

ARTÍCULO ORIGINAL

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL METRONIDAZOL EN RATAS SOMETIDAS AL EDEMA DE PATA INDUCIDA POR CARRAGENINA

Erika Huanilo Córdor¹, Grecia Lázaro Escalante¹, Jennifer Limachi Gamero¹, Ana Montenegro Santos¹, Víctor Moquillaza Alcántara¹, Jenifer Paulino Agama¹, Rosa Ponce Chacón¹, Daysi Flores Cortez²

1. Estudiante de Obstetricia, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

2. Docente de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

RESUMEN

El metronidazol es un fármaco conocido por su uso como agente antibacteriano y antiparasitario, mas no existen estudios que confirmen su acción antiinflamatoria. **OBJETIVO:** Demostrar el efecto antiinflamatorio del metronidazol en un modelo animal. **DISEÑO:** Estudio transversal de tipo experimental. **LUGAR:** Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina, UNMSM. **PARTICIPANTES:** 24 ratas hembras con pesos entre 173 y 278 gramos. **INTERVENCIONES:** Se separaron 3 grupos conformados por 8 ratas cada grupo, teniendo uno control y dos grupos a los cuales se les administró dosis de metronidazol de 100mg/kg y 500mg/kg. Luego se le administro carragenina al 1% para inducir el edema. **ANÁLISIS ESTADÍSTICOS:** Se aplicaron medidas de tendencia central como promedio, desviación estándar y coeficiente de variación. **RESULTADOS:** Con una dosis de 500mg/kg existe un efecto del 50,5% a las 2 horas. En el grupo con menor dosis el efecto se dio levemente a la hora (25.44%) y no volvió a mostrarse. Existe una amplia dispersión: CV: 78.8%. **CONCLUSIONES:** Existe un efecto antinflamatorio significativo del metronidazol frente a la inflamación inducida por carragenina en una dosis de 500 mg/kg. Una dosis menor pierde efectividad a las 2 horas de administración.

PALABRAS CLAVES: Metronidazol, Edema de pata, Carragenina, Inflamación

Abstract

Metronidazole is a drug known for its use as an antibacterial and antiparasitic agent, but there are no studies to confirm its anti-inflammatory action. Objective: To demonstrate the anti-inflammatory effect of metronidazole in an animal model. Design: Cross-sectional study of experimental type. Location: Laboratory of Pharmacology, School of Medicine, San Marcos. Participants: 24 female rats weighing between 173 and 278 grams. Interventions: 3 groups made up of 8 rats each group were separated, having one control and two groups that were administered doses of 100mg/kg and 500mg/kg of metronidazole. It was then administered 1% carrageenan to induce edema. Statistical Analysis: Measures of central tendency such as mean, standard deviation and coefficient of variation were applied. Results: At a dose of 500mg/kg there is an effect of 50.5% at 2 hours. In the lower-dose group gave slight effect at the time (25.44%) and did not load. There is a wide dispersion: CV: 75.8%. Conclusions: There is a significant anti-inflammatory effect of metronidazole against carrageenan-induced inflammation in a dose of 500 mg / kg. A lower dose stops working within 2 hours of administration.

Keywords: Metronidazole, paw edema, carrageenan inflammation

INTRODUCCIÓN

El proceso inflamatorio es una respuesta de carácter protector del organismo ante un estímulo, caracterizada por el desplazamiento de líquidos y leucocitos desde el compartimiento sanguíneo al extravascular. Este proceso tiene lugar en el tejido conjuntivo vascularizado e implica cambios en este, así como eventos celulares y aparición de mediadores químicos durante la inflamación.

