

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE RUTINA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DE₅₀ EN 2 MODELOS PRECLÍNICOS.

Rangel Velázquez Joceline Estefanía (1), Zapata Morales Juan Ramón (2), Alonso Contreras Ángel Josabad (3)

1 [Lic. Químico Farmacéutico Biólogo] | [je.rangelvelazquez@ugto.mx]

2 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | [juan.zapata@ugto.mx]

3 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | [angeljosabad@ugto.mx]

Resumen

El dolor es una sensación no placentera asociada a diversas patologías, su tratamiento consiste básicamente en analgésicos antiinflamatorios de tipo no esteroideo y de tipo opioide, sin embargo estos presentan efectos colaterales que pueden ser graves. La Rutina, es un flavonoide, extraído principalmente de la planta *Ruta graveolens*, la cual es utilizada para el tratamiento de dolor e inflamación.

En el presente proyecto, con la finalidad de obtener la dosis efectiva 50 (DE₅₀) se evaluó la actividad antinociceptiva de Rutina (vía oral) en las pruebas preclínicas de ácido acético y formalina.

Rutina muestra tener efectos en ambas pruebas produciendo un efecto antinociceptivo del 77.77% en la prueba del ácido acético, mientras que en la prueba de formalina en las fases 1 y 2 tiene un efecto del 54.88% y 60.13%, respectivamente. La DE₅₀ calculada para Rutina en el modelo de ácido acético fue de 11.23 mg/Kg mientras que para el modelo de formalina se obtuvo una DE₅₀ 26.03 mg/Kg.

Abstract

Pain is an unpleasant feeling associated with various diseases, treatment is basically analgesics nonsteroidal anti-inflammatory drugs and opioid-like type, but these have side effects that can be severe. Rutin is a bioflavonoid based around *Ruta graveolens*, which is used to treat pain and inflammation.

In this project, in order to obtain the effective dose (ED₅₀) the antinociceptive activity Rutin (oral) in preclinical testing of acetic acid and formalin was evaluated.

Rutin shown to have effects in both tests produce an antinociceptive effect in the test 77.77% of acetic acid, while in the formalin test phases 1 and 2 has an effect of 54.88% and 60.13% respectively. Rutin ED₅₀ calculated for the acetic acid model of 11.23 mg / kg where as for the formalin model is an ED₅₀ 26.3 mg / kg obtained.

Palabras Clave

1; Antinocicepción 2; Rutina; 3; Naproxeno 4; Ac. acético 5; Formalina

INTRODUCCIÓN

El dolor se define como una sensación no placentera asociada con una parte específica del cuerpo, donde se involucran procesos que dañan o son capaces de dañar los tejidos. [1]

Es un signo y síntoma de enfermedad, también es el principal motivo por el cual lleva al paciente a consultar al médico. La función del sistema de percepción es proteger al cuerpo y conservar la homeostasis.

La clasificación del dolor puede ser en función del tiempo, dicha clasificación lo divide en dos tipos dependiendo la duración del síntoma según se describe a continuación: a) el dolor agudo (corta duración) que se manifiesta de manera inmediata por la activación de los nociceptores teniendo una función de protección biológica y b) el dolor crónico que es persistente y puede durar por tiempos prolongados después de una lesión, carece de protección biológica. [3]

Para que se pueda detectar el síntoma del dolor es necesario un proceso que involucra el estímulo nocivo o noxa que debe ser detectado por receptores sensoriales específicos denominados nociceptores, causando una reacción inmediata de alarma, en algunos casos puede dar como resultado un proceso inflamatorio o neuropático. [4].

Para el tratamiento del dolor se utiliza básicamente fármacos opioides que actúan a nivel del sistema nervioso central por medio de los receptores μ y analgésicos antiinflamatorios de tipo no esteroideo (AINEs) los cuales inhiben a la ciclooxigenasa (COX1 y COX2), sin embargo estos dos tipos de fármacos producen efectos colaterales como síndromes de dependencia para los opioides, mientras que los AINEs pueden ocasionar úlceras gástricas o hemorragias digestivas [5]. Por tal motivo es de gran importancia seguir con la búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento del dolor con igual o mejor efectividad que los fármacos convencionales pero sin daños asociados a su administración. Una fuente importante de moléculas con actividad antinociceptiva y antiinflamatoria son las plantas. [6]

La rutina forma parte de la familia de los flavonoides, formado por quercetina y rutinosa, está presente en numerosas especies vegetales, fue

obtenido por primera vez a partir de *Ruta graveolens*, puede ser aislada de plantas del género *Rheum* y *Asparagus*, así como de algunos cítricos. [7]

