



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
FACULTAD DE MEDICINA, ICBM
LABORATORIO DE ESTUDIO DEL DOLOR
FARMACOLOGÍA MOLECULAR Y CLÍNICA

**MODULACIÓN NITRIDÉRGICA DE LA ANTINOCICEPCIÓN DEL DEXKETOPROFENO
EN DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL**

Natacha Carolina Pacheco Marín

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

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

**TUTORES ASOCIADOS
Prof. Dr. Fernando A. Sierralta G.**

Santiago - Chile

2010

Agradecimientos

A mis padres Mario y Lula. Gracias por iniciarme y acompañarme en el camino que hoy continúo sola. Mi corazón estará siempre abierto para escucharlos y sentir su inmenso amor. No hay forma de recompensar el apoyo y cariño que me han dado... los quiero.

A Germán, y Marcelo, mis hermanos... risas, bromas infinitas, y complicidad a toda prueba, respectivamente.

A Fanita, mi cuñada, y mis sobrinos, Manuel y Miguel... faros de luz, dulzura y alegría en los días grises.

A Jaime... admiración y cariño absoluto. Gracias por ayudarme a entender la vida tal cual es, sin complicaciones ni amarguras. Has sido un pilar fundamental en los momentos difíciles... Te adoro.

A Alexis, Nacho, Tyron, Claudia y Pollito... los extraño.

A Soledad Opazo, gran amiga... también a la Sussy, Luis Alfaro, María Elena, Luchito y David del laboratorio. Sin ustedes la Facultad habría sido muy difícil. Les agradezco todos los consejos y la ayuda cada vez que los necesité.

Gracias a los Drs. Hugo Miranda, y Fernando Sierralta por el apoyo y la paciencia que me tuvieron al realizar este trabajo. Gracias, también, a los Srs. José y Alejandro del laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina, por la ayuda y buenos momentos entregados.

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	2
Marco Teórico	
1. Dolor	
1.1 Definición de dolor.	4
1.2 Clasificación de dolor	5
2. Anatomía nerviosa del dolor orofacial	7
2.1 Estructuras periféricas: Nociceptores	7
2.2 Fibras nerviosas aferentes	8
2.3 Vías ascendentes trigeminales	9
3. Modulación de la percepción dolorosa	16
4. Óxido Nítrico (NO).	17
4.1 Síntesis del óxido nítrico	18
4.2 Acción biológica del óxido nítrico	19
4.3 Implicancias del NO en funciones centrales y periféricas	20
4.4 NO y analgesia	21
4.5 Inhibidores de las NOS	22
5. Tratamiento del dolor	23
5.1 Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroidales: AINEs	23
5.1.1 Mecanismo de acción de los AINEs	23
5.1.2 Efectos adversos de los AINEs (RAM)	27
6. Dexketoprofeno	29
6.1 Características farmacocinéticas y farmacodinámicas del DKP.	31
6.2 Indicación y eficacia analgésica	33
6.3 Contraindicaciones y efectos adversos	34
6.4 Implicancias terapéuticas de las propiedades farmacocinéticas	34

7. Modelos animales de dolor	35
7.1 Prueba de la formalina orofacial	35
Hipótesis y Objetivos	
1. Hipótesis	37
2. Objetivos	
2.1 General	37
2.2 Específicos	37
Materiales y Métodos	
1. Animales	38
2. Test de la formalina orofacial	39
3. Evaluación de la analgesia	41
4. Estudio de la modulación nitridérgica	42
Resultados	
1. Grupo control	43
2. Determinación de la DE50 para dexketoprofeno	43
3. Grupo tratado con L-NAME	44
4. Grupo tratado con Dexketoprofeno y L-NAME	46
Discusión	48
Conclusiones	50
Sugerencias	51
Referencias Bibliográficas	52

Resumen

El dolor dental y, en general, el de localización orofacial, ha sido objeto de preocupación desde tiempos remotos, y actualmente, continúa siendo uno de los problemas con los que, la gran mayoría de los profesionales de la salud, se enfrentan de manera cotidiana. Muchas de las dificultades en el manejo de las condiciones de dolor orofacial agudo y crónico derivan de la falta de conocimiento y comprensión de los mecanismo que subyacen al dolor orofacial, quizás en parte, debido a la relativa escasez de investigaciones dedicadas a esta región comparado con el resto del cuerpo.

El manejo del dolor continua siendo uno de los mayores desafíos para la medicina. Con este fin, se han desarrollado una gran variedad de fármacos, entre los cuales podemos mencionar a los opiodes y a los analgésicos antiinflamatorios no esferoidales (AINEs). En el presente trabajo se evaluó la modulación nitridérgica sobre la actividad analgésica del dexketoprofeno (DKP), isómero activo del ketoprofeno mediante el test algésiométrico de la formalina orofacial. Para analizar la actividad moduladora del sistema nitridérgico inhibimos la formación del óxido nítrico. Se utilizaron ratones a los cuales se les inyectó en el labio superior, 20 μ L de una solución de formalina al 5%, produciéndose de esta manera un comportamiento bifásico: fase I (algésica) y fase II (algésica-inflamatoria). Al inhibir la formación de óxido nítrico se produjo un aumento de la actividad analgésica del DKP en ambas fases, dependiendo del grado de inhibición en la formación del NO. Al utilizar el L-NAME (inhibidor de la formación de NO) en sus concentración de 1 y 10 mg/kg se produce una sinergia en la actividad analgésica del DKP en la fase I. En relación, a la fase II, observamos un aumento de la actividad analgésica del DKP, cuando la concentración de L-NAME, corresponde a 10 mg/kg. Los hallazgos del presente trabajo, podrían ser de utilidad clínica en el tratamiento farmacológico alternativo del dolor tanto agudo (fase I del ensayo) como crónico (fase II del ensayo).

Introducción

El dolor, indudablemente, es parte de la vida. Su estudio y el alivio de éste, son temas, posiblemente, fundamentales en el ámbito de la farmacología.

En aquellas patologías en las que el dolor no puede ser percibido se presentan múltiples complicaciones, las que incluso, podrían ser fatales. Esto se debe a que el dolor, al actuar como signo de alarma de un mal funcionamiento sistémico, o como orientador de la localización u origen de la enfermedad, permite mantener la integridad de nuestro organismo. Sin embargo, en algunas circunstancias el dolor deja de tener una función benéfica y se convierte, en sí mismo, en una patología que debe ser manejada para permitirle, al individuo, una adecuada sobrevida(1).

En Odontología, el dolor, es un aspecto muy relevante y motivo de consulta constante en el quehacer diario. Es por esto que, un apropiado conocimiento, manejo y tratamiento, tanto de su etiología como fisiopatología, resulta fundamental. Así como también, un adecuado uso de las distintas opciones que ofrece la industria farmacológica en esta materia.

Hoy en día, los mecanismos neurofisiológicos que provocan la nocicepción son conocidos, y en base a ellos, se ha podido trabajar en la fabricación de fármacos capaces de producir un poderoso y selectivo efecto inhibitorio del impulso doloroso, tales como opioides, anestésicos locales y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Sin embargo, además de producir la analgesia requerida, estos medicamentos presentan efectos colaterales, que en algunos casos, pueden obligar a interrumpir el tratamiento.

Los AINEs han sido los fármacos de elección en el tratamiento de dolor de origen orofacial. El ketoprofeno es un analgésico antiinflamatorio no esteroideo de amplio uso en el tratamiento del dolor leve a moderado. Corresponde a una mezcla racémica de los enantiómeros *S* (+) y *R* (-) , los cuales tienen diferentes actividades biológicas.

Actualmente, la industria farmacológica ha logrado aislar el isómero S (+) del ketoprofeno, el **dexketoprofeno**, la molécula activa de este racemato. Este enantiómero, clasificado como inhibidor preferencial de la COX-1, y en menor medida de la COX-2, pertenece al grupo de los propiónicos y presenta comprobadas ventajas, tales como el uso de la mitad de la dosis requerida en el ketoprofeno, reducción a la mitad de la carga metabólica, y la disminución del riesgo de los efectos secundarios causados directa o indirectamente por el isómero no utilizado, el *isómero R (-)*.

El propósito de reevaluar una droga racémica, separando la parte beneficiosa de un analgésico antiinflamatorio no esterooidal tan bien probado como lo es el ketoprofeno, apuntaría al desarrollo de una fórmula con un isómero único, puro, y con un mejor índice terapéutico que la mezcla formulada como racemato (2, 3, 4).

En el presente estudio se evaluará la posible modulación nitridérgica en el efecto analgésico del dexketoprofeno, usando un inhibidor no selectivo de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), el L-NAME, mediante el método algesiométrico agudo de la formalina orofacial modificado a partir del modelo original de Luccarini (5).

Marco Teórico

1. Dolor

1.1 Definición de dolor

El dolor ha sido definido por la Asociación Internacional para el estudio del Dolor (IASP), como “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño”. Puede ser percibida por todos aquellos seres vivos que disponen de un sistema nervioso, siendo apreciada como una molestia variable localizada en una parte del cuerpo.

Es importante destacar que la *nocicepción* y el *dolor* son conceptos diferentes. *Nocicepción* corresponde a 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. Esta excitación de los nociceptores puede o no conducir a la percepción dolorosa. Por otro lado, entendemos el dolor, como la integración de tres componentes: (i) El componente sensitivo, que hace referencia al impulso desencadenado desde los receptores periféricos del dolor. (ii) El componente cognitivo relacionado con lo socio-cultural, con las experiencias previas del dolor, y con las conductas asociadas a éste. (iii) El 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 (1, 2).

Se ha comprobado que son muchas las estructuras nerviosas, a nivel periférico, medular, cortical y subcortical que intervienen en la percepción del dolor, por lo que esta percepción afectaría directamente a nuestros pensamientos, memoria, actitudes, emociones, movimientos y conducta. Si bien se sabe que la nocicepción comienza en receptores periféricos, no podemos hablar de dolor hasta que llegue al encéfalo (6, 7).

1.2 Clasificación de dolor

Existen variadas clasificaciones para el dolor. Las más habituales lo evalúan según intensidad, evolución, características somatosensoriales, sitio de origen y etiología.

- **Intensidad.** No está relacionada directamente con la magnitud del daño, pero es fundamental considerarla para el tratamiento. De acuerdo a esta clasificación podemos encontrar dolor leve, moderado o severo. La forma de ser evaluada debe quedar consignada en la ficha clínica del paciente y por lo general se usan escalas descriptivas numéricas.

