de Dolor y Analgesia del CINVESTAV Sede Sur, por su haber compartido sus conocimientos*

*A mi familia, amigos y maestros que han sido cómplices en mi vida*

*Adriana Téllez Téllez*

*Mayo, 2011*

---

**ÍNDICE GENERAL**

<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	i
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	iv
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	v
<b>ABREVIATURAS</b> .....	vi
<b>RESUMEN</b> .....	vii
<b>I INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II ANTECEDENTES</b> .....	3
2.1 Definición y clasificación del dolor.....	4
2.2 Mecanismo fisiopatológico del dolor.....	8
2.2.1 Mediadores químicos en la activación de los nociceptores.....	12
2.3 Farmacoterapia del dolor.....	14
2.3.1 Analgésicos opioides.....	17
2.3.2 Antiinflamatorios no esteroideos (AINE's).....	20
2.3.3 Fármacos coadyuvantes en el tratamiento del dolor.....	29
2.4 Antecedentes de derivados indolacéticos.....	30
2.5 Modelos animales de dolor.....	34
<b>III JUSTIFICACIÓN</b> .....	36

---

<b>IV</b>	<b>HIPÓTESIS</b> .....	38
<b>V</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	39
	5.1 Objetivo General.....	39
	5.2 Objetivos Específicos.....	39
<b>VI</b>	<b>METODOLOGÍA</b> .....	40
	6.1 Tipo de estudio.....	40
	6.2 Animales de experimentación.....	40
	6.3 Análogos indolacéticos, fármaco de referencia y otras sustancias.....	41
	6.4 Modelo experimental de dolor visceral.....	41
	6.5 Diseño farmacológico.....	42
	Estandarización del modelo de dolor visceral.....	42
	Evaluación del efecto antinociceptivo.....	42
	Determinación de la Dosis Efectiva 50 (DE50) y potencia relativa de los compuestos evaluados.....	
	Evaluación de daño gástrico.....	43
	6.6 Análisis estadístico.....	45
<b>VII</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	46
	7.1 Estandarización del modelo de dolor visceral.....	46
	7.2 Efecto antinociceptivo de indometacina.....	46
	7.3 Efecto antinociceptivo de 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (CIM).....	48
	7.4 Efecto antinociceptivo de 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (6BrCIM).....	49
	7.5 Dosis Efectiva 50 y potencia relativa de los análogos indolacético CIM y 6BrCIM.....	51

---

7.6	Efecto de los análogos indolacético CIM y 6BrCIM sobre la mucosa gástrica.....	52
<b>VIII</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>55</b>
8.1	Modelo de dolor visceral inducido por la administración intraperitoneal de ácido acético.....	55
8.2	Efecto antinociceptivo de indometacina.....	57
8.3	Efecto antinociceptivo de 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (CIM) y 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (6BrCIM).....	58
8.4	Dosis Efectiva 50 y potencia relativa de CIM y 6BrCIM.....	59
8.5	Efecto del daño gástrico de 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (CIM) y 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (6BrCIM).....	61
<b>IX</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>63</b>
<b>X</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>64</b>
<b>XI</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>65</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Percepción del dolor nociceptivo.....	5
Figura 2.	Esquema y clasificación de fibras nerviosas.....	9
Figura 3.	Proceso fisiológico del dolor.....	12
Figura 4.	Escalera analgésica de la OMS.....	17
Figura 5.	Estructura química de algunos fármacos antiinflamatorios no esteroideos.....	21
Figura 6.	Biosíntesis de prostaglandinas, tromboxano y prostaciclina.....	25
Figura 7.	Estructuras de compuestos que guardan relación estructura-actividad con indometacina.....	33
Figura 8.	Estructuras de los análogos indolacéticos evaluados en este estudio.....	34
Figura 9.	Diseño farmacológico para determinar el efecto antinociceptivo de análogos indolacéticos.....	43
Figura 10.	Curso temporal de indometacina.....	47
Figura 11.	Curva dosis-respuesta de Indometacina.....	47
Figura 12.	Curso temporal del efecto antinociceptivo de CIM.....	49
Figura 13.	Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de CIM.....	49
Figura 14.	Curso temporal del efecto antinociceptivo de 6BrCIM.....	50
Figura 15.	Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de 6BrCIM.....	50
Figura 16.	Curva dosis-respuesta de los compuestos evaluados.....	51
Figura 17.	Efecto de indometacina y de los derivados indolacéticos sobre la mucosa gástrica.....	53
Figura 18.	Efecto adverso sobre la mucosa gástrica.....	54

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Características de fibras aferentes sensoriales primarias.....	9
Tabla 2.	Mediadores químicos que activan los nociceptores.....	14
Tabla 3.	Tipos de opioides de acuerdo a la intensidad de dolor que pueden suprimir.....	18
Tabla 4.	Principales grupos de AINE's.....	22
Tabla 5.	Eficacia de los análogos indolacéticos comparados con indometacina.....	52
Tabla 6.	Área total del estómago de ratón que sufrió un daño gástrico.....	54

---

**ABREVIATURAS**

AAS	Ácido Acetilsalicílico
ABC	Área bajo la curva
AINE's	Antiinflamatorios no esteroideos
AMPA	ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico
AMPc	Adenosin monofostato cíclico
ANOVA	Análisis de Varianza
6BrCIM	6-bromo-1-carbometoxi -3-indolilmalonato de metilo
CDR	Curva Dosis-Respuesta
CGRP	Calcitonine Gene-Related Peptide (Péptido relacionado con el gen de la calcitonina)
CIM	1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo
COX-1	Ciclooxigenasa 1
COX-2	Ciclooxigenasa 2
DE <sub>50</sub>	Dosis Efectiva 50
DL <sub>50</sub>	Dosis Letal 50
DMSO	Dimetilsulfóxido
EE	Error Estándar
FDA	Food and Drug Administration
GABA	Ácido $\gamma$ amino butírico
IASP	International Association for the Study of Pain
IL	Interleucina
IND-10	Indometacina 10 mg/kg
NaHCO <sub>3</sub>	Bicarbonato de Sodio
NGF	Factor de Crecimiento Nervioso
NMDA	<i>N-metil-D</i> -aspartato
PKA	Proteína quinasa A
TXA <sub>2</sub>	Tromboxano A <sub>2</sub>
u.a.	Unidades de área
Veh	Vehículo
Veh-BS	Vehículo de Bicarbonato de Sodio
Veh-DMSO	Vehículo de Dimetilsulfóxido
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico

## RESUMEN

**Introducción:** El dolor es el síntoma más frecuente de consulta médica que afecta a millones de personas cada año. Entre los analgésicos más comúnmente empleados están los antiinflamatorios no esteroideos (AINE's). La estructura química de los AINE's es muy variada, dentro de éstos compuestos se encuentran los que contienen un esqueleto de indol como la indometacina, que pertenece al grupo de indolacéticos. Evidencias clínicas demuestran que la mayoría de los AINE's utilizados para el alivido del dolor presentan una serie de efectos adversos sobre el tracto gastrointestinal, tales como úlceras y hemorragias, por lo cual, es interesante analizar nuevas sustancias para el tratamiento del dolor. **Objetivo:** Evaluar la actividad antinociceptiva de dos análogos indolacéticos: 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (CIM) y 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (6BrCIM), en el modelo de dolor visceral "Writhing" y el efecto que producen a nivel gastrointestinal en ratón. **Materiales y Métodos:** Se emplearon ratones CD1 macho con un peso entre 23-50 g,  $n=6$ . Se emplearon dosis de 56, 100, 178 y 316 mg/kg de CIM y dosis de 32, 56, 100 y 178 mg/kg de 6BrCIM, así como indometacina (10 mg/kg) como fármaco de referencia. Para evaluar la actividad antinociceptiva, los dos análogos indolacéticos fueron administrados por vía intragástrica 30 minutos antes de administrar ácido acético al 0.6 % en la cavidad peritoneal del ratón, posteriormente se contó el número de contracciones abdominales, cada 5 minutos, durante un curso temporal de 30 minutos, empleando como vehículo DMSO al 20 %. Para evaluar el efecto a nivel gastrointestinal en ratón, se realizaron dos administraciones por vía intragástrica de la dosis máxima de cada compuesto, cada 2.5 h en el mismo día (316 mg/kg de CIM y 178 mg/kg de 6BrCIM). Posteriormente se observaron los estómagos de los ratones y se determinó el porcentaje de daño gástrico, comparado con el causado por indometacina. **Resultados y Conclusiones:** Ambos análogos indolacéticos CIM y 6BrCIM, disminuyen significativamente las contracciones abdominales en los ratones con dolor visceral al compararlas con los grupos control, mostrando una respuesta antinociceptiva de tipo dosis-dependiente. Indometacina es más potente que éstos compuestos, pero menos eficaz que 6BrCIM. Así mismo, estos análogos indolacéticos disminuyen de manera significativa el daño en la mucosa gástrica en comparación con indometacina, esto sugiere que pudieran ser nuevos prototipos de fármacos analgésicos eficaces y seguros, por lo que sería conveniente continuar su estudio preclínico en el área del dolor.

## I. INTRODUCCIÓN

El dolor, es el síntoma más frecuente de consulta médica que afecta a millones de personas cada año, disminuyendo significativamente sus funciones físicas y emocionales y con ello la pérdida de sus empleos, viéndose afectada su calidad de vida cuando no es tratado adecuadamente (Ashburn, 2004).

El dolor es una sensación subjetiva y de percepción muy variada, que puede clasificarse según su incidencia y duración, en agudo o crónico y en función de los mecanismos neurofisiológicos que originan el dolor, se definen cuatro tipos distintos: el fisiológico, el inflamatorio, el neuropático y disfuncional (Gomezese y González, 2001; Farquhar-Smith, 2007).

El alivio del dolor se puede lograr mediante diferentes estrategias; la más común y efectiva es la administración de analgésicos. Dependiendo del tipo de dolor, localización, intensidad, duración y origen, es como se escoge de entre una gama muy amplia, el analgésico que permita su mejor control (López, 1999). Entre los analgésicos más conocidos se encuentran los opioides, los antiinflamatorios esteroideos y antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) (Portenoy, 2000).

Los fármacos AINE's, se usan como analgésicos, como antipiréticos y encuentran su principal aplicación clínica como agentes antiinflamatorios en el tratamiento de los trastornos musculoesqueléticos. La estructura química de los AINE's es muy variada, dentro de éstos se encuentran los derivados del ácido acético, los cuáles son un conjunto de fármacos que comparten diversos sistemas cíclicos (anillos indólicos, pirrólicos, fenilos o piranoindólicos); dentro de los cuales se encuentra la indometacina, que contiene en su estructura química un anillo indolacético (Feria, 1997).

Los AINE's son los fármacos que se prescriben con mayor frecuencia en todo el mundo. Desafortunadamente, se ha reportado que la mayoría de los AINE's, presentan una serie de efectos adversos representando un gran problema de salud y se considera que representan cerca del 5 % de las admisiones hospitalarias. Algunos de éstos eventos se presentan en el tracto gastrointestinal tales como úlceras pépticas y erosiones gástricas, las cuales pueden producir complicaciones como perforaciones y hemorragias, que pueden llegar a ser graves e incluso fatales (Baptista, 2000; Al Mofl-eh y col., 2007).

Dado lo anterior, surge la necesidad de continuar realizando estudios en el área del dolor para buscar fármacos analgésicos más seguros y eficaces. En el presente trabajo se evaluó el efecto antinociceptivo de algunos derivados del grupo indolacético, como prototipos de analgésicos en un modelo de dolor de tipo visceral, así mismo, se determinó el efecto adverso que pudieran causar estos derivados indolacéticos sobre el epitelio gástrico.

## II. ANTECEDENTES

Desde su propio nacimiento, la humanidad viene luchando contra el dolor, por lo que representa una de las preocupaciones desde el principio de la historia. El hombre primitivo creía que el dolor estaba localizado en el cuerpo y que lo causaban demonios, humores malignos o espíritus de muertos. El dolor era percibido como un castigo de los dioses. Para aliviar el dolor, las civilizaciones antiguas decían oraciones para conseguir el perdón de los dioses, a la vez que empezaban a utilizar plantas medicinales (Pérez y col, 2005).

Del siglo XVIII en adelante, debido al gran avance en las ciencias paramédicas como anatomía, física y química, se pasa de un tratamiento analgésico-anestésico completamente empírico a una época científica, la cual perdura hasta nuestros días (Pérez y col. 2005).

En la segunda mitad del siglo XX, se inició el estudio del dolor desde el punto de vista científico, existiendo en la actualidad un notable incremento de los conocimientos sobre el tema, que comienza en los últimos años a proyectarse en forma de beneficios para el paciente.

En los últimos años se han producido avances prometedores tanto en el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de los síndromes clínicos dolorosos, como en el conocimiento de los factores culturales y emocionales del individuo. Todo esto unido al progreso farmacológico que han aportado nuevas sustancias y diferentes presentaciones de las ya conocidas, abre un nuevo horizonte en la lucha frente al dolor (Pérez y col. 2005).

## 2.1 Definición y Clasificación del Dolor

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (International Association for the Study of Pain, IASP) define el dolor como “una experiencia sensorial y emocional desagradable vinculada con daños reales o potenciales a los tejidos, o descrita en términos de dichos daños”. Esta definición parece algo repetitiva, pero indica de manera explícita que el dolor siempre tiene un componente subjetivo; es tanto una sensación fisiológica como una reacción emocional a dicha sensación (Kanner, 1998).

Como se sabe, el dolor es una sensación desagradable que experimentamos en la vida diaria y su percepción es causada por la estimulación de una terminación nerviosa, denominada *nociceptor*, ya sea por un estímulo químico, térmico, eléctrico o mecánico que lesiona o sensibiliza dicho nociceptor. A través de los nervios periféricos, este estímulo llega a la médula espinal, quien lo transmite hasta el cerebro; éste, mediante el tálamo y la corteza cerebral, interpreta el estímulo nervioso y es cuando se percibe y se hace consciente el dolor, como se describe en la **Figura 1** (Scholz y Woolf, 2002).

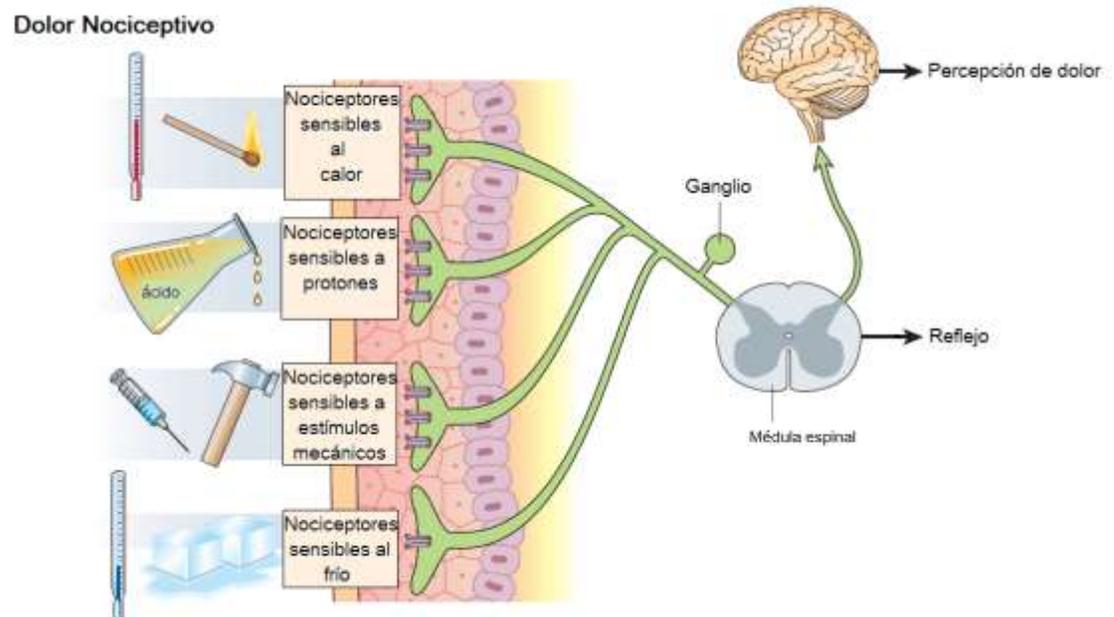


Figura 1. Percepción del dolor nociceptivo (Modificado de Scholz y Woolf, 2002).

La integridad del sistema nociceptivo es necesaria para mantener la fisiología normal, ya que proporciona al organismo la capacidad de protegerse de las anomalías que le pueden causar lesión; es decir, la función del sistema nociceptivo es detectar, localizar e identificar los procesos patológicos que lesionan los tejidos. Éste sistema posee dos componentes: la *nocicepción* o percepción del estímulo doloroso, el cuál puede dañar los tejidos y el *componente subjetivo del dolor* o respuesta frente a él (cognitiva, emotiva, vegetativa y motora). Es muy importante señalar que el dolor es una sensación, más que una reacción a dicha sensación. El dolor es un concepto más global, es un sentimiento negativo general que afecta la calidad de vida de la persona que lo padece. El dolor que experimenta cada individuo es el resultado de una interacción de múltiples variables biológicas, psicológicas, sociales y culturales (Scholz y Woolf, 2002; Armero y col., 2004).

En términos generales, la *nocicepción* se refiere a los fenómenos biológicos desencadenados por la acción de los estímulos nocivos sobre el

organismo, antes de que esa información sea consciente. Aquí se incluyen aspectos como los mencionados anteriormente: la actividad de los nociceptores, la transmisión de potenciales de acción, el funcionamiento de las diferentes sinapsis a lo largo de las vías ascendentes, etc. Debe tenerse presente que no siempre la nocicepción da lugar a la percepción de dolor. En cambio el *dolor*, como ya se mencionó, es la percepción que el sujeto experimenta, con todos sus componentes sensoriales, emocionales y discriminativos. El dolor habitualmente es el resultado de una actividad nociceptiva, pero puede haber casos de dolor sin nocicepción, es decir, sin la presencia de una lesión o de un estímulo nocivo (Costigan y col., 2009).

Existen múltiples clasificaciones del dolor pero tal vez la más utilizada es aquella basada en su evolución (agudo o crónico) y en la naturaleza de su origen (oncológico vs no oncológico). Otras formas de clasificar el dolor son de acuerdo a su etiología, mecanismos fisiopatológicos, sintomatología y función biológica. Sin embargo, las clasificaciones que tienen implicaciones de tipo diagnóstico y terapéutico quizás sean las de mayor importancia clínica. El dolor puede ser primariamente nociceptivo (somático y visceral), inflamatorio, neuropático o disfuncional; siendo el origen, quizás la característica más importante ante la necesidad de un abordaje terapéutico (Gomezese y González, 2001; Farquhar-Smith, 2007).

