

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA**

**“EFECTO DEL L-NAME EN LA ANALGESIA EXPERIMENTAL INDUCIDA
POR DEXKETOPROFENO Y KETOPROFENO”**

Andrea Paulina Viacava Sánchez

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Hugo F. Miranda**

**TUTOR ASOCIADO
Prof. Dr. Gianni Pinardi T**

**Santiago –Chile
2005**

INDICE

Introducción.....	1
-Marco teórico.....	3
1. Clasificación del dolor.....	4
2. Fisiopatología del dolor.....	5
2.1 Estructuras periféricas.....	6
2.2 Estructuras centrales y vías del dolor.....	7
2.3 Fisiología del dolor.....	9
2.4 Biosíntesis de óxido nítrico.....	11
3. Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos.....	16
3.1 Clasificación de los AINEs.....	16
3.2 Mecanismo de acción de los AINEs.....	17
3.3 Reacciones adversas de los AINEs.....	22
3.4 Perfil farmacológico de ketoprofeno.....	22
3.4.1 Aspectos generales.....	22
3.4.2 Características farmacodinámicas	24
3.4.3 Características farmacocinéticas	25
3.4.4 Indicación y eficacia analgésica.....	26
3.4.5 Contraindicaciones y efectos adversos.....	27
3.5 Perfil farmacológico de dexketoprofeno trometamol.....	27
3.5.1 Aspectos generales.....	27

3.5.2 Bases del desarrollo de dexketoprofeno.....	27
3.5.3 Proceso de obtención de los enantiómeros.....	32
3.5.4 Características farmacodinámicas.....	34
3.5.5 Características farmacocinéticas.....	35
3.5.6 Indicación y eficacia analgésica.....	36
3.5.7 Contraindicaciones y efectos adversos.....	36
- Hipótesis y objetivos.....	38
- Hipótesis.....	38
-Objetivo general.....	38
-Objetivos específicos.....	38
- Material y método.....	39
1. Animales y administración de drogas.....	39
2. Método de writhing test.....	42
3. Análisis isobolográfico.....	43
Resultados.....	46
1. Grupo control writhing test.....	46
2. Grupo tratado con AINEs.....	46
3. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta.....	50
4. Análisis isobolográfico.....	51

-Discusión.....	53
-Conclusión.....	56
-Resumen.....	57
- Sugerencias.....	58
-Referencias bibliográficas.....	59

INTRODUCCION

El dolor es quizá uno de los síntomas más comunes que se presenta en una enfermedad, es una experiencia sensorial y emocional desagradable que experimenta un individuo de manera única para él, razón por la cual es referido y vivido en cada persona de manera diferente. El dolor es también un problema físico, psicológico y social, que puede afectar el desenvolvimiento y conducta normal de una persona.

La importancia fisiológica del dolor es su función de preservación de la integridad del individuo. Es una estrategia adaptativa que le permite protegerse de las agresiones de medio externo o interno, produciendo una reacción del sujeto para eliminar de manera oportuna el estímulo doloroso. Sin embargo en algunas circunstancias el dolor pasa de tener una función benéfica y se convierte en sí mismo en una patología que debe ser suprimida para permitirle al organismo sobrevivir ⁽¹⁾. Es aquí cuando el tema del dolor se convierte para el Odontólogo en un aspecto frecuente de su quehacer diario, por lo que es importante tener un conocimiento integral acerca del tema, para comprender las manifestaciones y alteraciones que puedan suceder en los pacientes y resolverlas de forma correcta.

Hoy en día existe una gran batería de fármacos capaces de producir un poderoso y selectivo efecto inhibitorio del impulso doloroso, tales como opioides, anestésicos locales y antiinflamatorios no esteroidales. Aparte de las propiedades analgésicas, todos estos fármacos producen efectos colaterales en las dosis terapéuticas, cuya seriedad puede obligar a interrumpir el tratamiento. Los fármacos analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) han sido hasta ahora los fármacos de elección en el tratamiento del dolor de origen orofacial. El ketoprofeno es un analgésico de amplio uso en el tratamiento del dolor leve a moderado. Es una mezcla racémica de los enantiómeros *S* (+) y *R* (-), los cuales tienen diferentes actividades biológicas. El dexketoprofeno es el isómero *S* (+) del racemato que constituye al ketoprofeno, el cual ha sido desarrollado con el objetivo de obtener varias potenciales ventajas, tales como usar la mitad de la dosis requerida para ganar el mismo efecto analgésico que la mezcla racémica, reducir la carga metabólica a la mitad y minimizar el riesgo de los efectos secundarios causados directa o indirectamente por el isómero no utilizado, en este caso el isómero *R* (-).

Esta estrategia de reevaluar una droga racémica y separar la parte beneficiosa de un analgésico antiinflamatorio no esteroideal tan bien probado como lo ha sido el ketoprofeno tiene la intención de desarrollar una fórmula con un

isómero único, puro con un mejor índice terapéutico que la mezcla formulada como racemato ⁽²⁾.

MARCO TEÓRICO

El dolor ha sido definido por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor como: “Una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño” ⁽³⁾. La nocicepción es un mecanismo a través del cual, estímulos nocivos son transmitidos al sistema nervioso central (SNC), el cual participa en la capacidad de analizar la naturaleza, localización, intensidad y duración de la estimulación nociceptiva. Hoy en día, entendemos el dolor como la integración de tres componentes: (i) El componente sensitivo, que hace referencia al impulso desencadenado desde los receptores periféricos de dolor. (ii) El componente cognitivo, que se relaciona con el aprendizaje cultural, entorno social y experiencias previas respecto al dolor, y con las conductas que se asocian a éste, involucrando conductas de evitación, fóbicas, agresión, etc. (iii) El tercer componente emotivo- afectivo, que hace referencia a las emociones frente a un

impulso doloroso y la manera en que éstas puedan influir en la interpretación del mismo ⁽³⁾.

1. Clasificación de dolor:

Existen múltiples clasificaciones del dolor, pero tal vez las más utilizadas sean aquellas basadas en su evolución (dolor agudo o crónico) y en la naturaleza de su origen (dolor somático, visceral, neuropático y psicogénico ⁽³⁾).

a. Dolor agudo: Es producido por un daño tisular importante y su duración depende del lapso estimado como suficiente para que los tejidos sanen. Constituye un mecanismo fisiológico de alarma para limitar el daño e iniciar los procesos de reparación. Su curso temporal es propio de la lesión que lo originó. Este es el dolor observado después de un trauma, intervenciones quirúrgicas y en algunas enfermedades.

b. Dolor crónico: Se observa la persistencia del dolor aún después de que se ha reparado el daño del tejido que lo desencadenó. El dolor crónico puede ser debido a la persistencia en la estimulación de los nociceptores en áreas donde ha ocurrido daño tisular en ausencia del estímulo desencadenante. Carece de propiedades biológicas reparadoras.

c. Dolor somático: Es aquel que aparece cuando un estímulo potencialmente dañino para la integridad física excita los receptores nociceptivos de la piel, músculos o articulaciones. Es habitualmente bien localizado y el paciente no tiene grandes dificultades en describirlo.

d. Dolor visceral: El dolor visceral es producto de la estimulación de receptores de dolor que inervan estructuras viscerales tales como intestinos, órganos internos etc. Clásicamente es referido por el paciente como un dolor inespecífico de localización difusa, mal definido.

e. Dolor neuropático: Es el resultado de lesiones o alteraciones crónicas en vías nerviosas periféricas o centrales. Puede desarrollarse y persistir en ausencia de estímulo nocivo evidente, e involucran al sistema nervioso central.

f. Dolor psicogénico: Ocurre cuando el paciente describe problemas psicológicos como ansiedad o depresión. Si bien el daño estuvo o está presente, el problema central es la amplificación y distorsión de esos impulsos periféricos por el estado psicológico.

2. Fisiopatología del dolor:

Para percibir el dolor es necesaria una estructura periférica que actúe como receptor, una sinapsis en la médula espinal, vías de conducción desde la médula espinal hasta los centros superiores y una vía descendente desde los centros

superiores de la médula, además de un centro de integración que involucra a las áreas superiores del sistema nervioso central.

2.1 Estructuras periféricas:

Las vías involucradas en la transmisión de los impulsos dolorosos comienzan en receptores especiales denominados nociceptores, que son terminaciones nerviosas libres que se encuentran en diferentes tejidos corporales como son piel, vísceras, vasos sanguíneos, músculo, etc. ⁽⁴⁾. Constituye una neurita de una neurona periférica, cuyo soma se encuentra en el ganglio espinal adscrito a la raíz dorsal de los nervios espinales. Es el receptor más simple. Estos receptores transmiten la información a través de fibras nerviosas que son clasificadas dependiendo de su diámetro y grado de mielinización en fibras A y C. Las fibras A se subdividen a su vez en los tipos α , β , γ y δ . De todos estos tipos, solo los tipos $A\delta$ y C conducen los impulsos nociceptivos. Las fibras tipo $A\delta$ transmiten impulsos de origen mecánico y térmico que son correlacionadas con el dolor agudo; mientras que las fibras de tipo C conducen dolor crónico proveniente de estímulos que son fundamentalmente de naturaleza química ⁽⁴⁾. Las fibras A y

C terminan en neuronas de segundo orden en el cuerno dorsal de la médula espinal, donde los neurotransmisores secretados por las fibras aferentes primarias, para la sensación dolorosa son la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) ⁽⁴⁾.

2.2 Estructuras centrales y vías del dolor:

La vía general del dolor es la termalgésica, que es la vía que conduce el dolor y la temperatura. Una vez que las fibras nociceptivas entran a la médula espinal hacen sinapsis en el asta posterior. Las astas dorsales se clasifican según su histología en láminas que van desde I a VI. Las fibras de tipo A δ terminan en las láminas I y V y las de tipo C lo hacen en las láminas I y II. La lámina II y parte de la lámina III corresponden a la sustancia gelatinosa ⁽⁴⁾.

La prolongación central de la neurona pseudounipolar hace sinapsis en el asta dorsal, desde allí una segunda neurona cruza la línea media y asciende junto a la información que viene de niveles inferiores a través del tracto espinotalámico lateral, que asciende por el cordón lateral. Luego esta información llega al núcleo ventro-pósterio-lateral del tálamo en donde hace sinapsis. A este núcleo llega la información de dolor y temperatura de todo el cuerpo, a excepción de la cabeza. Desde allí sale una tercera neurona tálamocortical que terminará en la corteza cerebral, específicamente al área sensitiva primaria que se establece

en el giro postcentral o circunvolución parietal ascendente, en donde se encuentra el homúnculo sensitivo ⁽⁵⁾.

