

Evaluación de la interacción antinociceptiva del extracto etanólico de *Justicia spicigera* y Tramadol

Labrada García Martín Eduardo (1), Zapata Morales Juan Ramón (2), Alonso Castro Ángel Josabad (3), Ramírez Morales Marco (4)

- 1 [Lic. Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [eduardomar_lg@hotmail.com]
2 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [mzrj@hotmail.com]
3 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [angeljosabad@hotmail.com]
4 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [marco.ramirezmo@hotmail.com]

Resumen

El dolor es un importante problema de salud pública que se asocia con sufrimiento y discapacidad graves del paciente. Sin embargo, el dolor comienza como una respuesta adaptativa a un daño corporal, real o potencial, con la estimulación de los nociceptores periféricos, neuronas especializadas en la detección de estímulos nocivos. No obstante, el dolor no es simplemente una modalidad de sensación somática como el tacto o el sentido de la vibración. El dolor también tiene componentes fisiológicos, conductuales y agresivos. El Tramadol es un analgésico de origen opioide se une a los receptores μ (μ) y ocasiona inhibición débil de la recaptación de norepinefrina y serotonina, produciendo un efecto analgésico opioide central. La *Justicia spicigera* es una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana, comúnmente usada para el tratamiento del dolor, el tratamiento de diarrea, antipirético, antiinflamatorio, entre otros usos. Con la combinación del Tramadol y un extracto etanólico de *Justicia spicigera* a diferentes dosis, se evaluará el efecto antinociceptivo generado en diferentes grupos de ratas de la cepa Wistar, a las cuales se les inducirá dolor con el modelo de formalina.

Abstract

Pain is an important public health problem that is associated with severe suffering and disability of the patient. However, pain begins as an adaptive response to bodily harm, real or potential, with the stimulation of peripheral nociceptors, specialized neurons in the detection of harmful stimuli. However, pain is not simply a modality of somatic sensation such as touch or the sense of vibration. Pain also has physiological, behavioral and aggressive components. Tramadol is an opioid analgesic that binds to mu (μ) receptors and causes weak inhibition of norepinephrine and serotonin reuptake, producing a central opioid analgesic effect. *Justicia spicigera* is a plant used in traditional Mexican medicine, commonly used for the treatment of pain, the treatment of diarrhea, antipyretic, anti-inflammatory, among other uses. With the combination of Tramadol and an ethanolic extract of *Justicia spicigera* at different doses, the antinociceptive effect generated in different groups of rats of the Wistar strain will be evaluated, which will be induced pain with the formalin model.

Palabras Clave

Justicia spicigera, Tramadol, antinocicepción, interacción, isoblográfico.

INTRODUCCIÓN

El dolor es el síntoma más común de los pacientes que acuden a los servicios de urgencias; alrededor del 75 a 80% de los pacientes presentan dolor como síntoma principal. Pese al incremento en la investigación e información sobre el tratamiento del dolor, persiste la oligoanalgesia (tratamiento insuficiente del dolor). Todos los pacientes son susceptibles a la oligoanalgesia, pero ciertos grupos, como minorías étnicas, individuos de edad avanzada y jóvenes, y aquellos con disminución de la función cognitiva se encuentran en mayor riesgo. El tratamiento del dolor está influido por preocupaciones sobre el uso inapropiado de las prescripciones de opioides, sobre todo en adolescentes y adultos jóvenes. [1]

Los analgésicos opioides estimulan los receptores para producir efectos similares a la morfina (analgesia). En este grupo se incluyen también los antagonistas de receptores opioides y los agonistas-antagonistas de acción mixta. Los agonistas utilizados en dolor severo tienen actividad en receptores μ , κ y posiblemente sobre los δ . Este grupo de analgésicos incluye: 1) los alcaloides naturales del opio: morfina, codeína; 2) análogos semisintéticos: dextrometorfano antitusivo sin acción analgésica, hidromorfona, oximorfona, oxycodona, y 3) compuestos sintéticos: alfentanilo, butorfanol, fentanilo, meperidina, levorfanol, remifentanilo, sufentanilo, propoxifeno, difenoxilato y loperamida los dos últimos son antidiarreicos sin acción analgésica. [2]