*Dolor Nociceptivo.* Es una sensación fisiológica vital (Scholz y Woolf, 2002), este tipo de dolor es iniciado por los nociceptores de las fibras sensitivas especializadas que inervan el tejido periférico cuando son activados por un estímulo nocivo que puede ser térmico, químico o mecánico (Julius y Basbaum, 2001). El dolor nociceptivo es dividido en somático y visceral. El *dolor somático* tiene una localización precisa, se irradia siguiendo el patrón de distribución nerviosa, suele ser agudo y autolimitado. Puede ser superficial (si se inicia en

la piel en respuesta a estímulos mecánicos, térmicos, químicos o físicos), o profundo (si se inicia en músculo esquelético, hueso, cartílagos o articulaciones) (Campos, 2006). Por otro lado, el *dolor visceral*, es producto de la estimulación de receptores de dolor que inervan estructuras viscerales tales como estómago, riñón, intestinos y otros órganos internos. Es mal localizado, se irradia difusamente hacia los dermatomas correspondientes, suele ser intermitente y se acompaña frecuentemente de otros síntomas. Se origina en órganos huecos o sólidos en respuesta a procesos de contracción, espasmo, distensión o isquemia (Al-Chaer y Traub, 2002; Foreman, 2004).

*Dolor inflamatorio:* Se asocia con daño tisular e inflamación activa por ejemplo, a través de una cirugía, trauma o enfermedad inflamatoria como artritis reumatoide. Se caracteriza por la presencia de un proceso patológico subyacente. Después del daño al tejido, las células cebadas y macrófagos son activados, se liberan varios mediadores de la inmunidad, los cuales ejercen su efecto algésico, provocando dolor al actuar directamente sobre los nociceptores o indirectamente a través de la liberación de otros mediadores como prostanoïdes (Marchand y col., 2005).

*Dolor neuropático:* Es el resultado de lesiones o alteraciones crónicas en vías nerviosas periféricas o centrales. Puede desarrollarse y persistir en ausencia de un estímulo nocivo evidente. Los síntomas pueden ser focales o más generalizados. Característicamente, el síntoma se presenta como una sensación basal dolorosa o puede ser punzante, lancinante y quemante con sensaciones anormales de percepción del dolor tales como alodinia (percepción de dolor con estímulos inocuos) e hiperalgesia (percepción de mayor intensidad de dolor ante estímulos que antes producían menos dolor) (Campbell y Meyer, 2006).

*Dolor disfuncional:* Las características clínicas de este tipo de dolor incluyen dolor espontáneo en ausencia de estímulo nocivo, hipersensibilidad manifestada a través de alodinia e hiperalgesia, pero sin pérdida de la función. Se trata de una condición en la que no hay estímulo nocivo, ni daño tisular, ni daño estructural en el sistema nervioso. No obstante, hay dolor y es ocasionado por un mal funcionamiento del sistema nervioso en relación con los mecanismos del dolor. Este tipo de dolor se observa en una variedad de patologías, como eritromelalgia, fibromialgia, cefalea por tensión, colon irritable y migraña. Los mecanismos de producción del dolor involucrados son excitabilidad ectópica, sensibilización central, inhibición disminuida y facilitación aumentada (Woolf, 2004).

## 2.2. Mecanismo Fisiopatológico del Dolor

El dolor se inicia por el estímulo de un nociceptor o terminación nerviosa libre. Las sensaciones percibidas son transportadas por fibras nerviosas de una neurona aferente cuyo cuerpo, localizado en los ganglios raquídeos, emite una prolongación periférica y otra central (Campos, 2006).

Las fibras aferentes primarias se clasifican según su diámetro, grado de mielinización y velocidad de conducción (**Tabla 1**). Las fibras de mayor diámetro: *A-beta*, responden al máximo ante roces ligeros o estímulos móviles; se encuentran principalmente en los nervios que se distribuyen por la piel. En las personas normales, la activación de estas fibras no produce dolor. Existen otras dos clases de fibras aferentes primarias: los axones mielinizados de pequeño diámetro (*A-delta*), y las fibras amielínicas (*fibras C*). Estas fibras se encuentran en los nervios que discurren por la piel y las estructuras viscerales y somáticas profundas (**Figura 2**) (Julius y Basbaum, 2001).

Tabla 1. Características de fibras aferentes sensoriales primarias (Huerta, 2005)

Tipo de Fibra	Velocidad de conducción	Diámetro	Grado de mielinización	Tipo de estímulo
A-β	30-120 m/s	5-15 μm	Fibra mielinizada (++++)	Mecánico
A-δ	5-30 m/s	1-5 μm	Fibra poco mielinizada (++)	Mecánico Térmico
C	0.5-2 m/s	0.5-2 μm	Fibra no mielinizada (-)	Mecánico Térmico Químico

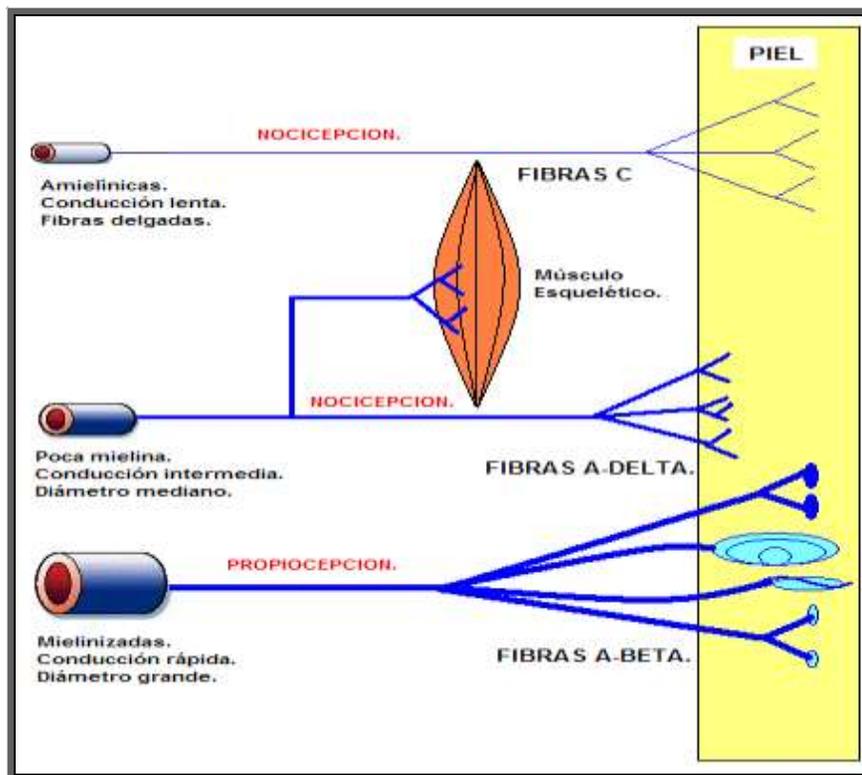


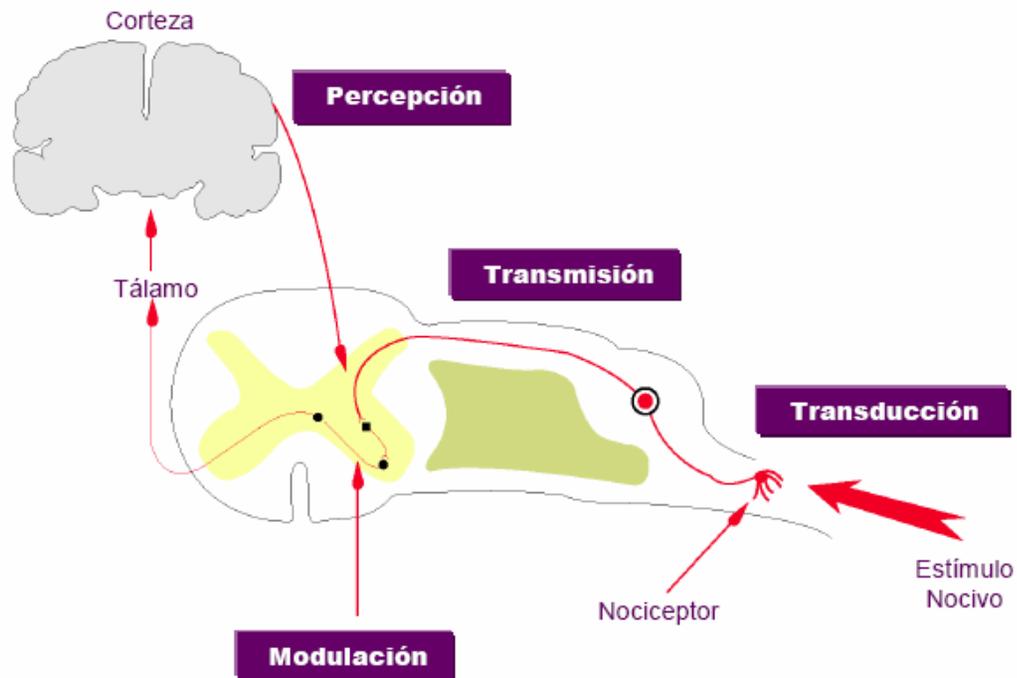
Figura 2. Esquema y clasificación de fibras nerviosas (Modificado de Julius y Basbaum, 2001)

Entre el sitio activo del tejido dañado y la percepción de dicho daño se producen una serie de eventos fisiológicos que colectivamente se denominan *nocicepción*. Este comprende 4 procesos: transducción, transmisión, modulación y percepción (Figura 3).

- a) Transducción.** En este proceso los estímulos nocivos son convertidos en un potencial de acción a nivel de los *nociceptores*. En el nociceptor se dan dos tipos de procesos de transducción: la activación y la modificación en la sensibilidad. La activación desencadena la generación de un potencial de acción; mientras que la modificación en la sensibilidad puede ser hacia una mayor sensibilidad o una menor sensibilidad (Torregrosa, 1994).
- b) Transmisión.** En este proceso se describe la propagación del potencial de acción de manera centrípeta y ascendente a través de las vías del sistema nervioso periférico (SNP) hacia la corteza cerebral. El estímulo se transmite por las terminaciones de las fibras aferentes primarias, de tipo bipolar, cuyo cuerpo celular está en los ganglios raquídeos o en la raíz dorsal. Su prolongación medial alcanza la médula espinal a través de las raíces dorsales; allí se produce la transmisión sináptica del estímulo doloroso, pero también ahí se originan algunos reflejos espinales como el reflejo de retirada y se realiza también la primera modulación de la información, mediante axones eferentes provenientes de centros superiores, y neuronas intrínsecas medulares (Fields y Martin, 1998; Kanner, 1998).
- c) Modulación o Antinocicepción.** En este proceso la transmisión es atenuada en distintos niveles. La sensación de dolor es modificada por sistemas descendentes que modulan la información sensorial transmitida desde la periferia. Esta modulación del dolor, en regiones separadas de las transmisiones ascendentes, implica una vía descendente independiente de inhibición del dolor; es decir, a diferencia del sistema de transmisión nociceptiva de características centrípeta y ascendente, el sistema inhibido endógeno es de características eminentemente descendente y centrífugo. Una misma agresión dolorosa puede ser percibida de formas muy diferentes debido a la existencia de un sistema analgésico endógeno, integrado por una

serie de circuitos inhibitorios descendentes, que interviene en la modulación nociceptiva a nivel del asta posterior de la médula. Los circuitos reguladores no sólo inhiben el dolor sino que son capaces también de intensificarlo. Tanto las neuronas que inhiben como las que facilitan el dolor en el bulbo raquídeo están conectadas con las neuronas medulares transmisoras del dolor y las tienen sometidas a su control (Fields y Martin, 1998).

*d) Percepción.* Es el proceso final por el que la transducción, la transmisión y la modulación interactúan con la psicología del paciente para crear la experiencia emocional y, como tal, subjetiva que se percibe como dolor. Por tanto el dolor es una percepción compleja que requiere la intervención global cerebral, sin que haya un centro específico para ello. De esta forma el dolor afecta a nuestros pensamientos, recuerdos actitudes, emociones, movimientos y conductas, y es también modulado por todos ellos (Woolf, 2004).



**Figura 3. Proceso fisiológico del dolor.** El estímulo nocivo genera potenciales de acción que viajan por las fibras aferentes primarias, tiene un relevo con neuronas de segundo orden en la médula espinal, finalmente la información llega a centros supraespinales para integrar la existencia de dolor.

### 2.2.1 Mediadores Químicos en la Activación de los Nociceptores

Un neurotransmisor es una sustancia química liberada selectivamente de una terminación nerviosa por la acción de un potencial de acción, que interacciona con un receptor específico en una estructura adyacente y que, si se recibe en cantidad suficiente, produce una determinada respuesta fisiológica.

Existe un gran número de mediadores químicos y sustancias transmisoras implicados en el dolor, tanto a nivel periférico (en el lugar de la lesión) como en el Sistema Nervioso Central (SNC). La sensación final del dolor dependerá por tanto de la interacción entre éstas sustancias con sus receptores.

Para comprender estas interacciones, es necesario conocer primero el funcionamiento de los receptores de neurotransmisores. Algunos receptores son excitatorios y otros inhibitorios (**Tabla 2**); unos producen grandes cambios en la actividad neuronal, mientras que otros producen sólo cambios leves o moderados. La estimulación de receptores excitatorios, produce una activación neuronal que incrementa la liberación de neurotransmisores y aumenta la excitabilidad de las neuronas. Por el contrario, la estimulación de receptores inhibitorios, disminuye la actividad neuronal, reduciendo la liberación de transmisores y haciendo la neurona menos excitable (Romera y col., 2000).

En la generación y transmisión del dolor, actúan primordialmente los receptores excitatorios. La analgesia puede conseguirse por activación de sistemas inhibitorios o por el bloqueo de sistemas excitatorios. El principal sitio de convergencia de todo este sistema de transmisores excitatorios e inhibitorios es la médula espinal (Kanner, 1998 y Huerta, 2005).

Las terminaciones centrales de las fibras A y C liberan transmisores excitatorios (sustancia P, glutamato, y péptido relacionado con el gen de la calcitonina o CGRP), que actúan sobre receptores específicos e inducen la despolarización de las neuronas de segundo orden, transmitiéndose la información hacia los centros superiores (Moalem, 2006).

La transmisión excitatoria en su camino cortical, va recibiendo la modulación de los sistemas inhibitorios. Estos sistemas están formados por transmisores y receptores capaces de disminuir la liberación de transmisores excitatorios y la excitabilidad neuronal. Los sistemas inhibitorios mejor conocidos son: el opioide, el  $\alpha$ -adrenérgico, el colinérgico y el gabérgico (Huerta, 2005).

De igual forma se pueden encontrar otros mediadores periféricos que pueden activar los nociceptores, como los que se describen en la **Tabla 2** (Perena y col., 2000; Romera y col., 2000 y Moalem, 2006).

**Tabla 2. Mediadores químicos que activan los nociceptores**

Mediadores Químicos		
Excitatorios	Inhibitorios	Otros
Glutamato Sustancia P CGRP	Péptidos opioides Noradrenalina Acetilcolina Ácido γ amino butírico (GABA) Serotonina	Hidrogeniones y Potasio Histamina Oxido Nítrico Bradicinina Prostaglandinas y Eicosanoides Citocinas Factor de Crecimiento Nervioso (NGF)

### 2.3 Farmacoterapia del Dolor

La farmacología y el tratamiento del dolor han tenido una larga historia, la cual se remonta a hechos sucedidos alrededor del año 3500 antes de Cristo, cuando el uso de extractos de opio era considerado como la mejor forma de manejar el dolor agudo y crónico. Sin embargo, el uso de farmacoterapia basada en opioides genera comúnmente efectos adversos, fenómenos de tolerancia y de dependencia; es por eso que un conocimiento básico de la fisiología del dolor permite comprender y establecer de manera más inteligente un plan apropiado y completo para aliviar el dolor (Paris, 1990).

En esencia, el tratamiento ideal para cualquier tipo de dolor es el control de los factores etiológicos que lo desencadenan. En general, el tratamiento

farmacológico mediante el empleo de fármacos analgésicos constituye la pieza fundamental en el manejo del dolor, aunque en ocasiones éste es refractario al tratamiento convencional y es necesario aplicar procedimientos no farmacológicos como el bloqueo nervioso, la simpatectomía o los tratamientos de relajación (Torpy, 2003; Woolf, 2004).

Los principios básicos del tratamiento farmacológico del dolor tienen en consideración diferentes aspectos. En primer lugar, el abordaje terapéutico debe ser individualizado, teniendo en cuenta tanto el tipo e intensidad de dolor como las características de cada paciente, así como en lo referente a la utilización del fármaco elegido. En segundo lugar, la administración de los fármacos analgésicos debe ser pautaada de forma estable, a intervalos fijos. Además, su prescripción debe realizarse escalonadamente, de acuerdo a la Escalera Analgésica de la Organización Mundial de la Salud (OMS), correlacionando el primer escalón del tratamiento con la intensidad del dolor, como se describe en la **Figura 4**. En tercer lugar, la vía de administración debe ser oral, siempre que sea posible. Por último, es preciso informar al paciente de los efectos secundarios y tratarlos de forma apropiada, si estos aparecen o antes de que se desarrollen, si es posible. En general, desde un punto de vista práctico, el médico que prescribe el tratamiento o el farmacéutico debe de estar familiarizado con los diferentes analgésicos disponibles y los debe de emplear correctamente, conociendo perfectamente sus características farmacológicas y efectos secundarios (Torpy, 2003; Woolf, 2004).

