INSTITUTO DE FARMACOLOGIA
Universidad de Concepción

Influencia de inhibidores del metabolismo glucídico sobre el efecto analgésico de algunos fármacos

(Con 1 gráfico)

por

LECANNELIER, R. S., BARDISA, U. L., TAMAYO, R. L., JARA, R. H.

INTRODUCCION

A partir del año 1950, ha sido una de las líneas de investigación de este Laboratorio tratar de dilucidar el mecanismo de acción, de los fármacos analgésicos. En una serie de trabajos (1-2-3-4) hemos discutido varias posibilidades, estableciendo algunos hechos y llegado a la conclusión que ninguna de las hipótesis analizadas nos parecen satifactorias.

En la actualidad, el problema de la analgesia debe plantearse frente a dos interrogantes: primero, dónde actúa el fármaco analgésico y segundo, cómo actúa el analgésico.

El primer punto fué discutido por nosotros en un trabajo reciente (5), según esto los fármacos analgésicos actuarían produciendo una depresión en la formación nerviosa más sensible a este tipo de fármacos (6-7), cual es el denominado sistema poticular activante, y con mayor razón en la actualidad, sistema polisensorial, ubicado en la región bulbodiencefálica. En realidad la investigación de "dónde" corresponde a métodos y técnicas neurofisiológicas y la última palabra de este punto han de decirla los neurofarmacólogos.

En cuanto al segundo punto, de "cómo" actuarían los analgésicos, conviene hacer algunas consideraciones generales. Ha sido discutido por varios autores (7-8-9) que el fenómeno analgésico puede considerarse como una primera etapa de la anestesia, lo afirma por ejemplo el Pentobarbital que a dosis muy inferiores a los niveles anestésicos (80 mgs por kg), provocan una disminución en la respuesta al dolor experimental (9 mgs por kg), y por otra parte un analgésico clásico como la Morfina a dosis muy elevadas es narcótico.

Dado que el sistema nervioso deriva preferentemente su energía del metabolismo glucídico, se ha planteado repetidamente la posibilidad que los anestésicos y los depresores en gene-

* Este trabajo ha sido realizado con la ayuda económica del Consejo de Investigación Científica de la Universidad de Concepción.

ral, actúan alterando el consumo de Oxígeno en el tejido nervioso (10-11-12), especialmente en trabajos "in vitro", sin llegar por esta línea a ningún resultado neto pues a las concentraciones alcanzadas "in vivo" es difícil observar alteraciones "in vitro". Por este motivo consideramos más promisor asimilar los trabajos de Holland (13) que se refieren a la importancia del cliclo de la acetilcolina como el lugar de impacto de los narcóticos, ciclo que según Nachmansohn (14) explica la generación-electroquímica de los potenciales de acción en el nervio.

La energía para la generación de estos potenciales de acción sería suministrada en último término por la combustión de los glúcidos que permite acumular energía en forma de ATP, la cual es necesaria para la activación del acetato y su unión al Coenzimo A, etapa indispensable para la resíntesis de la acetilcolina.

Nos pareció que sería posible abordar el problema de la acción de los analgésicos en el metabolismo de los glúcidos desde otro ángulo, estudiar si una alteración del metabolismo glucídico hace variar la acción analgésica y, con inhibidores de localización conocida, tratar de ubicar la etapa sobre la cual actuarían los analgésicos.

En el presente trabajo hemos empleado tres bloqueadores del metabolismo glucídico, que actúan a niveles distintos, la Floridzina, el ácido Monoiodoacético y el ácido Malónico; la primera inhibe la fosforilación de la hexosa (hexoquinasas y fosforilasas) (15-16), el segundo actúa a nivel de las triosas inhibiendo dehidrogenasas (17-18) y el tercero en el ciclo de Krebs inhibiendo la formación de ácido fumárico a partir del succínico (19).