- **Evolución.** Se clasifican en agudo y crónico.

-*dolor agudo*: es el dolor provocado por la lesión en los tejidos del cuerpo y la activación de la transducción nociceptiva en el sitio del daño tisular local. Comprende el lapso estimado para que los tejidos sanen, que según el Comité de Taxonomía de las Algias de la IASP, correspondería a tres meses. Puede ser continuo, intermitente o paroxístico, y estar acompañado de respuestas neurovegetativas, como taquicardia, aumento de la presión arterial, entre otros, según la magnitud del cuadro doloroso. Este tipo de dolor, corresponde a un mecanismo de alarma fisiológica para limitar el daño e iniciar la reparación.

-*dolor crónico*: por lo general es provocado por una lesión, pero puede ser perpetuado por factores que están a la vez, patogénica y físicamente, muy alejados de la causa original. Se observa la persistencia del dolor aún después de que se ha reparado el daño en el tejido. Se extiende por un largo periodo de tiempo que va más allá de los 3 meses. Puede ser continuo o recurrente, y presenta un alto componente psicológico, con alteraciones conductuales que pueden llevar a estados depresivos. Carece de propiedades biológicas reparadoras.

- **Características somatosensoriales.**

- epicrítico*: dolor superficial, localizado, y a su vez punzante, lacerante, lancinante, quemante, opresivo o fulgurante. Por naturaleza, no es referido.

- protopático*: dolor difuso, mal localizado, sordo. Es un dolor referido, es decir, su origen es distante al sitio localizado.

- **Sitio de origen.**

- periférico*: se refiere al que se origina en tegumentos.

- profundo o visceral*: originado en cavidades serosas.

- central*: tiene su origen en el sistema nervioso central.

- **Etiología.** Puede ser traumática, infecciosa, por disfunción neurológica o psicógena (8, 9).

2. Anatomía nerviosa del dolor orofacial

Para que el dolor sea percibido 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 (SNC).

2.1 Estructuras periféricas: Nociceptores

Un receptor corresponde a una estructura morfológica capaz de responder ante determinados estímulos convirtiendo la energía de estos, en un potencial eléctrico, transmitido por una vía periférica hasta los niveles centrales del sistema nervioso (6).

Las vías involucradas en la transmisión del impulso doloroso comienzan en receptores especiales y específicos, llamados *Nociceptores*, los que responden selectivamente a estímulos que podrían llegar a producir una lesión tisular. Se consideran de adaptación lenta, es decir, envían señales eléctricas mientras persiste el estímulo. Corresponden a terminaciones nerviosas libres dispuestas en diferentes tejidos corporales como piel, vasos sanguíneos, músculos, entre otros. (10).

Responden directamente a estímulos lesivos o, indirectamente, a sustancias liberadas por el tejido lesionado (histamina o bradiquinina). También, a alteraciones metabólicas que se producen en caso de lesión, como baja de pH y aumento de concentración de ciertos iones. De hecho, la mayoría de los nociceptores pueden considerarse quimiorreceptores (sensibles a cambios de concentración de determinadas sustancias) (6).

Según el tipo de estímulo ante el que responden, los nociceptores, se pueden dividir en tres grupos:

- *Nociceptores de tipo mecánico*. Se activan a partir de la aplicación de presión intensa sobre la piel, deformación tisular o cambio de osmolaridad. Son receptores con umbral de activación elevados. Están formados por

terminaciones nerviosas libres tanto de tipo A δ como C.

- *Nociceptores de tipo térmico.* Responden ante temperaturas extremas superiores a 45°C o inferiores a 5° C. En su mayoría son terminaciones nerviosas libres de tipo C.
- *Nociceptores polimodales.* La mayoría de las fibras C son polimodales y son más eficazmente excitadas por estímulos nocivos o daño tisular, pero pueden responder tanto a estímulos mecánicos como a térmicos; y a mediadores químicos como los asociados a la inflamación. Por otra parte, ciertas fibras A δ reaccionan a tacto ligero, temperatura y presión, lo mismo que a estímulos dolorosos capaces de descargar en proporción con la intensidad del estímulo (6, 21).

2.2 Fibras nerviosas aferentes

Las fibras nerviosas aferentes que provienen de los receptores periféricos siguen el trayecto de los nervios hasta que penetran en la médula espinal por el cuerno dorsal. El cuerpo celular de estas fibras está situado en el ganglio raquídeo de la raíz dorsal.

Las neuronas de los ganglios raquídeos presentan un proceso periférico en el que se encuentra el receptor, y un proceso central que forma sinapsis con las neuronas del cuerno dorsal de la sustancia gris medular. A estas ramas periférica y central de las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal se las llama habitualmente *fibra aferente primaria* (6).

Las fibras aferentes primarias nociceptivas son clasificadas en términos de su estructura, diámetro y velocidad de conducción:

- *Fibras A δ .* Mielínicas, de diámetro 1-6 mm y velocidad de conducción entre 4-36 m/s. Corresponden al 10% de las fibras sensitivas de la piel. Transmiten impulsos de origen mecánico y térmico que son correlacionados con el dolor agudo de aparición rápida y de corta duración, llamado *primer dolor*. Su información es localizada, y no evocan componente afectivo de la experiencia sensorial. Su umbral es menor al de fibras C. Secretan *glutamato*, el que actúa en receptores tipo AMPA.

- *Fibras C.* Amielínicas, de diámetro 0,2-1,5 mm, velocidad de conducción entre 0,4 y 2 m/s. en la piel, corresponden al 70% de las fibras sensitivas. Son polimodales. Transmiten sensaciones mal localizadas. Responsables del dolor urente y persistente, que sigue al dolor agudo, o *segundo dolor*. Evocan el componente afectivo de la experiencia dolorosa. El principal neurotransmisor es el glutamato, aunque libera, también, *sustancia P* y péptido relacionado con el gen de la *Calcitonina* (CGRP) (6, 7).

Estas fibras A δ y C no son grupos homogéneos, sino que forman fibras que varían en el tipo de estímulo transmitido, su umbral de activación o la velocidad de transmisión.

Los cuerpos celulares están en el ganglio de la raíz dorsal medular, y en el caso de las regiones cefálicas en el núcleo espinal del trigémino (6).

2.3 Vías ascendentes trigeminales

La información nociceptiva orofacial, originada desde la piel facial, dientes, lengua, músculos masticatorios, articulación temporomandibular y glándulas salivales, llega al encéfalo mediante vías que se originan en las neuronas de proyección del núcleo espinal del trigémino.

- *Tracto trigeminotalámico o haz neotrigeminotalámico.*

Señales nociceptivas orofaciales son transportadas por el nervio trigémino (*V par*), y en menor grado, por los pares nerviosos del facial (*VII par*), glossofaríngeo (*IX par*) y vago (*X par*).

La primera neurona de esta vía tiene su soma ubicado en el *ganglio de Gasser*, con una terminación periférica que es el nociceptor, y una prolongación central hacia los núcleos trigeminales ipsilaterales, llevando la información hacia la segunda neurona de los respectivos núcleos sensoriales, ejerciéndose una influencia moduladora, debido a que estos núcleos también reciben proyecciones de otros centros superiores.

Tanto las fibras A δ y C, descienden al llegar a la protuberancia, formando el *tracto espinal del trigémino*, al que se unen las fibras aferentes somáticas del resto de los pares craneales, que aportan información nociceptiva. Este tracto va desde la parte media de la protuberancia hasta el 2° o 3er segmento cervical donde las fibras se unen al *tracto de Lissauer*. Estas fibras terminan en el núcleo espinal del *V par*, ubicado medial respecto al tracto. Las fibras nociceptivas llegan al *subnúcleo caudal*, que recibe también fibras de los segmentos cervicales superiores (6, 11, 12).

Cada rama del nervio trigeminal ha sido ordenada en un campo terminal específico, tanto en el *núcleo sensitivo trigeminal* (NST), como en el núcleo espinal, el que se subdivide en: *subnúcleo oral*, *subnúcleo interpolar* y *subnúcleo caudal*.

La división mandibular del *V par* está localizada en la zona dorsal o dorsomedial del NST y de los 3 subnúcleos; la rama oftálmica en la zona ventral o ventrolateral, y la rama maxilar en la zona intermedia de ambos.

Las neuronas orales y faciales difieren en el tamaño del soma, en estructura y en los campos terminales centrales. Las neuronas orales tienen sus centros terminales primarios en la zona rostral del núcleo del óbex, núcleo principal, oral e interpolar, mientras que las neuronas faciales tienen su terminal primario en el subnúcleo caudal. El subnúcleo caudal recibe algunas entradas aferentes de ambos lados de la cara y boca (11, 12).

Los axones de la segunda neurona, ubicada en el núcleo espinal, se decusan y ascienden posteriormente al lemnisco medial, enviando colaterales a la formación reticular, terminando en los núcleos del tálamo *ventral posteromedial* (VPM) e *intralaminares*. Desde aquí, la información viaja a la región facial del área sensitiva primaria de la corteza, *área 1, 2 y 3 de Brodman*, y a otras estructuras corticales y subcorticales, como son la *corteza insular*, y la *circunvolución cingular*, parte del Sistema Límbico, relacionada con el procesamiento afectivo y emocional del dolor (7, 12).

- *Tractos espinoparabraquiales.*

El núcleo parabraquial se encuentra en la protuberancia. Este núcleo integra respuestas vegetativas y motivacionales ante el dolor. Además de las fibras que llegan por el *tracto espinomesencefálico*, están los tractos *espinoparabraquiohipotalámico* y *espinoparabraquiamigdalino*. El origen de estos tractos está en la médula y en el núcleo subcaudal.

Así al ser estimulada una fibra A δ , se secreta *glutamato*, que actúa sobre receptores tipo AMPA/KAINATO, ubicados en la segunda neurona.

Este receptor es un canal ionotrópico, que al activarse produce una violenta entrada de Na⁺, generando así, un potencial de acción que viaja por el tracto trigeminotalámico, hasta el núcleo VPM del tálamo, donde se encuentra la tercera neurona proyectada hasta la corteza *somatosensitiva primaria*. Este es el dolor fugaz, localizado y de corta duración (6, 11, 12).