Esta vía consta por tanto, de tres neuronas, y es conocida como sistema neoespinotalámico, significa que es más nuevo dentro de la evolución.

Esta vía emerge de la lámina I a partir de las fibras A δ , es polisináptico, de conducción rápida (fibras mielinizadas), produce un dolor agudo y de localización precisa ya que llega a la corteza e indica en forma somatotópica el tejido estimulado. Finalmente otra característica es que no responde a morfina. A nivel de la sustancia reticular del bulbo esta vía deja una colateral. Este sistema reticular continúa ascendiendo producto de múltiples sinapsis, y se relaciona con el hipotálamo, quien finalmente comanda el sistema vegetativo. Se conecta también con los núcleos intralaminares del tálamo y desde allí al circuito límbico que es quien comanda las emociones, de manera que es un sistema que contribuye al procesamiento afectivo de la nocicepción. Allí integra también la memoria y experiencias previas con respecto al dolor que determina una mejor o peor respuesta ante un estímulo. Este sistema se conoce como retículo espinotalámico o paleoespinotalámico que es más antiguo, polisináptico, de conducción más lenta, percibe dolor de naturaleza más difusa porque no llega a la corteza, responde bien a morfina, y desencadena respuestas circulatorias,

respiratorias y endocrinas, ya que está involucrando al sistema límbico por un lado y al hipotálamo también, como comando vegetativo ⁽⁴⁻⁵⁾.

Las vías descendentes que modifican la actividad de todos los sistemas ascendentes son las fibras corticoespinales, originadas en el lóbulo parietal, las cuales terminan en el cuerno dorsal, y el tracto rafeespinal, que se origina en neuronas de los núcleos del rafe de la formación reticular de la médula oblonga. La mayor parte proviene del núcleo magno del rafe y del núcleo paragigantonuclear. Los axones amielínicos de este tracto bajan por el cordón posterolateral de la médula espinal y se postula que su neurotransmisor es la serotonina. Causa analgesia profunda por medio de la liberación de péptidos opioides ⁽⁶⁾. Se sugiere que las terminaciones de dolor de las fibras tipo C secretan dos neurotransmisores: el glutamato y la sustancia P. El glutamato es un aminoácido de peso molecular bajo (PM: 147.1) que se sintetiza localmente en la terminación nerviosa. Es el principal neurotransmisor excitatorio del SNC, con una presencia estimada en más del 70% de las sinapsis. La sustancia P es un neuropéptido de alto peso molecular (PM: 1516) que se sintetiza e incorpora a las vesículas presinápticas en el soma de las neuronas para luego transportarse activamente a la terminal nerviosa desde donde se libera por exocitosis calcio dependiente desde vesículas presinápticas ancladas a la zona activa liberándose con mayor lentitud y su concentración se eleva en un plazo de segundos o incluso

minutos. Se ha propuesto que la doble sensación de dolor que se percibe después de un estímulo doloroso podría obedecer a que el glutamato produce una sensación de dolor agudo, mientras que la sustancia P transmite una sensación más lenta ⁽⁶⁾.

2.3 Fisiología del dolor:

Después de toda injuria o lesión tisular se liberan diversos mediadores inflamatorios. Tal vez la causa más importante de dolor clínico es la inflamación, la cual da lugar a cambios químicos bien definidos que ocurren en el lugar del daño tisular ⁽⁷⁾. El pH bajo y una variedad de mensajeros son los causantes del dolor. Los mediadores químicos, entre otros, incluyen los derivados del ácido araquidónico (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos); aminas vasoactivas (como la histamina y serotonina) y el óxido nítrico, dentro de otros muchos que conforman un verdadero pool o “sopa sensibilizante” que median las diversas reacciones vasculares, celulares y el dolor ⁽⁶⁻⁷⁾.

El óxido nítrico (NO) es un gas simple que se ha visto implicado en la producción de varios procesos fisiológicos a nivel de todo el organismo. En los primeros estudios realizados en 1980 por *Furchgott* y *Zawadzki* se le denominó Factor Relajante Derivado del Endotelio (EDRF). En estos estudios se demostró

que existían un sinnúmero de acciones fisiológicas, bioquímicas y patológicas en las que el NO actuaba directa e indirectamente. En la actualidad está demostrado el papel esencial del NO en la regulación de diversas funciones entre las que cuentan: participación en el sistema cardiovascular, nervioso, muscular e inmune. Este hecho ha abierto grandes expectativas para el tratamiento de diversas enfermedades cuya etiología está relacionada con la biodisponibilidad del NO ⁽⁸⁾.

2.4 Biosíntesis del óxido nítrico:

El óxido nítrico es un gas simple que se sintetiza partir de la conversión de L-arginina más una molécula de oxígeno en óxido nítrico más L-citrulina. También se requiere de la presencia de calmodulina y de 4 cofactores que son: flavín mononucleotido (FMN), flavín adenina di nucleótido (FAD), tetrahydrobiopterina y NADPH. En presencia de la calmodulina los electrones donados por el NADPH son transportados por el FAD y por el FMN hacia el grupo hemo. La L-arginina se convierte en N-hidroxialanina y luego en NO y L-citrulina ⁽⁹⁾

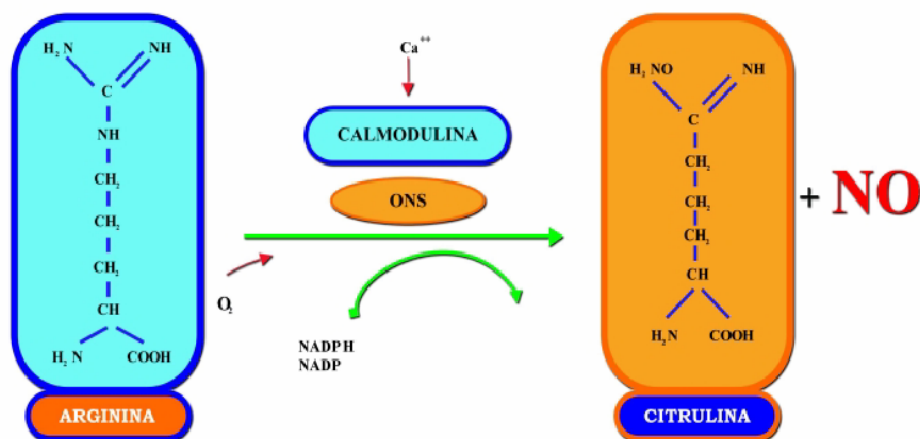


Figura 1: Biosíntesis del óxido nítrico

La enzima que cataliza esta reacción es la óxido nítrico sintasa (NOS). Se han identificado 3 isoformas de NOS: la neural o tipo I (nNOS), la inducible, calcio independiente o tipo II que se encuentra en macrófagos y otras células inmunológicas (iNOS) ⁽⁹⁾ y la endotelial o tipo III (eNOS). La NOS I y III se encuentran normalmente en los tejidos, son calcio/calmodulina dependientes, se hallan en el citosol, y solo producen cantidades pequeñas de NO al ser activadas por una elevación del calcio intracelular, incluyendo los vasodilatadores acetilcolina y bradicinina ⁽¹⁰⁾. La iNOS o tipo II es también denominada inducible o tipo macrófago, normalmente no se encuentra expresada, es inducida por estímulos inmunológicos-inflamatorios como citoquinas proinflamatorias y endotoxinas, que producen NO en concentraciones mayores, que son citotóxicas

y citostáticas para las células blanco. Se produce en macrófagos, polimorfos mononucleares neutrófilos, músculo liso y endotelio vascular. A diferencia de otras señales neuroactivas no se acumula en un compartimiento presináptico, y su liberación depende sólo de su biodisponibilidad. Como un gas, NO difunde con facilidad a las membranas celulares activando la guanidilciclasa, catalizando la transformación de guanosín trifosfato (GTP) en guanosín monofosfato cíclico (GMPc), provocando un aumento intracelular de GMPc, el cual es el mediador de sus efectos fisiológicos, incluyendo dolor y analgesia. La biodisponibilidad de GMPc está modulada por una fosfodiesterasa cuyas isoformas son tejido dependiente, por lo que constituyen blancos farmacológicos para amplificar el efecto de NO, por ejemplo Sildenafil adquiere especificidad por inhibir una fosfodiesterasa V que se expresa particularmente en tejido eréctil y pulmonar ⁽⁹⁾.

El NO tiene una vida media de 4 a 5 segundos en condiciones fisiológicas, siendo inactivado fácilmente por oxidación, dando lugar a la formación de nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-). La NOS puede ser inhibida por derivados estructurales del aminoácido arginina, tales como N-mono-metil-L-arginina (L-NMMA) y la N-nitro-L-arginina metilester (L-NAME). Usando fármacos activadores e inhibidores de la cascada L-arginina/NO/GMPc, se ha reportado que el NO juega un rol nociceptivo y antinociceptivo en los tejidos periféricos en donde se encuentra esta vía. Inhibidores de la NOS han demostrado ejercer un efecto antinociceptivo y

nociceptivo en modelos animales. Así, se ha demostrado la participación de la vía L-arginina-NO en la modulación del dolor. En ellos se ha establecido que la liberación de acetilcolina, sustancia que estimula la liberación de NO constitutivo, antagoniza la hiperalgesia inducida en ratas por prostaglandina E₂ (PGE₂) y carragenina, así como las contorciones inducidas en ratones por el ácido acético⁽¹¹⁾. Además, los donadores exógenos de NO como nitroprusiato sódico, nitroglicerina y SIN-I, antagonizan la hiperalgesia inducida por un estímulo inflamatorio como la carragenina o la PGE₂, lo que sugiere que el efecto antinociceptivo del NO en estas condiciones experimentales es mediado a través de la estimulación de GMPc⁽¹²⁾. Por el contrario, estudios sobre el rol del NO en la nocicepción periférica sugieren que el NO tiene más bien un rol pronociceptivo en los estados de dolor inducidos por estímulos como carragenina, capsaicina, glutamato, formalina o estímulos mecánicos. Estos estudios han demostrado que las concentraciones de las NO aumentan notablemente en diferentes modelos animales de dolor⁽¹³⁾. Estos resultados contradictorios podrían depender del animal usado en el estudio y el estímulo doloroso utilizado. Los diversos test que miden actividad antinociceptiva en laboratorios utilizan estímulos térmicos (ejemplo, calor doloroso), mecánicos (ejemplo; presión en la cola o la pata) o químicos (ejemplo; ácido acético o p-benzoquinona)⁽⁹⁾.