En esta comunicación utilizamos la misma técnica analgesiométrica anterior (1), pero hemos introducido en la apreciación del fenómeno analgésico no sólo la determinación del porcentaje de animales que presentan esta acción, de acuerdo con Bonnycastle y Cook, sino también la intensidad del fenómeno analgésico en la forma propuesta por Ohlsson (20).

Ensayamos Morfina y Metadona como representantes de de los analgésicos típicos; salicilamida y gentisato de sodio como exponentes de las substancias antipiréticas dotadas de acción analgésica, para nosotros de efecto periférico y que necesitan de la integridad suprarrenal para ejercer su efecto (8) y dos substancias más, el Pentobarbital y la Mefenesina que sin poder clasificarse como analgésicos presentan, al menos experimentalmente esta acción y que para nosotros son de gran interés teórico por las siguientes razones: el primero está descrito como un inhibidor de la colinoacetilasa (21) ambos ejercen, aún en dosis muy bajas, acción sobre el sistema reticular activante (22-23), por más que para la Mefenesina se ha descrito además una acción directa en las neuronas internunciales de la médula espinal (22), esto la haría en cierto modo semejante a la Morfina que también tiene una acción parcial en la médula (24).

Consideramos este trabajo sólo como una primera etapa de una nueva vía que seguiremos en nuestra línea de investiga-

ción sobre el mecanismo de acción de los fármacos analgésicos, ya que plantear esta acción como una interferencia en el mecanismo energético de la actividad nerviosa, es a nuestro parecer, un aporte original.

METODICA

1.— **Técnica algesiométrica utilizada.**— Empleamos la técnica de la superficie caliente (T. S. C.) que puede considerarse como la más adecuada para el estudio de los diferentes analgésicos, desde un punto de vista cuantitativo y cualitativo.

El método consiste en aplicar en las patas de los animales un estímulo calórico al colocarlos sobre una superficie de cobre termorregulada a 53,5°, midiendo las modificaciones del tiempo de reacción. El detalle de esta técnica ha sido presentado en trabajos anteriores.

2.— **Animales empleados.**— En todas nuestras experiencias usamos ratones blancos hembras, aproximadamente del mismo peso y edad.

Determinamos la cantidad de alimento que consume cada ratón en 24 horas (2gs) con el propósito de poder administrar por vía oral los fármacos en dosis aproximadamente exactas.

3.— **Drogas empleadas.**— a) Floridzina (Hopkin & Williams); Moniodoacetado de sodio (Coleman & Bell) y Malonato de sodio (E.Merck) administrados por vía oral junto a la dieta.

b) Clorhidrato de Metadona (Bubeck & Dolder); Gentisato de sodio (Bubeck & Dolder); Salicilamida (Coleman & Bell); Pentobabarbital sódico (Bubeck & Dolder); Clorhidrato de Morfina (May & Baker) y Mefenesina, (Bubeck & Dolder), en soluciones inyectadas por vía intraperitoneal a razón de O. Ol cc por gramo de peso.

4.— **Cálculo estadístico.**— Aplicamos los métodos indicados por Burn y Finney para establecer las dosis efectivas 50 (DE50) de los fármacos ensayados.

La intensidad del efecto analgésico se determina siguiendo las indicaciones y nomenclatura propuestas por Ohlsson; se calcula "Ri", la diferencia entre "RO", la respuesta normal (anterior a la inyección de los fármacos analgésicos) y "RM", la respuesta media a los 40, 80 y 120 minutos después de administrada la droga.

El valor RI (Response increment), representa el aumento (variación) del término medio de respuesta.