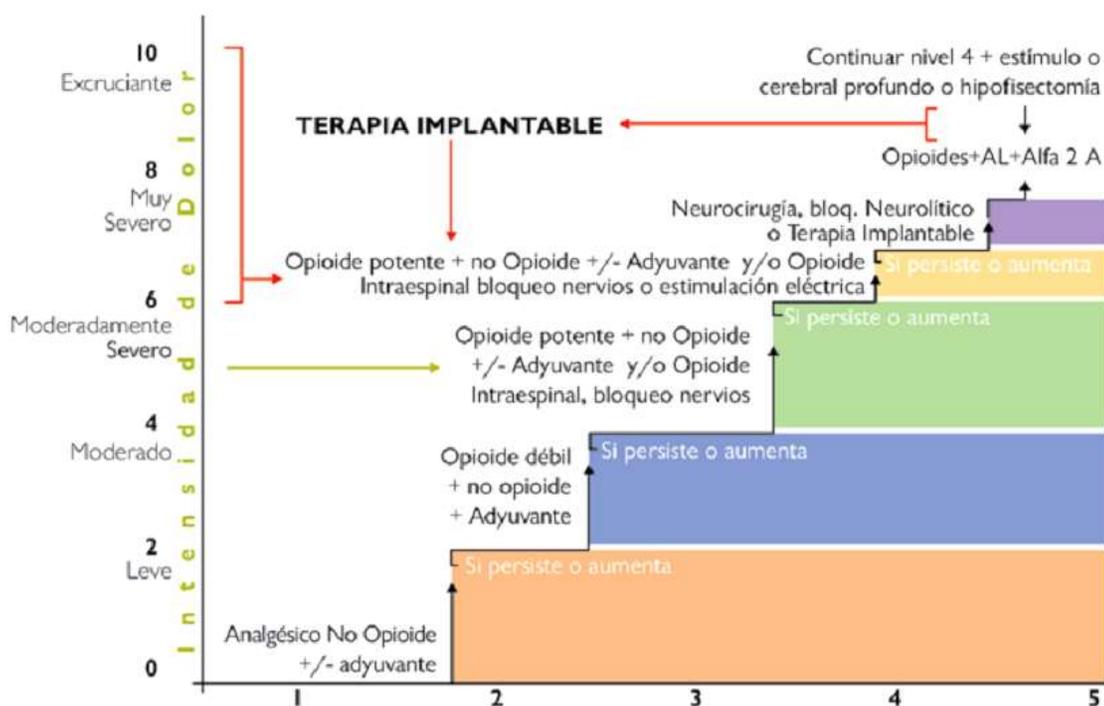


Figura 4. Escalera analgésica de la OMS

En la actualidad existe una gran cantidad de fármacos que pueden activar diversos mecanismos de acción para aliviar el dolor. Algunos analgésicos imitan la acción de algunas sustancias endógenas que ayudan normalmente a controlar el dolor, mientras que otros bloquean la función de sustancias que transmiten la información nociva. Además, muchos analgésicos pueden actuar a diversos niveles ya sea periférico, espinal y supraespinal, o en todos estos sitios simultáneamente, y de esta manera nos permiten tener la posibilidad de brindar un mejor alivio en la mayoría de los casos (López-Muñoz y Granados, 2003).

El uso de los analgésicos tiene ventajas y desventajas que van a depender de las dosis empleadas, de los esquemas de dosificación, de las características químicas y farmacológicas propias de cada sustancia y de los pacientes o sujetos que reciban tales compuestos (López-Muñoz y Granados, 2003).

En general, se utilizan analgésicos opioides, analgésicos antiinflamatorios no esteroideos e incluso para dolores intensos se han utilizado diferentes opciones con buena probabilidad de alivio como algunos adyuvantes entre ellos están los antidepresivos y anticonvulsivantes (Portenoy, 2000).

En resumen, de acuerdo a las fases que deben cumplirse para la transmisión de la sensación dolorosa, se pueden plantear diferentes intervenciones farmacológicas. Los objetivos son:

- Prevenir la sensibilización de los nociceptores periféricos
- Interrumpir la transmisión neuronal de las señales nociceptivas, y
- Debilitar el mensaje nociceptivo en la médula espinal y la transmisión hacia el cerebro (Woolf, 2004; Campos, 2006).

### 2.3.1 Analgésicos Opioides

La palabra “opio”, por sí misma, deriva del nombre griego que significa “jugo”, y el fármaco se obtiene del exudado lechoso que se extrae mediante un corte hecho al tallo de la amapola o adormidera *Papaver somniferum*, planta endémica de Asia menor, cultivada en otros países como China, India, Persia y Egipto (Cohen, 2002; Trescot, 2008; Villarejo, 2000). El término *opioide* incluye a cualquier sustancia endógena o exógena que presenta afinidad por los receptores opioides, es decir, que se une a ellos de forma específica. El término *opiáceo* se refiere a las sustancias obtenidas del opio. (Alvarez, 2005 y Villarejo, 2000).

Comúnmente en la práctica clínica, los analgésicos opioides se clasifican de acuerdo a diferentes criterios ya sea según su *origen*: naturales, sintéticos,

semisintéticos; su *estructura química*, o *dependiendo la intensidad de dolor que pueden suprimir*: débiles o potentes (**Tabla 3**); el *tipo de interacción con el receptor*, su *afinidad por los receptores* ( $\mu$ ,  $\delta$  y  $\kappa$ ), y principalmente su *eficacia* (agonistas, antagonistas, agonistas parciales, agonistas-antagonistas) y la *duración de acción*: corta, ultracorta, retardada (Trescot, 2008; Vallejo, 2009).

**Tabla 3. Tipos de opioides de acuerdo a la intensidad de dolor que pueden suprimir**

	Opioides Débiles	Opioides Potentes
Uso	Se prescriben en dosis bajas para el alivio del dolor moderado y en dosis plenas cuando el dolor es más severo	Son opioides que frecuentemente se utilizan para el manejo del dolor severo
Ejemplos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Codeína</li> <li>- Dextropropoxifeno</li> <li>- Tramadol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Morfina</li> <li>- Hidromorfona</li> <li>- Nalbufina</li> <li>- Metadona</li> <li>- Oxycodona</li> <li>- Buprenorfina</li> <li>- Fentanilo</li> </ul>

**Mecanismo de Acción de Opioides.** En 1973 se descubrió la existencia de los receptores opioides. Existen datos que demuestran que el SNC tiene al menos tres clases principales de receptores de opioides, designados como  $\mu$  ( $\mu$ ), kappa ( $\kappa$ ) y delta ( $\delta$ ) acoplados a proteínas  $G_i$ , por tanto, son receptores que median acciones inhibitorias (Alvarez, 2005; Trescot, 2008; Vallejo, 2009). Se les puede encontrar distribuidos en el cerebro, especialmente en áreas como la materia gris y a lo largo de la médula espinal y, en la periferia, por ejemplo, en los plexos mioentéricos digestivos y articulaciones. Los analgésicos opioides endógenos (encefalinas, endorfinas y dinorfinas), y los analgésicos exógenos naturales (morfina y codeína), así como los analgésicos opioides semisintéticos (buprenorfina) y sintéticos (fentanilo) tienen mecanismos de acción que muestran su participación a nivel presináptico y postsináptico. La mayoría de los opioides que se emplean en la práctica clínica tienen su actividad primaria en el “receptor de la morfina” o receptor  $\mu$ , también conocido como “mu

agonista”; debido a que tienen mayor afinidad por este tipo de receptor (Villarejo, 2000; Stein, 2003; Trescot, 2008).

**Propiedades Farmacológicas de los Analgésicos Opioides.** Los efectos de los péptidos opioides endógenos y los fármacos opioides pueden dividirse en centrales y periféricos, éstos efectos son notablemente diversos dependiendo de la unión a los distintos receptores; y consisten en analgesia, somnolencia, depresión respiratoria, disminución de la motilidad gastrointestinal, náusea, vómito y alteraciones del sistema endocrino y nervioso. Además, tras su administración repetida puede aparecer tolerancia y dependencia (Alvarez, 2005).

**Reacciones Adversas de los Analgésicos Opioides.** El mecanismo fisiológico que produce analgesia, también es responsable de las reacciones adversas de los analgésicos opioides. Estas reacciones son predecibles y es fácil anticiparlas haciendo la adecuada profilaxis y si se presentan deben tratarse oportunamente. Estas reacciones son consecuencia del efecto farmacológico y en general son proporcionales a la dosis administrada (Vallejo, 2009).

Las reacciones más frecuentes que se presentan tras la administración de analgésicos opioides, en específico agonistas  $\mu$ , son náuseas y vómitos (20-60 %), somnolencia, sensación de mareo e inestabilidad y confusión. Tras su uso repetido el efecto indeseable más frecuente es el estreñimiento. Además, pueden causar depresión respiratoria, retención urinaria, sequedad de boca, diaforesis, prurito, hipertonia muscular, mioclonías y euforia; también puede darse hipotensión postural (Alvarez, 2005 y Dagnino, 1994). Los receptores agonistas y agonistas-antagonistas  $\mu$  han sido empleados a lo largo de la historia en el manejo del dolor y para el manejo de reacciones adversas inducidas por opiáceos e incluso para el manejo del síndrome de abstinencia por

opiáceos. El concepto fundamental que sustenta el manejo exitoso y apropiado del dolor mediante el uso de analgésicos opioides y no opioides es el de individualizar la terapia analgésica. Este concepto conlleva al buen entendimiento de la farmacología clínica de los opioides para poder proveer la información necesaria para la selección de la terapia analgésica adecuada, es decir, administrar la posología correcta del analgésico para maximizar el alivio del dolor y minimizar las reacciones adversas (Trescot, 2008).

### 2.3.2 Antiinflamatorios No Esteroideos (AINE's)

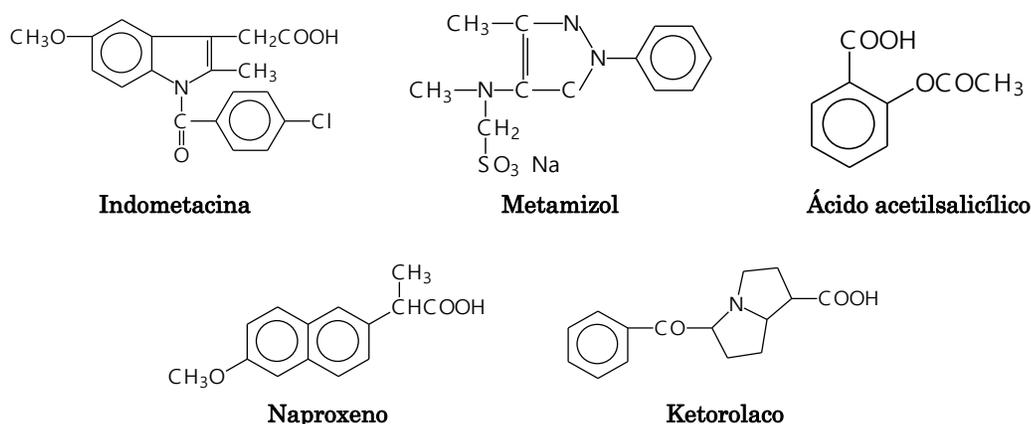
En la actualidad los AINE's son la piedra angular en el tratamiento de numerosas condiciones convirtiéndose en el grupo terapéutico más utilizado alrededor del mundo, dado que administrados en dosis únicas o como terapia a corto plazo proveen adecuada analgesia en la reducción del dolor leve a moderado.

Los AINE's son agentes muy eficientes para tratar el dolor, sobre todo de tipo inflamatorio o agudo. Tienen propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. El efecto antiinflamatorio se refleja de varios días hasta dos semanas, sin embargo, la combinación de ambos efectos hacen a éstos fármacos particularmente útiles en el alivio sintomático del dolor y/o inflamación de desórdenes musculoesqueléticos y de las articulaciones (López-Muñoz y Granados, 2003).

Estos fármacos constituyen los agentes farmacológicos más vendidos en todo el mundo y son muy usados incluso por automedicación; por lo que, forman parte de los medicamentos OTC (por sus siglas en inglés “over-the-counter”), ya que se considera prácticamente imposible estimar con alguna exactitud el grado de su uso (solamente en los Estados Unidos se producen unos 60 millones

de prescripciones cada año, lo cual por supuesto, excluye las cifras de uso por automedicación) (Moskowitz y col., 2007).

**Clasificación de los AINE's.** Estos fármacos generalmente se suelen clasificar con base en su estructura química, ya que comparten como núcleo fundamental el ácido salicílico, 2-hidroxibenzoico. Los AINE's son un conjunto de fármacos analgésicos que presentan claras diferencias y aunque la mayoría de los componentes de este grupo comparten las tres acciones que lo definen (analgesia, antipirética y antiinflamatoria), su eficacia relativa para cada una de ellas puede ser diferente, es decir, un fármaco concreto puede mostrar mayor actividad antiinflamatoria o analgésica que otro. Los salicilatos que se emplean a nivel clínico son productos de síntesis en los cuales se han utilizado diversas estrategias, como formación de ésteres del ácido salicílico por sustitución sobre el grupo carboxilo o el hidroxilo, formación de sales del ácido salicílico y adición de otras moléculas o grupos aromáticos diversos. Entre los utilizados en clínica destacan la indometacina, el metamizol, el ácido acetilsalicílico, el naproxeno y el ketorolaco (**Figura 5**):



**Figura 5. Estructura química de algunos fármacos antiinflamatorios no esteroideos.**

El fármaco prototipo de los AINE's es el ácido acetilsalicílico (AAS), aunque en la actualidad se dispone de numerosos fármacos que, aunque pertenezcan a diferentes familias químicas, se agrupan bajo el término AINE (Feria, 1997 y Sánchez, 2010), como se observa en la **Tabla 4**.

**Tabla 4. Principales grupos de AINE's**

Grupo Farmacológico	Fármaco prototipo
<b>Ácidos</b>	
Salicílico	Ácido Acetilsalicílico
Enólicos Pirazolonas Pirazolidindionas Oxicams	Metamizol Fenilbutazona Piroxicam y meloxicam
Acético Indolacético Pirrolacético Fenilacético Piranoindolacético	Indometacina Ketorolaco Diclofenaco Etodolaco
Propiónico	Naproxeno
Antranílico	Ácido mefenámico
Nicotínico	Clonixina
<b>No Ácidos</b>	
Sulfonanilidas	Nimesulida
Alcanonas	Nabumetona
<b>COXIB's</b>	
COXIB (Inhibidores selectivos de la COX-2)	Celecoxib, Parecoxib, Lumiracoxib Etoricoxib, Rofecoxib (retirado), Valdecoxib (retirado)

**Mecanismo de Acción de los AINE's.** Los AINE's son un grupo de agentes de estructura química diferente que tienen como mecanismo de acción fundamental la disminución de la síntesis de prostaglandinas, mediada por su inhibición de la enzima ciclooxigenasa. Al compartir su mecanismo básico de acción, la mayor parte de estos fármacos comparten también gran parte de sus

acciones farmacológicas y de sus efectos indeseables (Vane y Botting, 1998; Sánchez, 2010).

Para comprender el mecanismo de acción de los AINE's es importante conocer el metabolismo del ácido araquidónico. El ácido araquidónico no existe en forma libre en el interior de las células, sino que se encuentra esterificado en los fosfolípidos de la membrana celular especialmente en la fosfatidilcolina y del fosfatidilinositol. Es el principal precursor de los eicosanoides y su liberación desde los depósitos celulares depende de la acción de acilhidrolasas y, en particular de la fosfolipasa A2; incluso su liberación depende del incremento de las concentraciones citosólicas de calcio que también activan las enzimas mencionadas anteriormente. Los estímulos físicos hacen que penetre el ión  $\text{Ca}^{2+}$  a la célula al alterar su membrana y así activar la fosfolipasa A2, la cual hidroliza los fosfolípidos de membrana (fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina) con liberación de ácido araquidónico.

Una vez que los eicosanoides son liberados desde la membrana celular por la fosfolipasa A2, son convertidos por diferentes enzimas en la cascada araquidonal en compuestos que incluyen las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos. El ácido araquidónico es metabolizado en prostanoides a través de la vía de la ciclooxigenasa y leucotrienos por la vía de la lipooxigenasa. Incluso, el ácido araquidónico también es convertido en isoprostanos por peroxidación; los isoprostanos son mediadores inflamatorios que incrementan la nocicepción. En resumen si el ácido araquidónico es sustrato de la ciclooxigenasa se produce la cascada de prostaglandinas, en cambio si sobre el ácido araquidónico actúa la enzima 5-lipoxigenasa se forman los leucotrienos, potentes quimiotácticos y proinflamatorios; finalmente si sobre el ácido araquidónico actúa una epoxidasa como el citocromo P450 que es una oxidasa de función mixta, se origina ácido eicosatrienoico que dará origen a los lipoxinoides, los cuales

regulan la liberación de algunas hormonas como la somatostatina (Moalem, 2006; Pérez y col., 1998).

**Vía de la ciclooxigenasa.** La síntesis de prostaglandinas ocurre en forma gradual por un complejo de enzimas microsómicas de distribución muy amplia. En esta vía de síntesis, la primera enzima es la endoperóxido de prostaglandina, llamada también *ciclooxigenasa*. Existen 2 isoformas de ésta enzima: la ciclooxigenasa 1 (COX-1) y la ciclooxigenasa 2 (COX-2). La primera se expresa en forma constitutiva prácticamente en todas las células y presenta gran ubicuidad, es fundamental para la producción de prostaglandinas (con funciones homeostáticas) y tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>); sin embargo, la COX-2 no aparece en forma constitutiva en las células, pero puede ser inducida por citocinas, factores de crecimiento y endotoxinas.

Las ciclooxigenasas actúan sobre el ácido araquidónico y provocan 2 acciones diferentes: una que oxigena y produce una estructura en anillo y forma el endoperóxido cíclico PGG<sub>2</sub> y una actividad de peroxidasa que transforma PGG<sub>2</sub> en PGH<sub>2</sub>. Los endoperóxidos G y H son químicamente inestables, pero por acción enzimática se transforman en diversos productos que incluyen prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub> y PGF<sub>2</sub>α o prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) y TXA<sub>2</sub> (**Figura 6**) (Pérez y col., 1998).