La fibra C es activada con la aparición de mediadores químicos como leucotrienos, prostaglandinas (PG), K⁺, bradiquinina (que actúa como estimulador directo de los nociceptores, además de producir un aumento de las PGs), entre otros. La fibra C, libera como neurotransmisor *CGRP* y *sustancia P*. Este último es un neuropéptido de alto peso molecular 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 dependientes, desde vesículas presinápticas.

La sustancia P se secreta tanto en la periferia como en la segunda neurona de la vía. En la periferia estimula macrófagos, plaquetas y mastocitos liberando, de esta manera, más neuropéptidos y mediadores de la inflamación produciendo edema, enrojecimiento y aumento de la temperatura local, fenómeno conocido como ***inflamación neurogénica***. Esto genera más potenciales de acción, y mayor cantidad de sustancia P, produciendo un feedback positivo, la ***sensibilización periférica*** (7, 12, 13).

A nivel central, la excitación intensa de las fibras tipo C determina la descarga de una alta frecuencia de potenciales de acción por la vía aferente, por lo cual, además de la secreción de glutamato, se secreta sustancia P, CGRP y Neurokinina A.

La sustancia P activa el receptor *NK tipo 1* de la segunda neurona, y genera excitaciones largas y prolongadas, las que aumentan la concentración de Ca^{+} intracelular, provocando la apertura de un receptor de glutamato, el *N-metilico-D-aspartate (NMDA)*. En condiciones fisiológicas, este receptor, se encuentra taponado por Mg^{+2} . La apertura del receptor NMDA determina una masiva entrada de Ca^{+2} y la formación de *Óxido nítrico (NO)*. El NO difunde hacia la terminación presináptica, provocando aumento del *GMPc*, el que estimula una mayor secreción del glutamato (feedback positivo), produciendo una sensibilización prolongada de la segunda neurona del núcleo espinal.

Este fenómeno se conoce como ***hipersensibilización central***, que es posible gracias a un mecanismo llamado ***neuroplasticidad***. Es, en este fenómeno, la propia neurona la que reorganiza conexiones sinápticas con proteínas que generan nuevos receptores y modifican mecanismos bioquímicos y fisiológicos utilizados en sus comunicaciones intercelulares, en respuesta a distintos estímulos (7, 12, 13, 15, 16, 17, 18).

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 (13).

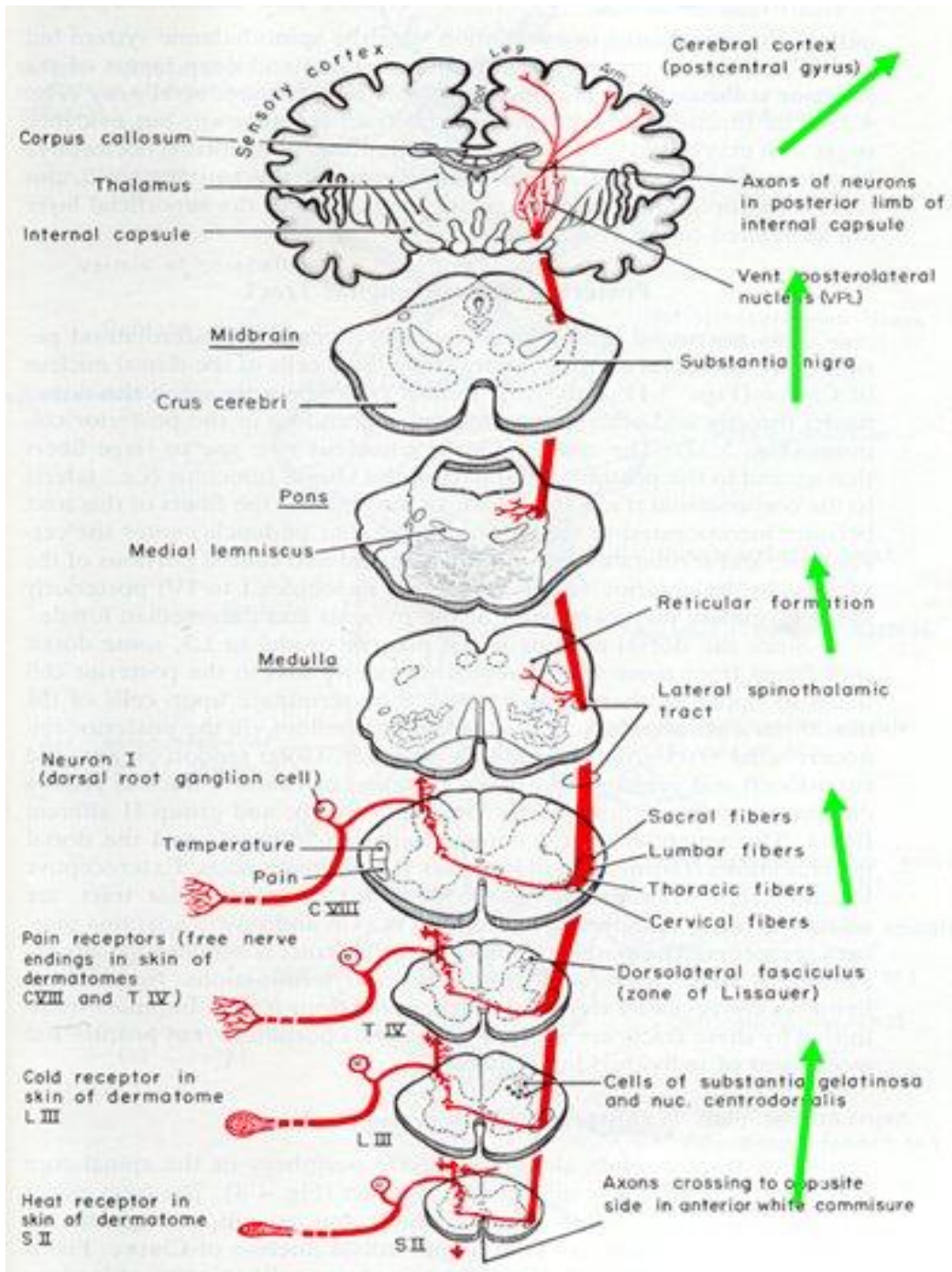


Figura 1: vías ascendentes. Haz espinotalámico lateral.

Los procesos periféricos, implicados en la sensibilización de terminaciones aferentes nociceptivas en el sitio de la lesión, se asocian a una baja del umbral de activación y aumento de la sensibilidad de estímulos, es decir, **Hiperalgnesia Primaria**. Por otro lado, los productos químicos pueden difundir a tejidos vecinos y estimular fibras aferentes nociceptivas, contribuyendo a la extensión del área dolorosa, fenómeno llamado **Hiperalgnesia Secundaria**.

Activadas y sensibilizadas, las fibras nociceptivas pueden ver disminuidos sus umbrales de activación y actividad espontánea generando cambios como la **alodinia**, donde el dolor es producido por un estímulo no doloroso, de baja intensidad, o la **hiperalgnesia espontánea**, característica de muchas condiciones de dolor crónico (7, 12, 15, 19).

En el proceso nociceptivo se pueden identificar cuatro etapas involucradas en su transmisión y procesamiento, estas son: la *transducción*, *conducción*, *modulación* y *percepción*. Todas ellas pueden ser modificadas farmacológicamente.

-transducción: los nociceptores transforman la energía del estímulo a un potencial de acción. Se puede manejar con el uso de *anestésicos locales* (AL) y *AINEs*, que alteran este proceso al inhibir la síntesis de mediadores inflamatorios.

-conducción: propagación de estos potenciales hacia el sistema nervioso central (SNC) y periférico (SNP). Se puede manejar por el uso de AL, al modificar la capacidad de descarga.

-modulación: modificación cuantitativa y cualitativa de la información, tanto en el SNC como en el SNP, es decir, la capacidad que tienen los sistemas analgésicos endógenos de modificar la transmisión del impulso nervioso. Se puede dar hiper o hipoalgnesia. Desde el punto de vista farmacológico, se puede modular a través de los AINEs, debido a la interferencia por parte de estos, en la síntesis de mediadores de la inflamación.

-percepción: implica la integración de las vías medial y lateral. Produce la experiencia emocional, subjetiva y consciente del dolor y permite determinar localización, magnitud y naturaleza del estímulo, acompañándose tanto de angustia como de necesidad de alivio. Se puede modular a través de AL, AINEs, opiodes y antidepresivos, entre otros (20).

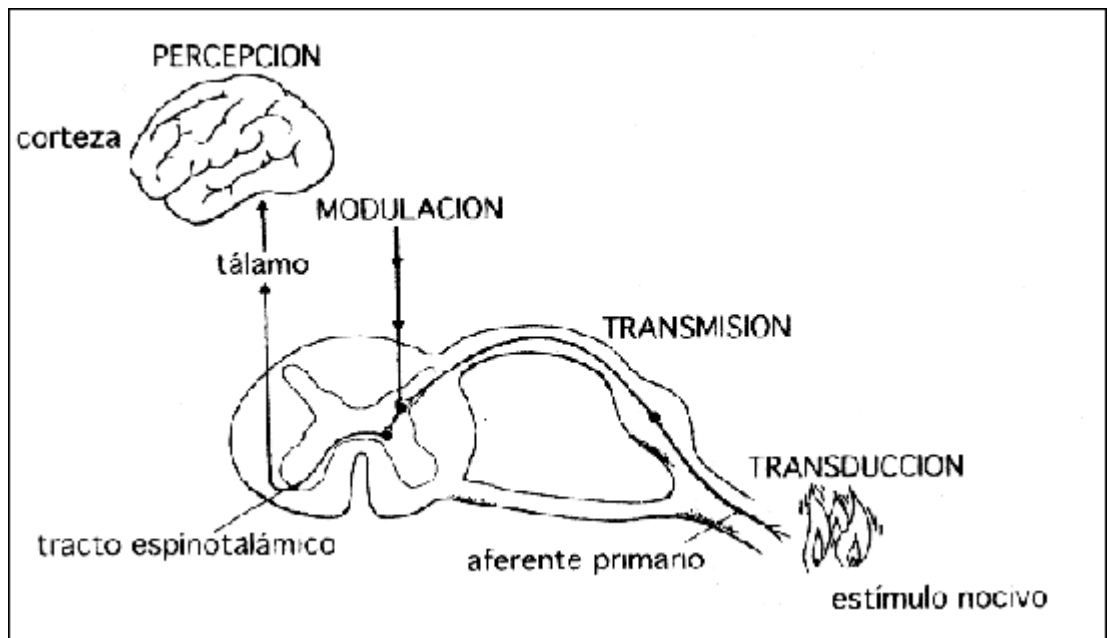


Figura 2: Representación esquemática de los fenómenos del proceso nociceptivo: transducción, transmisión, percepción y modulación. Modificada de Ferrante (43).