Verificado el porcentaje de respuesta a una DE50 y a dos DE50 del fármaco analgésico y se medían las respuestas, a los respectivos incrementos a los 40, 80 y 120 minutos se procedía a dar, mezclado al alimento, el inhibidor del metabolismo glucídico elegido. A los tres días de tratamiento se le inyectaba una DE50 del fármaco analgésico y se medían las respuestas, a los cinco días se controlaban las respuestas a dos DE50 y se suspende enseguida el tratamiento con bloqueador metabólico. Posteriormente se sigue inyectando una DE50 del fármaco analgésico día

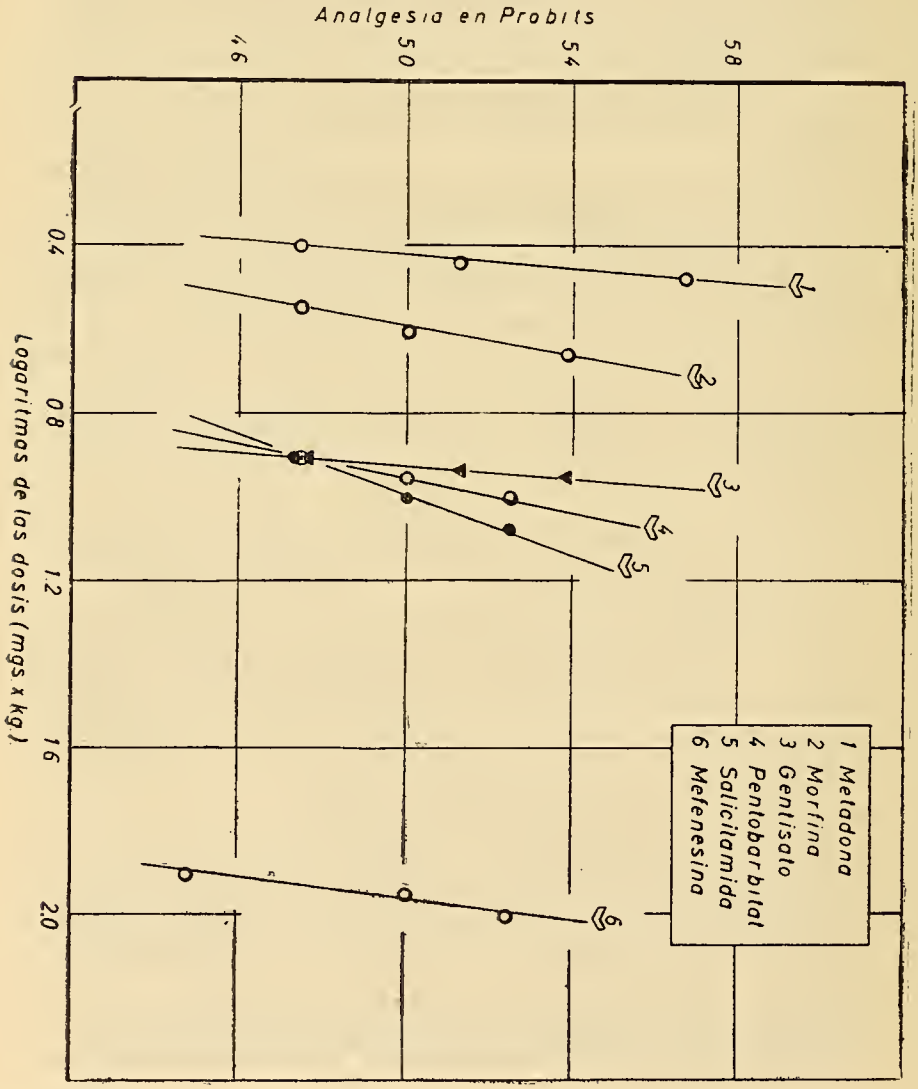
por medio hasta obtener una respuesta semejante a la presentada antes de administrar el inhibidor.

Para determinar si las variaciones en el porcentaje de las respuestas eran significativas, se hicieron los cálculos de expectancia según las indicaciones de Lacey, detalladas anteriormente por nosotros.

RESULTADOS

Comenzamos por determinar las DE50 de los fármacos analgésicos estudiados. Los resultados obtenidos aparecen en el gráfico siguiente.

GRAFICO Nº 1



Una vez determinada la DE50, procedimos a administrar los inhibidores del metabolismo glucídico por vía oral e intraperitoneal, observándose modificaciones y anulaciones en la acción analgésica de algunos fármacos. Los resultados obtenidos se presentan resumidos en la Tabla Nº 1.