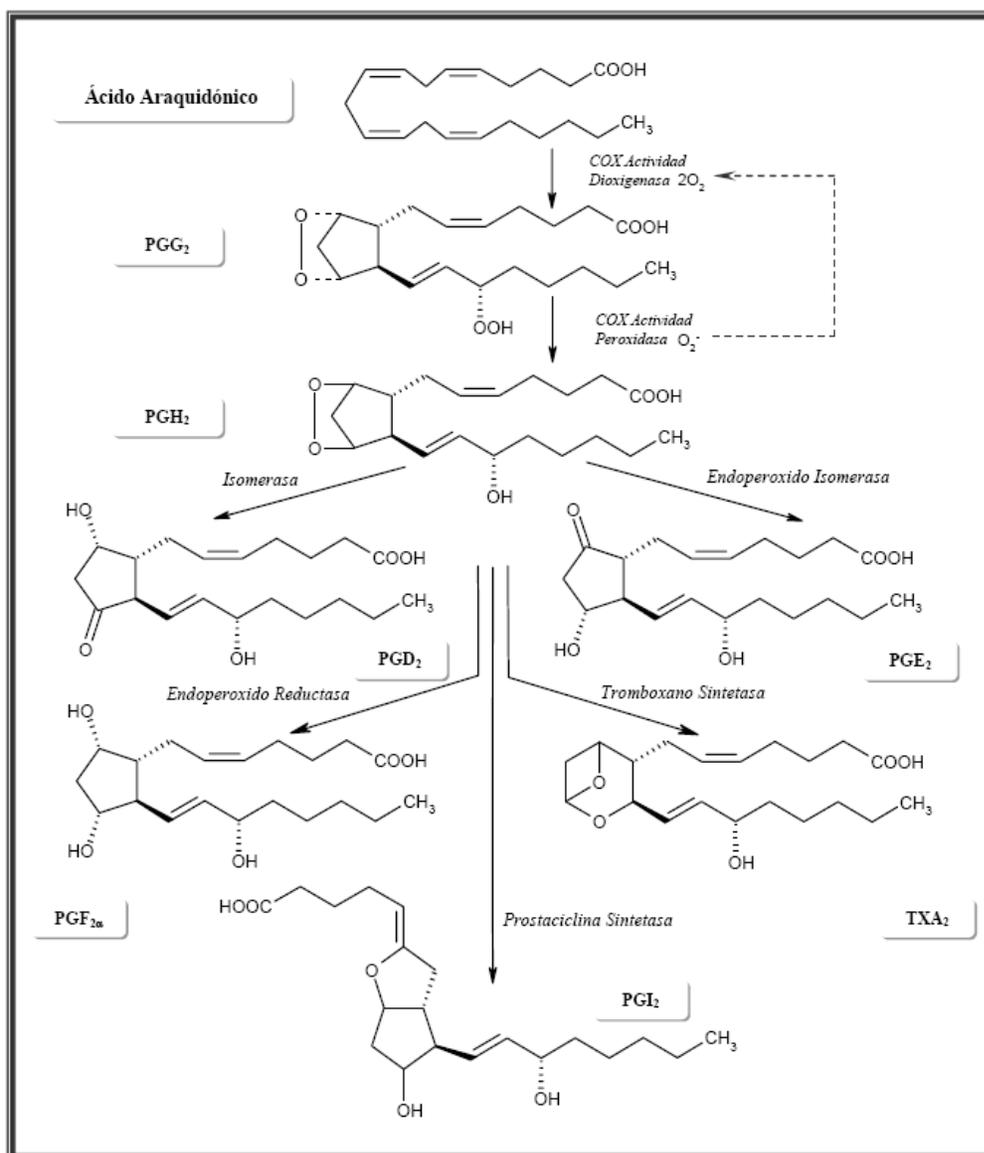


Figura 6. Biosíntesis de prostaglandinas, tromboxano y prostaciclina (Huerta, 2005)

**Propiedades Farmacológicas de los AINE's.** Los AINE's inhiben ambas isoenzimas COX-1 y COX-2, la principal razón de identificar las dos isoenzimas COX-1 y COX-2 como fisiológica y patológica, respectivamente, es que la mayoría de los estímulos que induce COX-2 son asociados con la inflamación, por ejemplo, liposacáridos bacterianos y citocinas como interleucina (IL)-1, IL-2 y el factor de necrosis tumoral TNF- $\alpha$ ; es decir, mantiene los mecanismos inflamatorios y amplifica las señales dolorosas que surgen en las áreas de

inflamación. Los roles fisiológicos de COX-1 han sido deducidos de los efectos adversos de los AINE's, ya que mientras inhibe la síntesis de prostaglandinas en los sitios de inflamación, también inhiben la síntesis constitutiva; y de ésta manera, los COX-1 liberan prostaglandinas en el estómago e intestino para mantener la integridad de la mucosa epitelial y su inhibición conduce a daño gástrico, hemorragias y ulceraciones. Los COX-1 igualmente protegen el funcionalismo renal y median la agregación plaquetaria.

Durante el dolor inflamatorio, las prostaglandinas son generadas en las terminales periféricas de las neuronas sensoriales, por lo que pueden producir hiperalgesia. Este proceso se acompaña de la producción de citocinas pro-inflamatorias (IL-1, IL-8 y TNF- $\alpha$ ) y más probablemente por inducción de la COX-2 en células inflamatorias. Se ha observado que la administración intratecal de PGE2 en ratas y ratones conscientes induce hiperalgesia. Más aún, el ibuprofeno, el ácido acetilsalicílico, el ketorolaco y la indometacina, son potentes analgésicos en la prueba de formalina cuando se ha administrado intratecalmente en ratas, lo cual sugiere un rol adicional para las prostaglandinas en el proceso nociceptivo en la médula espinal en éste modelo de analgesia (Vane et. al. 1998; Moalem, 2006).

En resumen, la COX-1 tiene características de enzima constitutiva y su actividad tiene que ver con la participación de las prostaglandinas y los tromboxanos en el control de las funciones fisiológicas; como citoprotección en el estómago, en el riñón inducen vasodilatación y privilegian la perfusión renal, entre otras. Por otro lado, la COX-2 tiene características de enzima inducible en determinadas células, bajo circunstancias patológicas por la participación de diversas citocinas y mediadores de la inflamación (Vane y Botting, 1998). Sin embargo, los AINE's tradicionales inhiben tanto COX-1 como COX-2 y, por lo

tanto, tienen el potencial de producir eventos adversos a nivel gastrointestinal, renal y/o hematológico (Campos, 2006; Farquhar-Smith, 2007).

**Reacciones adversas de los AINE's.** El amplio uso de los AINE's significa un incremento en la prevalencia de los efectos adversos de estos medicamentos. Los efectos secundarios más frecuentes se relacionan con el sistema gastrointestinal y renal. Estos efectos son dependientes de la dosis administrada y, en muchos casos, lo suficientemente severos en ciertos grupos en la población, para poner en riesgo sus vidas (Hernández y col., 2001).

El efecto adverso más frecuente asociado con el uso de AINE's se relaciona con la irritación directa o indirecta del tracto gastrointestinal. Las prostaglandinas juegan un rol importante en la protección de la mucosa gástrica, pues limitan la secreción ácida gástrica y estimulan la formación de mucus. Los AINE's además de producir lesión local que depende del pH de la luz, con retrodifusión ácida a la mucosa, reducen el flujo sanguíneo de la mucosa, favoreciendo la lesión y afectan el funcionamiento de los neutrófilos induciendo la liberación de factores tisulares destructores. Los efectos secundarios gastrointestinales más frecuentes son: esofagitis, úlceras (siendo sus complicaciones más frecuentes hemorragia y perforación), gastroduodenitis, lesiones tóxicas, indigestión y diarrea (Al Mofl-eh y col., 2007).

Los AINE's de igual forma pueden producir reacciones adversas a nivel del SNC como: cefalea, vértigo, nerviosismo, tinnitus, depresión, confusión, pérdida auditiva, adormecimiento e insomnio; e incluso, en pacientes ancianos se reporta un deterioro de la memoria y déficit atencional.

El efecto agudo de los AINE's en personas con una función renal normal es prácticamente mínimo, posiblemente en consonancia con la escasa

importancia de la síntesis de prostaglandinas vasodilatadoras en esta situación. Sin embargo, en situaciones patológicas en que esté comprometida la perfusión renal, el riñón incrementa la síntesis de prostaglandinas, que desempeñan un papel esencial para asegurar una velocidad de filtración y un flujo sanguíneo renal adecuados (Feria, 1997). Esto ocurre en estados de hipotensión y en todos aquellos en que exista hiperactividad del sistema renina-angiotensina o del sistema nervioso simpático, como insuficiencia cardíaca congestiva, contracción de volumen por depleción sódica o cirrosis hepática con ascitis. Son también más proclives a presentar síntomas de toxicidad renal aquellos pacientes con glomerulonefritis crónica o en tratamiento con diuréticos. En estas situaciones los AINE's pueden desencadenar diversas nefropatías de carácter agudo: síndrome nefrótico, nefritis intersticial aguda, necrosis tubular aguda, vasculitis o estados de hipoperfusión renal. Como ocurre con otros efectos, el riesgo varía según el fármaco (Windelmayer y col., 2008; Feria, 1997).

Otros efectos adversos que pueden producir los AINE's son a nivel hematológico ya que éstos pueden causar disminución de la agregación plaquetaria y producir agranulocitosis, neutropenia y anemia. Así mismo, pueden producir reacciones de hipersensibilidad como rash, urticaria, rinitis, angioedema, hipotensión, shock y/o síncope (Brooks, 1998).

**Inhibidores Selectivos de la COX-2.** El objetivo de la nueva generación de AINE's es la búsqueda de inhibidores selectivos de la COX-2 para evitar los efectos adversos de la inhibición de COX-1; por lo que basándose en que la COX-2 es la enzima inducible responsable de la inflamación pero carente de las funciones gastroprotectoras, se han desarrollado fármacos antiinflamatorios y analgésicos novedosos caracterizados por minimizar los efectos adversos a nivel gastrointestinal, como son los denominados inhibidores selectivos de la COX-2,

conocidos también como coxibs, éstos fueron desarrollados con el objetivo de tratar a los pacientes con fármacos analgésicos y antiinflamatorios tan eficaces como los AINE's tradicionales, pero reduciendo su actividad tóxica en el tracto gastrointestinal, por ejemplo el celecoxib, rofecoxib, valdecoxib, parecoxib, etoricoxib y lumiracoxib. Los primeros AINE's considerados inhibidores selectivos de la COX-2 fueron celecoxib y rofecoxib, sin embargo, en el 2004 rofecoxib fue retirado del mercado por incrementar el riesgo de accidentes cardiovasculares graves ([Moskowitz, 2007](#)).

### **2.3.3 Fármacos coadyuvantes en el tratamiento del dolor.**

Las estrategias en el tratamiento del dolor se basan de forma genérica en la guía para el tratamiento del dolor neoplásico de la OMS, donde figura la posibilidad de añadir al tratamiento, fármacos coadyuvantes; los cuales son fármacos que no están clasificados farmacológicamente como analgésicos, pero se usan solos o en combinación con los analgésicos para aliviar el dolor o tratar los síntomas que comúnmente lo acompañan como insomnio, ansiedad y/o depresión. Bajo esta denominación se agrupa un gran número de fármacos: anticonvulsivos, antidepressivos, relajantes musculares, ansiolíticos y glucocorticoides. Es importante señalar que la mayoría de éstos medicamentos se siguen utilizando con sus indicaciones concretas, pero alivian también el dolor en situaciones específicas. Se han utilizado fundamentalmente para el dolor neuropático y también en algunas enfermedades reumáticas. Además de su capacidad para disminuir la necesidad de analgésicos, pueden tener capacidad analgésica propia, independiente de otros efectos farmacológicos ([Gibert, 2006](#); [Moore, 2009](#)).

## 2.4 Antecedentes de derivados indolacéticos.

Dentro del conjunto de fármacos derivados del ácido acético, existen diversas series de derivados, los cuáles contienen en su estructura diferentes anillos heterociclos como indólicos, pirrólicos, fenilo o piranoindólicos. De estos derivados, resultan de interés para este estudio el grupo indolacéticos ya que los compuestos químicos que se estudiarán tienen en su estructura química dicho heterociclo, análogo a indometacina, que es el fármaco prototipo de éste grupo de AINE (Feria, 1997).

La indometacina [ácido 1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1H-indol-3-acético], cuya estructura química se representa en la **Figura 5**, es un potente inhibidor de la síntesis de prostaglandinas y de la migración de leucocitos a áreas inflamadas, que inhibe la fosfodiesterasa interfiriendo con la producción de anticuerpos. Su actividad se logra por su capacidad para inhibir la enzima ciclooxigenasa, responsable de la síntesis de prostaglandinas. Su efecto es más intenso sobre la COX-1 que sobre la COX-2, lo que explica sus efectos secundarios. Como otros AINE's reduce el dolor a nivel periférico, al disminuir la sensibilización de los receptores del dolor, además de tener acción antipirética por inhibición de prostaglandinas hipotalámicas (Marcotegui, 1998; Jones, 2001). Se introdujo en la clínica en 1964 para el tratamiento de la artritis reumatoide, osteoartritis y procesos inflamatorios relacionados. Aunque su eficacia es muy notable, su asociación con una incidencia elevada de efectos secundarios intolerables, a veces, irreversibles y potencialmente fatales, han limitado su uso. Su acción farmacológica es similar a la del AAS y presenta una poderosa actividad antiinflamatoria, antitérmica y analgésica. Es uno de los más potentes inhibidores de la síntesis de prostaglandinas, por lo cual se ha utilizado frecuentemente como herramienta farmacológica para evaluar la participación de éstas en diversos procesos fisiológicos y patológicos. Su acción

analgésica, independiente de su acción antiinflamatoria, se ejerce a nivel central y periférico. Posee actividad antiagregante plaquetaria (Rao, 2005; Mendoza-Patiño, 2008).

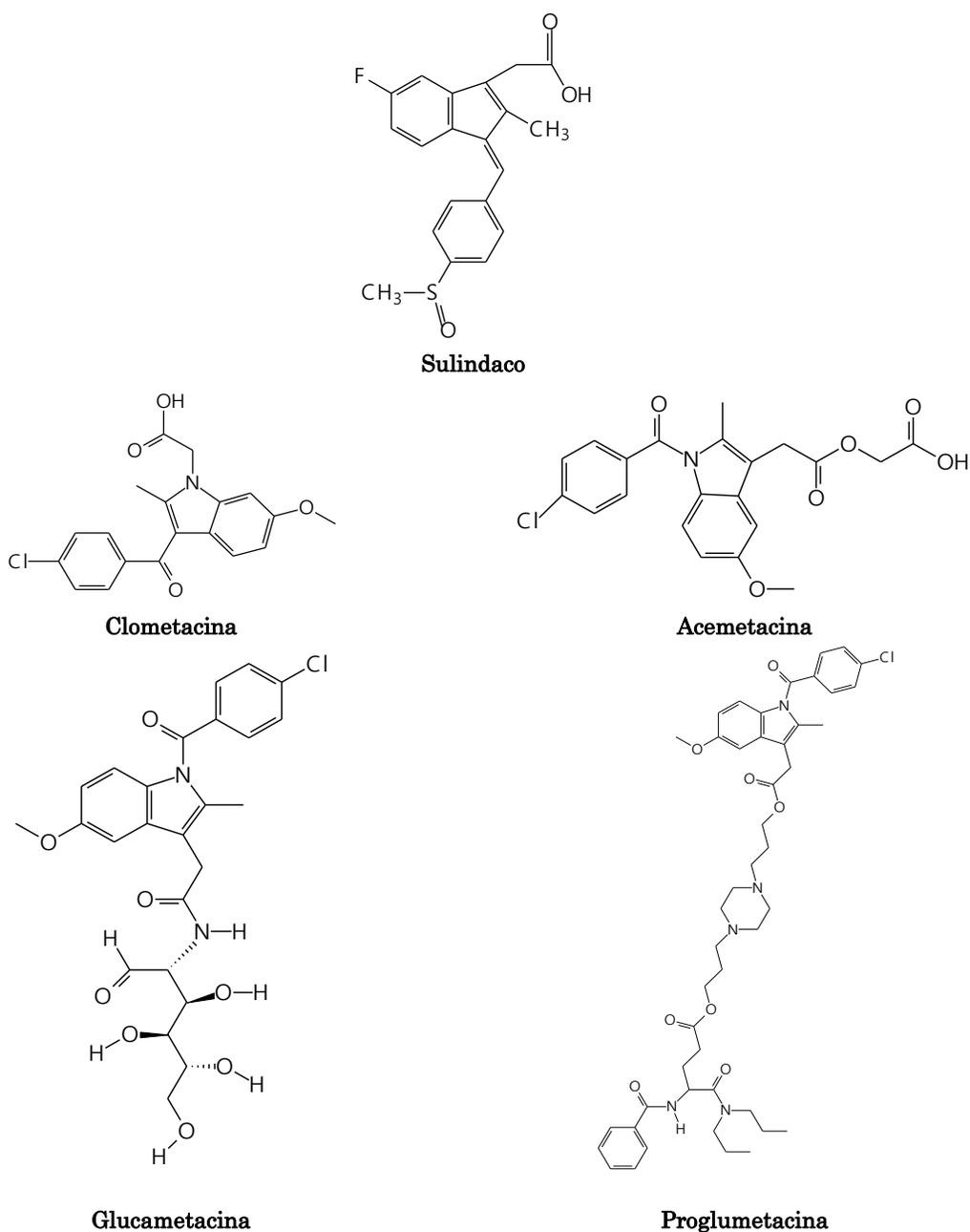
Sus reacciones adversas son relativamente abundantes y han restado utilidad a la buena eficacia de este fármaco. Destacan las reacciones neurológicas bastante frecuentes: cefaleas frontales (25-50 % en tratamientos prolongados), vértigo, aturdimiento, mareos, desorientación y confusión mental. Son también frecuentes las complicaciones digestivas, de intensidad y gravedad diversas. También puede producir agranulocitosis (riesgo inferior al metamizol y superior a la fenilbutazona) o anemia aplásica (superior a otros AINE's). En ocasiones produce reacciones alérgicas, así como dérmicas (Feria, 1997).

**Relación estructura-actividad de los ácidos indolacético.** Entre los derivados de indol, la indometacina ha sido utilizada a pesar de sus efectos adversos; es por esto que a partir de ésta se han generado otros fármacos que guardan una estrecha relación estructura-actividad para mejorar su eficacia y seguridad. Las características estructurales que deben presentar estos compuestos para presentar la actividad antiinflamatoria son las siguientes:

- Los compuestos deben tener en su estructura un grupo carboxilo, el cual es esencial para la actividad antiinflamatoria.
- Un grupo metoxi en el anillo aromático en posición 5 y un metil en posición 2 en el anillo indol de la indometacina, exhibe la actividad.
- La presencia de grupos cloruro o fluoruro o CF<sub>3</sub> en la posición *para* del grupo fenilo que también muestran actividad antiinflamatoria (Rao, 2005).