La rutina es utilizada tradicionalmente como analgésico, antiinflamatorio, antiespasmódico, antiparasitario, ansiolítico, para el tratamiento de enfermedades vasculares como insuficiencia venosa crónica, trombosis, venas varicosas, entre otras. [8]

Dado que el dolor es asociado a diferentes patologías, reduciendo la calidad de vida de los pacientes y ocasionando fuertes gastos directos e indirectos a los pacientes y a los sistemas de salud pública en México, además de los efectos colaterales que producen los tratamientos actuales. Es necesario buscar nuevas alternativas que nos permitan tener un mejor tratamiento, uno de ellos es a base combinaciones entre AINEs y opioides donde se utilizan menores dosis y se obtiene igual efecto analgésico, además otra alternativa poco estudiada es la búsqueda de nuevas moléculas con efecto analgésico a partir de plantas y la combinación con fármacos que se utilizan actualmente para el tratamiento del dolor, por lo cual el objetivo de este proyecto es evaluar el efecto antinociceptivo de Rutina en 2 modelos de inducción de nocicepción: modelo del ácido acético y el modelo de la formalina, y así obtener la DE_{50} de rutina, dichos resultados nos servirán para en un futuro realizar evaluaciones de interacción farmacológica entre rutina y naproxeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva de Rutina se utilizaron ratones Balb/c macho con un peso de entre 25-30 gramos, de 4 a 6 semanas de edad. Los animales se mantuvieron en condiciones controladas de acuerdo a la norma mexicana NOM 062-ZOO-1999.

Actividad antinociceptiva

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva de Rutina se utilizó el modelo de Ácido acético y el modelo de la Formalina.

Prueba de Ácido Acético

La prueba consiste en la inducción de contorsiones abdominales mediante la inyección de ácido acético (AcH) al 1 % por vía i.p., después de la administración de AcH se contó el número de contorsiones durante 30 min en los diferentes grupos. [9] Rutina se administró a grupos de 6 ratones, en dosis de 10, 25, 50, 100 mg/Kg p.o., 60 min antes de la inyección de AcH y Naproxeno como control positivo en dosis de 100 mg/Kg.

Prueba de Formalina

En esta prueba se lleva a cabo con la administración de formalina al 3% en la almohadilla de la pata derecha del ratón. En esta prueba se distinguen dos fases: Fase 1 indicativa de dolor neurogénico (0 a 15 min) y Fase 2, indicativa de dolor de tipo inflamatorio (15 a 30 min) después de la administración de la formalina. Se midió con un cronómetro el tiempo acumulado en segundos durante el cual el animal se lame la pata. Rutina se administró a grupos de 6 ratones en dosis de 5, 50, 100 mg/Kg p.o., 60 min antes de la inyección de la formalina, y Naproxeno como control positivo en dosis de 100 mg/Kg.

Por último se determinó el porcentaje de antinocicepción en los grupos tratados con Rutina y Naproxeno en los 2 modelos de dolor. Una vez obtenido los resultados del efecto antinociceptivo, se hicieron curvas dosis-efecto de rutina en cada

modelo y se obtuvo los valores de la DE₅₀ experimental.

Análisis estadístico

Los datos se presentan como la media \pm EEM (error estándar de la media). El análisis se realizó empleando ANOVA de una vía seguida de la prueba de Dunnett.

La diferencia entre los tratamientos se estableció con $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la prueba del ácido acético se encontró una inhibición del 77.77 % a la dosis de 100 mg/Kg, efecto similar al producido por naproxeno, mientras que con las dosis de 10, 25 y 50 mg/Kg se obtuvo un efecto antinociceptivo alrededor del 60% (**Tabla 1**). En la prueba de la formalina, rutina utilizada a 100 mg/Kg, mostró un efecto antinociceptivo del 60.13 %, mientras que con las dosis de 5 y 50 mg/Kg el efecto encontrado fue de 22.91% y 28.36 % respectivamente (**Tabla 2**).

La DE₅₀ para rutina en el modelo de ácido acético fue de 11.23 mg/Kg y en el modelo de la formalina fue de 26.03 mg/Kg.

Tabla 1. Evaluación del efecto antinociceptivo de Rutina en la prueba del Ácido acético. *P < 0.05 vs control (AcH).