Este proceso lo sufren cerca 180 000 000 de mujeres cada año a causa de la *Trichomona vaginalis* (según OMS), un causante de ETS. La vaginitis representa una importante tasa de morbilidad en mujeres y una indeterminada proporción de prostatitis y uretritis no gonocócica en hombres. (1) En la gestante los resultados adversos pueden llegar a rotura prematura de membranas, parto prematuro y bajo peso al nacer. (2)

La inflamación presenta dos fases: aguda y crónica. La fase aguda se caracteriza por ser breve, presentar alteraciones vasculares, migración de leucocitos principalmente neutrófilos. La fase crónica se caracteriza por ser de mayor duración, presencia de mononucleares, proliferación de vasos y necrosis. (3) (5)

Después de una breve contracción aparece la vasodilatación que dará lugar a un aumento del flujo sanguíneo causando el rubor y calor, también se dará un aumento de la permeabilidad permitiendo la salida de proteínas plasmáticas y leucocitos dando lugar a la hinchazón o edema. Todos estos eventos forman parte de las manifestaciones clínicas más frecuentes en un proceso inflamatorio: rubor, calor, dolor, tumor e impotencia funcional. (4)

En todo el proceso inflamatorio se disipan diversos "mediadores", como prostaglandinas, histamina, leucotrienos, etc.; entre estos se encuentra el Óxido Nítrico (ON), este radical libre es producido por una variedad de células, que cumple una gama de funciones (inhibe la agregación plaquetaria, relaja el músculo liso, reduce el reclutamiento leucocitario), que en conclusión favorecen el proceso inflamatorio. (5)

Por otra parte el metronidazol, el cual es un nitromidazol tiene un uso antiparasitario desde 1963, que fue aceptado por la FDA, principalmente como tricomonocida (*T. vaginalis*, causante infeccioso en gestantes y puérperas.), aunque también contra *E. histolytica* y *G. lamblia*. Su actividad antibacteriana se reduce a cocos anaerobios y bacilos gramnegativos anaerobios. La dosis terapéutica habitual es de 250 mg, 3 veces al día. Su absorción es casi total y puede llegar a en plasma a concentraciones de 13 ug/ml en 15 minutos (6). Por ser la carrera que somos, es importante mencionar que a dosis terapéuticas no se han encontrado casos de teratogenicidad; sin embargo se ve lo contrario en ratones, ratas y conejos, es por ello que se restringe su uso en el primer trimestre. (7)

Entre todas sus características hay una que hoy en día muestra el interés de muchos investigadores, y es su estructura química. Para ser más específicos su grupo "Nitro" (Fig. 1), el cual puede actuar como un donador de ON y así funcionar como un secuestrador de radicales libres. (8)

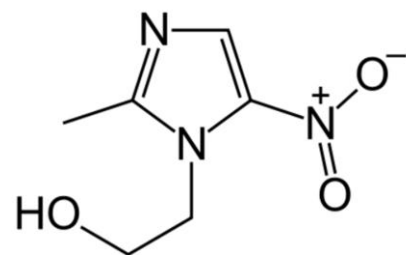


Fig. 1 Estructura química del Metronidazol

Es importante recordar que no es imprescindible controlar la dieta de ratas o humanos para comparar los niveles de ON en el organismo, ya que en animales expuestos a una dieta pobre en nitratos se observó que las concentraciones del radical en heces y orina no variaba. (9)

Con todo ello existen múltiples trabajos que corroboran su efecto antiinflamatorio. Uno de ellos nos muestra una gran reducción en la concentración plasmática de ON en pollos criados en altura con ascitis que fueron tratados con metronidazol, este hecho no se ve en aquellos criados a nivel del mar. (10)

Otros trabajos inducen la inflamación (enteritis) con indometacina. En estos informes se observan la eficacia del fármaco previniendo la permeabilidad vascular, sin embargo todos concuerdan que el proceso aún no es claro y debe estar en constante estudio. (11)

Actualmente en el Perú, entre sus planes para disminuir la mortalidad maternaperinatal, se encuentran establecidos el modo de actuar frente a una infección (es importante saber que entre el 2002 al 2011 en el Perú la sepsis representó el 2% de causa muerte materna). (12) En el caso específico de vaginitis por trichomoniasis o vaginosis bacteriana se debe administrar 2g de Metronidazol por vía oral en dosis única. El tratamiento también es útil en el síndrome del flujo vaginal. (13) Aquellas que no logren la cura pueden repetir el ciclo más 500 mg de metronidazol aplicados por vía intravaginal durante 5 noches. (2)

Este trabajo de investigación está orientado a identificar el efecto del metronidazol en la reducción de la inflamación inducida por carragenina.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIALES

1.1 Material biológico:

Se utilizaron como animales de experimentación 24 ratas albinas raza Holtzman, hembras; con un peso aproximado entre 173 a 278 gramos, procedentes de la UNALM.