Por ejemplo, el sulindaco es un análogo de indometacina y es considerado un pro-fármaco, siendo su forma activa el derivado -SH (Nogrady, 2005). Otro

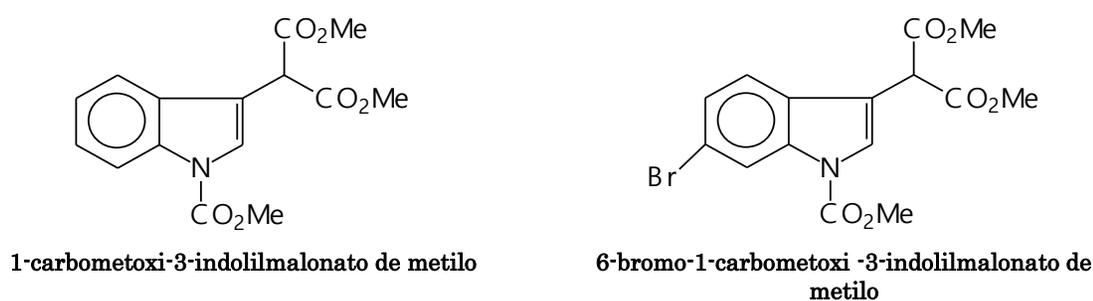
fármaco que guarda relación estructura-actividad con indometacina es la clometacina, que a diferencia de indometacina, que principalmente se emplea como agente antiinflamatorio y ocasionalmente como analgésico, la clometacina es altamente recomendado para producir analgesia sin pérdida de la conciencia y muestra pocas propiedades antiinflamatorias. Así mismo, se encuentran los AINE's glucametacina, acemetacina y la proglumetacina que también guardan relación estructura-actividad con indometacina (**Figura 7**) ([Wermuth, 2003](#)).



**Figura 7. Estructuras de compuestos que guardan relación estructura-actividad con indometacina**

Como se ha descrito anteriormente, la indometacina contiene un su estructura un anillo heterocíclico de indol. De igual manera, existen estudios previos de otros compuestos derivados de síntesis que en su estructura contienen el heterociclo indol, como los tetrazoles indanilos, los cuales fueron

analizados para determinar si presentaban actividad analgésica empleando la prueba de estiramiento abdominal inducido por la administración de ácido acético en ratones albinos, obteniendo una actividad analgésica significativa con los derivados del bromo (Bachar, 2004). Por otro lado, también existen otros productos naturales indoles bromados que han sido aislados de una gran variedad de productos marinos (Morales, 2003). Otros compuestos sintetizados que contienen el anillo indolacético son los compuestos 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo y 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo, que se indican en la **Figura 8**, los cuales forman parte de este estudio, cabe señalar que sobre estos compuestos aún no existen antecedentes de estudios farmacológicos o toxicológicos.



**Figura 8.** Estructuras de los análogos indolacéticos evaluados en este estudio

## 2.5 Modelos animales de dolor

La investigación básica está generando gran cantidad de información en lo referente al conocimiento del sistema nociceptivo tanto en su situación fisiológica como en diferentes situaciones patológicas. En gran medida, estos avances se producen como consecuencia de la utilización de los modelos animales de dolor (Ortega, 2002). Sin embargo, las investigaciones en dolor deben realizarse siguiendo las líneas que marca el Comité para la Investigación y la Ética de la IASP en lo concerniente a los aspectos éticos de los experimentos que implican dolor o sufrimiento de los animales. Por ello, las

investigaciones con modelos de dolor tienen que tener una adecuada planificación con la intención de minimizar el sufrimiento del animal, ya que el animal no es un objeto para explotar, sino un ser vivo (Micó, 2006).

La utilización de los modelos de dolor se justifica para el ensayo de nuevos tratamientos farmacológicos para el alivio de éste. Bajo el título de modelos de dolor agudo se encuadra fundamentalmente a los modelos que utilizan un estímulo físico o químico que tienen como objetivo determinar una latencia de respuesta por parte del animal ante dicho estímulo y tienen un desarrollo temporal breve. La inducción del dolor se basa en la aplicación de estímulos nociceptivos *mecánicos* como el pinzamiento de la cola, estímulos *térmicos*, como la plancha caliente o el calor radiante o estímulos *químicos*, como la respuesta constrictora abdominal (denominada también “Writhing” en inglés) inducida por la aplicación intraperitoneal de diversas sustancias nociceptivas como la acetilcolina, serotonina, ácido acético u oxitocina. En este estudio se utilizó el modelo de dolor inducido por la administración intraperitoneal de ácido acético, el cual ha sido empleado para evaluar la actividad antinociceptiva periférica y actualmente es ampliamente utilizado para evaluar productos naturales así como compuestos sintéticos (Gómez, 1999; Reichert, 2002).

### III. JUSTIFICACIÓN

El tratamiento del dolor, tanto agudo como crónico, supone hoy en día una partida importante del gasto global de un país; no sólo por el consumo de recursos para su control, sino como consecuencia de su infratratamiento, y la significativa repercusión en forma de bajas laborales, jubilaciones, pensiones anticipadas e invalidez.

Los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos son de los medicamentos más empleados en todo el mundo y con mayor difusión de uso, sin embargo, estos medicamentos no son inocuos, dado que con frecuencia ocasionan efectos adversos principalmente ulceraciones y hemorragias gastrointestinales (Bjorkman, 1999; Vladislavovna y col., 2006). De acuerdo con los datos de la Organización Mundial de la Salud y del Programa Internacional de Monitoreo de los Medicamentos, los AINEs ocupan el primer lugar como responsables de las reacciones adversas informadas (Vladislavovna y col., 2006). Por otra parte, la Food and Drug Administration (FDA) y el Consejo de Salud Inglés han documentado que los AINE's son responsables, respectivamente, del 21 % y el 25 % de las reacciones adversas a medicamentos (RAM's) que se comunican espontáneamente. Más de una cuarta parte de estas reacciones son de tipo gastrointestinal (López, 1999).

Por otro lado, datos epidemiológicos de la Clínica del Dolor del Hospital General de México demuestran que el dolor crónico está presente en 7 hasta 59 % de la población general; éstos resultados reflejan el impacto físico y psicológico que causa el dolor en la población mexicana (Gordillo y col., 2004).

Con la finalidad de mejorar la farmacoterapia del dolor, en los últimos años han aparecido nuevas moléculas sobre las que se argumentan mejoras en

términos de gastrolesividad. Sin embargo, los resultados presentados hasta ahora son poco concluyentes a nivel clínico (Baptista, 2000). Por lo cual, aún es necesario continuar realizando estudios sobre analgésicos con la finalidad de incrementar su eficacia y seguridad. En este sentido, la evaluación de nuevas sustancias para el manejo del dolor resulta interesante, por lo que, en este estudio se pretende contribuir en la búsqueda de nuevos analgésicos mediante el estudio de análogos indolacéticos que brinden un alivio adecuado del dolor pero que presenten un mínimo de efectos adversos; es decir, que sean más seguros y eficaces.

#### **IV. HIPÓTESIS**

Si la indometacina presenta un anillo indolacético en su estructura y produce efectos analgésicos y antiinflamatorios, entonces es posible que los análogos indolacéticos 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo y 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo, también produzcan un efecto antinociceptivo en un modelo de dolor, con menos efectos adversos a nivel gastrointestinal.

## V. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo General

Evaluar la actividad antinociceptiva de análogos indolacéticos en un modelo de dolor visceral en ratón; así mismo, evaluar los efectos adversos que produzcan a nivel gastrointestinal.

### 5.2 Objetivos Específicos

- Estandarizar el modelo de dolor visceral inducido por la administración de ácido acético al 0.6 %.
- Establecer la curva dosis–respuesta de indometacina.
- Establecer la curva dosis–respuesta de los 2 análogos indolacéticos en el modelo de dolor visceral inducido por ácido acético, empleando indometacina como fármaco de referencia.
- Determinar la Dosis Efectiva 50 y potencia relativa de los compuestos evaluados.
- Valorar el efecto adverso a nivel gastrointestinal de los análogos indolacéticos comparando con el producido por la indometacina, como fármaco de referencia.

## VI. METODOLOGÍA

### 6.1 Tipo de Estudio

El presente trabajo es un estudio de tipo experimental, en el cuál se emplearon modelos farmacológicos en roedores para evaluar el posible efecto antinociceptivo de dos análogos indolacéticos mediante el modelo de estiramiento abdominal en ratón (“Writhing”) y empleando una prueba para determinar el efecto adverso a nivel gástrico en ratón. Los ensayos farmacológicos se realizaron en el área de investigación del Bioterio del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH).

### 6.2 Animales de experimentación

Para el modelo de dolor visceral y la prueba para determinar daño gástrico se usaron ratones CD-1 macho con un peso entre 23-50 g, los ratones fueron proporcionados por el bioterio del ICESA-UAEH, los cuales permanecieron en condiciones estándar de ciclo luz/oscuridad de 12 horas, a una temperatura de  $22 \pm 2$  °C y un control de humedad relativa del 45 %, con alimento y agua *ad libitum*. Sólo se dejaron en privación de alimento 12 horas antes de evaluar el daño gástrico. El empleo y manejo de animales se realizó siguiendo la NOM-062-ZOO-1999, la cual menciona las Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado, y uso de Animales de Laboratorio de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Aluja, 2002) y de acuerdo con los lineamientos establecidos en las Guías Éticas para la Investigación del Dolor Experimental en Animales Conscientes de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (Zimmerman, 1983). El número de animales de experimentación se llevó al mínimo, y al final de las

determinaciones experimentales los animales fueron sacrificados usando dióxido de carbono, para el caso de la evaluación del efecto antinociceptivo y por dislocación cervical, para los animales empleados en la determinación de daño gástrico.

### **6.3 Análogos indolacéticos, fármaco de referencia y otras sustancias**

Los dos análogos indolacéticos que se evaluaron en este estudio fueron: 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo, el cuál fue identificado como CIM y el 6-bromo-1-carbometoxi -3-indolilmalonato de metilo, nombrado 6BrCIM para su fácil identificación. Estos compuestos fueron sintetizados y proporcionados por la Dra. Maricruz Sánchez Zavala del Centro de Investigaciones Químicas de la UAEH. Se usó ácido acético (Sigma-Aldrich) al 0.6 % en solución salina (PiSa) para inducir el dolor visceral en ratón. Así mismo, como fármaco de referencia se utilizó indometacina (Sigma-Aldrich). Para disolver los derivados indolacéticos, CIM y 6BrCIM, se empleó como vehículo DMSO al 20 % (Veh-DMSO) en solución salina (PiSA) con 2 gotas de Tween 20 (Sigma-Aldrich), agitando los compuestos durante 30 minutos en el sonicador a 34°C antes de su administración. Para el caso de la indometacina, se empleó como vehículo una solución de bicarbonato de sodio (Sigma-Aldrich) al 0.5 % en solución salina (Veh-BS), que igualmente para tener una mezcla más homogénea, se agitó 5 minutos en el sonicador a 34°C antes de su administración. En la evaluación de daño gástrico se empleó formol (Sigma-Aldrich) al 2% en agua destilada para preservar el tejido.

### **6.4 Modelo experimental de dolor visceral.**

El efecto antinociceptivo se evaluó utilizando el modelo de dolor “Writhing” en ratón. Se indujo al administrar un volumen de 1 mL/100g de

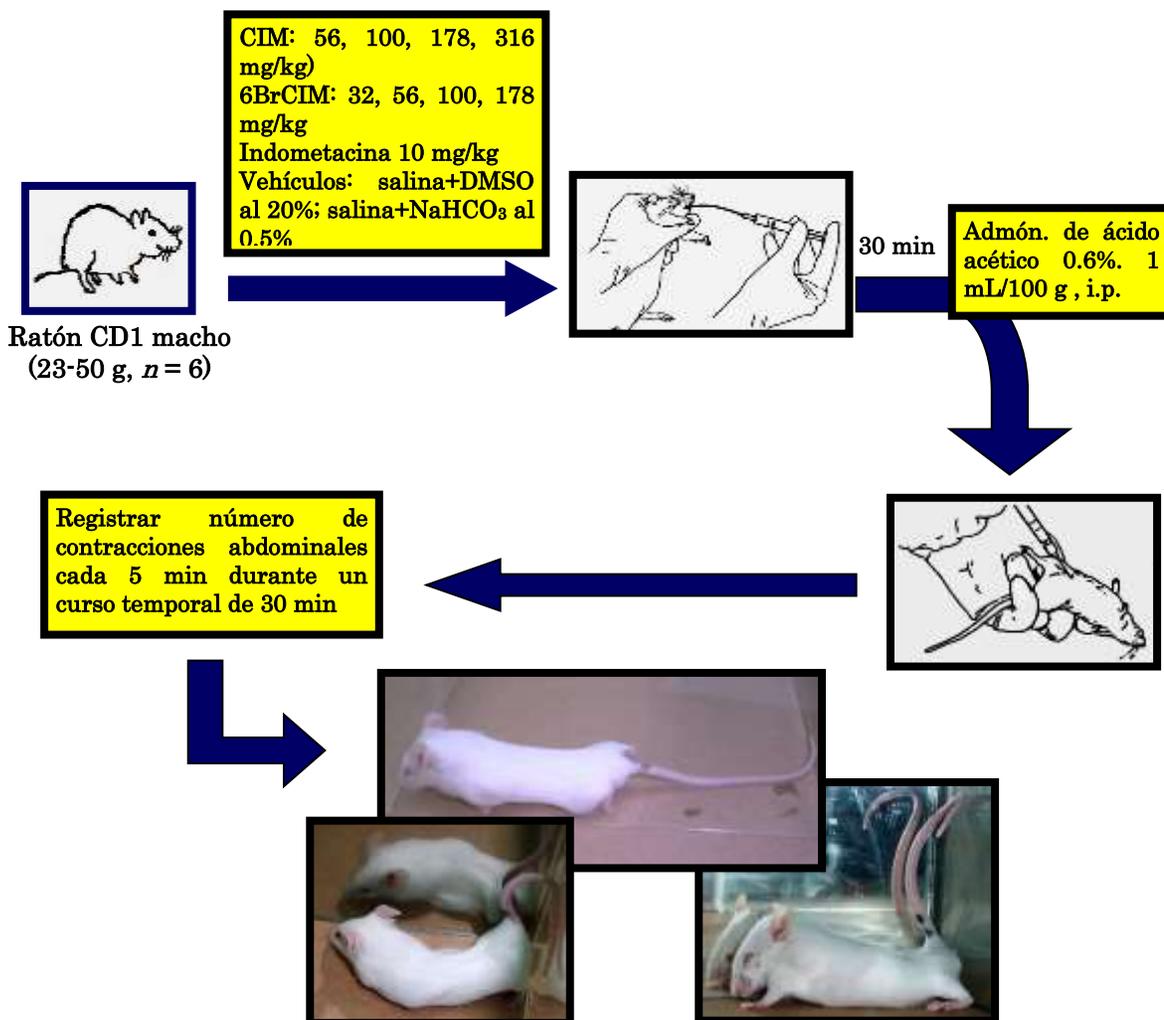
ácido acético al 0.6 % en solución salina por vía intraperitoneal en roedores; la respuesta nociceptiva inducida se caracterizó por contracciones abdominales las cuales se describen como distensiones exageradas del abdomen combinado con estiramientos y levantamiento de las patas traseras (Micó, 2006; González-Trujano, 2007).

## 6.5 Diseño farmacológico

**Estandarización del modelo de dolor visceral.** Los ratones (n=6) fueron administrados vía intragástrica con el vehículo (solución de DMSO al 20 % en solución salina o bicarbonato de sodio al 0.5 % en solución salina) en un volumen de 2 mL/100 g de peso al inicio del experimento y 30 minutos después de la administración del vehículo, se administró vía intraperitoneal un volumen de 1 mL/100 g de peso la solución de ácido acético al 0.6 % para inducir el dolor. A continuación, se registró el número total de estiramientos abdominales posteriores a la administración del ácido acético por periodos de 5 minutos: 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 y 25-30 hasta completar un curso temporal de 30 minutos.

**Evaluación del efecto antinociceptivo.** Después de estandarizar el modelo de dolor visceral, se estableció la curva dosis-respuesta (CDR) de indometacina administrando a diferentes grupos de ratones (n=6) vía intragástrica dosis de 3.2, 5.6, 10 y 17.8 mg/kg en un volumen de 2 mL/100g de peso. La determinación del efecto antinociceptivo de los análogos indolacéticos se realizó administrando vía intragástrica diferentes dosis de CIM: 56, 100, 178 y 316 mg/kg y de 6BrCIM: 32, 56, 100 y 178 mg/kg, en un volumen de 2 mL/100 g, lo que permitió establecer la curva dosis-respuesta de ambos compuestos. Para comparar el efecto antinociceptivo de los análogos indolacéticos se usó como fármaco de referencia indometacina en dosis de 10 mg/kg (IND-10), dicha dosis

fue seleccionada a partir de la curva dosis-respuesta de indometacina. Cabe mencionar que las dosis de los derivados indolacéticos se calcularon en orden creciente con incrementos de 0.25 en escala logarítmica (**Figura 9**).



**Figura 9.** Diseño farmacológico para determinar el efecto antinociceptivo de análogos indolacéticos.

**Determinación de la Dosis Efectiva 50 (DE50) y potencia relativa de los compuestos evaluados.** A partir del Área Bajo de Curva (ABC) obtenida de los cursos temporales del efecto antinociceptivo de CIM, 6BrCIM y del fármaco de

referencia, se obtuvo el porcentaje de efecto antinociceptivo, y con estos datos se calculó la DE50 haciendo una regresión lineal de los datos graficado en la CDR de cada compuesto. La potencia relativa se determinó comparando la cantidad de sustancia necesaria para obtener un cierto porcentaje de efecto antinociceptivo.