3. Modulación de la percepción dolorosa

Después de toda injuria o lesión tisular se liberan diversos mediadores inflamatorios. Tal vez la causa más importante de dolor clínico es la inflamación, lo cual da lugar a cambios químicos bien definidos que ocurren en el lugar del daño tisular (1, 2). Existen varios circuitos neuronales moduladores de la percepción dolorosa, tanto a nivel central como periférico; estos procesos implican mecanismos de regulación presinápticos o postsinápticos, así como también, una variedad de sustancias endógenas, neuroquímicos y receptores (7).

Los mediadores químicos incluyen a los derivados del ácido araquidónico (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos); aminas vasoactivas (como la histamina y la serotonina) y el óxido nítrico, dentro de muchos otros que conforman un verdadero pool de sustancias que inciden en las diversas reacciones vasculares, celulares y el dolor (1, 2,14).

Las aferencias sensoriales orofaciales son moduladas de diferentes maneras: por interneuronas dentro del núcleo sensitivo trigeminal (NST), por conexiones recíprocas entre el NST y la médula rostral ventromedial y por la corteza cerebral.

La modulación inhibitoria descendente es realizada por fibras eferentes de la *sustancia gris periacueductal*, que liberan opiopéptidos endógenos; del *núcleo magno del raphe* y del *núcleo paragigante celulares*, que liberan serotonina, y del *núcleo Locus coeruleous* que liberan noradrenalina (7, 11, 20).

4. Óxido Nítrico (NO)

El NO corresponde, estructuralmente, a una de las moléculas biológicas inorgánicas más simples. Sin embargo, participa en uno de los circuitos de señalización más intrincados y versátiles actualmente conocidos. El NO es un gas, incoloro, formado por un átomo de hidrógeno y otro de oxígeno, con un electrón desapareado. El carácter de radical libre del NO le confiere características específicas, como su alta reactividad, y determina su interacción, *in vivo*, con numerosos blancos. Como gas es altamente lipófilo e hidrofílico; posee un alto poder de difusión (40- 300µm diámetro), que determina una rápida extensión tridimensional y un fácil acceso a células vecinas, a menudo, lejos del sitio de su síntesis. Su vida media es de 5-6 segundos. El NO *in vivo* se neutraliza rápidamente por la hemoglobina, y los aniones del superóxido.

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 existía una gran variedad 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 se 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.

A diferencia de los neurotransmisores establecidos, el NO es sintetizado según su demanda y no es almacenado en vesículas sinápticas ni liberado por exocitosis. Simplemente difunde a medida que se produce desde el terminal del axón. Sus receptores moleculares incluyen una variedad de proteínas intra y extracelulares. La mayor parte de sus acciones son consecuencia de interacciones intracelulares, por lo que es considerado, principalmente, como segundo mensajero. La actividad de los neurotransmisores convencionales finaliza por mecanismos de recaptura o degradación enzimática, pero en el caso del NO, su reacción continúa hasta que se agote el sustrato. Por lo tanto, el control de su

síntesis es la llave para la regulación de su actividad (15, 16, 22).

4.1 Síntesis del óxido nítrico

Una familia de enzimas, llamadas *óxido nítrico sintasas (NOS)*, catalizan la oxidación del aminoácido L-arginina para producir NO y L-citrulina. También se requiere de la presencia de calmodulina y de 4 cofactores que son : flavín mononucleótido (FMN), flavín adenina dinucleótido (FAD), tetrahidrobiopterina 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 (24).

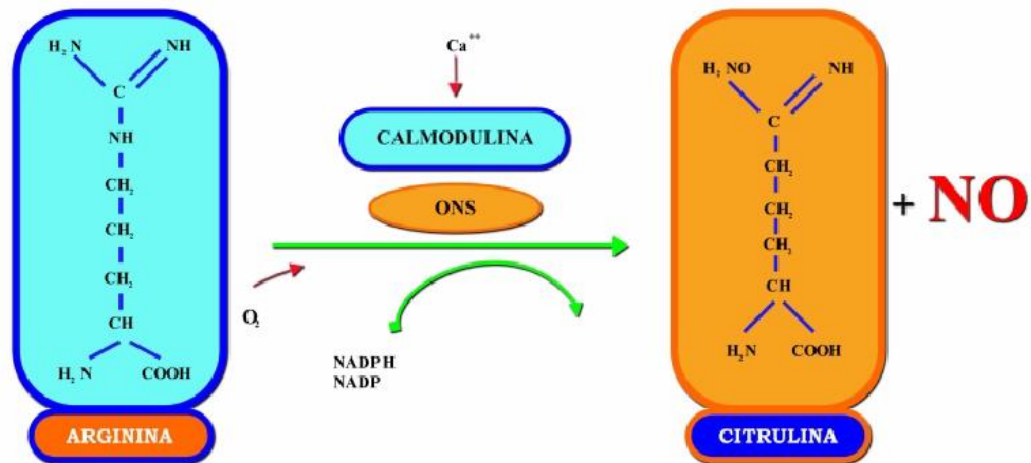


Figura 3: síntesis del óxido nítrico

Se han identificado tres isoformas de NOS; cada una de las cuales es producida por diferentes grupos de genes y fueron nombrados por orden de descubrimiento:

- NOS neuronal (nNOS o NOS I) en trombocitos, células β del páncreas, músculo, pulmón, estómago, neuronas, células epiteliales del útero y células endoteliales de las arteriolas aferentes y eferentes.
- NOS endotelial (eNOS o NOS II) en trombocitos y células endoteliales.

- *NOS tipo macrófago o inducible* (iNOS o NOS III) se encontró en macrófagos, neutrófilos, células de K pffer y microglia.

Tanto nNOS como eNOS se encuentran normalmente en los tejidos, por eso son llamadas *constitutivas*. Son calcio/calmodulina dependientes, y se encuentran en el citosol y en membranas celulares. Producen NO en bajas cantidades, y son muy importantes en la regulación de procesos fisiológicos.

La iNOS, por otro lado, normalmente no se encuentra expresada. Se sintetiza luego de la inducción por un estímulo inmunológico/inflamatorio como endotoxinas bacterianas o citoquinas inflamatorias, como son TNF- α , IL-6 e IL-1. Son calcio/calmodulina independientes. Producen NO en mayores concentraciones, en periodos controlados y se considera que se expresan en cuadros patológicos. Su actividad aparece después de 6 - 8 horas de la inducción (tiempo en que se realiza la activación del gen y síntesis de la enzima).

Aunque todas las isoformas catalizan las mismas reacciones, cada una de ellas tiene su propia estructura y localización. Estas características determinan diferencias en los cambios de activación, así como la especificidad de sus inhibidores. Las características del NO y las diferencias funcionales entre las isoformas de las NOS determinan su diverso rol en la regulación de muchos procesos fisiológicos y patológicos (23, 24).

4.2 Acción biológica del óxido nítrico

El NO actúa sobre las células en forma directa e indirecta. Una vez sintetizado, difunde hacia los tejidos vecinos (membranas celulares), actuando sobre diferentes sustratos, entre ellos, la más importante, es la *guanilato ciclasa soluble*. Esta enzima activada cataliza la transformación de *guanosín trifosfato* (GTP) en *guanosín monofosfato cíclico* (GMPc), provocando un aumento intracelular de éste. La biodisponibilidad de GMPc está modulada por una

fosfodiesterasa cuyas isoformas son tejido dependiente, por lo que constituyen blancos farmacológicos para amplificar el efecto del NO.

El NO tiene variados e importantes efectos en múltiples tejidos. A nivel vascular, eNOS, es un potente vasodilatador, regula la presión arterial, inhibe la agregación plaquetaria, y la adherencia de los neutrófilos activados.

La iNOS desempeña un papel importante en la supresión de actividad bacteriana, parasitaria, viral y tumoral. Sin embargo, bajo condiciones patológicas, tiene efectos dañinos, viéndose su expresión en diversas condiciones inflamatorias como por ejemplo, la enfermedad de Crohn, y en la patogénesis de la hipertensión arterial (15, 16, 17, 18, 22, 24). También participaría en patologías orales como la enfermedad periodontal, en quistes odontogénicos, liquen plano, en desórdenes de la articulación témporomandibular y en tumores de glándulas salivales (25, 26).

Las distintas isoformas de NOS determinan el papel de NO como regulador fisiológico, ejerciendo tanto efectos beneficiosos como nocivos. Tales efectos negativos se producen porque las altas cantidades persistentes del NO pueden reaccionar con aniones del superóxido, generando compuestos altamente tóxicos (16, 18, 25).

4.3 Implicancias del NO en funciones centrales y periféricas

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 (24).

El NO, proveniente de la nNOS, tiene un papel importante en el desarrollo cerebral, modulando diversas funciones entre las cuales podemos mencionar la conformación de la memoria. También está implicado en el ritmo circadiano, patrón respiratorio, regulación de la microcirculación, respuestas endocrinas, etc.

Por último, juega un controvertido rol en la modulación dolorosa, siendo por un lado, agente promotor de la hiperalgesia, y por otro, presentar una intrincada

participación en la vía de la modulación analgésica.

Aunque la nNOS es considerada constitutiva, los niveles de actividad y expresión de ella parecen estar sujetos a una dinámica de *up* o *down-regulation*, inducida por diversos estímulos, entre los que podemos mencionar injurias nerviosas y cerebrales, envejecimiento, tratamientos farmacológicos, lactancia, hipoxia, stress, etc.

Para comprender adecuadamente la actividad del NO en el dolor, es importante destacar, que las distintas funciones que posee en la mayoría de los tejidos, depende de su concentración. Las enzimas constitutivas producen NO en pequeñas cantidades y por corto tiempo, en tanto, que el NO producido por enzimas inducibles en respuesta a estímulos inflamatorios e infecciosos, se genera en cantidades mil veces mayores y por largo tiempo (15, 16, 17, 18, 24).