1.2 Material para evaluar la inflamación:

Pletismógrafo digital.

1.3 Material farmacológico:

- Carragenina al 1%
- Metronidazol (Flagyl®) suspensión de 250 mg/5ml.
- NaCl al 0.9%
- Tritón
- Agua destilada

1.4 Otros materiales:

- Balanza
- Jeringas de tuberculina
- Jeringas de 3 cc
- 3 Jaulas

2 MÉTODOS

Se dividió al azar las 24 ratas en tres grupos: A, B y C, de ocho ratas cada uno. El grupo A es el denominado grupo control, al cual le administraremos cloruro de sodio al 0.9%. El grupo B corresponde a aquel que le administraremos metronidazol en una dosis de 100mg/ kg. El grupo C es aquel al cual le administraremos metronidazol en una dosis de 500 mg/kg. Los respectivos pesos y dosis a administrar se encuentran registrados en el anexo 2.

Seguidamente procedimos a medir el volumen basal de cada pata izquierda posterior que previamente había sido delimitada a la altura del maléolo con la ayuda del pletismómetro.

A los 45 minutos se administra de 0.1ml de Carragenina al 1% en la región subplantar de la pata izquierda posterior de la rata. (Anexo 1) Con ello generamos la producción de prostaglandinas, promoviendo procesos inflamatorios-inmunológicos-angiogénicos. (15) La valoración del efecto inflamatorio y antiinflamatorio se realizó mediante el uso de un pletismómetro, el cual es un instrumento que objetivamente permite captar las variaciones de volumen de la pata de la rata al sumergirla en un contenedor con una solución compuesta por cloruro de sodio, agua destilada y tritón.

Se realizaron 3 mediciones posteriores a la basal en los tres grupos. La primera medición fue a la media hora de haber administrado la Carragenina, la segunda medición a la hora y la tercera medición fue a las dos horas de la administración.

Para calcular el efecto inflamatorio en cada grupo, se calculó el porcentaje de edema para cada rata, y en los distintos tiempos luego de la administración de Carragenina con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inflamación} = ((V1 - V0) \times 100)$$

Dónde:

$V0$ = Media del volumen de la pata previo a la inyección subplantar de carragenina

$V1$ = Media del volumen de la pata luego de la inyección suplantar de Carragenina

El efecto antiinflamatorio se expresó en porcentaje de reducción de edema, calculado por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ antiinflamatorio} = ((\Delta C - \Delta T) / \Delta C) \times 100$$

Dónde:

ΔC = La media del grupo control

$V1$ = La media del grupo tratado.

A fin de calcular la variabilidad de los valores respecto a su media se utilizaron datos de desviación estándar y coeficiente de variación.

RESULTADOS

La medición fue realizada individualmente para cada una de las ratas.

En la tabla 1 se aprecia el progreso de la inflamación en los distintos grupos de ratas. En los tres grupos existe inflamación a la media hora. En el grupo A (control) y el B (Metronidazol 100 mg/kg) se observa que la inflamación se reduce en la hora, sin embargo esta vuelve a incrementar a las 2 horas.

Caso distinto se ve en el grupo C (Metronidazol 500 mg/kg), en donde la inflamación disminuye progresivamente.

Tabla 1. Porcentaje de inflamación en cada grupo de ratas de la primera sesión en relación al tiempo transcurrido.

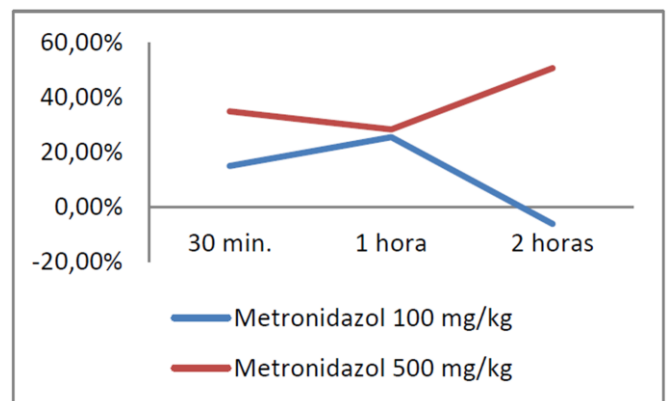
	% Inflamación		
	30 min. (±D.E)	1 hora (±D.E)	2 horas (±D.E)
Control (NaCl 0.9%)	11.81 ± 8.52	8.54 ± 5.86	10.85 ± 8.57
Metronidazol 100mg/kg	10.10 ± 3.8	6.37 ± 5.66	11.54 ± 9.35
Metronidazol 500mg/kg	7.70 ± 5.72	6.13 ± 4.65	5.37 ± 5.66