**Evaluación de daño gástrico.** El nivel de efectos adversos gástricos en los ratones se determinó en base a la comparación del número de erosiones y úlceras producidas por los dos derivados indolacéticos: 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (CIM) y 6-bromo-1-carbometoxi -3-indolilmalonato de metilo (6BrCIM) con respecto a las lesiones gástricas producidas con indometacina en ratones (n=6). A los ratones con previo ayuno de 12 horas, se les administró la dosis máxima empleada en las curva dosis-respuesta para cada uno de estos análogos; para el caso del CIM, la dosis fue de 316 mg/kg y para el compuesto 6BrCIM, la dosis máxima fue de 178 mg/kg vía intragástrica; así mismo, se administró 10 mg/kg de indometacina y como control se administró el vehículo correspondiente de una solución de NaHCO<sub>3</sub> al 0.5 % y la solución de DMSO al 20 % vía intragástrica. Dos horas y media después de la primera administración de tratamientos o vehículo, los animales recibieron una segunda administración de los mismos compuestos y después de 2.5 h de la segunda administración, se sacrificaron los ratones y se extrajeron los estómagos, los cuales se lavaron en una solución de formol al 2 %, esto con la finalidad de preservar los tejidos y fijar las lesiones; los estómagos se abrieron por la curvatura menor para observar las lesiones. Se observó el número de úlceras en los estómagos de los ratones con los diferentes tratamientos, así como el de erosiones en un microscopio estereoscópico en el objetivo 30x. Estas úlceras se midieron en milímetros con la ayuda de un vernier digital. Así mismo, se observaron erosiones como zonas enrojecidas y vísceras oscuras en la mucosa, lo cual indica el área donde se presentó daño en la superficie del tejido

del estómago y se comparó con el número de lesiones que presentó indometacina. (Huerta, 2005; Vashist y col., 2010). El porcentaje de daño gástrico se calculó de la siguiente manera (García-Hernández y col., 2007).

$$\% \text{ daño gástrico} = (\text{mm}^2 \text{ de úlcera grupo tratado}) * (100) / (\text{mm}^2 \text{ de úlcera indometacina})$$

## 6.6 Análisis estadístico

Los datos del efecto antinociceptivo en este estudio se obtuvieron durante el curso temporal de 30 minutos post-tratamiento. El número máximo de contracciones y/o estiramientos abdominales inducidos se expresaron como la media  $\pm$  el error estándar (EE) de  $n = 6$  animales por cada grupo, para después poder elaborar la curva dosis-respuesta, utilizando el Área Bajo la Curva (ABC) por el método de los mínimos cuadrados, el resultado se expresó en unidades de área (u.a.) (González-Trujano, 2007). En cuanto al análisis del daño gástrico, el área de daño producido se midió en  $\text{mm}^2$  y se expresó como la media + EE de  $n=6$  animales por cada grupo, a partir de estos datos también se calculó el porcentaje de daño gástrico. En el análisis estadístico de los datos para comparar el efecto entre los diferentes grupos de tratamiento, tanto en la valoración del efecto antinociceptivo como del daño gástrico, se hizo un análisis de varianza (ANOVA), seguido de un análisis de comparación de Tukey. En todos los análisis estadísticos se consideró una diferencia estadísticamente significativa cuando  $P < 0.05$ .

## VII. RESULTADOS

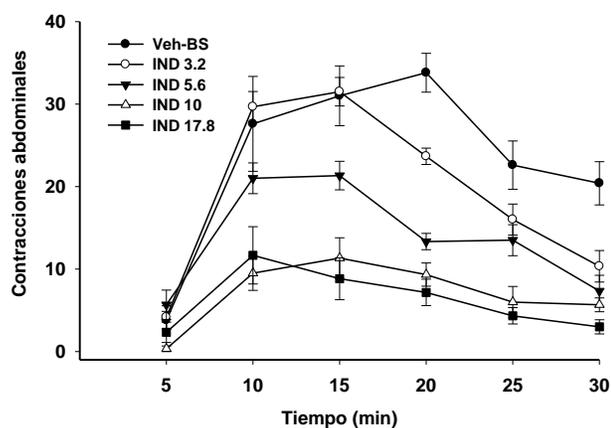
### 7.1 Estandarización del modelo de dolor visceral

Se realizó la administración intraperitoneal de ácido acético 0.6 %, en un volumen de 1 mL/100 g para establecer el modelo de dolor visceral en grupos de ratones CD1 (n=6). Se observaron las contracciones abdominales después de la administración de ácido acético, las cuales se describen anteriormente como estiramiento y contorsiones abdominales, acompañada de un estiramiento exagerado de las patas traseras, éstas contracciones se contaron en un curso temporal de 30 minutos por periodos de 5 minutos: 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 y 25-30. Se determinó que la concentración de ácido acético 0.6 % que se empleó para inducir el dolor visceral en este modelo, fue suficiente para inducir las contracciones abdominales en los roedores, las cuales no se modificaron al administrar el vehículo empleado como control de indometacina y de los análogos indolacéticos, solución de NaHCO<sub>3</sub> al 0.5 % (Veh-BS) y solución de DMSO al 20 % (Veh-DMSO), respectivamente, como se puede observar en las gráficas de las figuras 9, 11 y 13.

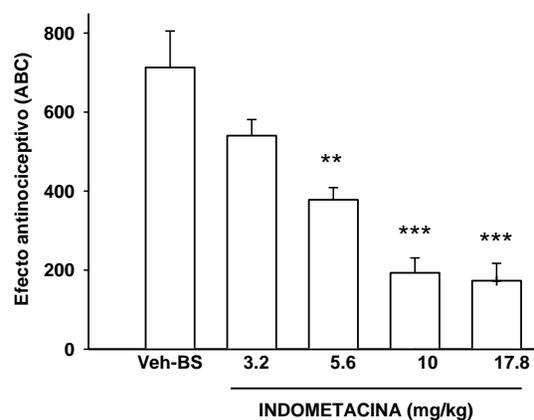
### 7.2 Efecto antinociceptivo de indometacina

En la **Figura 10** se observa el curso temporal durante 30 minutos del efecto antinociceptivo de indometacina (3.2, 5.6, 10 y 17.8 mg/kg), respuesta expresada como el número de contracciones abdominales, utilizando como control Veh-BS, el vehículo de indometacina que presentó el mayor número de contracciones abdominales (27.6±5.7). Así mismo, en esta figura se observa que a partir de los 10 minutos post-administración del ácido acético, el número de contracciones abdominales fue disminuyendo con las dosis de 5.6 10 y 17.8 mg/kg de indometacina (21±1.8, 9.5±2 y 11.6±3.4, respectivamente) con

respecto al control Veh-BS. Se observa un comportamiento dosis-dependiente, ya que conforme se aumenta la dosis de indometacina, se disminuye el número de contracciones abdominales.



**Figura 10. Curso temporal indometacina.** Administración oral de indometacina 3.2-17.8 mg/kg comparado con el grupo control Veh-BS, tras la administración de ácido acético al 0.6 % en el curso temporal de 30 minutos. Los datos representan la media  $\pm$  EE, n=6.



**Figura 11. Curva dosis-respuesta de indometacina.** Área bajo la curva de indometacina 3.2-17.8 mg/kg en el modelo de dolor visceral inducido por ácido acético al 0.6 %, comparado con el grupo control Veh-BS. Las barras representan la media  $\pm$  E, n=6. \*\*P<0.01 y \*\*\*P<0.001 vs Veh-BS, ANOVA de una vía, seguida de prueba de Tukey.

En la **Figura 11** se observa la curva dosis-respuesta de indometacina (3.2, 5.6, 10 y 17.8 mg/kg), expresada como el ABC, calculada a partir de su curso temporal de 30 minutos descrito anteriormente, donde se muestra que con las dosis de 3.2 mg/kg (540.4 $\pm$ 40 u.a.) de indometacina no se observa un efecto antinociceptivo significativo en comparación con el control (Veh-BS), el cual presentó el mayor número de contracciones abdominales (712.9 $\pm$ 92 u.a.). Mientras que con las dosis de 5.6, 10 y 17.8 mg/kg se presentó el menor número de contracciones abdominales (378.3 $\pm$ 30, 193.3 $\pm$ 37 y 173.3 $\pm$ 43 u.a., respectivamente) demostrando un buen efecto antinociceptivo, ya que en el análisis estadístico existe una diferencia significativa de P<0.01 para 5.6 mg/kg y de P<0.001 para 10 y 17.8 mg/kg de indometacina con respecto al control; sin

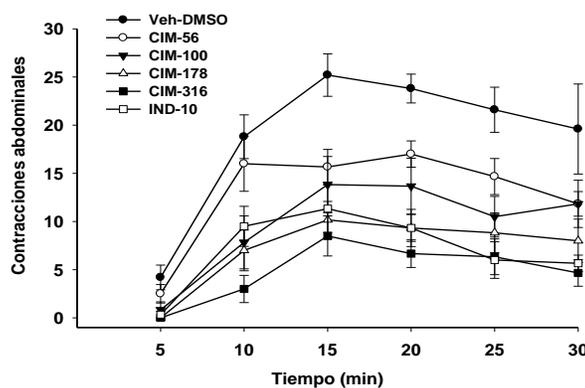
embargo, no se observó diferencia significativa en el efecto de la dosis de 3.2 mg/kg, por lo cual, se decidió emplear la dosis de 10 mg/kg como control para comparar el efecto de los análogos indolacéticos.

### 7.3 Efecto antinociceptivo de 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (CIM)

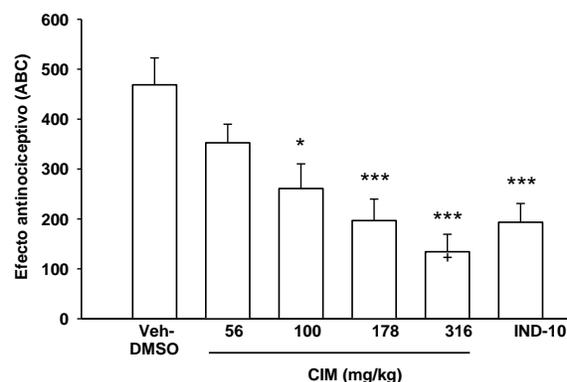
En la **Figura 12** se observa el curso temporal durante 30 minutos del efecto antinociceptivo de CIM (56, 100, 178 y 316 mg/kg), comparado con el fármaco de referencia indometacina (10 mg/kg) y el Veh-DMSO, el cual se empleó como control para CIM, administrados por vía intragástrica. En esta figura, se observa que a partir de los 10 minutos post-administración del ácido acético, el número de contracciones abdominales empezó a disminuir con las dosis de 100, 178 y 316 mg/kg de CIM ( $7.8 \pm 2$ ,  $7.0 \pm 2.1$  y  $3.0 \pm 1.4$ , respectivamente) de forma similar al efecto presentado con indometacina ( $9.5 \pm 2$ ) y con respecto al control Veh-DMSO ( $18.8 \pm 2.2$ ), mientras la dosis mínima empleada de CIM 56 mg/kg ( $16.0 \pm 2.8$ ), disminuyó ligeramente el número de contracciones con respecto a Veh-DMSO, pero no con respecto a indometacina. Así mismo, se observa un comportamiento dependiente de la dosis.

En la **Figura 13** se observa la curva dosis-respuesta de CIM (56, 100, 178 y 316 mg/kg), expresada como el ABC, calculada a partir de su curso temporal durante 30 minutos, donde se demuestra que con las dosis de 56 mg/kg ( $352.5 \pm 37$  u.a.) de CIM, no se observa un efecto antinociceptivo significativo en comparación con el Veh-DMSO, el cual presentó el mayor número de contracciones abdominales ( $468.7 \pm 53$  u.a.). Mientras que con las dosis de 100 y 178 y 316 mg/kg se observó un buen efecto antinociceptivo, ya que en el análisis estadístico existe una diferencia significativa de  $P < 0.05$  para 100 mg/kg ( $260.8 \pm 49$  u.a.) y de  $P < 0.001$  para 178 y 316 mg/kg ( $196.6 \pm 43$  y  $134 \pm 35$  u.a.,

respectivamente) con respecto al control Veh-DMSO. Lo cual demuestra que el efecto antinociceptivo de éste compuesto a dichas dosis fue similar al efecto que presentó indometacina 10 mg/kg ( $193.3 \pm 37$  u.a.), porque no se observó diferencia significativa con este fármaco de referencia.



**Figura 12. Curso temporal del efecto antinociceptivo de CIM.** Administración oral de CIM 56-316 mg/kg comparado con el grupo control Veh-DMSO e indometacina 10 mg/kg, tras la administración de ácido acético al 0.6 % en el curso temporal de 30 minutos. Los datos representan la media  $\pm$  EE, n=6

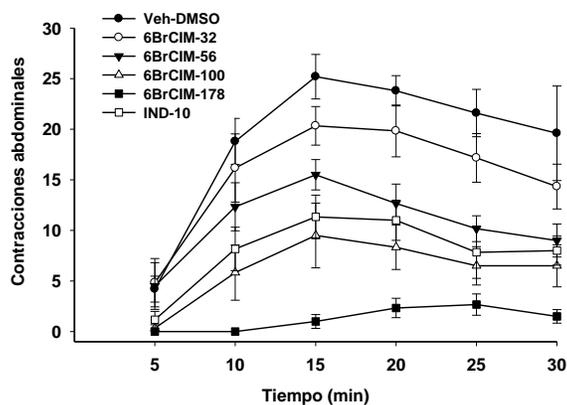


**Figura 13. Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de CIM.** Curva dosis-respuesta en área bajo la curva del efecto antinociceptivo de CIM 56-316 mg/kg en el modelo de dolor visceral inducido por ácido acético al 0.6 %, comparado con el grupo control Veh-DMSO e indometacina 10 mg/kg. Las barras representan la media  $\pm$  E, n=6. \*\*\*P<0.001 vs Veh-DMSO, ANOVA de una vía, seguida de prueba de Tukey.

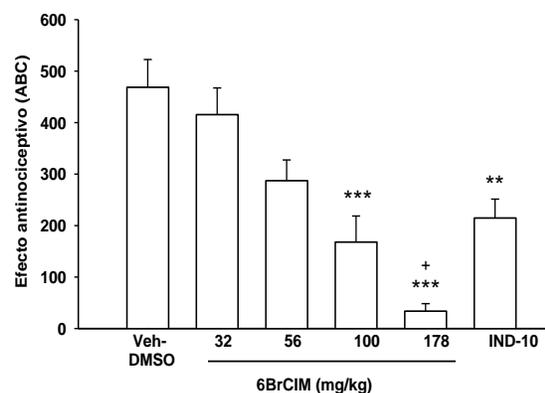
#### 7.4 Efecto antinociceptivo de 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (6BrCIM)

En la **figura 14** se observa el curso temporal del derivado indolacético 6BrCIM, donde se evaluó el efecto antinociceptivo de las dosis de 32, 56, 100, 178 mg/kg, en comparación con el Veh-DMSO e indometacina 10 mg/kg. En dicha figura se puede apreciar que el número de contracciones abdominales empezó a disminuir después de 10 minutos de la administración del ácido acético con las dosis de 6BrCIM 56 y 100 mg/kg ( $12.3 \pm 2$  y  $5.8 \pm 2$ ,

respectivamente), en forma similar al efecto presentado con indometacina 10 mg/kg ( $9.5 \pm 2$ ) y con respecto al control Veh-DMSO ( $18.8 \pm 2$ ), mientras que con la dosis máxima de 6BrCIM 178 mg/kg ( $0 \pm 0$ ), se observó un efecto antinociceptivo mayor al de indometacina, disminuyendo totalmente el número de contracciones abdominales, dicho efecto perduró casi sin cambio durante los 30 minutos del curso temporal. Por otro lado, con la dosis mínima de 6BrCIM 32 mg/kg ( $16.1 \pm 3$ ), sólo se observó una mínima reducción del número de contracciones con respecto a Veh-DMSO. El efecto antinociceptivo de 6BrCIM, también presenta un comportamiento dependiente de la dosis.



**Figura 14. Curso temporal del efecto antinociceptivo de 6BrCIM.** Administración oral de 6BrCIM 32-178 mg/kg comparado con el grupo control Veh-DMSO e indometacina 10 mg/kg, tras la administración de ácido acético al 0.6 %. Los datos representan la media  $\pm$  EE, n=6



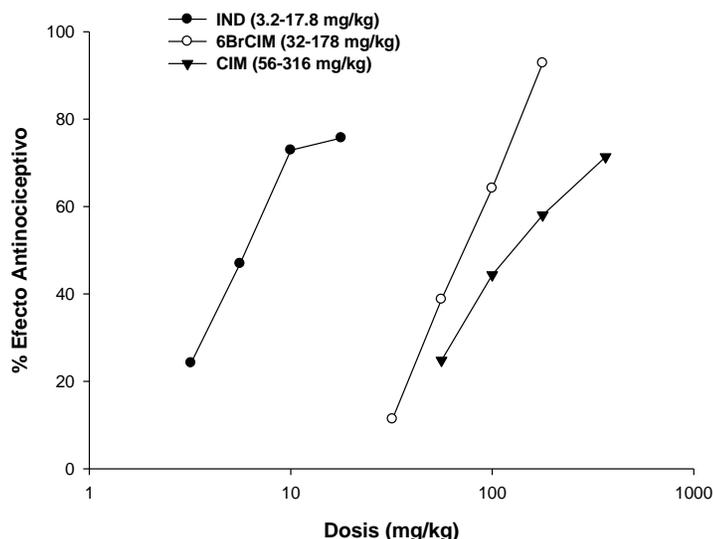
**Figura 15. Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de 6BrCIM.** Curva dosis-respuesta en área bajo la curva del efecto antinociceptivo de 6BrCIM 32-178 mg/kg en el modelo de dolor visceral inducido por ácido acético al 0.6 %, comparado con el grupo control Veh-DMSO e indometacina 10 mg/kg. Las barras representan la media  $\pm$  E, n=6. \*\*\*P<0.001 vs Veh-DMSO, ANOVA de una vía, seguida de prueba de Tukey.

En la **figura 15** se observa la curva dosis-respuesta de 6BrCIM (32, 56, 100, 178 mg/kg), expresada como el ABC, calculada a partir de su curso temporal durante 30 minutos, en la cual se muestra que con las dosis de 6BrCIM 32 y 56 mg/kg ( $415.4 \pm 51$  y  $287.1 \pm 40$  u.a., respectivamente) no se observa un efecto antinociceptivo significativo en comparación con el control

Veh-DMSO, que presentó el mayor número de contracciones abdominales ( $468.7 \pm 53$  u.a.). Con las dosis de 100 y 178 mg/kg ( $167.9 \pm 50$  y  $33.7 \pm 14$  u.a., respectivamente) se demostró un efecto antinociceptivo significativo ( $P < 0.001$ ) con respecto al control Veh-DMSO, incluso el efecto 6BrCIM 178 mg/kg fue significativamente mayor que el efecto de IND-10 ( $193.3 \pm 37$  u.a.).

### 7.5 Dosis Efectiva 50 y potencia relativa de los análogos indolacético CIM y 6BrCIM

En la **Figura 16**, se observa la CDR de los compuestos evaluados, donde se puede apreciar que indometacina es el fármaco más potente con respecto a 6BrCIM y CIM, mientras que el análogo indolacético 6BrCIM es más potente que CIM; lo cual se demuestra con la DE50 calculada para cada compuesto: donde indometacina en este estudio presenta una DE50 de 4.36 mg/kg y los análogos indolacético mostraron una DE50 de 66.06 mg/kg para 6BrCIM y para CIM una DE50 de 77.62 mg/kg.