4.4 NO y analgesia

Trabajos experimentales, sugieren que la acetilcolina estimula la liberación del NO constitutivo, y antagoniza la hiperalgesia inducida en ratas por PGE₂, carragenina y ácido acético. Además, se demostró que donadores exógenos del NO, como nitroglicerina y nitroprusiato sódico, antagonizan la hiperalgesia provocada por un estímulo inflamatorio como PGE₂, carragenina e inflamación neurogénica; efectos bloqueados al inhibir GMPc, lo que sugiere que el efecto antinociceptivo del NO es mediado por la vía GMPc. Se apreció también, que durante la inflamación experimental inducida por carragenina, la administración local de L- arginina produce antinocicepción, la que es bloqueada por inhibidores de la NOS. Existen otros autores, que sin embargo, sugieren que el NO posee un rol pro-nociceptivo en los estados de dolor inducidos por estímulos como glutamato o formalina. Esta diferencia de apreciaciones con respecto al NO se podría deber a múltiples motivos como la complejidad de factores involucrados en la regulación del dolor, la amplia variedad de estímulos y sus interacciones e intensidades, de otras condiciones asociadas a la enfermedad de base que

produce el dolor, o del animal utilizado en el estudio.

En este contexto, los resultados clínicos y experimentales sugieren que el NO, carece de un rol importante como mediador del dolor bajo condiciones fisiológicas de producción endotelial o neuronal (por acción de NOS constitutivas). Sin embargo, luego de horas de producida una lesión tisular, se induce la expresión de iNOS llevando, de esta manera, a una producción prolongada de NO en distintas células, pasando a cumplir un rol en la hiperalgesia (24).

Cabe destacar que el papel del NO cambia según el tipo de estímulo doloroso. La inhibición del NO produce antinocicepción cuando se presentan estímulos químicos o térmicos en nociceptores periféricos, o en dolor visceral. Por el contrario, el bloqueo de la síntesis del NO aumenta el dolor en modelos de hiperalgesia mecánica (15).

Este doble papel, podría deberse a una regulación diferenciada del NO en fibras nerviosas aferentes o, a que actúa como un mensajero molecular diferenciado en distintas neuronas, dependiendo del carácter excitatorio (produciendo hiperalgesia) o inhibitorio (produciendo hipoalgesia) en una vía nociceptiva dada (24).

4.5 Inhibidores de las NOS

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 (NO₂) y nitratos (NO₃).

Existe una gran cantidad de inhibidores para NOS, útiles en farmacología como herramientas que permiten estudiar la labor del NO tanto en procesos fisiológicos como patológicos. Estos inhibidores actúan sobre los tres tipos de NOS, con moderada selectividad. Son un grupo de análogos de la L- arginina, capaces de bloquear la síntesis del NO. Los inhibidores más comunes son 7-NITROINDAZOL (7-NI), 3-BROMO- 7- NITROINDAZOL, 6- NITROINDAZOL, L- NMMA, L- NNA y su profármaco, el Ng- nitro- L- arginina methyl ester (L- NAME).

De estos podemos destacar el 7-NI que actúa preferentemente sobre nNOS y el L-NAME que actúa como inhibidor no selectivo de las NOS (17, 22, 24).

5. Tratamiento del dolor

Dentro de la amplia gama de fármacos terapéuticos, existen agentes capaces de inducir efectos selectivos en la inhibición de la neurotransmisión dolorosa. Los fármacos más importantes en el tratamiento farmacológico son:

- Analgésicos opioides.
- Analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs).
- Anestésicos locales.
- Fármacos antidepresivos .
- Fármacos antiepilépticos o anticonvulsivantes.
- Corticosteroides y ansiolíticos (coadyuvantes en el tratamiento del dolor), entre otros.

5.1 Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroidales: AINEs

Los AINEs constituyen un grupo de fármacos con diferentes estructuras químicas. La mayoría son ácidos orgánicos débiles, derivados de los ácidos carboxílicos y enólicos. Tienen en común su mecanismo de acción, lo que les da ciertas características terapéuticas y efectos adversos que les son similares (27).

Aunque la mayoría de los componentes de este conjunto de fármacos comparten las tres acciones que los definen: *analgésica*, *antiinflamatoria* y *antipirética*, su eficacia relativa para cada una de ellas puede variar, lo mismo que su toxicidad, por lo tanto, su uso clínico depende tanto de su eficacia como de su toxicidad relativa (8).

5.1.1 Mecanismo de acción de los AINEs

El mecanismo de acción de los AINEs comprende, principalmente, la bioinhibición de las COX, enzimas que dan inicio a la cascada de transformación del ácido araquidónico (AA), que se encuentra unido a los fosfolípidos de las membranas celulares.

Frente a algún estímulo físico, químico o mecánico, el AA es liberado y metabolizado por COX generando *endoperóxidos cíclicos inestables*, que se transforman en prostaglandinas (PGs) y tromboxanos, sustancias llamadas genéricamente *eicosanoides*, debido a que su precursor tiene 20 átomos de carbono. Una vez que el AA es liberado, las isoformas de COX catalizan dos reacciones secuenciales. La reacción inicial de COX convierte el AA en prostaglandina G2 (PGG2). Posteriormente, la reacción de la peroxidasa (POX) reduce PGG2 a prostaglandina H2 (PGH2), que es, a su vez, convertida por isomerasas celulares específicas y diferentes sintetetasas, a cinco diferentes prostaglandinas primarias biológicas que incluyen: PGD2, PGE2, PGF2 α , prostaciclina (PGI2) y tromboxano A2 (TxA2). Estos productos interactúan con los receptores de prostaglandinas acoplados a Proteína G (28).

Las prostaglandinas (PGs) son los productos finales del metabolismo de ácidos grasos, producidos por la vía de las ciclooxigenasas (COXs).

Existen tres isoformas fundamentales: COX-1, COX-2 y COX-3.

La COX-1 es expresada constitutivamente en el organismo, en casi todos los tejidos, y su rol está relacionado con el control de funciones fisiológicas. 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. 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 (28).

La última isoenzima descubierta fue COX-3. Esta enzima sería constitutiva principalmente en el cerebro y moduladora del dolor. Presenta sensibilidad a drogas analgésicas/antipiréticas como el paracetamol.

Algunos de estos eicosanoides (PGs y tromboxanos) participan en diversos grados en inflamación, dolor y fiebre, por lo que la inhibición de su síntesis mediante AINEs explica su actividad terapéutica, pero, debido a que también participan en procesos fisiológicos, dicha inhibición sería responsable de variadas reacciones adversas. Teniendo en cuenta, que los eicosanoides son solamente una parte de los mediadores celulares involucrados una determinada función o proceso patológico y que los AINEs no inhiben el conjunto de la cascada biosintética que tiene su origen en los AA, se puede comprender la limitación que poseen estos fármacos (8, 28, 29).

Los AINEs pueden ser clasificados según su estructura química y selectividad por las COXs (COX-1 y COX-2, isoformas con localización y funciones diferentes), como se observa en la siguiente tabla.

<i>Clase estructural</i>	<i>No selectivos COX-1</i>	<i>Selectivos COX-2</i>
<i>Alcanonas</i>	Nabumetona	
<i>Ácidos antranílicos</i>	Ácido mefenámico, ácido eclofenámico	Amidas y ésteres meclofenamatos
<i>Ácidos arilpropiónicos</i>	Ibuprofeno, flubiprofeno, ketoprofeno, naproxeno, SC560	
<i>Diarilheterociclos</i>		Celecoxib, etoricoxib, parecoxib, rofecoxib, valdecoxib
<i>Di-tert-butyl fenoles</i>		Darfubelona
<i>Ácidos enólicos</i>	Piroxicam, tenoxicam, fenilbutazona	Meloxicam
<i>Ácidos heteroarilacéticos</i>	Diclofenaco, ketocolaco, tolmetin	Lumiracoxib
<i>Ácidos idolacéticos</i>	Indometacin, sulindac	Etodolac, indometacina, amidas (y esterés).
<i>Derivados del para- aminofenol</i>	Paracetamol	
<i>Derivados del ácido salicílico</i>	Aspirina, diflunisal, sulfasalazina	APHS
<i>Sulfonamidas</i>		Nimesulida, flosulida

Figura 4: Clasificación de los AINEs según su estructura química y selectividad según Warner y Mitchell (28)

La mayoría de los AINEs, actualmente disponibles ejercen su actividad antiinflamatoria, principalmente, a través de la inhibición no selectiva de las isoenzimas COX-1 y COX-2. Aunque los mecanismos de inhibición son algo diferentes, la mayoría inhibe la enzima de forma *estereoespecífica, competitiva y reversible*.

Existen diferencias en la actividad de las COXs en los diversos tejidos o en su susceptibilidad a la acción inhibitoria de los distintos AINEs. Esto puede indicar que otras acciones de los AINEs, independientes de la inhibición de la COX, contribuyen a algunos de los efectos terapéuticos. Si a esto se suman las diferencias en la selectividad a la inhibición de COX-1 y COX-2, y sus diferencias farmacocinéticas que condicionan una diferente difusión tisular, celular o subcelular, podemos empezar a entender las diversas potencias y espectros de acción farmacológica (8). Además se sabe que la COX-2 es constitutiva en algunos tejidos y que COX-1 puede estar sobre-expresada durante la inflamación. Esto implica que la inhibición de ambas isoenzimas sería necesaria para obtener la reducción del dolor, y por otro lado, que esta misma inhibición puede conllevar efectos no deseados. Por ejemplo, se postula que la inhibición de la COX-1 sería la responsable de los clásicos efectos indeseables de los AINEs sobre la mucosa gastrointestinal.

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.

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 (28, 30).

La actividad analgésica de los AINEs es moderada. Son útiles en dolores articulares, musculares, dentarios y cefaleas de diversas etiologías, incluidas las formas moderadas de migraña. Están indicados especialmente en dolores caracterizados por una destacada participación de las PGs. Se ha aceptado que la acción analgésica de los AINEs tiene lugar a nivel periférico, inhibiendo la síntesis de las PGs producidas durante la inflamación, sin embargo, no existe una correlación precisa entre la actividad anticiclooxigenasa *in vitro* y el efecto analgésico en todos los modelos de dolor experimental o clínico. Además existen mediadores celulares no prostaglandínicos que también estimulan a nociceptores, sobre los cuales el efecto de los AINEs apenas se conoce.

Existen evidencias que el efecto analgésico es modulado por fármacos que interactúan con otros receptores, como lo son: agentes adrenérgicos, colinérgicos, serotoninérgicos, nitridérgicos. Así se ha demostrado que con el uso de antagonistas no selectivos y selectivos de diversos neurotransmisores (atropina, tropisetron, L-NAME, etc) se puede modificar los efectos analgésicos de los AINEs, aumentándolos o disminuyéndolos, alterando factores que intervienen en el proceso nociceptivo (8, 31, 32, 33).