El efecto antiinflamatorio fue más notorio en el grupo C, en donde a las 2 horas pudo llegar a un 50% en la disminución la inflamación con respecto a la del grupo control. (Tabla 2). En los tres tiempos tomados hubo mayor desinflamación en aquel que tratamos con mayor dosis de metronidazol (500 mg/kg).

A las dos horas el grupo B empieza a mostrar efecto inflamatorio (% antiinflamatorio:-6.29)

Tabla 2. Efecto antiinflamatorio del metronidazol según dosis de administración.

	% Efecto antiinflamatorio		
	30 min.	1 hora	2 horas
Metronidazol 100mg/kg	14.87	25.44	-6.29
Metronidazol 500mg/kg	34.82	28.19	50.5



El coeficiente de variación se encuentra entre los distintos grupos tomados, entre 37.8% y 105,3%, con un promedio de 75.81%.

DISCUSION

Hoy en día muchos trabajos nos muestran efectos antiinflamatorios del como el estudio de su posible terapia en la rosácea y en la Enfermedad de Crohn (16).

La mayoría de estos trabajos, si bien son experimentados en el tracto gastro-intestinal (la mayoría se acompañada con dosis de AINES para incrementar la permeabilidad intestinal), se puede esperar que genere un efecto antiinflamatorio en cualquier otro tejido ya que su función del metronidazol, al parecer, sería la de depurar radicales libres (ON) en el proceso inflamatorio (19).

En nuestra investigación se observa un efecto no muy significativo. A pesar de que si ocurre la desinflamación (hasta en un 50.5 a las dos horas), los datos tienen una amplia variabilidad (CV: 71.8%), lo que sugiere que se debe seguir en la búsqueda de nuevos trabajos para demostrar el efecto esperado. Esto lo corrobora Leinkes T. y col (20) al trabajar en tejidos gingivales, en donde se muestra muy poca eficacia frente al tratamiento de inflamación por placa bacteriana. Sin embargo, sobre la periodontitis, Lindes GJ y col (21) afirman que si existe un efecto antiinflamatorio al menos en 8 semanas próximas al tratamiento.

Hay estudios en donde se puede ver la relación del sistema inmunológico y el metronidazol, donde se explica que el efecto antiinflamatorio del Metronidazol está relacionado con su efecto sobre la adhesión endotelial de los leucocitos, comprobado en estudios con indometacina (17).

Ganrot-Norlin K y et.col. afirman no existir un efecto antiinflamatorio, donde al igual que en este trabajo se induce edema de pata pero trabajado con ratones machos(18).

Aunque actualmente los efectos anti inflamatorios están siendo objeto de estudio podemos apreciar que su uso en la terapia antiinflamatoria y combinada para diversas enfermedades es cada vez mayor.

CONCLUSIONES

Se observa un efecto antiinflamatorio del metronidazol en un 50.5% con respecto a l grupo control a las dos horas de la inducción inflamatoria por carragenina al 1%. Se recomienda hacer un estudio con mayor precisión y control para obtener una menor dispersión entre variables.

A mayor dosis de metronidazol el efecto antiinflamatorio es más claro.

AGRADECIMIENTOS

A nuestra asesora, la Dra. Daysi Flores Cortez, por su disponibilidad de tiempo y su guía para poder realizar la investigación.

A la sección de Farmacología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por facilitarnos los materiales y equipos necesarios para la investigación y al Sr. Madrid por su gran apoyo.