Por otro lado para el tratamiento del dolor, es importante destacar el uso de plantas medicinales, ya que desde el origen del hombre, ha mantenido íntimo contacto con las plantas, pues de ello ha dependido su subsistencia, las plantas medicinales son aquellas cuya parte o extractos se emplean como tratamiento de alguna afección y nos ayudan a curar y tratar enfermedades. La *Justicia spicigera* (“muicle”), es una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana por sus variadas acciones como en el tratamiento del dolor de estómago, diarrea, antipirético, antiinflamatorio, cáncer, entre otros usos. Por tal motivo en este estudio se evaluará la actividad antinociceptiva del extracto etanólico de *Justicia spicigera* (JSP) y tramadol. [3] [4]

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

El Tramadol fue adquirido directamente de Sigma Aldrich y el JSP fue donado por la Dra. Candy Carranza Álvarez de la UASLP.

Animales

Para la realización del experimento *in vivo* se emplearon ratas de la cepa wistar con un peso entre 250 y 300 g obtenidos del bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato. Las ratas se mantuvieron a temperatura controlada (25°C) con ciclos de luz-oscuridad de 12 x 12 hrs con acceso libre a alimento y agua. Los experimentos se realizaron acorde a la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio) y lo estipulado por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP).

Evaluación de la actividad antinociceptiva

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva se utilizó el modelo de la formalina. El modelo se llevó a cabo por lo descrito por Dubuisson y Dennis en 1977 [5]. Las Ratas se dividieron en grupos de 6. Previo tratamiento, las ratas fueron ambientados en cilindros de acrílico (una hora al menos por 3 días previos y el día del experimento). Las dosis fueron administradas (v.o) a los grupos de animales de acuerdo con el siguiente orden: (I) Tramadol 5 mg/Kg; (II) Tramadol 12.5 mg/Kg; (III) Tramadol 25 mg/Kg; (IV) Tramadol 50

mg/Kg; (V) *J. spicigera* 30 mg/kg; (VI) *J. spicigera* 100 mg/kg; (VII) *J. spicigera* 150 mg/kg; (VIII) *J. spicigera* 200 mg/kg. Como control se empleó otro grupo de 6 ratas (IX), al cual se le administró solución salina.

Una hora después de la administración de las dosis, las ratas fueron inyectadas con 50 µL de formalina al 5% en el espacio intraplantar de la pata derecha. Posteriormente fueron colocadas en los cilindros de acrílico. La reacción del dolor (sacudidas de la pata inducidas por la inyección de formalina) fue contabilizada en dos periodos, 0–15 min (dolor neurálgico) y 15-61 min (dolor inflamatorio), para esto se contó durante 1 minuto cada 5 minutos.

Posteriormente se calculó la Dosis efectiva 50 (DE₅₀) de cada tratamiento y se evaluó efecto de las combinaciones, considerando DE₅₀ de cada tratamiento y bajo las diluciones (Tramadol/*J. spicigera*) siguientes: 1:1, 1:2, 1:4, 1:8. El modelo de formalina se aplicó de igual forma en grupos de 6 ratas para cada una de las diluciones.

FIGURA 1. Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de Tramadol en la fase 2 del modelo de la formalina en ratas.

FIGURA 2. Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Justicia spicigera* en la fase 2 del modelo de la formalina en ratas.

El porcentaje de antinocicepción fue calculado de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Antinocicepción} = \left[\frac{(\text{No. de sacudidas del vehiculo}) - (\text{No. de sacudidas del tratamiento})}{(\text{No. de sacudidas del vehiculo})} \right] (100)$$

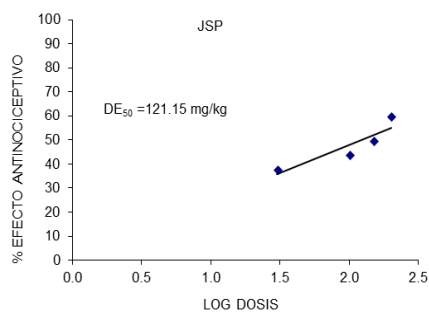
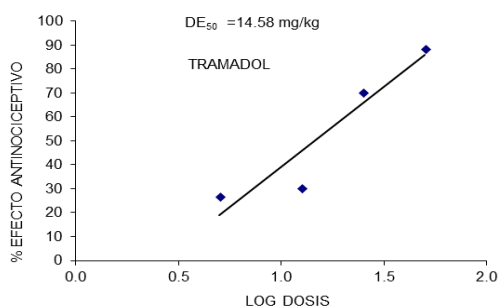
Análisis de datos

Empleando regresión lineal se determinó la dosis efectiva 50 (DE₅₀) teórica. Los datos se presentan como la media ± el error estándar de la media (EEM). Para el análisis estadístico de los datos se realizó un ANOVA y una prueba pos hoc de Dunnett (*P < 0.05). Los cálculos se realizaron con el programa NCSS versión 8.