Grupo	Dosis (mg/Kg)	No. Contorsiones	Antinocicepción (%)
Control (AcH)	-	45 \pm 3.34	-
Rutina	10	16 \pm 4.61*	64.44
	25	18 \pm 5.20*	60.00
	50	17 \pm 2.30*	62.22
	100	10 \pm 2.12*	77.77
Naproxeno	100	10 \pm 0.82*	77.77

Tabla 2. Evaluación del efecto antinociceptivo de Rutina en la prueba de Formalina. *P < 0.05 vs control (Formalina; CH₂O).

		Tiempo de lamidas (seg)		

Grupo	Dosis (mg/Kg)	Fase 1	Fase 2	Antinocicepción (%) F1	Antinocicepción (%) F2
Control (CH₂O)		43 ± 3.49	106.37 ± 19.78	-	-
Rutina	5	44.6 ± 8.34	82 ± 9.27	-	22.91
	50	19.4 ± 2.95*	76.2 ± 16.14	54.88	28.36
	100	29.2 ± 6.03	42.4 ± 12.36*	32.09	60.13
Naproxeno	100	15.33 ± 4.06*	29.66 ± 10.77*	64.34	72.11

CONCLUSIONES

En este estudio se evaluó el efecto antinociceptivo de rutina, un flavonoide extraído de diversas plantas y/o frutos y que se le atribuye actividad de tipo analgésica y antiinflamatoria. En las 2 pruebas utilizadas, rutina mostró efectos antinociceptivos.

En la prueba del ácido acético, a dosis de 100 mg/Kg de rutina encontró un efecto antinociceptivo similar al de naproxeno 100mg/Kg (77%).

En la prueba de la formalina, rutina mostró efecto antinociceptivo en la fase 1, esta fase se describe como un dolor de tipo neurogénico, además el efecto antinociceptivo también se presentó en la fase 2 o antiinflamatoria, este efecto se presentó en todas las dosis utilizadas de rutina.

Para la primera fase del proyecto se tenía considerado obtener la DE₅₀ para rutina en cada modelo preclínico utilizado para inducir la nocicepción, obteniendo que para el modelo de ácido acético se determinó una DE₅₀ de 11.26 mg/Kg mientras que para el modelo de formalina se determinó una dosis de 26.03 mg/Kg.

Para la segunda fase del proyecto se determinará la DE₅₀ para el naproxeno y posteriormente se realizará otra curva de dosis-respuesta basada en las combinaciones de la DE₅₀ de ambos fármacos en proporciones fijas y diluciones subsecuentes, y mediante un análisis isoblográfico se determinará el tipo y grado de interacción farmacodinamia que presentan.

AGRADECIMIENTOS

Al señor Juan Pedro Galván encargado del Bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas, por su apoyo técnico en la realización del presente proyecto.

REFERENCIAS

- [1] Tood W. Vanderah, PhD. (2007) Pathophysiology of Pain, Med Clin, 91. 1-12.
- [2] Melzack R, Katz J. (2006) Pain assessment in adult patients. In: Wall PD, Melzack R, editors. Textbook of pain. 5th edition. Edinburgh, UK: Elsevier Churchill Livingstone. 291304.
- [3] Garrido B., Bosch F., Hernández I., Delgado R., (2007). Pain animal models, Rev. Soc. Esp. Dolor 14. 296-306.
- [4] Guyton AC. (1991) Somatic sensations. II. Pain, headache, and thermal sensations. In: Guyton AC, editor. Textbook of medical physiology. 8th edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 520.
- [5] Katzung G.B., Masters B.S., Trevor J.A., (2013). Farmacología Básica y Clínica, (12ª Ed.) México, McGraw-Hill Lance.
- [6] Calixto JB (2000): Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). Brazilian J Med Biol Res 33: 179–189.
- [7] Ensminger H.A, (1993). Food & Nutrition encyclopedia. Vol 1. (2ª Ed). Estados Unidos de América, CRC PRESS.
- [8] Lapa R.F., Gadotti M.V, Misau C.F., Pizzolatti G.M., Márquez A.M.C. (2009). Antinociceptive properties of the hydraalcoholic extract and the flavonoid Rutin obtained from *Polygala paniculata* L. in mice. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. 104, 306-315.
- [9] Miño J., Gorzalczy S., Moscatelli V., Ferraro G., Acevedo C., Hnatyszyn O., (2002). Actividad Antinociceptiva y Antiinflamatoria de *Erythra crista-gallii* L. ("Ceibo"), Acta Farm. Bonaerense 21 (2), 93-8.

[10] Mendoza P.N., (2008) Farmacología Médica (1ª Ed). México, Editorial Médica Panamericana.