CORRESPONDENCIA

VICTOR HUGO MOQUILLAZA ALCÁNTARA

Interno de Obstetricia del Instituto Nacional Materno Perinatal.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, Perú.

Correo: vhma.sm@gmail.com



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Lázaro Rojas Rivero. Frecuencia de trichomoniasis vaginal en mujeres supuestamente sanas. Rev. Cubana Hig. Epidemiol. Cubana. Ciudad de la Habana. May-Ago. 1999. 37 (2)
2. Organización Mundial de la Salud. Guía para el tratamiento de las infecciones de transmisión sexual. Suiza. 2005
3. Introducción a la inmunología humana. Fainboim-Geneffer, 5ta edición, Ed. Panamericana. 2006.
4. Bordés Gonzales. El proceso inflamatorio. Sección de inmunología de la Fac. Medicina de la Universidad de Granada. España. 2010.
5. Carol M. Porth. Fisiopatología; inflamación y cicatrización. 7ma Edición. Editorial Panamericana. 2006. Pág. 391.
6. Goodman and Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica; Quimioterapia de infecciones parasitarias. 11a edición. McGraw – Hill Interamericana. 2007. Pág. 1058.
7. Andrés Bendesky. Daniel Menéndez. Metronidazol: una visión integral. Rev. Fac. Med. UNAM. 44 (6). México. Noviembre – Diciembre 2001.
8. Angulo Herrera P. Rol del óxido nítrico en modelos experimentales propuestos para inducir inflamación gástrica e intestinal en ratas. Tesis doctoral. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Fac. Farmacia y Bioquímica. Lima, Perú. 2009.
9. Green IC, Ruiz de Luzuriaga, Wagner DA. *Nitrate biosynthesis in man*. Proc Natl Acad Sci USA. 1981; 76.
10. César Aquiles Lázaro y col. Efecto del metronidazol en pollos de carne con síndrome ascítico. Rev. Salud Anim. Perú. 2013. 35 (1): 45 – 51.
11. Moscol A y col. Estudio anátomo-histopatológico intestinal en el tratamiento con metronidazol en enteritis aguda inducida por indometacina en ratas albinas. Rev. invest. vet. Perú. Lima. Enero/Junio. 2005 (16) (1)
12. Lucy del Carpio Ancaya. Situación de la mortalidad materna en el Perú, 2000 - 2012. Rev. Peruana med. Exp. Salud pública. Julio. 2013. 30 (3)
13. MINSA. Doctrina, normas y procedimientos para el control de las ETS y el SIDA en el Perú. RM. Nro 235-96-SA/DM.
14. Baeza-Herrera y col. Análisis de costos: metronidazol-amikacina versus monodosis preoperatoria de ceftriaxona en apendicitis. Rev. Cirugía y cirujanos. 2004. 72 (4); 277-280.
15. Vitalone Hector y col. Efecto de la carragenina e inometacina sobre el crecimiento de un fibrosarcoma murino. Medicina. V.60: 225-228. Buenos Aires, Argentina. 2000
16. Löfmark, Sonja, CharlottaEdlund, and Carl Erik Nord. "Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections." *Clinicalinfectiousdiseases* 50.Supplement 1 (2010): S16-S23.
17. Shakir, L., et al. "Metronidazole and the immune system." *Die Pharmazie-AnInternational Journal of Pharmaceutical Sciences* 66.6 (2011): 393-398.
18. Ganrot-Norlin, K., T. Stålhandske, and R. Karlström."Lack of antiinflammatory activity of metronidazole." *Acta Pharmacologica et Toxicologica* 49.2 (1981): 130-133.
19. Davies NM; Jamali F. Pharmacological protection of NSAID-induced intestinal permeability in the rat: effect of tempo and metronidazoleas protential free radical scavengers. Hum Exp Toxicol. 1997. Jul; 16 (7): 345-9.
20. Leiknes T. Leknes KN. Boe OE. Topial use of a metronidazole gel in the treatment of sites with symptoms of recurring chronic inflammation. J. Periodontol. 2007. Aug; 78 (8): 1538-44.
21. Linden GJ. Newman HN. The effects of subgingival irrigation with low dosage metronidazole on periodontalinflammation. J Clin Periodontol. 1991. Mar; 18 (3); 177 – 81.