Hay creciente evidencia que indica el rol del NO en el desarrollo y mantención de los mecanismos que provocan la hiperalgesia, provocada por estímulos mecánicos, químicos o térmicos ⁽⁹⁾. El NO juega un rol en la percepción del dolor en muchos niveles de la vía nociceptiva. Periféricamente; las neuronas primarias aferentes y los ganglios del asta dorsal contienen NOS. A nivel central, en el cerebro y el tálamo, varias estructuras sensoriales también contienen esta enzima. Pareciera ser que los reflejos nociceptivos involucran un receptor de glutamato, el NMDA (N-metil-D aspartato), el cual media la producción de NO. Existe una serie de evidencias que indican que la activación aferente nociceptiva da como resultado una mayor excitabilidad de las neuronas espinales, fenómeno conocido como sensibilización central. Estudios farmacológicos sugieren que la sensibilización central es parcialmente mediada por la activación de receptores NMDA lo que se relaciona con la producción de óxido nítrico neural. Esto se produce por la liberación presináptica de glutamato el cual produce un flujo transmembrana de calcio y la activación de la NOSn, con la consecuente producción de NO. Este gas difunde, sale de la célula, atraviesa la membrana, y se introduce en la terminación presináptica estimulando una mayor secreción de glutamato, es decir se produce un feed back positivo a nivel central ⁽⁹⁾. Basándose en estas observaciones se propuso que el NO neural puede modular la hiperexcitabilidad de neuronas dorsales y jugar por lo tanto un papel

pronociceptivo en estados de dolor ⁽¹⁴⁾. En soporte de esta propuesta, se demostró que el tratamiento intratecal con inhibidores de la NOS como el L-NAME en concentraciones que bloquean por completo la producción de NO estimulada por receptores NMDA antagonizan significativamente el dolor en animales, lo que demuestra que la activación de los receptores espinales de NMDA están relacionados con la producción y aumento de GMPc, lo que puede inducir la liberación posterior de neurotransmisores excitatorios, resultando en un proceso de retroalimentación positiva que conduce a hiperexcitabilidad neuronal dorsal. Estos resultados implican que el NO pueda tener un papel mediador de las neuronas excitatorias.

3. Analgésicos- antiinflamatorios no esteroideos:

Los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) constituyen un grupo farmacológico muy heterogéneo que tienen en común su mecanismo de acción, caracterizado por inhibir la síntesis de prostaglandinas las cuales se liberan cuando hay daño tisular, presentes en los exudados inflamatorios, ejerciendo así un papel tanto en la sensibilización de los nociceptores, como en la mediación de procesos de inflamación, fiebre e interferencia en los mecanismos de agregación plaquetaria ⁽¹⁵⁾.

Por eso son usados en terapéutica como:

- Analgésicos
- Antiinflamatorios
- Antipiréticos
- Antiagregantes plaquetarios

3.1 Clasificación de los AINEs ⁽⁷⁾:

Los AINEs pueden ser clasificados según estructura química en:

- a. Derivados del ácido salicílico, Salicilatos: *Aspirina, diflunisal*.
- b. Derivados del para-aminofenol, anílicos: *Acetaminofeno (paracetamol)*
- c. Derivados pirazolónicos: *Metamizol; fenilbutazona*
- d. Derivados del ácido acético: *Diclofenaco; ketorolaco*
- e. Derivados de ácidos antralínicos, fenamatos: *Ácido mefenámico, clonixinato de lisina*
- f. Derivados enólicos: *Piroxicam, tenoxicam, meloxicam*
- g. Metanosulfonamidas: *Nimesulida*
- h. Derivados del ácido propiónico: *Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprosina*
- i. Alcanonas: *Nabumetona*
- j. Coxib: *celecoxib, lumiracoxib*

3.2 Mecanismo de acción de los AINEs:

El mecanismo de acción de los AINEs clásicos consiste principalmente en la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs) de manera que impiden la síntesis de eicosanoides a partir del ácido araquidónico, el cual se encuentra esterificado a los fosfolípidos de membrana ⁽¹⁵⁾. Frente a la injuria de los tejidos existe destrucción celular y ruptura de membranas liberándose fosfolípidos y lisosomas. La liberación de lisosomas conlleva a la aparición de múltiples mediadores como histamina y bradiquinina. A su vez, cuando se produce la agresión de los tejidos por diferentes agentes, se activa la enzima fosfolipasa A₂ (FLA₂); esta enzima hidroliza el enlace éster de los fosfolípidos de membrana con la liberación de ácido araquidónico ⁽¹⁶⁾. El ácido araquidónico puede seguir dos vías; la vía de la ciclooxigenasa o la vía de la lipooxigenasa (LOX).

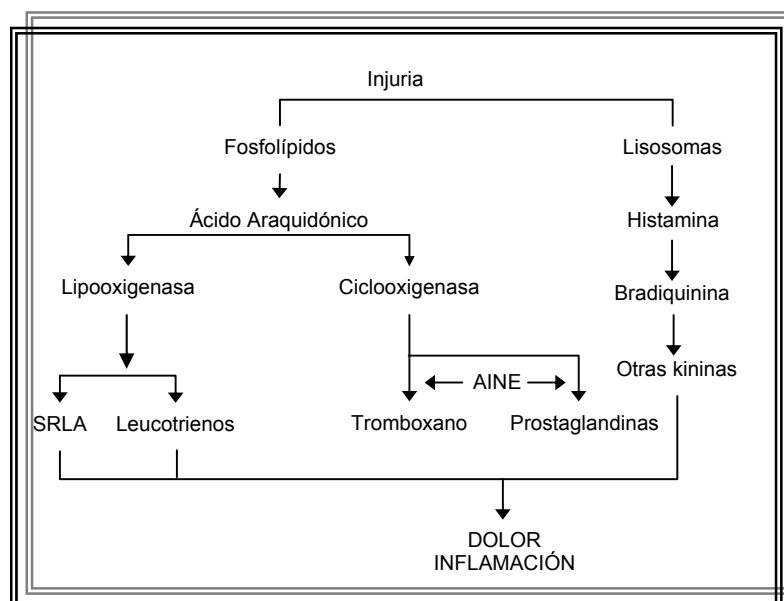


Figura 2: Mecanismo de acción de los AINEs

Por acción de las ciclooxigenasas se generan prostaglandinas y tromboxanos que sin ser los únicos, constituyen importantes mediadores de la inflamación. Además, por la vía de lipooxigenasa se producen leucotrienos, sustancias hipersensibilizantes y vasoconstrictoras con efecto quimiotáctico sobre eosinófilos, neutrófilos y macrófagos. Estos favorecen broncoconstricción y trastornos de permeabilidad capilar ⁽¹⁷⁾. Cabe recalcar de los antiinflamatorios no esteroideos inhiben la enzima ciclooxigenasa y la producción de prostaglandinas, pero no suprimen la formación de leucotrienos ⁽⁷⁾.

Existen dos isoformas de la enzima ciclooxigenasa, COX-1 y COX-2. La primera se expresa en la mayoría de los tejidos en forma fisiológica o constitutiva (mucosa gástrica, plaquetas y riñones) y es responsable de la síntesis de prostaglandinas (PG) con función protectora de la mucosa gástrica (citoprotectoras), que regulan la función renal y la actividad plaquetaria. La COX-2 (principal isoenzima asociada a la inflamación) se expresa en forma constitutiva en el sistema nervioso central, riñón y aparato reproductor. La COX-2 se induce por estímulos inflamatorios, producidos por macrófagos, monocitos y células

endoteliales, donde se generan prostaglandinas que median el dolor y la inflamación. Estas PG probablemente juegan un papel en el riñón, cerebro, fisiología de la reproducción, desarrollo del embrión y reparación de los tejidos ⁽¹⁵⁾.

Los AINEs ejercen su actividad antiinflamatoria principalmente a través de la inhibición de las COX- en el sitio de la inflamación. Se postula que la inhibición de la COX-1 sería la responsable de los efectos adversos de los AINEs clásicos sobre la mucosa gastrointestinal, mientras que sus beneficios terapéuticos dependerían de la inhibición de la COX-2.

La principal ventaja de los fármacos que actúan selectivamente inhibiendo COX-2 es que, consiguiendo la misma eficacia antiinflamatoria, se reducen los efectos secundarios derivados de bloquear la COX-1. No obstante la COX-2 juega un papel importante en diversos órganos, por lo que su inhibición podría producir efectos secundarios como alteraciones de la función renal y del metabolismo electrolítico ⁽¹⁵⁾.

Los AINEs clásicos inhiben tanto la COX-1 como la COX-2, motivo por lo que la investigación en AINEs va encaminada hacia la producción de fármacos con mayor selectividad por la inhibición de la COX-2, intentando que sea mínima o nula su acción sobre la COX-1. Así, por ejemplo, *celecoxib* el cual pertenece a una nueva generación de analgésicos de alta eficacia y rapidez que inhiben

selectivamente la COX-2 a través de un mecanismo único de interacción con el sitio activo de dicha enzima ⁽¹⁸⁾.

La mayor parte de los AINEs son ácidos orgánicos que inhiben de forma competitiva, reversible y estereoespecífica la actividad de la ciclooxigenasa. Además cada molécula puede tener ciertas acciones farmacológicas diferenciales que potencien su utilización como antiinflamatorios, tal como interferir la activación de neutrófilos, producción de aniones superóxido, inhibición de moléculas de adhesión, etc, o como analgésicos. También debe considerarse la posibilidad de efectos en el SNC, modulando la síntesis de glutamato, la transducción del receptor NMDA, síntesis de sustancia P, etc ⁽⁶⁾.

Diversos estudios experimentales intentan diferenciar el efecto analgésico y antiinflamatorio de cada AINEs en función de la dosis necesaria para conseguir cada uno de ellos. El efecto analgésico puede ser medido por la prueba de las contorsiones inducidas por ácido acético en el ratón. En esta prueba se inyecta en el abdomen del ratón una dosis conocida de irritante (ácido acético) que le produce una serie de espasmos. La administración de diversas dosis de diferentes AINEs produce una inhibición dosis dependiente de las contorsiones abdominales. El efecto antiinflamatorio se puede medir, entre otros ensayos, mediante la prueba del edema plantar de carragenina en la rata. La carragenina inyectada en la almohadilla plantar de una extremidad de la rata produce una gran

inflamación que se puede medir por pletismografía (diferencial del volumen de líquido que desplaza la extremidad sumergida antes o después de inyectar la carragenina). La administración de varias dosis de AINEs inhibe este efecto inflamatorio. Con estas pruebas se demostró que los AINEs presentan una diferente selectividad por los efectos analgésicos y antiinflamatorios ⁽¹⁹⁾.