**Figura 16. Curva Dosis-Respuesta de los compuestos evaluados.** La gráfica muestra en el eje Y, el porcentaje de efecto antinociceptivo de IND 3.2-17.8 mg/kg, de 6BrCIM 32-178 mg/kg y de CIM 56-316 mg/kg, de un grupo de  $n=6$ , indicando la dosis en el eje X en escala logarítmica.

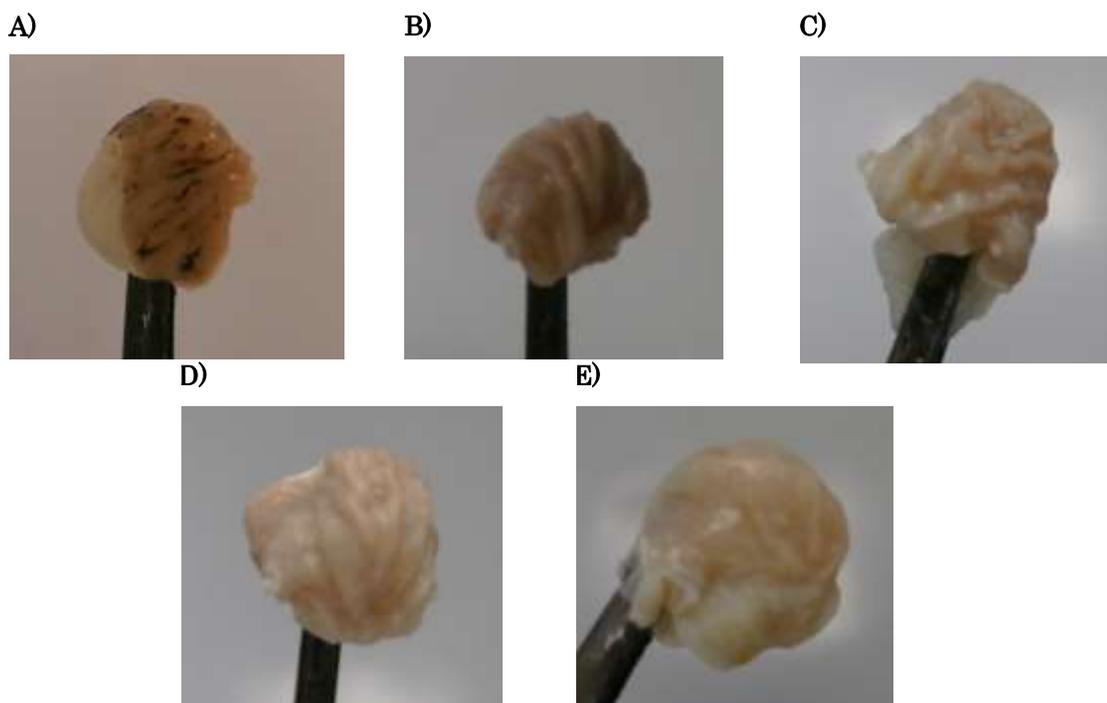
Por otro lado, con respecto a su eficacia, se puede apreciar que 6BrCIM presentó la mayor eficacia antinociceptiva con un porcentaje de 92.80 % de efecto, le siguen en eficacia indometacina con 75.69 % y CIM con 71.36% (Tabla 5).

**Tabla 5. Eficacia de los análogos indolacéticos comparados con indometacina**

<b>Tratamiento</b>	<b>Eficacia (%)</b>
Indometacina (10 mg/kg)	75.69
CIM (316 mg/kg)	71.36
6BrCIM (178 mg/kg)	92.80

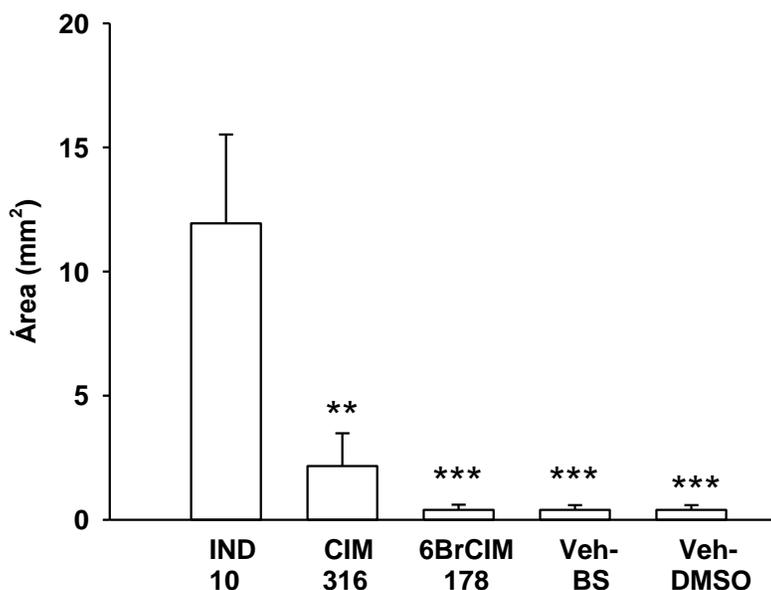
### 7.6 Efecto de los análogos indolacético CIM y 6BrCIM sobre la mucosa gástrica

En la **figura 17** se muestran las imágenes del daño gástrico que produjo IND-10 (A) y cada uno de los derivados indolacéticos: CIM (B) y 6BrCIM (C), comparado con los grupos de vehículo Veh-DMSO (D) y Veh-BS (E). En esta figura se observa que indometacina fue el compuesto que más daño gástrico ocasionó porque se observan en la mucosa zonas café-rojizas, las cuales indican lesiones en el estómago, mientras que los derivados indolacéticos presentaron mínimas lesiones, similares a los grupos de vehículo.



**Figura 17. Efecto de indometacina y de los derivados indolacéticos sobre la mucosa gástrica.** Las imágenes muestran los estómagos de ratón tratados con A) Indometacina (10 mg/kg), B) CIM (316 mg/kg), C) 6BrCIM (178 mg/kg), D) Veh-DMSO y E) Veh-BS.

Como se mencionó anteriormente, el daño gástrico se determinó midiendo el área en  $\text{mm}^2$  de las lesiones ocasionadas sobre la mucosa gástrica como se muestra en la **Figura 18**, donde se observa que indometacina, usado como fármaco de referencia, mostró el mayor número de lesiones gástricas con un área de  $11.93 \pm 3.5 \text{ mm}^2$ , mientras que los derivados indolacéticos CIM y 6BrCIM mostraron un mínimo de lesiones con un área de  $2.16 \pm 1.3 \text{ mm}^2$  y  $0.39 \pm 0.2 \text{ mm}^2$ , respectivamente; similar a los grupos control DMSO al 20 % y  $\text{NaHCO}_3$  al 0.5 %, los cuales mostraron un área de  $0.40 \pm 0.2 \text{ mm}^2$ . El análisis estadístico de estos datos indicó que no hubo diferencia estadística significativa entre los grupos tratados con los análogos indolacéticos y los vehículos, comparado con el grupo de indometacina que sí mostró el mayor daño gástrico ( $P < 0.001$ ).



**Figura 18. Efecto adverso sobre la mucosa gástrica.** El área en mm<sup>2</sup> indica el efecto adverso de daño gastrointestinal inducido por dosis máximas de CIM 316 mg/kg, 6BrCIM 178 mg/kg, comparado con Indometacina 10 mg/kg y los dos vehículos: Veh-DMSO y Veh-BS. Las barras indican la media +EE, n=6. \*\*P<0.01 y \*\*\*P<0.001 vs IND 10 mg/kg, mediante ANOVA de una vía, seguida de prueba de Tukey.

En la **tabla 6** se muestra el porcentaje de daño gástrico obtenido a partir del área de lesiones gástricas de los tratamientos y vehículo. En dicha tabla se observa que el daño gástrico producido por indometacina, usado como fármaco de referencia, representa el 100 % de daño gástrico. El compuesto que produjo menos daño gástrico fue el 6BrCIM con un 3.27 %, en comparación con la indometacina y los controles; mientras que el compuesto CIM, mostró un porcentaje similar al Veh-BS, 18.1 % y 16.50 %, respectivamente.

**Tabla 6. Área total del estómago de ratón que sufrió un daño gástrico**

Tratamiento	Úlceras (mm <sup>2</sup> )	Daño Gástrico (%)
Indometacina (10 mg/kg)	11.93 ±3.5	100
CIM (316 mg/kg)	2.16 ±1.3	18.1
6BrCIM (178 mg/kg)	0.39 ±0.2	3.27
Veh-BS al 0.5 %	0.40 ±0.2	3.35
Veh-DMSO al 20 %	0.40 ±0.2	3.35

## VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 8.1 Modelo de dolor visceral inducido por la administración intraperitoneal de ácido acético

Se obtuvo la curva dosis-respuesta de indometacina a partir del curso temporal del efecto antinociceptivo de indometacina para identificar la dosis empleada para comparar este efecto con el de los dos derivados indolacéticos

En este estudio, se empleó el modelo de dolor visceral o “Writhing” en ratón, que se refiere al estímulo nociceptivo de estructuras viscerales; el cual consiste en la aplicación de una sustancia algógena como el ácido acético en la cavidad peritoneal del ratón (Collier y col., 1968). Este procedimiento provoca una conducta característica de estiramiento abdominal acompañado de hiperextensión de las extremidades inferiores e incluso arqueamiento cóncavo de la espalda. Ésta prueba puede considerarse exclusivamente visceral cuando se utilizan sustancias que producen fuertes contracciones de la musculatura lisa visceral (Laird y col., 2002). Algunos autores, han descrito que esta prueba, es un modelo experimental que se ha empleado para evaluar el grado de analgesia de distintos fármacos, es decir su actividad antinociceptiva, e incluso éste modelo de dolor ha sido de gran utilidad para evaluar el dolor visceral de productos naturales y sintéticos (González y col., 2007; Bhandari y col., 2009).

El dolor visceral es un tipo de dolor común, que en contraste con el dolor somático, los mecanismos neurofisiológicos involucrados en la sensación del dolor visceral no están bien dilucidados, por lo que el manejo clínico de éste tipo de dolor aún está muy limitado. El dolor visceral resulta de la activación de la inervación de nervios aferentes sensoriales de órganos internos; los axones viscerosensoriales son las fibras mielinizadas *A-delta* y las fibras amielínicas *C*.

El tracto gastrointestinal es rico en inervaciones sensoriales, las cuales incluyen neuronas sensoriales intrínsecas que se encuentran en toda la pared gastrointestinal. Las fibras aferentes transmiten la información sensorial desde el tracto gastrointestinal superior al SNC por las vías del nervio vago y esplácnico (Abdel-Salam y col., 2008). Es por esto que el dolor visceral generalmente se siente como un profundo dolor, no tanto como un dolor superficial o cutáneo. Las características del dolor visceral son más bien similares a los síntomas de dolor asociados con el dolor muscular. La mayoría de fibras aferentes viscerales pueden clasificarse como receptores que codifican la intensidad, ya que muestran un bajo umbral del estímulo natural y codifican el estímulo que libera la intensidad inocua o nociva (Foreman, 2004). Algunas de estas fibras aferentes son polimodales, ya que responden a modalidades de estímulos severos, por ejemplo, responden a los estímulos químicos: como la administración de ácido acético, que fue el caso del presente estudio.

La mayor parte de los modelos animales que existen del dolor visceral son técnicamente complejos, requieren cirugía o entubación a través de una víscera hueca; sin embargo, la prueba que se utilizó en este estudio (“Writhing” en ratón) es sencilla, ya que únicamente requiere la administración intraperitoneal de una sustancia algógena (Laird y col., 2002). En este estudio, como se describió en los capítulos anteriores, tras la administración de ácido acético al 0.6 %, se observó que los ratones presentaron contracciones abdominales, acompañadas de estiramientos exagerados de las patas traseras, así como arqueamiento cóncavo de la espalda como lo descrito previamente por varios autores (Bhandari y col., 2009; González y col., 2007), dicha respuesta fue observada durante un periodo de 30 minutos post-administración del ácido acético y no se modificó con la administración previa de las soluciones usadas como vehículo, lo cual indica que el modelo de dolor visceral fue establecido adecuadamente para realizar los ensayos farmacológicos.

## 8.2 Efecto antinociceptivo de indometacina

La indometacina es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo que fue introducido en 1964 y aprobado por la FDA en 1965 para su uso, tiene actividad antipirética y analgésica, ya que inhibe a las enzimas ciclooxigenasa COX-1 y COX-2, las cuales catalizan la formación de prostaglandinas que median el proceso de inflamación; e incluso diferentes estudios sugieren que también tiene acción antinociceptiva a través del sistema opioide endógeno. Al inhibir las ciclooxigenasas, se inhibe la síntesis de prostaglandinas, lo que da como resultado un aumento en la producción de leucotrienos y otros productos de la vía de la lipooxigenasa; estos productos alteran la barrera de la mucosa gastrointestinal por lo que se genera un aumento en la permeabilidad de iones  $H^+$  y  $Na^+$  a la mucosa gástrica, además reducen el potencial de membrana en la mucosa gástrica, por lo tanto, promueven la formación de erosiones y úlceras, lo que constituye el principal efecto adverso sobre la mucosa gastrointestinal. Estos efectos adversos sobre la mucosa gastrointestinal son el resultado del efecto combinado de la irritación causada por los grupos carboxilo libres de los AINE's y el bloqueo de la síntesis de prostaglandinas en el tracto gastrointestinal (Elahi y col., 2009).

Indometacina es ampliamente utilizada en la clínica para el tratamiento del dolor, la inflamación, e incluso se ha empleado en neonatos para el tratamiento del conducto arterioso permeable asintomático, etc. Así mismo, indometacina ha sido empleada en estudios preclínicos como fármaco de referencia para evaluar el efecto antinociceptivo en los modelos de dolor e inflamación (Fernández, 2005).

En este estudio se obtuvo la curva dosis-respuesta de indometacina a partir del curso temporal de su efecto antinociceptivo, donde se observó un

efecto dosis-dependiente, similar a los resultados publicados en la literatura (Fernández, 2005). A partir de ésta curva dosis-respuesta se identificó la dosis de 10 mg/kg de indometacina empleada para comparar este efecto con el efecto antinociceptivo de los dos derivados indolacéticos.

De acuerdo con los estudios realizados sobre la la relación estructura-actividad biológica de indometacina, el efecto antiinflamatorio de este AINE se debe a la presencia de un grupo carboxilo en su estructura, un grupo metoxi en el anillo aromático en posición 5 y un metil en posición 2 del anillo indol, así como la del grupo *para*-clorobenzoilo (Rao, 2005), como se describió en los antecedentes.

### **8.3 Efecto antinociceptivo de 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (CIM) y de 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (6BrCIM)**

Los análogos indolacéticos CIM y 6BrCIM que se evaluaron en este estudio, presentan dentro de su estructura química un anillo indol, como el que presenta en su estructura la indometacina (Feria, 1997). Por tal razón, en el presente estudio se determinó si estos derivados indolacéticos CIM y 6BrCIM producen antinocicepción similar a indometacina, minimizando el efecto adverso de los AINE's a nivel gastrointestinal (Al Mofl-eh y col., 2007; Lee y col., 2009; Moore, 2009).

Al evaluar el efecto de CIM y 6BrCIM en el modelo de dolor visceral en ratón, se observó que ambos compuestos presentan un efecto antinociceptivo significativo comparado con indometacina usado como fármaco de referencia y el control Veh-DMSO. Con respecto a CIM, las dosis que disminuyeron significativamente el número de contracciones abdominales fueron de 100 a 316 mg/kg; en cuanto al 6BrCIM, las dosis que presentaron efecto antinociceptivo

significativo fueron las de 100 y 178 mg/kg. Ambos compuestos mostraron un efecto dependiente de la dosis. Los resultados obtenidos demuestran que los dos derivados indolacéticos: CIM y 6BrCIM son eficaces, dado que disminuyen de manera significativa las contracciones abdominales, desde los primeros 10 minutos después de la administración de la sustancia algógena y la magnitud de dicho efecto inicial permanece casi sin cambios durante todo el curso temporal de 30 minutos.

Al hacer un análisis de lo publicado en la literatura sobre la relación estructura-actividad de los ácidos indolacéticos antiinflamatorios y analgésicos, se puede determinar que no existe una relación estructura-actividad de los derivados indolacético evaluados CIM y 6BrCIM con indometacina; ya que estos compuestos no presentan en su estructura un grupo metoxi en el anillo aromático en posición 5 y un metil en posición 2 en el anillo indol, ni presentan el grupo *para*-clorobenzoilo en el nitrógeno del indol, como la estructura de indometacina. Esto hace pensar que estos análogos indolacéticos serían nuevos prototipos de fármacos que presentan un buen efecto antinociceptivo, a pesar de que no cumplen con las características de relación estructura-actividad de los AINE's análogos de indometacina. Por lo tanto, de acuerdo con estos resultados, se podría decir que CIM y 6BrCIM son nuevos compuestos antinociceptivos diferentes a indometacina, que pudieran ser útiles para el tratamiento del dolor.

#### **8.4 Dosis Efectiva 50 y potencia relativa de CIM y 6BrCIM**

De acuerdo con los resultados encontrados con respecto a la eficacia de los derivados indolacético evaluados CIM y 6BrCIM, se observó que ambos compuestos son eficaces comparados con indometacina, la cual fue usada como fármaco de referencia. Sin embargo, indometacina fue menos eficaz que el

compuesto 6BrCIM, debido a que el incremento de la dosis de indometacina de 10 a 17.8 mg/kg, no incrementó su eficacia como se demuestra en la **Figura 16**. El compuesto CIM presentó una eficacia de magnitud similar a indometacina, mientras que 6BrCIM mostró casi un 100% de efecto antinociceptivo con la dosis máxima empleada (178 mg/kg). Estos compuestos CIM y 6BrCIM tienen en su estructura química un anillo indol similar a indometacina y grupos carboxilo del éster malónico, sin embargo, no guarda una relación estructura-actividad, como se discutió anteriormente.

Por otro lado, en cuanto a la potencia relativa de estos compuestos evaluados, se puede decir que indometacina es más potente que ambos análogos indolacéticos, debido a que con dosis menores de 10 mg/kg puede producir un efecto antinociceptivo, mientras que los compuestos 6BrCIM y CIM requieren de dosis mayores de 100 mg/kg para producir el mismo efecto. Los resultados también demuestran que 6BrCIM es más potente que CIM porque para producir el mismo efecto antinociceptivo se requiere una dosis de 100 mg/kg de 6BrCIM y de CIM se necesita una dosis de 178 mg/kg.