TABLA Nº 1

Efectos de la Floridzina, Yodoacetato y Malonato de sodio sobre la acción analgésica de algunos fármacos (una y dos DE50).

Inhibidor (1)	Sin alteración (2)	Disminución (3)	Anulación (4)
Floridzina	—	Morfina	Pentobarbital
100 mg/kg	—	Mefenesina	Metadona
vía oral	—	—	Gentisato
	—	—	Salicilamida
Yodoacetato	Morfina	Mefenesina	Pentobarbital
10 mg/kg	—	—	Metadona
vía oral	—	—	Gentisato
	—	—	Salicilamida
Malonato	Morfina	Mefenesina	Pentobarbital
1.25 gm/kg	—	—	Metadona
vía oral	—	—	Gentisato
	—	—	Salicilamida

DISCUSION DE RESULTADOS

Comenzaremos por discutir la forma de apreciar la acción analgésica, pues agregamos a la determinación del porcentaje de efecto, el sistema propuesto por Ohlsson para medir la intensidad de la acción analgésica.

El hecho de medir la intensidad analgésica y hacer determinaciones a los 40, 80 y 120 minutos, nos permite formarnos una opinión más completa del fenómeno analgésico, agregando una posibilidad más de análisis estadístico, ya que es frecuente observar un mismo porcentaje de respuesta para diferentes fármacos, pero distinta intensidad de acción.

Es conocido que la DE50 de los fármacos analgésicos varía según la vía de administración utilizada, en nuestras experiencias los empleamos sólo en inyección intraperitoneal. En cuanto a los inhibidores del metabolismo glucídico, se utilizó la vía oral, a pesar que la Floridzina se administra generalmente por vía intramuscular en vehículos aceitosos, pero para nosotros esto era complicado por tratarse de 60 o más animales a los que había que hacerles dos inyecciones diarias. A pesar de ello realizamos en todos los casos controles de administración intraperitoneal, en forma simultánea con el fármaco analgésico.

Nuestro esquema general se basó en determinar previamente la DE50 de un fármaco en un grupo de animales, verificar és-

ta y el doble de ella, administrar el inhibidor, comprobar nuevamente el efecto de una y 2 DE50, suspender el tratamiento y ensayar periódicamente el efecto del analgésico hasta obtener valores semejantes a los iniciales.

Podemos comunicar en el presente trabajo un hecho no descrito en nuestra extensa revisión bibliográfica, cual es la anulación del efecto analgésico, por la acción de los inhibidores del metabolismo glucídico. Hecho éste que pudimos comprobar para el pentobarbital, metadona, gentisato de sodio y salicilamida, aún al ensayar dosis dobles a la DE50.

En cuanto a la Morfina y Mefenesina podemos decir que la acción analgésica de la primera no fué alterada por el monoiodoacetado ni por el Malonato de sodio, ni tampoco al administrar simultáneamente con Floridzina, sólo se modificó después de tres días de tratamiento con este último inhibidor, disminuyendo en forma significativa la reacción a una DE50, sin alterarse la respuesta de dos DE50.

Respecto a la Mefenesina sucede algo parecido a lo observado con la Morfina, sólo tenemos disminución de su efecto al asociar la Mefenesina a la Floridzina, variando en este caso tanto la respuesta a una como a dos DE50. Frente al malonato y al monoiodoacetato sólo se modificó en forma significativa la respuesta a una DE50.

Estos dos últimos fármacos, parecen, por lo tanto, formar un grupo distinto a las otras drogas estudiadas, ya que su acción se altera muy poco al asociarlos a sustancias que interfieren con el metabolismo de los glúcidos.

Esto es interesante, pues establece entre otras la posibilidad de un mecanismo de acción distinto para la Metadona y la Morfina y, semejante entre esta última y la Mefenesina, hecho que estaría corroborado por los estudios de Cook y Bonnycastle (24), que indican para ambos fármacos un componente de acción medular y las diferencias en su efecto terapéutico podrían ser solamente un problema de afinidad.