3.3. Reacciones adversas de los AINEs:

Una reacción adversa a droga es cualquier respuesta no deseada y no intencionada que ocurre con la dosis terapéutica de ella. Además de tener diferentes propiedades terapéuticas los antiinflamatorios no esteroideos tienen una serie de efectos indeseados, consecuencia de acciones farmacodinámicas expresadas por todos aquellos sistemas en las que las prostaglandinas cumplen funciones fisiológicas.

Algunas de las reacciones adversas a estos fármacos afectan los sistemas gastrointestinal; renal; cardiovascular y hepático. Además altera la actividad plaquetaria, la gestación y producen reacciones anafilácticas. Con el desarrollo de AINEs selectivos a COX-2, se ha logrado la disminución en gran parte de los

efectos indeseables de estos fármacos, sobre todo los gastrointestinales, las cuales se asocian con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas citoprotectoras.

3.4 Perfil farmacológico del ketoprofeno:

3.4.1 Aspectos generales del ketoprofeno

Ketoprofeno es un antiinflamatorio no esterooidal (AINE) derivado del ácido propiónico, ampliamente usado en su formulación de mezcla racémica, como agente analgésico, antiinflamatorio y antipirético por más de 20 años.

Posee una efectiva y segura actividad analgésica en diversas situaciones de dolor leve a moderado provocado por la inflamación de los tejidos. Sus efectos antiinflamatorios están relacionados con la inhibición de las ciclooxigenasas (COX-1 > COX-2) con la consecuente reducción de la producción de prostaglandinas ⁽²⁰⁾. En su mezcla racémica participan los enantiómeros *S* (+) y *R* (-), los cuales pese a estar en cantidades equivalentes en la mezcla, tienen diferentes actividades farmacocinéticas y farmacodinámicas. Se ha demostrado que la habilidad de inhibir la formación de prostaglandinas reside casi exclusivamente en el enantiómero *S* (+) de los AINEs racémicos, el cual en el caso de ketoprofeno es llamado dexketoprofeno, cuyas características serán detalladas más adelante.

Si bien el isómero *R* (-) del ketoprofeno no ejerce inhibición de la ciclooxigenasa, varios estudios han sugerido un mecanismo de acción

independiente del bloqueo de la síntesis de prostaglandinas, que también puede ser importante en el efecto analgésico de estas drogas. Estos reportes se basan en el hecho de que, en diferentes modelos de dolor animales y humanos, el enantiómero *R* (-) puro del ketoprofeno y flurbiprofeno poseen una sustancial actividad analgésica. Así, se ha demostrado en un estudio que compara la efectividad analgésica de 25 y 100 mg de *R* (-) ketoprofeno, 1000 mg de acetaminofeno (paracetamol) y un placebo, en pacientes que experimentan dolor después de la remoción quirúrgica de terceros molares impactados. Se observó que de la dosis de 100mg de *R* (-) ketoprofeno fue equivalente a 1000mg de acetaminofeno, lo que indica que el *R* (-) isómero sí posee actividad analgésica. Sin embargo, al ser comparado con la mezcla racémica, se observa que los resultados de 100mg de *R* (-) son muy similares a los obtenidos con 12.5 mg de la mezcla racémica, por lo que se sugiere que el *R* (-) ketoprofeno es 10 veces menos potente que su contraparte *S* (+) ⁽²¹⁾.

3.4.2 Características farmacodinámicas de ketoprofeno racémico:

El ketoprofeno actúa por inhibición competitiva y reversible de la ciclooxigenasa impidiendo la síntesis de prostaglandinas y otros eicosanoides que son liberados en el proceso inflamatorio. La inhibición de la COX previene o reduce la sensibilización de los nociceptores y por consecuencia alivia la

hiperalgesia asociada a la inflamación de los tejidos ⁽²²⁾. Tiene actividad antibradikinina y actividad estabilizadora de membrana lisosomal ⁽⁷⁾. La acción antipirética puede ser secundaria a una acción central de inhibición de la liberación de prostaglandinas inducida por pirógenos y posiblemente también a una acción vasodilatadora periférica de mediación central. La potencia analgésica del ketoprofeno es similar a la de la indometacina y una 20 veces superior a la del ibuprofeno y la del ácido acetilsalicílico ⁽²³⁾.

Evidencias experimentales sugieren que la inhibición de prostaglandinas sintetizadas periféricamente no explica completamente los efectos analgésicos de ketoprofeno, y por lo tanto deben considerarse posibles los efectos centrales de estos fármacos. Así, se postula que los AINEs podrían producir analgesia actuando en dos niveles; (i) por acción periférica relacionada con el bloqueo de la sensibilización de nociceptores mediante la inhibición de la COX, y (ii) por la inhibición de los procesos responsables de la sensibilización central, especialmente a nivel de la médula espinal. Estudios donde se comparan las acciones del ketoprofeno a nivel central concluyeron que la administración sistémica de ketoprofeno fue efectiva en deprimir la actividad eléctrica de unidades motoras únicas en el cordón espinal de ratas, provocada por la estimulación nociceptiva térmica y mecánica de la piel, ya sea sana o inflamada ⁽²²⁾. Por otro lado, al inyectar ketoprofeno en diferentes sitios del SNC, se produjo

diferentes grados de analgesia, por lo que fue sugerido que ejerce una actividad central independiente de inhibición de COX ⁽²⁴⁾.

3.4.3 Características farmacocinéticas:

Después de ingerido, ketoprofeno se absorbe en forma rápida en el tracto gastrointestinal, la presencia de alimentos disminuye la rapidez de absorción, pero no su magnitud. Tiene una biodisponibilidad vía oral del 90%.

Una dosis de 50 mg en término de una a dos horas, alcanza concentraciones máximas en el plasma; $t_{máx}$ entre 0.5-2 horas ⁽²⁾. Volumen de distribución aparente de 0.1 L / kg. Tiene una vida media corta de 1-1.5 horas. Su unión a proteínas plasmáticas es alta (99%). Llega también al fluido sinovial y difunde rápidamente a través de la barrera hematoencefálica. En humanos es detectado en el SNC después de 15 minutos de su administración ⁽²²⁾. Este fármaco se conjuga con ácido glucorónico en el hígado dando lugar a metabolitos inactivos. El 60-70% se elimina por excreción renal en forma de metabolitos conjugados con ácido glucorónico ⁽⁷⁾.

3.4.4 Indicación y eficacia analgésica:

Ketoprofeno está indicado en situaciones de dolor leve a moderado, por ejemplo cirugía de terceros molares, afecciones músculo esqueléticas, osteoartritis y artritis reumatoídea. Este fármaco penetra al líquido sinovial, de

donde es lentamente eliminado. Así, concentraciones terapéuticas pueden ser mantenidas en los tejidos afectados sin necesidad de una administración frecuente. Ketoprofeno está disponible en un amplio rango de formulaciones, cada una diseñada para proveer una adecuada terapia en situaciones clínicas específicas: Cápsulas orales para una terapia de corto tiempo, de liberación prolongada para terapias crónicas y de administración una vez al día, supositorios para evitar efectos adversos gastrointestinales en pacientes susceptibles, intramuscular para una rápida acción y una formulación gel, para aplicación tópica (20).

3.4.5 Contraindicaciones y efectos adversos:

Las contraindicaciones y efectos adversos de Ketoprofeno son similares al resto de los AINEs.

3.5 Perfil farmacológico del Dexketoprofeno trometamol

3.5.1 Generalidades del dexketoprofeno trometamol

El dexketoprofeno es el ácido S (+)-2(3-benzoilfenil) propiónico o enantiómero S (+) del ketoprofeno. Farmacológicamente pertenece a la familia de los AINEs propiónicos usados en terapéutica por sus efectos analgésico, antiinflamatorio y antipirético. El proceso de desarrollo e investigación del ketoprofeno se encuadra dentro de la tendencia actual hacia la sustitución de fármacos racémicos por su fórmula enantioméricamente pura, con el fin de reducir

la dosis de fármaco necesaria para alcanzar un determinado efecto terapéutico e incrementar la potencia y seguridad del fármaco ⁽²⁾.

3.5.2 Bases del desarrollo del dexketoprofeno trometamol:

Muchas drogas y la mayoría de las moléculas de nuestro cuerpo están compuestas por quirales. Esta propiedad define la característica de algunas moléculas que poseen una estructura espacial asimétrica respecto a un átomo de carbono central, de tal forma que tiene la misma composición química, pero diferente configuración tridimensional. Es decir, pueden existir en el espacio dos formas diferentes que son imágenes especulares entre sí y no superponibles. A cada una de estas estructuras espaciales que presentan una simetría especular se les denomina isómeros ópticos. ⁽²⁵⁾

Un ejemplo de esto son las manos. La mano derecha y la izquierda son iguales, pero no se pueden superponer y una de ellas reflejada en un espejo nos da la imagen de la otra. Este fenómeno químico llamado "quiralidad" fue tomado de "*cheiro*", del griego, que significa mano ⁽²⁾.

Los isómeros en un comienzo fueron nombrados como "*D*" (por derecha o "dexter") y "*L*" (por leavo, izquierda en griego). Esta denominación con letras está relacionada simplemente con la dirección de la rotación de la luz polarizada, denominando como rotación (+) cuando era hacia la derecha y (-) cuando la

rotación era hacia la izquierda. Sin embargo, se descubrió que no había una simple correlación entre la configuración molecular (D y L) y la dirección o magnitud de la rotación óptica (+ o -), así que hoy usamos la lengua latina para la describir a los isómeros según la posición de la molécula alrededor del carbono central. El enantiómero en que la dirección o el orden de los radicales de mayor a menor sigue las agujas del reloj se le asigna la letra “*R*” (de “*rectus*”, derecha) y aquel en que el orden de sus radicales es antihorario se les denominó como “*S*” (por “*siniestra*”, izquierda). A su vez, la dirección de la rotación óptica ya no es denominada con letras, sólo como (+) y (-). Técnicamente, los pares de isómeros opuestos son referidos como enantiómeros, del griego “*enantios*”, opuestos ⁽²⁾.