5.1.2 Efectos adversos de los AINEs (RAM)

Una reacción adversa a una droga corresponde a cualquier respuesta no deseada y no intencionada que ocurre al administrar la dosis terapéutica de ella. Además de tener diferentes propiedades terapéuticas, los AINEs, tienen una serie de efectos indeseados, consecuencia de acciones farmacológicas expresadas en todos aquellos sistemas en los que las PGs cumplen acciones fisiológicas, es decir, acciones relacionadas con la inhibición de las PGs. La mayoría de estos efectos adversos se presentan en consumos crónicos y en altas dosis. La tendencia a producir reacciones adversas varía según el AINE utilizado (24).

Las principales RAM que presentan los AINEs están relacionadas con problemas gastrointestinales; renales; hipersensibilidad (reacciones anafilácticas); reacciones hematológicas (alterando la actividad plaquetaria); cardiovasculares, hepáticos; inhibición de la motilidad uterina durante el embarazo y su inducción al cierre prematuro del conducto arterioso. Con el desarrollo de AINEs selectivos a COX-2, se ha logrado la disminución en gran parte de los efectos indeseables de estos fármacos, , sobretodo los gastrointestinales, las cuales se asocian con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas citoprotectoras (8, 27, 28).

6. Dexketoprofeno

El *dexketoprofeno (DKP) trometamol* es una sal hidrosoluble y liposoluble, proveniente del enantiómero dextrorrotatorio del ketoprofeno.

El ketoprofeno pertenece a la familia de los ácidos propiónicos. Usado como fármaco analgésico, antipirético y antiinflamatorio, corresponde a uno de los inhibidores más potentes de PGs *in vitro*. 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. Es una mezcla racémica compuesta por iguales cantidades de dos enantiómeros, R (-) y S (+), siendo ésta última, su forma *dextrorrotatoria* la molécula activa (ya que posee la habilidad de inhibir la formación de prostaglandinas), mientras el enantiómero R (-) carece de dicha actividad (34).

Los enantiómeros son moléculas que presentan una estructura espacial particular, denominada *quiralidad*. Esta es una característica de algunas moléculas, debida a la presencia de un átomo de carbono asimétrico, presentando la misma composición química pero diferente configuración tridimensional. Se diferencian por *asimetría esteoquímica*. El enantiómero en que la dirección sigue las agujas del reloj se le asigna la letra R (*rectus, derecha*), y a aquél en que le orden es antihorario la letra S (*siniestra, izquierda*). Las propiedades físicas de los enantiómeros también difieren en los AINEs; los enantiómeros S son dextrógiros (desvían la luz polarizada a la derecha) y los R son levógiros (desvían la luz polarizada hacia la izquierda).

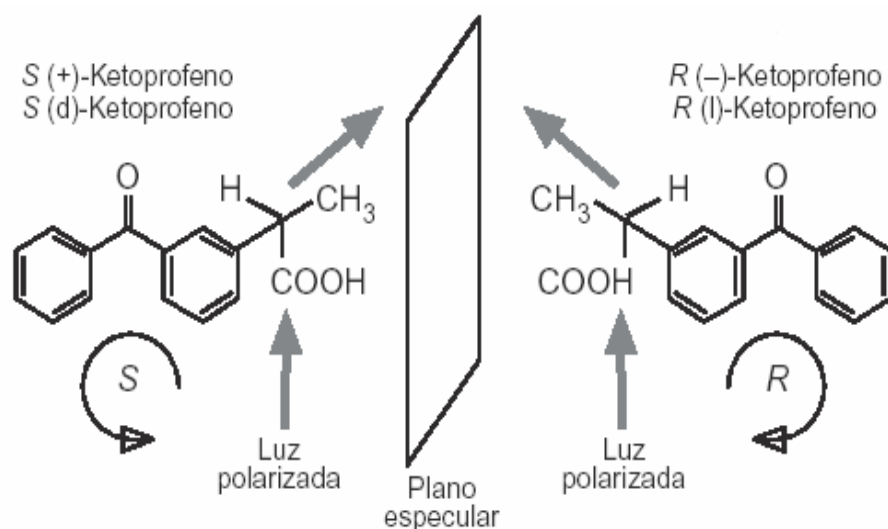


Figura 5: Nomenclatura de los enantiómeros del ketoprofeno en función de sus propiedades químicas y físicas.

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. Es decir, la acción de los AINEs está dada por el bloqueo de las COXs, mediante una disposición espacial complementaria entre ellos. Esta unión provoca un cambio estructural en la enzima, inactivándola. Así, en los AINEs quirales, las COXs sólo reaccionan con los enantiómeros que les son complementarios, es decir, los S(+). La forma R(-) es desprovista de tal actividad

sobre su receptor específico (8, 30, 35).

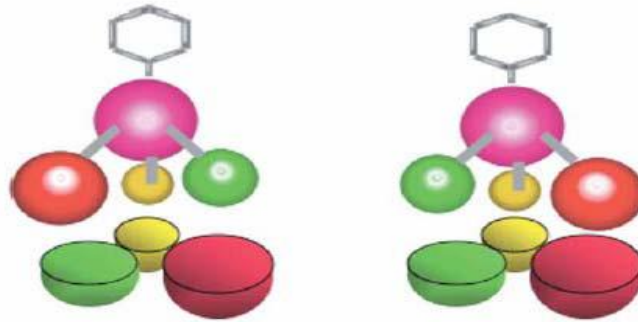


Figura 6: Enantiómero R (-) del ketoprofeno Enantiómero S (+) del ketoprofeno

6.1 Características farmacocinéticas y farmacodinámicas del DKP

El ketoprofeno racémico actúa por inhibición competitiva y reversible de COX-1 y en menor medida de COX-2.

El dexketoprofeno es el ácido S (+) -2 (3-benzoilfenil) propiónico o enantiómero S (+) del ketoprofeno, el cual es convertido en sal *TRIS* (trometamol) aumentando su solubilidad, mejorando su perfil cinético. 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 (4).

El DKP administrado por vía oral se absorbe en el intestino delgado. Algunos estudios farmacocinéticos en voluntarios sanos demostraron que este fármaco posee un rango de velocidad de absorción más alto que su forma ácida libre y que el racemato. Una dosis de 25 mg alcanza la máxima concentración plasmática en un tiempo máximo (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}). Estos valores para DKP trometamol, generan un inicio en la analgesia más rápido y confiable, comparado con las otras formulaciones,

considerado de gran utilidad en casos de dolor agudo (2, 35).

La eficacia analgésica del enantiómero S(+) puro, es similar a la observada con una doble dosis del compuesto racémico.

La C_{max}. del enantiómero S(+) después de la administración del DKP trometamol fue más alta y mejor tolerada (3.71 +/-0.72 mg/L) que las obtenidas luego de la administración de la droga racémica (2.72+/-1.25 mg/L) y DKP ácido (2.02 +/-0.7 mg/L). En la relación dosis-respuesta se vio que la diferencia entre las dosis de 12.5 mg y de 25 mg, radicaba en una mayor duración de la analgesia, más que un aumento en su peak, por lo que se propone que en dosis de 25 mg se produce un plateau en la curva. Así en el ser humano, la biodisponibilidad relativa del DKP oral en dosis de 25 mg es similar a la del ketoprofeno racémico oral de 50 mg.

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 (14).

Esta característica estaría asociada con una rápida y mayor penetración en el SNC a través de la barrera hematoencefálica planteando un efecto analgésico a nivel central, distinto a la acción analgésica que puede ejercer en el sitio de la injuria.

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, cuya rápida excreción, es renal (aproximadamente 70-80 % en 12 horas), sin 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 (4, 36).

Informes sugieren que enantiómeros R(-) de algunos derivados ácidos propiónicos podrían exhibir actividad analgésica a través de mecanismos no relacionados con las PGs. Un estudio demostró que 100 mg de R(-) de ketoprofeno es tan eficaz como 1000 mg de paracetamol en el postoperatorio por dolor dental. Aunque el paracetamol posee una analgesia más rápida al inicio que 100 mg de ketoprofeno (45 v/s 60 minutos), la duración de la acción analgésica parece ser equivalente. La dosis de 25 mg del R(-) del ketoprofeno no fue estadísticamente superior al placebo. La acción analgésica de R(-) puede ser explicada por la bioinversión de R(-) a S (+) del enantiómero, según lo demostrado en voluntarios sanos, aunque el enantiómero R(-) posee un bajo índice de bioinversión a S(+) en humanos (menor al 15%). El uso de una droga enantioméricamente pura es justificado si proporciona una cierta ventaja clínica sobre el uso del racemato, como es éste el caso (2, 37).

6.2 Indicación y eficacia analgésica

El dexketoprofeno es usado ampliamente para el tratamiento del dolor leve moderado en situaciones de odontalgias, alivio del dolor post-operatorio en cirugía bucal, afecciones músculo-esqueléticas dolorosas como osteoartritis. Su mayor ventaja es su rápida velocidad de acción analgésica y potente actividad antiinflamatoria y sus reducidos efectos secundarios (2, 37, 38).

Comparado con ibuprofeno de 600 mg, en el manejo del dolor post exodoncia de terceros molares incluidos o semiincluidos, se comprobó que el dexketoprofeno de 25 mg es más efectivo en la primera hora tras la intervención y su duración analgésica es de 5.30 horas, mientras que la duración analgésica del ibuprofeno es de 6 horas tras su administración (35). Otro estudio comparó la eficacia y tolerancia del DKP v/s tramadol. El DKP demostró ser tan efectivo como tramadol 50 mg durante los primeros tres días post-operatorio en cirugía ortopédica (38). El DKP trometamol al ser comparado con rofecoxib no mostró diferencias estadísticamente significativas, siendo eficientes analgésicos para el tratamiento del dolor en cirugías de extracción de terceros molares mandibulares. Ambos fueron igualmente bien tolerados (3).

6.3 Contraindicaciones y efectos adversos

Dexketoprofeno ha demostrado tener un perfil de seguridad comparable o mejor incluso que tramadol y diclofenaco (39).

Las complicaciones gastrointestinales corresponden al efecto nocivo más común del ketoprofeno racémico, sin embargo, la acción ulcerogénica de las sales de trometamol, especialmente del dexketoprofeno trometamol es muy baja; cinco veces menor que el ketoprofeno racémico.