Por lo tanto, indometacina es más potente pero menos eficaz que los análogos indolacéticos evaluados en estas condiciones experimentales. El compuesto 6BrCIM resultó ser el compuesto más eficaz y más potente que el análogo CIM. El hecho de que 6BrCIM sea más potente y eficaz que CIM se debe a la presencia del bromo en posición 6 del anillo indol de 6BrCIM, ya que esa es la única diferencia estructural con CIM, aunque para explicar este incremento de la eficacia y potencia, se requiere hacer una búsqueda de información o hacer otros estudios sobre el efecto que pudiera causar la presencia del sustituyente de bromo en el anillo aromático del indol de este compuesto, pero el análisis de dicha diferencia estructural no fue contemplado en este estudio.

### 8.5 Efecto del daño gástrico de 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (CIM) y 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (6BrCIM)

Como se menciona anteriormente, la indometacina, es un agente antiinflamatorio que produce principalmente sus efectos farmacológicos a través de la inhibición de las ciclooxigenasas COX-1 y COX-2, pero la indometacina muestra mayor afinidad por inhibir la COX-1, que es la enzima responsable de la producción de prostaglandinas citoprotectoras en el tracto gastrointestinal. La inhibición de ésta enzima conlleva a una toxicidad gastrointestinal que incluye la irritación gastrointestinal, sangrado y ulceración (Vashist y col., 2010). El estudio histológico de las úlceras producidas por indometacina indica que éstas se localizan fundamentalmente a nivel de la capa mucosa y en los bordes de la lesión, concretamente en la submucosa próxima, puede observarse la inducción de la proteína COX-2, fácilmente correlacionable con el infiltrado inflamatorio presente (Wallace y col., 2000).

Se pudiera pensar que estos derivados indolacéticos pudieran tener como mecanismo de acción inhibir las isoenzimas COX-1 y/o COX-2; sin embargo, al realizar la evaluación del daño gástrico se observó que estos compuestos presentaron un menor daño considerable en comparación con indometacina, siendo 6BrCIM, el compuesto que menos daño gástrico produjo. Por lo tanto, se puede decir que los derivados indolacéticos CIM y 6BrCIM presentan un buen efecto antinociceptivo, disminuyendo significativamente el efecto adverso sobre la mucosa gástrica. En base a este resultado se pudiera especular que éstos compuestos pueden actuar inhibiendo de manera selectiva la COX-2, debido a que la inhibición selectiva de COX-2 se ha asociado con una disminución significativa en la formación de erosiones gástricas, como las que se presentan tanto en animales como en humanos con los AINE's

convencionales, como indometacina (Wallace y col., 2000). Sin embargo, el efecto de los analgésicos no sólo es vía inhibición de ciclooxigenasas, entonces también pudiera ser que estos análogos indolacéticos no causen daño gástrico porque no actúan por esta vía, por lo tanto, será necesario hacer estudios preclínicos farmacodinámicos para determinar el mecanismo de acción de estos análogos indolacéticos.

## IX. CONCLUSIONES

En este estudio se evaluó el efecto antinociceptivo de los derivados indolacéticos: 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (CIM) y 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (6BrCIM), en un modelo de dolor visceral en ratón, en dosis de 56, 100, 178 y 316 mg/kg para CIM, y de 32, 56, 100 y 178 mg/kg para 6BrCIM, administrados vía intragástrica. Ambos compuestos poseen efecto antinociceptivo de tipo dosis-dependiente comparado con indometacina como fármaco de referencia y el control de Veh-DMSO. Se demostró que indometacina es más potente que los análogos indolacéticos, pero es menos eficaz que 6BrCIM. Así mismo, en este estudio se evidenció que ambos análogos indolacéticos no inducen daño gástrico en comparación con indometacina (10 mg/kg), aún empleando las dosis máximas de CIM (316 mg/kg) y de 6BrCIM (178 mg/kg). El compuesto 6BrCIM presentó mayor efecto antinociceptivo con el menor efecto adverso sobre la mucosa gástrica. Estos resultados comprueban la hipótesis propuesta al inicio de este estudio. Con respecto a la relación estructura-actividad de indometacina con los compuestos CIM y 6BrCIM, es evidente que no existe dicha relación estructura-actividad, por lo antes descrito, lo que indica que se trata de nuevas estructuras químicas, diferentes a indometacina, que presentan eficacia antinociceptiva sin causar daño gástrico.

En conclusión, estos derivados indolacéticos CIM y 6BrCIM, pudieran ser de gran utilidad en el manejo del dolor, debido a que, son eficaces y no causan efecto adverso sobre la mucosa gástrica de acuerdo con los datos obtenidos. Por lo tanto, es importante continuar evaluando estos compuestos en la fase preclínica, para contribuir en la búsqueda de nuevos analgésicos seguros y eficaces, y determinar si pueden ser empleados en la clínica para mejorar la terapia farmacológica de los pacientes con dolor.

## X. RECOMENDACIONES

Debido a que en este estudio se demostró la eficacia antinociceptiva de los análogos de indolacéticos: 1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (CIM) y 6-bromo-1-carbometoxi-3-indolilmalonato de metilo (6BrCIM), en un modelo de dolor visceral, se recomienda realizar otros estudios preclínicos para determinar la eficacia de estos compuestos en otros modelos de dolor y determinar su posible mecanismo de acción.

Además, sería conveniente realizar cambios en la estructura química de estos compuestos, agregando el grupo *para*-clorobenzoilo similar al que se encuentra en los compuestos ácidos indolacéticos derivados de indometacina, para determinar si con dichos cambios se pudiera incrementar el efecto antinociceptivo de estos compuestos.

Así mismo, es necesario realizar las pruebas toxicológicas para determinar DL<sub>50</sub>, toxicidad aguda y crónica, y hacer pruebas de hemato, neuro y nefrotoxicidad, mutagénesis, teratogénesis, entre otras; ya que estos derivados indolacéticos pueden considerarse, de acuerdo a las evaluaciones realizadas en este estudio, como nuevos prototipos de fármacos analgésicos para el tratamiento del dolor, porque a pesar de que no guardan una relación estructura-actividad con indometacina, sí presentan un buen efecto antinociceptivo, minimizando los efectos adversos.

## X. BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Salam OME y Baiuomy AR. Citric acid strongly inhibits visceral pain response in mice. *EXCLI Journal*. 2008; 7: 93-103.

Al-Chaer ED y Traub RJ. Biological basis of visceral pain: recent developments. *Pain*. 2002; 96: 221-225.

Al Mofl-eh AI y Al Rashed RS. Nonsteroidal, Antiinflammatory Drug-Induced Gastrointestinal Injuries and Related Adverse Reactions: Epidemiology, Pathogenesis and Management. *Saudi J Gastroenterol*. 2007; 13:107-13.

Aluja AS. Animales de laboratorio y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). *Gac Med Mex*. 2002; 138: 295-298.

Alvarez Y y Farré M. Farmacología de los opioides. *Adicciones* 2005; 2: 21-40.

Armero P, Muriel C, Santos J, Sánchez-Montero FJ, Rodríguez RE y González-Sarmiento R. Bases Genéticas del Dolor. *Rev Soc Esp Dolor*. 2004; 11: 444-451.

Ashburn MA y Lipman AG. Pain in Society. En: Lipman, A. G. *Pain Management for Primary Care Clinicians*. U. S. A: American Society of Health-System Pharmacists 2004: 1-11.

Bachar SC y Lahir SC. Synthesis of chloro and bromo substituted 5-(indan-1'-yl) tetrazoles and 5-(indan-1'-yl) methyltetrazoles as possible analgesic agents. *Pharmazie*. 2004; 59: 435-438.

Bhandari SV, Dangre SC, Bothara KG, Patil AA, Sarkate AP, Lokwani DK, Gore ST, Deshmane BJ, Raparti VT y Khachane CV. Design, sintesis and pharmacolginal screening of novel nitric oxide donors containing 1,5-diarylpyrazolin-3-one as nontoxic NSAIDs. *Eur J Med Chem*. 2009; 44: 4622-4636.

Baptista GHA. Sangrado intestinal asociado al empleo de los inhibidores de la cox-2 (coxib-2). *Med Sur*. 2000; 7: 102-105.

Bjorkman JD. Current Status of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug (NSAID) Use in the United States: Risk Factors and Frequency of Complications. *Am J Med.* 1999;107: 3S-10S.

Brooks P. Use and Benefits of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. *Am J Med.* 1998; 107: 9S-13S.

Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron.* 2006; 52: 77-92.

Campos MS. Dolor. Un enfoque fisiopatológico, biomolecular y terapéutico. *Rev Ecuat Pediatr.* 2006; 5:37-40.

Cohen MH, Law-Yone B y Lu Sunan. Poppy to Fugu. A historical perspective of the treatment of opiate addiction in China. *J C M Journal.* 2002; 68: 15-20.

Collier HOJ, Dinneen LC, Johnson CA y Schneider C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br. J. Pharmac. Chemother.* 1968; 32: 295-310.

Costigan M, Scholz J y Woolf CJ. Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of the Nervous System to Damage. *Annu Rev Neurosci.* 2009; 32: 1-32.

Dagnino SJ y González AA. Analgésicos narcóticos. Pontificia Universidad Católica de Chile. *Boletín Esc de Medicina* 1994; 3: 159-163.

Elahi M, Inayat Q, Wazir F y Huma Z. Adaptation of rat gastric mucosa exposed to indomethacin: A histological study. *Gomal Journal of Medical Sciences.* 2009; 7: 143-148.

Farquhar-Smith WP. Anatomy, physiology and pharmacology of pain 2007. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine.* 2007; 9: 3-7.

Feria M. Fármacos analgésicos-antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos. Antiartríticos. En: Flores, J. *Farmacología Humana.* 3ª. ed. Barcelona, España: Masson, S. A.; 1997.

Fernández BP, Núñez FY, Fernández AS, Hernández CI, González SLM, Iser VY, Olivera CM. Efecto analgésico del extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. [en línea ISSN 1028-4796] Rev Cubana Plant Med. 2005; 1.

Fields HL y Martin JB. Manifestaciones principales y presentación de las enfermedades. Dolor. En: Fauci AS y cols. Principios de Medicina Interna. 14a. ed. USA: McGraw-Hill Interamericana; 1998.

Foreman RD. Mechanisms of visceral pain: from nociception to targets. Drug Discov Today Dis Mech. 2004; 1: 457-463.

García-Hernández L, Déciga CM, Guervara LU, López MFJ. Co-administration of rofecoxib and tramadol results in additive or sub-additive interaction during arthritic nociception in rat. Pharmacol Biochem Behav. 2007; 87: 331-340.

Gibert J. Antidepresivos, Dolor y Cáncer. Psicooncología. 2006; 1: 107-120.

Gomezese ROF y González OHL. Dolor: una mirada introductoria. MEDUNAB. 2001; 4:1-6.

Gómez PJ, Campos SA, Guevara LU, De Lille FR y Martínez EM. Analgesia Preventiva en un modelo experimental de dolor visceral. Rev Mex Anest 1999; 22: 116-121.

González-Trujano ME, Peña EI, Martínez AL, Moreno J, Guevara FP, Déciga CM y López MFJ. Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. J Ethnopharmacol. 2007; 111: 476-482.

Gordillo V, Ramírez BA, Solís VG, Bautista SS, Kassian RA. Causas de dolor crónico en la Clínica del Dolor del Hospital General de México. Dol Clin Ter. 2004; II: 15-23.

Hernández DS y García RL. Epidemiologic Assessment of the Safety of Conventional Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. Am J Med. 2001; 110: 20S-27S.

Huerta-Cruz JC. Determinación de la importancia antinociceptiva en dolor intenso de la asociación de inhibidores preferentemente selectivos COX-2 y un opioide. [Tesis de Maestría]. CINVESTAV-IPN. México, DF; 2005, 7, 14-24, 63-64 y 128 p.

Jones R. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Prescribing: Past, Present, and Future. *Am J Med.* 2001; 110: 4S-7S.

Julius D y Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature.* 2001; 413: 203-210.

Kanner R. Definiciones. En: *Secretos del Tratamiento de Dolor.* USA: McGraw-Hill Interamericana 1998: 1-5.

Laird JMA, Martínez CL, García NE y Cervero F. Un nuevo modelo de dolor visceral e hiperalgesia referida en el ratón. *Rev Soc Esp Dolor.* 2002; 9: 291-300.

Lee BS, Yuan X, Xu Q, McLafferty SF, Petersen AB, Collette CJ, Black LK, Yu SJ. Stimuli-responsive antioxidant nanoprodrugs of NSAIDs. *Int J Pharm.* 2009; 372: 112-124.

López A. Antiinflamatorios no esteroideos y efectos adversos gastrointestinales. Un problema sin resolver. *An Sist Sanit Navar.* 1999; 22 .

López MFJ y Granados V. Emplear o no fármacos para el alivio del dolor. *Avance y Perspectiva.* 2003; 22: 219-225.

Marchand F, Perreti M, McMahon SB. Role of the immune system in chronic pain. *Nat Rev Neuroscience* 2005; 6: 521-532.

Marcotegui RF. Uso racional de Antiinflamatorios No Esteroideos. De la teoría a la práctica. *Boletín de Información Farmacoterapéutica de Navarra.* 1998; 6.

Mendoza-Patiño N. *Farmacología Médica.* México: Editorial Panamericana, 2008.

Micó JA y Ortega AA. Modelos animales de dolor. *Reumatol Clin.* 2006; 2 Supl 1: S2-4.

Moalem G y Tracey DJ. Immune and inflammatory mechanisms in neuropathic pain. *Brain Res Rev.* 2006; 51: 240-264.

Moore ND. In search of an ideal analgesic for common acute pain. *Acute Pain.* 2009; 11: 129-137.

Morales RM, Santos SN, Suárez CO y Joseph NP. Aromatic bromination versus oxidation of indolylmalonates by Bromine. *J Org Chem.* 2003; 68: 305-311.

Moskowitz WR, Abramson BS, Berenbaum F, Simon SL y Hochberg M. Coxibs and NSAIDs-Is the air any clearer? Perspectives from the OARSI/International COX-2 Study Group Workshop 2007. *OsteoArthritis and Cartilage.* 2007; 15: 849-856.

Nogrody T y Weaver FD. *Medicinal Chemistry: A molecular and biochemical approach.* 3ª. edición. Londres. Oxford University Press; 2005.

Ortega A, Roca A y Micó JA. Modelos animales de dolor. Una visión crítica. *Rev Soc Esp Dolor.* 2002; 9:447-453.

Paris, PM y Stewart RD. *Tratamiento del dolor en Medicina de Urgencias. USA: El Manual Moderno;* 1990: 1-157.

Perena MJ, Perena MF, Royo R y Romera E. Neuroanatomía del Dolor. *Rev Soc Esp Dolor.* 2000; 7: 11-17.

Pérez CJ, Abejón D, Ortiz JR y Pérez JR. El dolor y su tratamiento a través de la historia. *Rev Soc Esp Dolor.* 2005; 12: 373-384.

Pérez, RAO; Cartaya PL, Valencia FV, Sanjurjo GV e Ilisástigui OT. Biosíntesis de los productos del ácido araquidónico y su repercusión sobre la inflamación. *Rev Cubana Estomatol.* 1998; 35: 56-61.

Portenoy R. Current pharmacotherapy of chronic pain. *J Pain Symptom Manage.* 2000; 19: S16-S20.

Rao NR. Principles of Organic Medicinal Chemistry. New Delhi. New Age International Limited Publisher; 2005.

Reichert JA, Daughters RS, Rivard R y Simone DA. Antinocicepción opiácea periférica y preventiva en un modelo de dolor visceral en ratón. Rev Soc Esp Dolor. 2002; 9: 423-431.

Romera E, Perena MJ, Perena MF y Rodrigo MD. Neurofisiología del Dolor. Rev Soc Esp Dolor. 2000; 7 Supl II: 5-10.

Sánchez BM, Caballero FF, Capriles HA y González AL. Hypersensitivity Reactions to Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: An Update. Pharmaceuticals. 2010; 3: 10-18.

Scholz J y Woolf CJ. Can we conquer the pain? Nature Neuroscience Supplement. 2002; 5: 1062-1067.

Stein C, Schäfer M y Machelska H. Attacking pain at its source: new perspectives on opioids. Nature Medicine. 2003 ; 8: 1003-1008.

Torpy JM. Tratamiento del Dolor. JAMA. 2003; 290: 2504.

Torregrosa ZS. Mecanismos y Vías del dolor. Pontificia Universidad Católica de Chile. Boletín Esc de Medicina. 1994: 3.

Trescot AM, Datta S, Lee M y Hansen H. Opioid Pharmacolgy. Pain Physician 2008; 11:S133-S153.

Vane JR, Bakhle YS y Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 1998; 38: 97-120.

Vane JR y Botting MR. Mechanism of Action of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. Am J Med. 1998; 104: 2S-8S.

Vallejo M y Ruiz F. Aspectos Básicos de la Farmacología Clínica de los Analgésicos Opioides. Opioides en la Práctica Médica. ACED. Bogotá, Colombia, 2009: 1-18.

Vashist N, Singh J y Pathak PD. Analgesic, anti-inflammatory and antiulcer activity of nitric oxide releasing ester derivatives of indomethacin. *Indian J Physiol Pharmacol.* 2010; 54: 277-283.

Villarejo DM, Murillo ZJR y Alvarado HH. Farmacología de los Agonistas y Antagonistas de los Receptores Opioides. *Educ Invest Clin* 2000; 2: 106-137.

Vladislavovna DS, Torres-Arreola LP, Reyes-Morales H. Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos en la terapia del dolor. Orientación para su uso en el primer nivel de atención. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2006; 44: 565-572.

Wallace LJ, McKnight W, Reuter KB y Vergnolle N. NSAID-Induced Gastric Damage in Rats : Requirement for Inhibition of Both Cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology.* 2000; 119: 706-714.

Wermuth GC. *The Practice of Medicinal Chemistry.* London. Elsevier's Science and Technology Rights Department in Oxford, 2003.

Windelmayer WC, Waikar SS, Mogun H y Solomon DH. Nonselective and Cyclooxygenase-2-Selective NSAIDs and Acute Kidney Injury. *Am J Med.* 2008; 121: 1092-1098.

Woolf CJ. Pain: Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management. *Ann Intern Med.* 2004; 140: 441-451.

Zimmermann M. Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals. *Pain.* 1983; 16: 109-110.