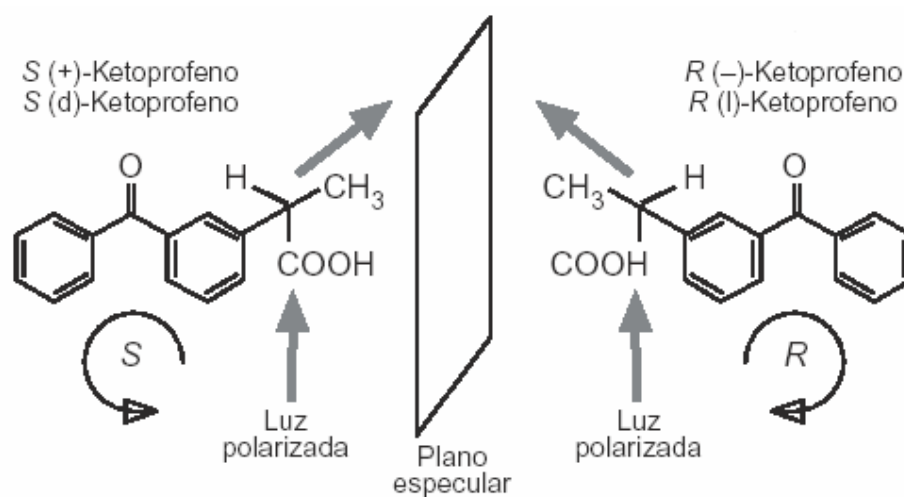


Figura 3: Nomenclatura de los enantiómeros del ketoprofeno en función de sus propiedades químicas y físicas.

En las síntesis química de los analgésicos se producen numerosos AINEs quirales, por ejemplo los derivados del ácido propiónico, Ibuprofeno y flurbiprofeno, y otros como ketorolaco y el butibufeno. Los fármacos quirales suelen utilizarse como mezclas racémicas, las cuales contienen 50% de cada enantiómero.

La importancia de la quiralidad en el mecanismo de acción de los AINEs se debe a que el centro receptor de las isoenzimas sobre las que ejercen su acción, COX-1 y COX-2, tienen una configuración espacial asimétrica que sólo reaccionará con los enantiómeros que sean tridimensionalmente complementarios ⁽¹⁸⁾.

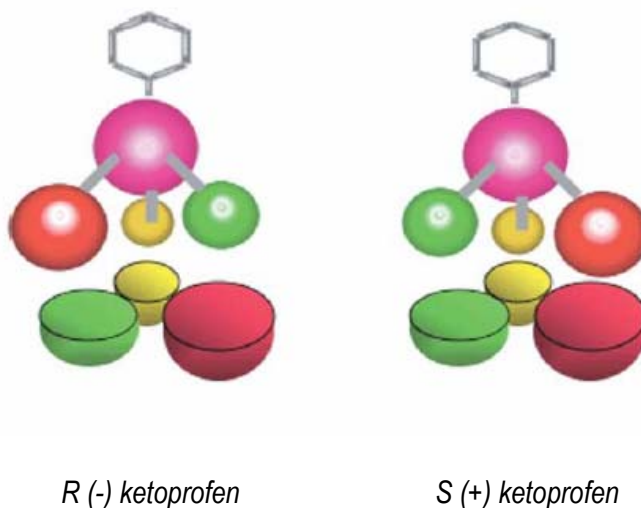


Figura 4: Unión a receptor específico. Este es el caso de los AINEs y las dos formas de la ciclooxigenasa, la cual puede ser bloqueada por solo uno de los enantiómeros, el S (+)

En el caso de los AINEs quirales, solo el enantiómero S (+) es capaz de bloquear la acción de ambas ciclooxigenasas y por tanto en él reside la actividad farmacológica del ketoprofeno ⁽²⁶⁾.

Por el contrario el enantiómero R (-) carece de actividad terapéutica frente a esta enzima, destacando así la importancia de la estructura tridimensional en la inhibición de las ciclooxigenasas ⁽⁶⁾.

Ha habido un creciente conocimiento de que los enantiómeros de los AINEs pueden ser químicamente similares, sin embargo son asimilados en forma diferente dentro del organismo. Al administrar el R (-) ketoprofeno se complica la cinética del fármaco ya que es preciso metabolizarlo y excretarlo, sin obtener ningún provecho terapéutico ⁽²⁷⁾. Por esta razón han sido separados, para utilizar sólo el isómero óptico activo, llamado "eutómero". Así, la cantidad de fármaco a ser absorbido, metabolizado y excretado se reduce a la mitad y se descarta el isómero no deseado, con la potencial reducción de los efectos secundarios relacionados a este componente no activo, también llamado "distómero" ⁽²⁾.

Existe en la naturaleza un fenómeno llamado inversión enantomérica. Se entiende por inversión enantomérica la capacidad que tiene el organismo de cambiar la morfología tridimensional del fármaco por algún proceso enzimático. Con la notable excepción del naproxeno, todos los “*profenos*” en uso clínico han sido introducidos como racematos. Ha sido demostrado *in vivo* que estos componentes sufren una inversión quiral metabólica estereoespecífica, unidireccional desde su forma inactiva $R (-)$ a su forma farmacológicamente activa $S (+)$ ⁽²⁸⁾.

En ratones, el enantiómero $R (-)$ del ketoprofeno sufre una inversión parcial, unidireccional de aproximadamente un 60% hacia el enantiómero $S (+)$ correspondiente. Esto es llevado a cabo por una enzima estereo selectiva, la acetil Co-A sintetasa. Por otra parte, el fenómeno opuesto, la bioinversión de $S (+)$ a $R (-)$ ha sido observado en animales. El proceso es especie-específico, depende de la estructura del profeno y del animal bajo investigación. En el hombre, por ejemplo, ibuprofeno y fenoprofeno sufren inversión opuesta, lo que no ocurre con el ketoprofeno ⁽²⁹⁾. Procesos metabólicos pueden activar un enantiómero inactivo administrado sistémicamente. De otra manera la obtención de una respuesta terapéutica dependería de la capacidad de transformación metabólica. Un ejemplo de esto es lo que ocurre con el ibuprofeno racémico, que

presenta una gran variabilidad de respuesta en función de la inversión unidireccional de su metabolito inactivo en activo ⁽³⁰⁾.

3.5.3 Proceso de obtención de los enantiómeros:

Los isómeros ópticos han sido arduos de estudiar porque han sido difíciles de separar. Esta dificultad se debe al hecho que los isómeros ópticos están formados por componentes idénticos. El proceso ha tenido que esperar los avances en estereoquímica y los métodos analíticos para realizar una rápida y exacta separación y medición de los enantiómeros ⁽²⁾.

La clave del avance en esta área fué el desarrollo de la HPLC (high pressure liquid chromatography) y CSPs (gas chromatography with quiral stationary phases) ⁽²⁸⁾. En el caso de los AINEs, así como otros compuestos, la molécula debe tener una superficie asimétrica expuesta para que tenga propiedades farmacológicas. Está claro que el uso de los agentes quirales depende no sólo de la cantidad de enantiómeros, sino también de la separación física de los isómeros ópticos. Una opción para separarlos es la cristalización de las moléculas, pero lamentablemente esta cristalización no funciona para la mayoría de las mezclas racémicas. El método que comúnmente se utiliza para la separación de estas mezclas se basa en una reacción ácido-base ⁽²⁾.

El dexketoprofeno es obtenido biotecnológicamente vía bio-catalítica, a través de la hidrólisis enantioselectiva del etil-éster del ketoprofeno racémico, con su consecuente cristalización, el cual corresponde al isómero S (+) ácido ⁽³¹⁾. Luego, éste es convertido a la sal Tris (trometamol) para mejorar las propiedades fisicoquímicas y la solubilidad en agua de la droga. La sal es 100 veces más soluble que la forma ácida ⁽²⁷⁾.

Dada la eficacia del ketoprofeno, la preparación del trometamol agrega una rapidez de absorción por la selectividad del quiral.

3.5.4 Características farmacodinámicas:

El dexketoprofeno trometamol es una sal tanto hidrosoluble como liposoluble. Su solubilidad en agua asegura una rápida disolución en el fluido intestinal. La liposolubilidad ayuda a acelerar la absorción a través de membranas biológicas, ya que al estar las células intestinales compuestas por una doble membrana lipídica, la droga atraviesa las membranas fácilmente, sin necesidad de transporte activo ⁽⁶⁾. Esta característica estaría asociada con una rápida y mayor penetración en el SNC a través de la barrera hematoencefálica y posiblemente actuar a nivel de la médula espinal así como también en el tálamo. A través de técnicas autoradiográficas se estudió la distribución de

dexketoprofeno marcado con carbono 14 en ratas, después de ser administrado por vía oral. A los 20 minutos, los tejidos del SNC, incluyendo el cerebro y la médula espinal contenían cantidades de radioactividad indicativas de una concentración de la droga suficiente para inhibir la síntesis de prostaglandinas. Esto plantea la posibilidad de un efecto analgésico central, distinto a la acción analgésica periférica que pueda ocurrir en el sitio de la injuria mediante la inhibición de la COX-2 ⁽²⁾.

El dexketoprofeno ha demostrado inhibir estereoselectivamente la actividad de COX microsomal en cerebro de ratas, por lo que se ha sugerido como mecanismo para explicar el efecto analgésico central de los AINEs ⁽³²⁾.

3.5.5 Características farmacocinéticas:

El dexketoprofeno administrado por vía oral se absorbe rápidamente en el intestino delgado. En el ser humano la biodisponibilidad relativa del fármaco oral en dosis de 25 mg es similar a la del ketoprofeno racémico oral en dosis de 50 mg ⁽³³⁾. Estudios de farmacocinética en voluntarios sanos demostraron que la preparación como sal trometamínica tiene un rango de absorción más alto que su forma ácida libre y que el racemato. Una dosis de 25 mg alcanza la máxima concentración plasmática (t_{max}) en 0.25-0.75 h, mientras que el ketoprofeno original con una dosis mayor, de 50 mg, demora entre 0.5-3 h en alcanzar su

(t_{max})⁽³⁴⁾. La absorción del dexketoprofeno es tan rápida que en la práctica podría igualar a la inyección intramuscular. A su vez la concentración plasmática máxima (C_{max}) es de 3.1 mg/l^(2- 35). Por su carácter ácido hace que se una altamente a proteínas plasmáticas (99%). Es metabolizado en el hígado, utilizando la enzima citocromo P450. La droga tiene un alto número de metabolitos, principalmente derivados hidroxilos, los cuales son rápida y completamente eliminados. En humanos la principal vía de excreción es renal (aproximadamente 70-80 % en 12 horas). No hay presencia de la droga en su forma original en la orina. En la práctica, la absorción, distribución y eliminación de las preparaciones altamente lipofílicas como lo es el dexketoprofeno trometamol son controlados mayormente por el rango de difusión de la droga a través de las membranas y compartimientos hidrofílicos⁽²⁻³⁶⁾.