Otro hecho particularmente notorio, es que los fármacos en los cuales el tratamiento prolongado con los inhibidores del metabolismo glucídico provoca una anulación de su efecto analgésico; el mismo resultado se obtiene al administrar simultáneamente y por la misma vía el analgésico y el inhibidor del metabolismo glucídico.

Durante nuestras experiencias realizamos ciertos controles con el fin de aclarar algunas posibilidades.

Así, los fármacos inhibidores del metabolismo glucídico podrían modificar la absorción de los analgésicos, aún cuando no teníamos referencias en tal sentido. Verificamos sólo la absorción de la salicilamida, por la facilidad de su titulación en la sangre, no observándose diferencias entre la salicilemia de los animales normales y los tratados con los distintos inhibidores.

Así mismo, controlamos glicemias y glicosurias, en cuanto a la primera no se observan variaciones mayores durante la administración de los inhibidores, y la glicosuria aparece incluso

en los animales sin tratamiento, debido quizás al régimen alimenticio rico en glúcidos.

Otro control realizado fué el establecer si tan sólo la administración prolongada era capaz de alterar las respuestas a fármacos analgésicos, a pesar de hacerse ésta en forma discontínua. Sometimos un grupo de animales al mismo esquema que hemos utilizado para el estudio del efecto de los inhibidores, empleando en este caso una y dos DE50 de Clorhidrato de Metadona, no observándose en ningún caso variaciones significativas del porcentaje de respuesta (sólo un 10%) y tampoco cambios importantes en la intensidad del fenómeno.

Es de interés discutir el mecanismo de acción de los analgésicos. Por las experiencias presentadas se puede deducir que existe, en ciertos casos, relación entre el metabolismo glucídico y los fenómenos analgésicos, ya que al inhibir dicho metabolismo, se obtiene anulación de la acción analgésica del pentobarbital, metadona, gentisato de sodio y salicilamida.

Esta relación con el metabolismo de los glúcidos podría ser directo o depender de la alteración de la síntesis de los ésteres fosfóricos, especialmente del ATP, como ha sido discutido por algunos autores (10-12).

Otro proceso íntimamente ligado al metabolismo de los glúcidos y del cual podría depender la actividad analgésica es el de las acetilaciones biológicas, en especial la síntesis de la acetilcolina.

Una última posibilidad sería la alteración del metabolismo de otra substancia esencial para el tejido nervioso, cual es el ácido glutámico. Este aminoácido penetra en la célula en forma activa, consumiendo energía derivada del metabolismo glúcidico y esta penetración está bloqueada por los inhibidores de este metabolismo (9). Esto es extraordinariamente importante frente a experiencias aún no publicadas por nosotros, según las cuale el ácido glutámico potencia intensamente los efectos analgésicos de la metadona y del gentisato de sodio.

Sabemos que el ácido glutámico desempeña además un papel muy especial en el tejido nervioso, cual es el transporte de amoníaco; la acumulación de éste provoca en los animales un estado de excitación (11); pudimos observar que los animales tratados con inhibidores del metabolismo glucídico mostraban cierto grado de excitación y tenían umbrales de respuesta al dolor disminuídos en forma significativa, especialmente en el caso del malonato de sodio.

No podemos descartar la posibilidad que fuera esta acumulación de amoníaco la que antagonizara el efecto de algunos analgésicos, no siendo explicado el porqué de su acción selectiva frente a algunos de ellos.

El hecho que el aporte de una mayor cantidad de ácido glutámico en la dieta potencia los analgésicos y que el bloqueo de su penetración celular inhiba esta acción, nos parece de extraordinario interés y es justamente en este sentido en el cual se continúan en la actualidad las investigaciones analgesiométricas en el Instituto de Farmacología.

CONCLUSIONES

1.— Se determina la DE50 analgésica del pentobarbital, metadona, morfina, mefenesina, gentisato de sodio y salicilamida.