Los resultados del estudio de la combinación del extracto y del fármaco fueron analizados mediante análisis isoblográfico. Los valores de la DE₅₀ teórica (± error estándar) fueron comparados con la DE₅₀ experimental mediante una prueba T-student. El grado de interacción farmacológica se determinó por medio del índice de interacción (γ) que es una medida cuantitativa de la interacción entre dos fármacos. Valores cerca de 1 indican una interacción aditiva, mientras que valores más grandes que 1 implican una interacción antagónica y valores menores que 1 indican una potenciación [6]. Se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas cuando p<0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto antinociceptivo del Tramadol se determinó a una DE₅₀= 14.58 mg/Kg y el de *Justicia spicigera* fue una DE₅₀= 121.15 mg/Kg. (Figura 1 y 2).



En la evaluación del efecto antinociceptivo de *J. spicigera* en combinación con Tramadol en el modelo de la formalina. En la primera fase (0–15 min) refleja dolor neurológico o neurogenico, siendo implicados la

substancia P, bradicinina, histamina y serotonina [7]. En esta fase la combinación 4 (1:1) obtuvo el mayor porcentaje de antinocicepción, un valor de 61.24 ± 9.00 (Figura 3).

En la segunda fase (15–61 min) que es la más importante de este modelo para nuestros fines de estudio, ya que en esta fase se refleja un dolor de tipo inflamatorio debido a la producción y liberación de diversos mediadores de la inflamación, como histamina, bradicinina, serotonina, prostaglandinas, taquicinas, glutamato, entre otros [8]. Los resultados de la fase 2 presentaron una dependencia del tipo dosis–efecto. La combinación 4 (1:1) obtuvo el mayor porcentaje de antinocicepción 51.68 ± 12.35 (Figura 4).

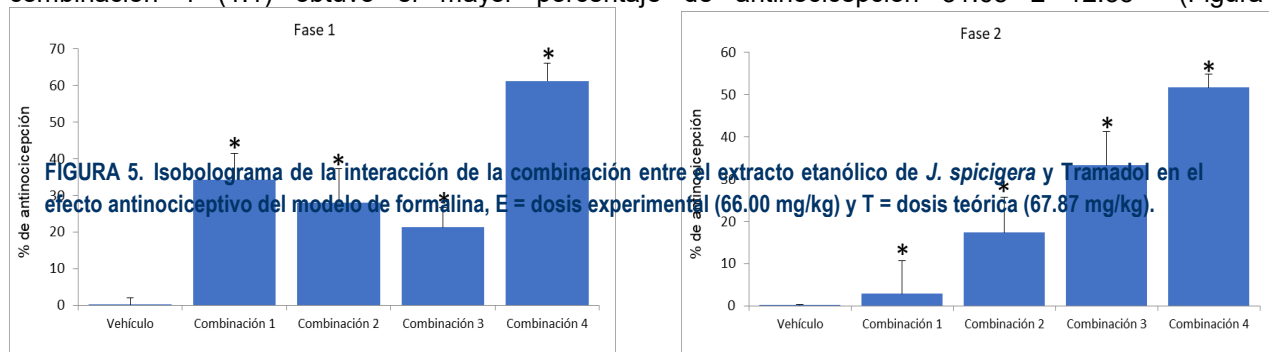


FIGURA 5. Isoblograma de la interacción de la combinación entre el extracto etanólico de *J. spicigera* y Tramadol en el efecto antinociceptivo del modelo de formalina, E = dosis experimental (66.00 mg/kg) y T = dosis teórica (67.87 mg/kg).

Para la determinación de la interacción farmacológica entre la *Justicia spicigera* y el Tramadol, se realizó el análisis isoblográfico, el valor de la DE_{50} experimental se encuentra casi en la línea de adición, lo que quiere decir que hay casi una igualdad con la DE_{50} teórica, lo cual indica un efecto sinérgico (Figura 5).