Su rápida absorción parece ofrecer alguna protección frente a complicaciones gastrointestinales provocadas por irritación directa de la mucosa gástrica independiente de la inhibición de la COX-1 (2, 35).

6.4 Implicancias terapéuticas de las propiedades farmacocinéticas

El uso del enantiómero activo tiene numerosas ventajas clínicas potenciales, incluyendo un perfil farmacológico mejorado, reducción de complejas interacciones de la droga y una farmacocinética mejorada.

El DKP requiere la mitad de la dosis para tener el mismo efecto que el ketoprofeno, reduciendo, de esta manera, la carga hepática, renal y la cantidad total de metabolitos formados. En relación a otras ventajas, podemos mencionar mejores valores de C_{max} y T_{max} en la administración de la sal, comparada a la forma ácida y al racemato, con un comienzo más rápido de su acción analgésica. Además reduce al mínimo su toxicidad, interacciones y efectos tóxicos atribuidos al enantiómero activo R(-). Posee un perfil de tolerabilidad mejorado, con un menor potencial de ulceración gástrica (2).

7. Modelos animales de dolor

La investigación básica y clínica ha avanzado mucho en los últimos años en su intento por conocer los mecanismos propios de la nocicepción. Esto se lo debemos a los modelos animales de dolor.

La ausencia de comunicación verbal en los animales es, sin duda, un obstáculo para la correcta evaluación de dolor. Como no podemos conocer las sensaciones del animal, sólo podremos analizar sus reacciones ante estímulos nocivos de naturaleza diversa (40).

Zimmermann, reinterpretó la definición de dolor de la IASP para que pueda ser aplicada en animales. Según esto, el dolor en animales correspondería a “una experiencia sensorial aversiva causada por una lesión real o potencial que produce reacciones motoras y vegetativas progresivas, desencadenando un comportamiento aprendido de evitación y puede modificar comportamientos específicos de la especie, incluyendo los sociales”. Podemos entender, entonces, que los modelos animales de dolor corresponden a procedimientos mediante los cuales se valora la reacción de un animal ante un estímulo nocivo de naturaleza variada, o situación patológica inducida, que puede ser utilizado en circunstancias fisiológicas o patológicas (40).

Dentro de los modelos de dolor animal, mencionaremos como relevante la prueba de la formalina.

7.1 Prueba de la formalina orofacial

La prueba de la formalina en ratas y ratones muestra dos fases: una fase temprana debida a la activación directa de los nociceptores que sigue a la injuria corrosiva que produce el irritante (fase I), y luego una fase tardía debida a la organización de un foco inflamatorio en el sitio de la injuria y la sensibilización central y periférica que conlleva (fase II). Tras la aplicación de la formalina aparecen respuestas conductuales dirigidas hacia la extremidad injuriada como: lamido-mordisqueo, sacudidas, elevación y resguardo, habiéndose descrito originalmente un método para puntuar la respuesta nociceptiva, en base a la observación conjunta de estas respuestas.

La intensidad de las respuestas conductuales dependerá de la concentración de la formalina que es administrada (40, 41).

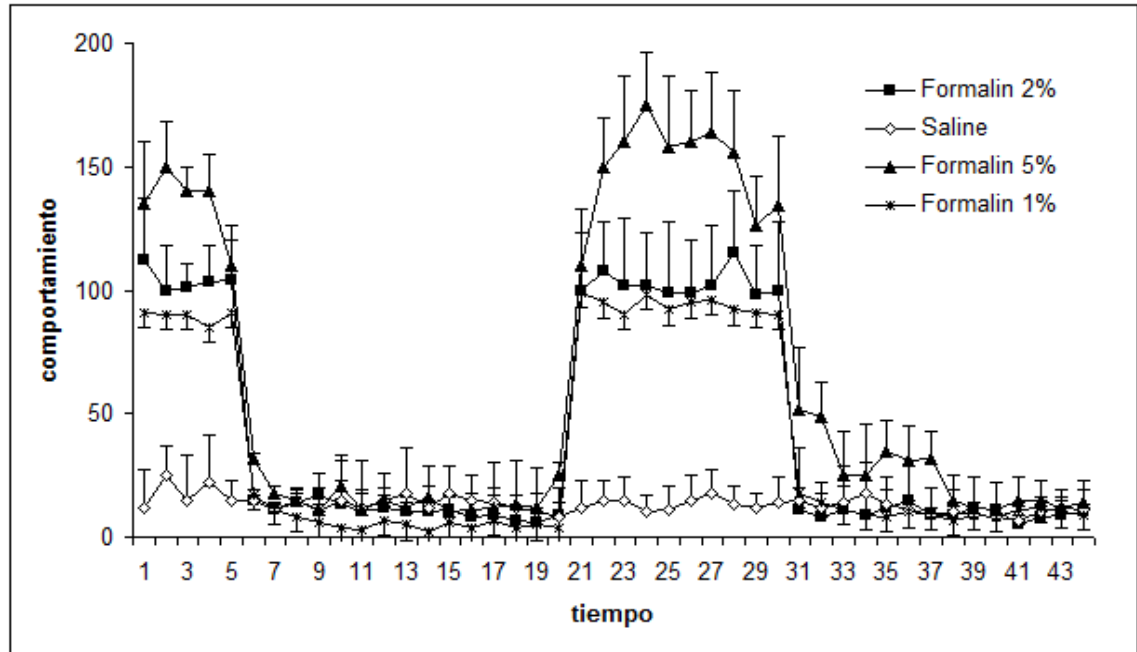


Figura 7: Curso temporal del ensayo de la formalina orofacial en ratones.

El test de la formalina ha sido adaptado para el estudio del dolor orofacial, observándose tras la aplicación del irritante un aumento del “acicalamiento” facial, expresado como frotamiento y rascado de la cara. Esta respuesta nociceptiva presenta un típico curso de tiempo bifásico, con una primera fase de corta duración (3-5 minutos), seguido, después de un periodo de reposo de 10-15 minutos, por una segunda fase tónica prolongada (20-40 minutos). En este caso, la inyección intradérmica de formalina se aplica en el labio superior, lateral a la nariz; o bien en el centro de la almohadilla vibrissas. Produciendo una respuesta nociceptiva más intensa y repetible dentro del territorio orofacial (41).

Hipótesis y Objetivos

1. Hipótesis

La administración intraperitoneal (i.p) de dexketoprofeno produce actividad antinociceptiva en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, que es modulada por la síntesis del óxido nítrico.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Estudiar la actividad antinociceptiva del dexketoprofeno en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial en ratones y su modulación por la inhibición de las enzimas que producen óxido nítrico.

2.2 Objetivos específicos

- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración i.p del dexketoprofeno en el test orofacial.
- Estudiar el tipo de modulación en el efecto analgésico del dexketoprofeno que se obtiene al pretratar a los animales, utilizados en el estudio, con diferentes concentraciones de L-NAME en el ensayo antes citado.

Material y Métodos

1. Animales

En el estudio se usaron 240 ratones de la cepa CF/1 (*Mus Musculus*) machos de 28 a 30 gramos de peso. Todos los animales fueron aclimatados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación (41), la que se realizó según el protocolo *CBA N° 238 FMUCH* aprobado por la comisión ética de la facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Cada animal seleccionado aleatoriamente, fue usado una vez y recibió sólo una dosis de las drogas estudiadas. Se deja constancia que, basándose en las normas éticas internacionales que rigen este tipo de experimentación, el número de animales utilizados fue el mínimo estrictamente necesario para un correcto análisis estadístico.

Los animales fueron sacrificados inmediatamente después de realizado el experimento, mediante el método de dislocación cervical, realizado por personal experimentado.

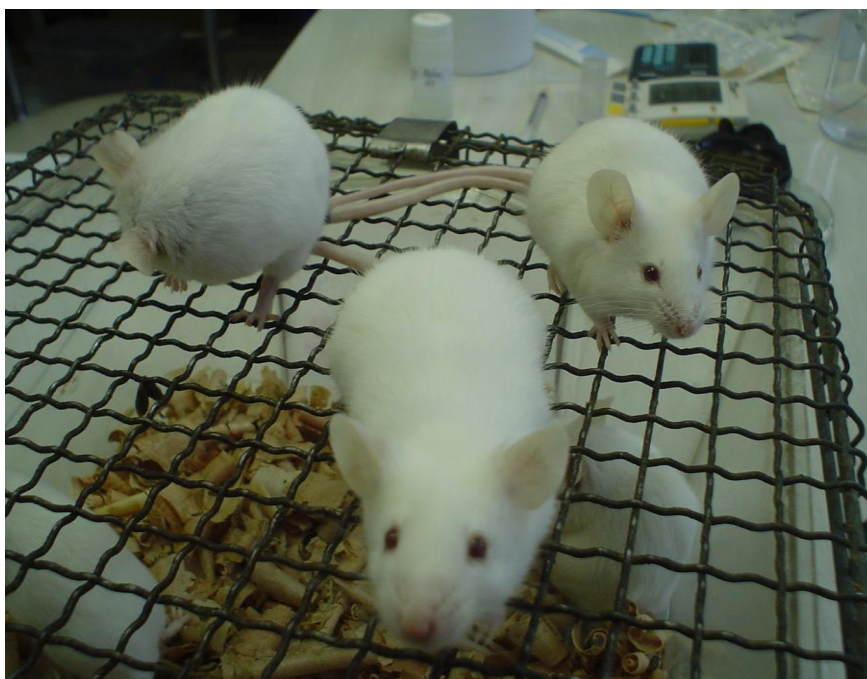


Foto 1: ratones aclimatados en laboratorio antes de iniciar experimentación.

2. Test de la formalina orofacial

La evaluación de la analgesia se efectuó mediante el test algesiométrico orofacial de la formalina, que permite medir el dolor originado en la estimulación del nervio trigémino, uno de los nervios de mayor inervación en el territorio máxilofacial. Para ello se inyectó, por vía subcutánea, 20 μ L de solución de formalina al 5% en el labio superior derecho del animal, justo lateral a la nariz.

Tras la aplicación de la formalina aparecen respuestas conductuales manifestándose un sostenido frotamiento de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal, tanto con la pata delantera y trasera ipsilateral, como con las dos patas delanteras (5, 41).

El estímulo químico generado por la formalina se puede calificar como nocivo, puesto que produce lesión del tejido fino, activa nociceptores A δ y C, en neuronas nociceptivas espinales como trigeminales y se siente como doloroso en el hombre (5).