2.— Se estudia el efecto de la floridzina, yodoacetato y malonato de sodio sobre la acción analgésica de los fármacos citados.

3.— La acción analgésica del petobarbital, metadona, gentisato y salicilamida desaparece durante el tratamiento con los inhibidores del metabolismo glucídico mencionados.

4.— El efecto analgésico de la morfina y la mefenesina sólo se altera levemente.

5.— Se discuten estos resultados.

SUMMARY

The DE50 analgesic for pentobarbital, metadone, morfine, mefenesine, sodio gentisate and salicilamide is determined.

The effect of floridzina, yodoacetate and sodio malonate upon the analgesic action of these drugs is studied.

The analgesic effect of pentobarbital, amidone, gentisate and salicilamide by the treatment with the inhibitors of the glucidic metabolism desappears.

The analgesic effect of morfine and mefenesine is only weakly altered.

BIBLIOGRAFIA

1.—Lecannelier, R. S. Bardisa, U. L. Tamayo, R. L., Abarca B. F.— Bol. Soc. Biol. Concepción XXVIII: 72-82 1953.

2.—Lecannelier, R. S. Bardisa, U. L., Tamayo, R. L. Gamé, G. S., Reyes, R. R.— Bol Soc. Biol. Concepción. XXIX: 39-47 (1954).

3.—Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L., Aguayo Y. N.— Bol. Soc. Biol. Concepción. XXX: 3-17 (1955).

4.—Lecannelier, R. S. Bardisa, U. L., Tamayo, R. L.— Bol Soc. Biol. cepción. XXVIII: 83-88 (1953).

5.—Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L., Ormeño, V. S.— Bol Soc. Biol. Concepción (Chile) XXX: 19-30 (1955).

6.—Arduini, A., and Arduini, N. G.— J. Pharmacol. & Exp. Therap. 110: 75-85 (1954).

7.—Sonnenschein, R. R.— Anesthesiology.— 15: 19-27 (1954).

8.— Jacob, J—. Arch. Internat. Pharmacodin. Therap. 7: 141-147 (1954).

9.—Bacq. Z. M.— Pharmacodinamie Biochimique, Masson et Cie. Editeurs, París: 878-882 y 36-37 (1954).

10.—Grenell, R. G., Mendelson, J. And Mc Elroy W. D.— J. of Cellular and Comparative Physiol, 46: 143-159 (1955).

11.—Elliott, K. A. C., Page, I. H., Quastel, J. H.— Neurochemistry. Thomas Pipl. Springfield U. S. A. 193 (1955) - 648.

12.—Johnson, W. J., Quastel J., H.— Nature, 171:,602 (1953)).

13.—Holland, W. I.— J. of Pharmacol.— 111: 5 (1954).

14.—Wilson, J. B., Nachmansohn, D.— Ion Transport across membranes —Academic Press New York— 35 (1954).

15.—Haurowitz, F.— Progress in Biochemistry — Interscience Publ. New York, 38-43 (1950).

16.—Mc Kee, F. W., Hawkins, W. B.— Physiol. Reviews — 25: 255-277 (1954).

17.—Greenberg, M. D.— Chemical Pathways of Metabolism 1: 83-150 (1954).

18.—Nachman, M. D.— Metabolism and Function. 4: (1950)

19.—Barker, S. B.—Fed. Proc., 12: 9 (1953).

20.—Ohlsson, L.— Acta Pharmacol. et Toxicol. 9: 322-331 (1953).

21.—Govier, M. W., Gibbons, A.— Science, 119: 185 (1954).

22.—King, E. E. Unna, K. R.— J. Pharmacol. Exp. Therap. 111: (1954).

23.—Schlag, J., Quadens, O., Kridelka, JJ. C.— Arch. Int. Pharmacodyn. 493 (1956).

24.—Bonnycastle, D. D., Coock, L., Ipsen, J.— Acta Pharmacol. et toxicol. 9: 332-336 (1953).