3.5.6 Indicación y eficacia analgésica:

El dexketoprofeno es usado ampliamente para el tratamiento del dolor leve a moderado en situaciones de odontalgias, alivio del dolor post-operatorio en cirugía bucal, afecciones musculoesqueléticas dolorosas como osteoartritis. Su mayor ventaja es su rápida velocidad de acción analgésica y potente actividad antiinflamatoria⁽²⁾. Al ser comparado con ibuprofeno en el manejo del dolor post operatorio tras cirugía bucal de extracción de terceros molares incluidos o semiincluidos, se comprobó que el dexketoprofeno 25 mg es más efectivo en la

primera hora tras la intervención que el ibuprofeno 600 mg ⁽³³⁾. Otro estudio donde se comparó la eficacia y tolerancia de dexketoprofeno v/s tramadol, demostró ser tan efectivo como tramadol 50 mg durante los tres primeros días del post-operatorio en cirugía ortopédica ⁽³⁴⁾.

3.5.7 Contraindicaciones y efectos adversos:

Dexketoprofeno ha demostrado tener un perfil de seguridad comparable o mejor incluso que tramadol y diclofenaco ⁽³⁷⁾. Su rápida absorción pareciera ofrecer alguna protección frente a complicaciones gastrointestinales provocadas por irritación directa de la mucosa gástrica independiente de la inhibición de la COX-1 ⁽²⁾. La acción ulcerogénica de las sales de trometamol, especialmente del ketoprofeno trometamol es muy baja; cinco veces menor que el ketoprofeno racémico. De esta forma el ketoprofeno racémico debe ser evitado en pacientes con enfermedad gastrointestinal activa, en pacientes susceptibles a sufrir úlceras, y en pacientes con alteraciones hepáticas.

HIPÓTESIS:

La administración sistémica de dexketoprofeno o ketoprofeno induce antinocicepción que es modulada por el sistema NO-GMPc.

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la actividad antinociceptiva de dexketoprofeno y de ketoprofeno en el ensayo experimental de dolor agudo tónico visceral denominado test de las contorsiones abdominales y el efecto de la inhibición de la NOS.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal o sistémica de dexketoprofeno y ketoprofeno en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por la administración intraperitoneal de ácido acético al 0.6 % en ratones.

2. Caracterizar la naturaleza de la modulación nitredérgica en la antinocicepción producida por la administración intraperitoneal de dexketoprofeno o ketoprofeno, usando el mismo método algiesiométrico.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Animales y administración de fármacos:

En el estudio fueron usados 132 ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) machos de 28 a 30 gramos de peso. Los animales fueron aclimatados al ambiente de laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación, la cual se realizó siguiendo el protocolo aprobado por la Comisión de ética de la Facultad de medicina de la Universidad de Chile. Cada animal seleccionado de manera aleatoria, fue usado solo una vez y recibió solamente una dosis de las drogas estudiadas. Las observaciones fueron efectuadas en forma randomizada, ciega y

controladas con salino. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después de realizado el experimento mediante el método de dislocación cervical.

Las drogas disueltas en solución salina fueron ketoprofeno y dexketoprofeno, los que se administraron intraperitonealmente (i.p), en dosis de un volumen constante de 10 ml/kg, 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, ya que experimentos preliminares demuestran que es el tiempo en que se alcanza el efecto analgésico máximo. Los animales usados como grupo control fueron tratados con salino i.p. incluyéndose dos ejemplares en cada grupo experimental.



Fotografía 5: Ratones de la cepa CF/1, *Mus musculus*.



Fotografía 6: Administración de las drogas.



Fotografía 7: Administración de las drogas.

2. Método de las contorsiones abdominales o writhing test

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó mediante el método algiesiométrico writhing test o test de las contorsiones abdominales, en el cual se utilizó un estímulo nociceptivo, químico irritativo, que corresponde a la inyección intraperitoneal de 10 ml/ kg se solución de ácido acético al 0.6%, que produce un dolor de tipo visceral, el cual se midió contando el número de contorsiones que presentó el animal durante un período de 5 minutos, considerados a partir de los 5 minutos post inyección del ácido acético. Una contorsión fue definida como una contracción de los músculos abdominales acompañado de la elongación del cuerpo y extensión de una o ambas extremidades posteriores ⁽²⁴⁾. Los resultados se expresaron como porcentaje de antinocicepción (%AN) de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\% AN = 100 - [WE / WC \times 100]$$

donde:

WE = número de contorsiones de los animales inyectados con droga, y

WC = número de contorsiones en los animales inyectados con salino
(controles)

3. Análisis Isobolográfico de la interacción ketoprofeno/dexketoprofeno:

Para el estudio de las interacciones se utilizaron dosis que producen un 50 % de efecto máximo (DE_{50}), que se calculó mediante el análisis de regresión lineal de las correspondientes curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados por vía intraperitoneal en seis animales por cada una de cuatro dosis. La interacción entre las drogas se efectuó administrando i.p., combinaciones de acuerdo a proporciones de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las DE_{50} de ketoprofeno y dexketoprofeno. La coadministración se efectuó en los animales antes y después del pretratamiento con 2.5 mg/kg i.p. de L-NAME, inhibidor no selectivo de NOS.

Para la evaluación de las interacciones se utilizó el método isobolográfico del Laboratorio, en la forma descrita por Tallarida y Murray (1987) ⁽³⁸⁾, que corresponde a representaciones gráficas de dosis isoefectivas para un efecto determinado, de cada uno de los fármacos utilizados individualmente y combinados. Este tipo de análisis permite conocer si existe interacción, de que tipo y cual es su magnitud.

Para cada combinación de las drogas se determinó la DE_{50} mediante el análisis de regresión lineal de su curva dosis-respuesta. Esta dosis se comparó estadísticamente con la dosis que representa teóricamente la adición simple de efectos, que se obtiene según la siguiente fórmula:

$$DE_{50} \text{ aditividad teórica} = DE_{50} \text{ droga 1} / (P1 + R \times P2)$$

Donde:

- R: relación de potencia entre las drogas 1 y 2 administradas por sí solas.
- P1: proporción de la droga 1 en la mezcla.
- P2: proporción de la droga 2 en la mezcla.

El punto experimental resultante se grafica en un sistema de coordenadas cartesianas que contienen una línea que conecta la DE_{50} de la droga 1 en la abscisa con la DE_{50} de la droga 2 en la ordenada (línea de aditividad simple).

La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. En el caso de que la interacción sea sinérgica, el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso contrario, si resultase una interacción antagónica, el punto se ubicará sobre la línea de

aditividad, y por último, si el punto se ubica en un sector cercano a la línea de aditividad, la interacción será de simple aditividad.

Al mismo tiempo, el programa calcula el índice de interacción entre las drogas, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$ED_{50} \text{ experimental} / ED_{50} \text{ teórico}$$

Si el valor resultante es menor que 1 corresponde a una interacción sinérgica; al resultar igual a 1 la interacción es aditiva, y si es mayor que 1, es antagónica ⁽³⁹⁾

El análisis estadístico de los datos obtenidos en las curvas log dosis-respuestas se analizaron mediante regresión lineal por cuadrados mínimos para determinar las DE_{50} . Los parámetros estadísticos relativos a los isobogramas, se calcularon con un programa computacional del Laboratorio, y la significación estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

1. Grupo control writhing test

La administración de 10 ml/kg de solución fisiológica vía i.p., 30 minutos antes del estímulo nociceptivo (ácido acético al 0.6%), produjo $19.8 \pm 0,3$ contorsiones, (n= 40).

2. Grupo tratado con AINEs:

Ketoprofeno: La administración de ketoprofeno, i.p., en el ensayo algiesiométrico de las contorsiones abdominales, produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, cuya curva se muestra en la figura 9. De esta curva se dedujo la DE_{50} que resultó ser de 30.3 ± 3.8 mg/kg.

Dexketoprofeno: Al administrar dexketoprofeno por igual vía, induce una respuesta antinociceptiva de naturaleza dosis-dependiente, como se observa en la figura 10. Al deducir la DE_{50} , de este AINE resultó ser 14.6 ± 1.8 mg/kg.



Fotografía 8: Contorsión abdominal del ratón durante el ensayo algesiométrico.

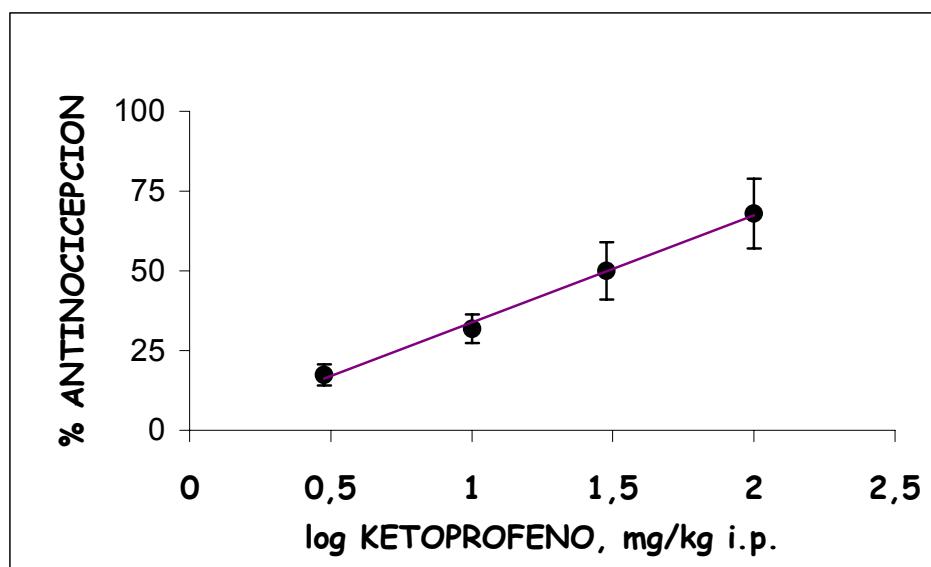


Figura 9: Curva dosis-respuesta a ketoprofeno en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético.