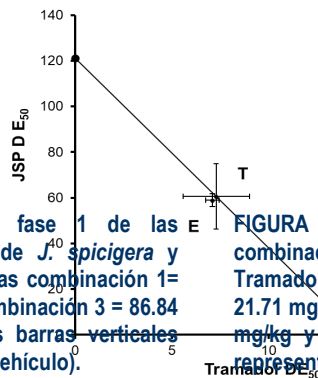


FIGURA 3. Efecto antinociceptivo en la fase 1 de las combinaciones entre el extracto etanólico de *J. spicigera* y Tramadol en el modelo de la formalina en ratas combinación 1 = 21.71 mg/kg, combinación 2 = 43.42 mg/kg, combinación 3 = 86.84 mg/kg y combinación 4 = 173.68 mg/kg. Las barras verticales representan el promedio \pm EEM (* $P < 0.05$ vs vehículo).

FIGURA 4. Efecto antinociceptivo en la fase 2 de las combinaciones entre el extracto etanólico de *J. spicigera* y Tramadol en el modelo de la formalina en ratas combinación 1 = 21.71 mg/kg, combinación 2 = 43.42 mg/kg, combinación 3 = 86.84 mg/kg y combinación 4 = 173.68 mg/kg. Las barras verticales representan el promedio \pm EEM (* $P < 0.05$ vs vehículo).

El valor obtenido del índice de interacción es de 0.973, un valor muy cercano a 1, por lo tanto se considera una interacción sinérgica de tipo aditiva.

El presente estudio arroja datos importantes sobre la interacción antinociceptiva entre *Justicia spicigera* y Tramadol, sin embargo es necesario realizar un análisis para saber perfectamente el mecanismo de acción entre *Justicia spicigera* y Tramadol.

CONCLUSIONES

La evaluación del efecto antinociceptivo de la combinación farmacológica de Tramadol y *Justicia spicigera* demostró una disminución de la nocicepción en el modelo de formalina. La combinación de Tramadol y *Justicia spicigera* presentó una interacción sinérgica de tipo aditivo.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se llevó a cabo con fondos del proyecto de Investigación Científica Básica 2015 en su segunda etapa de CONACYT con número 257872 otorgados al Dr. Juan Ramón Zapata Morales. M.E.L.G., agradece a la Dirección de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la Universidad de Guanajuato, a través del programa “Veranos de Investigación UG 2018” por la beca recibida para la realización de la estancia. Se agradece al Sr. Juan Pedro Galván Chía, encargado del bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato por el apoyo técnico en el desarrollo del proyecto.

REFERENCIAS

- [1] Tintinalli J.E., Tratamiento del dolor agudo. In: Tintinalli JE, Stapczynski J, Ma O, Yealy DM, Meckler GD, Cline DM. eds. Tintinalli. Medicina de urgencias, 8e New York, NY: McGraw-Hill
- [2] Rodríguez Palomares C., Obrador Vera G. T., Analgésicos opioides y antagonistas. In: Palomares C, Vera G. eds. Fichero farmacológico New York, NY: McGraw-Hill; 2013.
- [3] Martínez Moreno D., Alvarado Flores R., Mendoza Cruz M., Basurto Peña F. (2006), Plantas medicinales de cuatro mercados del estado de Puebla, México, Redalyc vol. 79, 79-87. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/577/57707908/>.
- [4] Calleja Morales M., Ávila Caballero L.P. (2016), Plantas medicinales, Tmati Sabiduría volumen 7, Número especial 1, 22-24. Recuperado de <http://tamati.uagro.mx/t7e1/58.pdf>.
- [5] Dubuisson, D. and Dennis, S. (1977). The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain, 4(Supp C), pp.161- 174. Vol. 3 no. 2, Verano de la Investigación Científica, 2017 307
- [6] Isiordia, M., Pozos, A., Aguirre, P., Pérez, J. (2010). Isobolographic analysis of the analgesic combination systemic ketorolac and local tramadol in the formalin test in mice. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 41(2), pp. 42 -49.
- [7] Munro, G. (2007). Dopamine D1 and D2 receptor agonism enhances antinociception mediated by the serotonin and noradrenaline reuptake inhibitor duloxetine in the rat formalin test. European Journal of Pharmacology, 575(1 -3), pp.66 -74.
- [8] Fujimaki, H., Kawagoe, A., Bissonnette, E., Befus, D. (1992). Mast cell response to formaldehyde. 1. Modulation of mediator release. Int Arch Allergy Immunol, 98(4):324 -31.