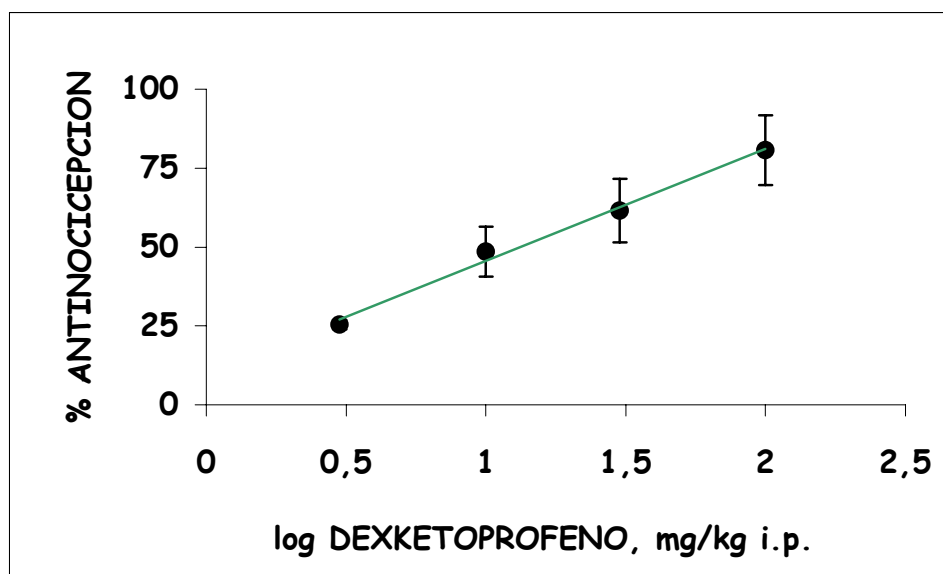


Figura 10: Curva dosis-respuesta a dexketoprofeno en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético.

3. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta.

El análisis estadístico de las curvas dosis-respuesta de ketoprofeno y dexketoprofeno, demostró que ellas son estadísticamente paralelas, como lo muestra la figura 11.

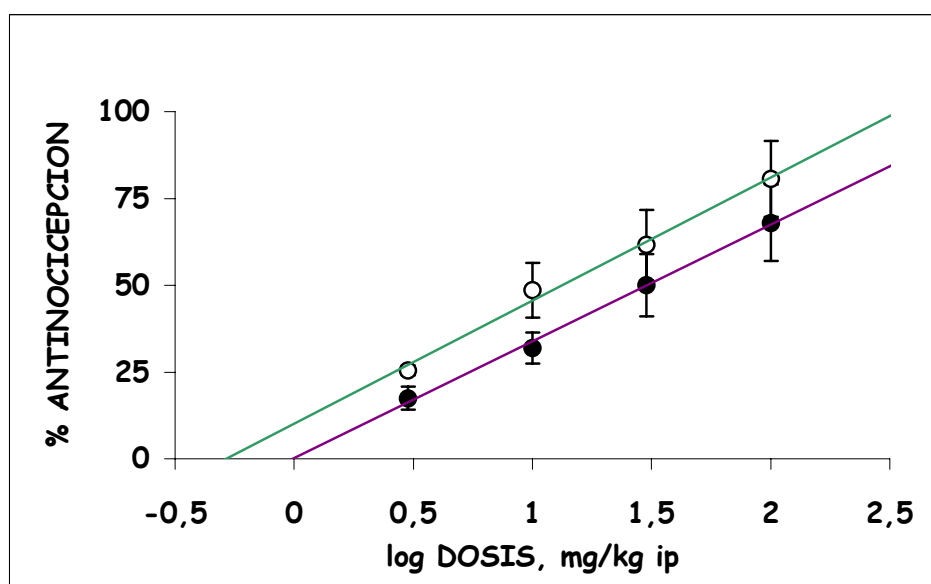


Figura 11: Paralelismo de las curvas dosis-respuesta a ketoprofeno (●) dexketoprofeno (○) en el ensayo del writhing test.

4. Análisis isobolográfico:

El estudio de la interacción analgésica entre ketoprofeno y dexketoprofeno, administrados por vía i.p. y en proporciones fijas de sus ED₅₀, fue realizado por análisis isobolográfico. Los resultados demostraron que dicha interacción antinociceptiva es de naturaleza sinérgica o supraaditiva, con un interacción entre ketoprofeno y dexketoprofeno de 0.419 .

El pretratamiento de los animales con L-NAME (2.5 mg/kg, i.p.) no modificó la naturaleza de dicha interacción, ya que la ubicación del punto que representa la ED₅₀ de la mezcla ketoprofeno/ dexketoprofeno no es significativamente diferente del que se obtiene sin la previa administración del inhibidor no selectivo de las NOS. Además, el índice de interacción fue de 0.457, que no es significativamente diferente del índice obtenido sin pretratamiento con L-NAME. Todos estos resultados se observan en la figura 12.

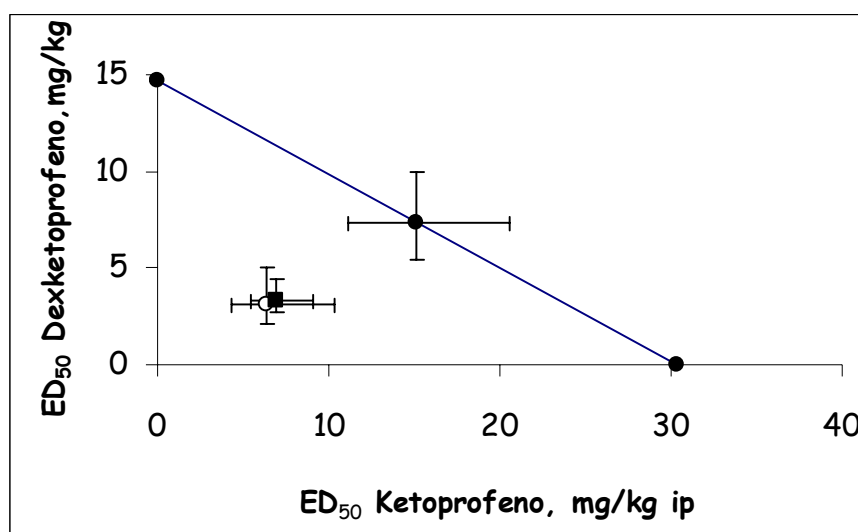


Figura 12: Isoblograma de la interacción analgésica entre ketoprofeno y dexketoprofeno, administrados por vía intraperitoneal, en el modelo del writhing test. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, el (○) corresponde al punto experimental y el (■) al punto experimental obtenido después del pretratamiento con 2.5 mg/kg de L-NAME.

DISCUSIÓN

El presente trabajo demuestra que la administración de ketoprofeno o de dexketoprofeno por vía i.p. produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente en el test de las contorsiones abdominales. Los resultados obtenidos son concordantes con otros estudios algesiométricos ⁽²⁴⁾. En el caso de ambos AINEs, se explica su acción al inhibir en forma competitiva y reversible la actividad de COX-2 y en consecuencia la biosíntesis de PG y tromboxanos, mediadores del proceso inflamatorio. Sin embargo al analizar por separado cada uno de los fármacos se observa que la ED₅₀ de dexketoprofeno es aproximadamente 50% menor que la ED₅₀ de ketoprofeno, resultado concordante con los estudios clínicos donde se ha demostrado que 25 mg de dexketoprofeno son equivalente a 50 mg de ketoprofeno, lo que comprueba que la efectividad de los AINEs derivados de los ácidos propiónicos quirales reside en la administración del enantiómero S (+) de la mezcla racémica. Este enantiómero tiene muchos beneficios comparados con el racemato y presenta un perfil de tolerabilidad y una disminución de la variabilidad farmacocinética ⁽³³⁾. Aunque el enantiómero R (-) efectivamente posee propiedades analgésicas mediante mecanismos no relacionados a la inhibición de prostaglandinas, es menos potente que su contrapartida, el S (+) ⁽²¹⁾.

El paralelismo de las curvas dosis-respuesta de ketoprofeno con dexketoprofeno, confirma que ambos AINEs actúan a nivel de un mismo sistema receptorial o enzimático, que en este caso sería preferentemente COX-1 para dexketoprofeno y COX-1 y COX-2 para ketoprofeno ⁽¹⁵⁾.

La administración de la mezcla ketoprofeno y dexketoprofeno por vía i.p. produce una actividad antinociceptiva dosis dependiente de tipo sinérgico o supra-aditivo que es concordante con la teoría de que al asociar dos o mas fármacos que producen el mismo efecto, activando 2 mecanismos diferentes, se obtiene un efecto sinérgico ⁽⁴¹⁾.

La falta de cambios estadísticamente significativos en la sinergia antinociceptiva de la co-administración de ketoprofeno y dexketoprofeno, producida por el pretratamiento con L-NAME, sugiere que el sistema GMPc-NO no está comprometido o bien que L-NAME, al ser inhibidor no específico de las NOS, puede tener un efecto débil como para caracterizar su participación en los procesos fisiopatológicos, como lo han sugerido Duarte y Ferreira ⁽⁴⁰⁾. Otra posibilidad, que podría explicar la ausencia de cambios significativos, es que la dosis administrada de L-NAME por vía sistémica no alcanza una concentración capaz de inhibir la actividad de la NOS.

Además, debe tenerse presente que los cambios en los efectos antinociceptivos son dependientes de diferentes tiempos y velocidades de administración, absorción, distribución, etc.

Si bien una serie de estudios sugieren que el óxido nítrico participa en el proceso de nocicepción, la complejidad de los mecanismos que regulan la expresión de las diferentes óxido nítrico sintasas, la producción cuantitativa de NO producida por la enzima, y la célula donde se genera, así como también la diferente respuesta de la neuronas inhibitorias o excitatorias frente al NO, ha determinado que no se tenga bien definido cuál es el papel exacto de este gas en el dolor ⁽⁸⁻⁴²⁾.

En conclusión, la administración conjunta de dexketoprofeno y ketoprofeno, produce efectos antinociceptivos sinérgicos que no dependen de la activación del sistema NO-GMPc. Este hallazgo permite sugerir la exploración de otras alternativas de asociación de fármacos racémicos con su isómero activo, contribuyendo en forma significativa al incremento de las alternativas de la analgesia bimodal.

CONCLUSIONES

- El Ketoprofeno produce un efecto antinociceptivo dosis-dependiente al ser administrado en forma i.p. en el test de las contorsiones abdominales.
- El dexketoprofeno induce un efecto analgésico de naturaleza dosis-dependiente, después de la administración sistémica en el mismo ensayo algesiométrico.
- La administración combinada, vía i.p., de ketoprofeno y dexketoprofeno produce una interacción de tipo sinérgica o supraditiva en el ensayo algesiométrico citado.
- El pretratamiento de animales con L-NAME no altera la naturaleza de la interacción sinérgica de la mezcla ketoprofeno y dexketoprofeno.
- Los hallazgos del presente trabajo sugieren explorar una vía alternativa para el tratamiento del dolor, con el uso de fármacos en su formas racémicas asociadas a su isómero activo.

RESUMEN

Dentro de la gran variedad de fármacos capaces de producir un potente y selectivo efecto en la inhibición de la nocicepción, se encuentran los AINEs, que son muy usados en diferentes tipos de dolor. Sin embargo, el análisis de la modulación nitredérgica de los AINEs ha sido poco estudiado. El efecto del NO, por modificación de las NOS, no ha sido evaluado para la actividad nociceptiva del dexketoprofeno en un modelo de dolor agudo experimental. En el presente trabajo se estudió la interacción entre ketoprofeno y dexketoprofeno en el test de las contorsiones abdominales. Se usó dexketoprofeno, isómero S (+) del ketoprofeno racémico de mayor potencia analgésica que el R (-). Se usaron ratones CF-1, a los que se les administró por vía i.p., al tiempo del máximo efecto, en proporciones (1/2, 1/4, 1/8 y 1/16) de la DE_{50} de ketoprofeno y dexketoprofeno y por análisis isoblográfico se evaluó la naturaleza de la interacción y el efecto de la modulación nitridérgica por el pretratamiento con L-NAME 2,5 mg/kg i.p., inhibidor no selectivo de las NOS. Los resultados del presente trabajo comprueban un efecto sinérgico en la actividad antinociceptiva de la co-administración sistémica de ketoprofeno con dexketoprofeno, efecto en el cual parece no participar el sistema arginina-NO-GMPc.

SUGERENCIAS

En el presente trabajo se demuestra actividad antinociceptiva entre dexketoprofeno y ketoprofeno, en un ensayo algesiométrico químico agudo, que remeda muy eficientemente el dolor clínico.

Para complementar el estudio sinérgico bimodal de analgésicos, se sugiere:

- 1) Evaluar otras combinaciones de dexketoprofeno y ketoprofeno, por otras vías de administración y en otros ensayos algesiométricos.
- 2) Estudiar la participación de los diversos componentes de la “sopa analgésica” en la sinergia descrita, por ejemplo: opioides, serotoninérgicos, colinérgicos, adrenérgicos, dopaminérgicos., peptidérgicos, etc.
- 3) Evaluar otras asociaciones de fármacos analgésicos que sean racémicos (ibuprofeno) con sus respectivos isómeros activos (R y/o S).

REFERENCIAS

1. Bonica JJ. Anatomic and physiology basics of nociception and pain. En: Bonica JJ (ed). The Management of pain. 2ª ed. Pennsylvania, Lea & Febiger. 1990; 28-94.
2. Sweetman BJ. Development and use of the quick acting chiral NSAID dexketoprofen trometamol (keral). Acute Pain. 4:109-115, 2003.
3. Paeile, C., Saavedra, H., "El dolor, aspectos básicos y clínicos". Editorial Mediterráneo, Santiago, Chile 1997; 28-40
4. Ganong WF, Fisiología médica, 16ª edición, Manual moderno 1998, páginas 155-162.
5. Ortega, E., "Neurofisiología del Dolor", Cuad. Cir. 9:50-54. 1995.
6. Fürst, S. "Transmitters involved in antinocicepción in the spinal cord". Brain Res. Bull. 48: 129-141, 1999.
7. Goodman y Gillman., Las bases farmacológicas de la terapéutica. Novena edición, Ed. Mcgraw Hill Interamericana, Buenos Aires, Argentina. 1996, pp 557-558; 667-668.
8. Espulgues JV. NO as a signalling molecule in the nervous system. British J Pharmacol. 135: 1079-1095, 2002.

9. Abacioğlu N, Tunçtan B, Akbulut E. Participation of the components of L-arginine/nitric oxide/cGMP cascade by chemically-induced abdominal constriction in mouse. *Life Sciences*; 67: 1127-1137, 2000 .
10. Guyton AC, Hall JA, Tratado de fisiología médica, 10^a ed., McGraw-Hill 2001, 669-680.
11. Duarte ID, Lorenzetti BB, Ferreira SH. Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway. *Eur J Pharmacol.* 186:289-93, 1990.
12. Dolan S, Field LC, Nolan AM. The role of nitric oxide and prostaglandin signaling pathways in spinal nociceptive processing in chronic inflammation. *Pain.* 86: 311-20, 2000
13. Lin Q, Wu J, Peng YB, Cui M, Willis WD. Nitric oxide-mediated spinal disinhibition contributes to the sensitization of primate spinothalamic tract neurons. *J Neurophysiol.* 81:1086-94, 1999.
14. Beirith A, Creczynski-Pasa TB, Bonetti VR, Konzen M, Seifriz I, Paula MS, Franco CV, Calixto JB. Antinociceptive properties and nitric oxide synthase inhibitory action of new ruthenium complexes. *Eur J Pharmacol.* 369: 289-97, 1999.
15. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J.* 18: 790-804, 2004.

16. Balsinde J, Winstead MV, Dennis EA. Phospholipase A2 regulation of arachidonic acid mobilization. *FEBS Lett.* 30; 531:2-6, 2002.
17. Cashman Jeremy N. The mechanisms of action of NSAIDs in Analgesia. *Drugs.* 52: 13-23, 1996.
18. Capone ML, Tacconelli S, Sciulli MG, Patrignani P. Clinical pharmacology of selective COX-2 inhibitors. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 16: 49-58, 2003.
19. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.* 53: 597-652, 2001.
20. Veys EM. 20 years' experience with ketoprofen. *Scand J Rheumatol.* 90:1-44, 1991.
21. Cooper SA, Reynolds DC, Hersh EV. Analgesic Efficacy and Safety of (R) - Ketoprofen in Postoperative Dental Pain. *J Clin Pharmacol.* 38:11s-18s, 1998.
22. Herrero JF, Parrado A, Cervero F. Central and Peripheral Actions of the NSAID Ketoprofeno on Spinal Cord nociceptive reflexes. *Neuropharmacology.* 10; 1425-1431, 1997.
23. Cooper SA. Ketoprofen in oral surgery pain: a review. *J Clin Pharmacol.* 28: S40-S6, 1988.

24. Pinardi G, Sierralta, F; Miranda, H. Interaction between the Antinociceptive Effect of Ketoprofen and Adrenergic Modulatory Systems. *Inflammation*.4:235-239, 2001.
25. Matteson D. Through the chemical looking glass. *New Scientist*. 132: 35-39, 1991.
26. McGurk M, Robinson P, Rajayogeswaran V, De Luca M, Casini A, Artigas R, Muñoz G, Mauleón D. "Clinical Comparison of dexketoprofen trometamol, Ketoprofen, and placebo in postoperative dental pain. *J Clin Pharmacol*. 38: 46s-54s, 1998.
27. Evans AM. Enantioselective pharmacodynamic and pharmacokinetics of quiral non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Eur Journal Clin Pharmacology*. 43: 237-256, 1992.
28. Mullangi R, Mao M, Srinivas NR. Resolution of enantiomers of ketoprofen by HPLC: a review. *Biomed Chromatogr* .17: 423-434, 2003.
29. Tanaka Y, Shimomura Y, Hirota T, Nozaki A, Ebata M, Takasaki W, Shigehara E, Hayashi R and Cadwell J. Formation of a glycine conjugate and (-)-(R)- enantiomer from (+)-(S)- phenyl propionic acid suggesting the formation of CoA thioester intermediate of (+)-(S)- enantiómero in dogs. *Chirality*. 4: 342-348,1992.

30. Cadwell J, Hutt AJ, Fournel-Gigleux S. The metabolic quiral inversion and dispositional enantioselectivity of 2-arypropionic acids and their biological consequences. *Biochem Pharmacol.* 37: 105-114,1988.
31. Burke D and Henderson DJ. "Chirality: a blueprint for the future. *British Journal of Anaesthesia.* 88: 563-76, 2002.
32. Cabraza A, Cabre F, García AM, Rotllan E, García ML, Mauleón D. Stereoselective inhibition of rat brain cyclooxygenase by dexketoprofeno. *Chirality.* 9: 281-285, 1997.
33. Jiménez Martínez E, Gasco García C, Arrieta Blanco JJ, Gómez del Torno J, Bartolomé B. Estudio de la eficacia analgésica del Dexketoprofeno trometamol 25 mg. vs. Ibuprofeno 600 mg, tras su administración oral en pacientes sometidos a una intervención quirúrgica oral. *Med Oral.* 9: 38-148, 2004.
34. Burke Daniel, Bannister J. Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management. *Acute Pain.* 5: 57-62, 2003.
35. Rodríguez , Contreras D; Gálvez R; Castro A. Double blind evaluation of short-term analgesic efficacy of orally administrated dexketoprofen trometamol and ketorolac in bone cancer pain. *Pain.*104:103-110, 2003.
36. Jamali F, Brooks DR. Clinical pharmacokinetics of ketoprofen and its isomers. *Clin Pharmacokinet.* 19: 197-217, 1990.

37. Marenco J.L., Perez M, Navarro F.J. A multicentre randomised double blind study to compare dexketoprofeno trometamol versus diclofenal in the symptomatic treatment of knee osteoarthritis. *Clin. Drug Invest.* 19: 247-256, 2000.
38. Tallarida RJ, Murray RB. *Manual of Pharmacologic Calculation with computer program*, 2nd edition, Spronger-Verla G, New York 1987.
39. Miranda H.F., Prieto J.C., Pinaridi G. Spinal synergy between nonselective cyclooxygenase inhibitors and morphine antinociception in mice, *Brain Res.* 1049: 165-170, 2005.
40. Duarte ID, Ferreira SH. L-NAME causes antinociception by stimulation of the arginine-NO-cGMP pathway. *Mediators Inflamm.* 9: 25-30, 2000.
41. Solomon RE, Gebhart GF. Synergistic antinociceptive interactions among drugs administered to the spinal cord, *Anesth. Analg.* 78: 1164-1172, 1994.
42. Sousa AM, Prado WA. The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. *Brain Research.* 897: 9-19, 2001.