Los ratones se colocaron en un cilindro diseñado para la observación, y se registró por medio de un cronómetro digital el tiempo total que se frotó el área perinasal, durante los 5 minutos inmediatos a la inyección, que corresponde a la fase algésica aguda (fase I). Luego se registró por 10 minutos, a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30 minutos, el tiempo durante el cual los animales se frotan el labio comprometido que corresponde a la fase inflamatoria y que mide el dolor crónico (fase II). No se contabilizó el tiempo entre la fase I y la fase II debido a que el ratón se encuentra en un periodo de quietud (5).

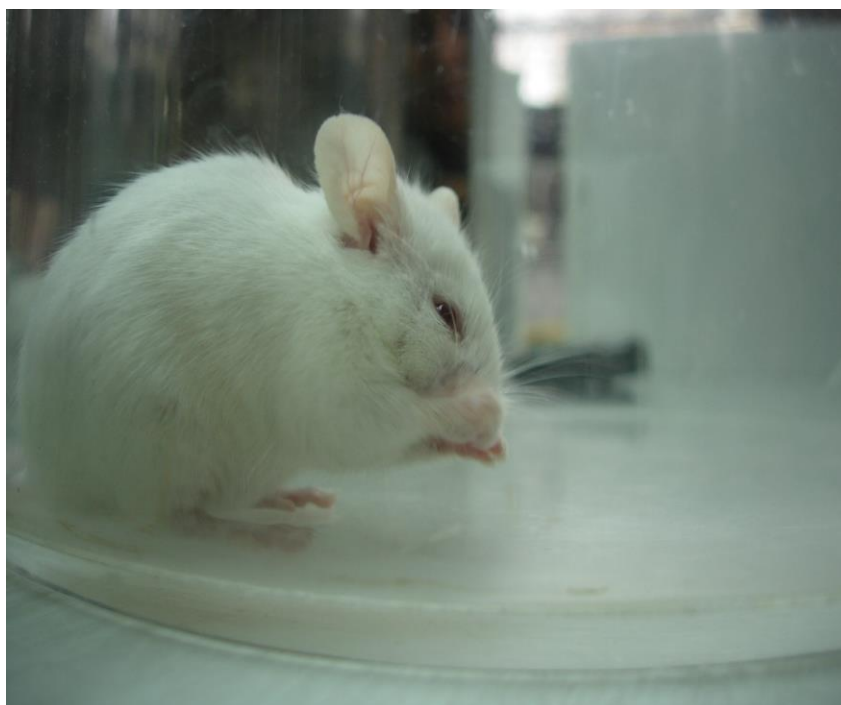


Foto 2: frotamiento de zona inyectada.

Los resultados, o tiempo total de frotamiento en cada periodo (en segundos), se expresaron como porcentaje de efecto antinociceptivo máximo (% MPE) de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ MPE} = 100 - (\text{TE} / \text{TC} \times 100)$$

Donde:

TE= tiempo de rascado de los animales inyectados con droga.

TC= tiempo de rascado de los animales inyectados con la solución salina fisiológica.

La dosis que produce el 50% del MPE fue calculada por análisis de regresión lineal de la curva obtenida por el trazado del log de la dosis versus %MPE.

3. Evaluación de la analgesia

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva, se construyeron curvas dosis-respuesta del dexketoprofeno (3-300 mg/kg) administrado por vía intraperitoneal (i.p.) con un mínimo de 6 animales por cada uno, de al menos 4 dosis logarítmicas crecientes. La droga fue disuelta en solución salina y administrada por vía i.p., en un volumen constante de 10 mL/Kg., 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, tiempo en que se alcanza el efecto analgésico determinado previamente (40, 41, 42).

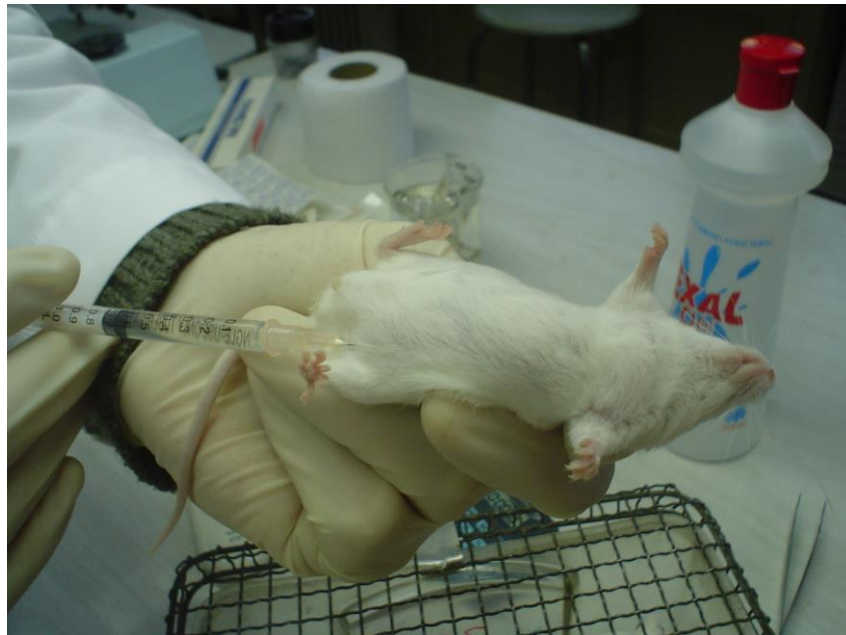


Foto 3: inyección de DKP intraperitoneal.

Los animales usados como grupo control fueron tratados con una solución salina i.p. al 0.9%. A partir de la curva dosis-respuesta se calculó, por regresión lineal, la dosis que produjo un 50% del MPE, la cual se utilizó para el estudio de la modulación nitridérgica.

4. Estudio de la modulación nitridérgica

Para esto los animales fueron pretratados con 3 concentraciones diferentes de L-NAME y se repitieron las curvas dosis-respuesta del DKP. Los fármacos se administraron i.p. en un volumen constante de 10 mL/Kg. El ensayo de la formalina se realizó a los 30 minutos después de la administración de los fármacos. Para analizar la modulación nitridérgica sin interferir significativamente con la actividad nociceptiva del DKP, y considerando los efectos intrínsecos de los inhibidores de la NOS, en el test orofacial, se eligieron las dosis de 0.1, 1, y 10 mg/kg de L-NAME, i.p. El análisis de la modulación se efectuó evaluando el desplazamiento de la curva dosis-respuesta del DKP, por efecto de L-NAME y de los cambios de los valores de la DE50 (dosis que produce un 50% del efecto máximo).

En el caso que la interacción es de naturaleza sinérgica, la curva dosis-respuesta se desplaza hacia la izquierda, con una consecuente disminución significativa del valor de DE50. En el caso contrario, es de decir, en una interacción de naturaleza antagónica, el desplazamiento es hacia la derecha y existe un incremento significativo del valor de DE50. Por último, si no hay desplazamiento de la curva y si no existe un cambio significativo de DE50, la modulación es aditiva.

Las observaciones fueron hechas en forma randomizada, ciega y controladas con solución salina, y de acuerdo a las normas éticas internacionales que rigen este tipo de experimentación, el número de animales utilizados fue el mínimo estrictamente necesario para un correcto análisis estadístico. Los resultados se expresan como promedio \pm error estándar del promedio (EEM).

Todos los parámetros estadísticos se calcularon con un programa computacional del laboratorio, y la significancia estadística se determinó por análisis de varianza (ANOVA) y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($P < 0,05$).

Resultados

1. Grupo control.

La administración de solución salina al 0.9% vía i.p, 30 minutos antes de la administración de la solución de formalina al 5%, produjo un tiempo de rascado de la zona labial y perinasal derecha de 95.33 ± 6.88 segundos en la fase I (n= 12) y de 138.58 ± 6.50 segundos en la fase II (n= 12).

2. Determinación de la DE50 para dexketoprofeno

La administración i.p. del DKP indujo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente tanto en la fase algésica aguda (fase I) como en la fase inflamatoria (fase II) lo que se observa en las figuras 8 y 9. La DE50, en mg/kg, del DKP resultó ser 16.13 ± 3.25 para la fase I (n=24) y de 50.16 ± 8.10 para la fase II (n=24).

Durante la fase I, el test de la formalina produjo una actividad nociceptiva en los ratones que se tradujo en un tiempo de rascado de $55,5 \pm 2,09$ segundos (DE50 DKP de 16.13 ± 3.25). Mientras que, en la fase II, el tiempo de rascado correspondió a $65,80 \pm 9.10$ segundos (DE50 DKP 50.16 ± 8.10).

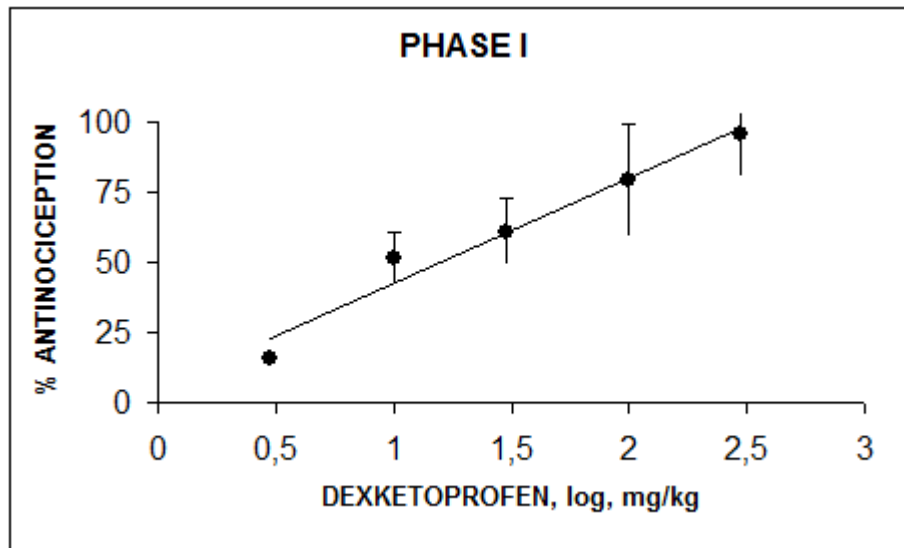


Figura 8 :Curva dosis respuesta para la administración i.p. de DKP en la fase I (0-5 min) del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 6 animales. Todos los puntos son significativos ($P < 0.05$)

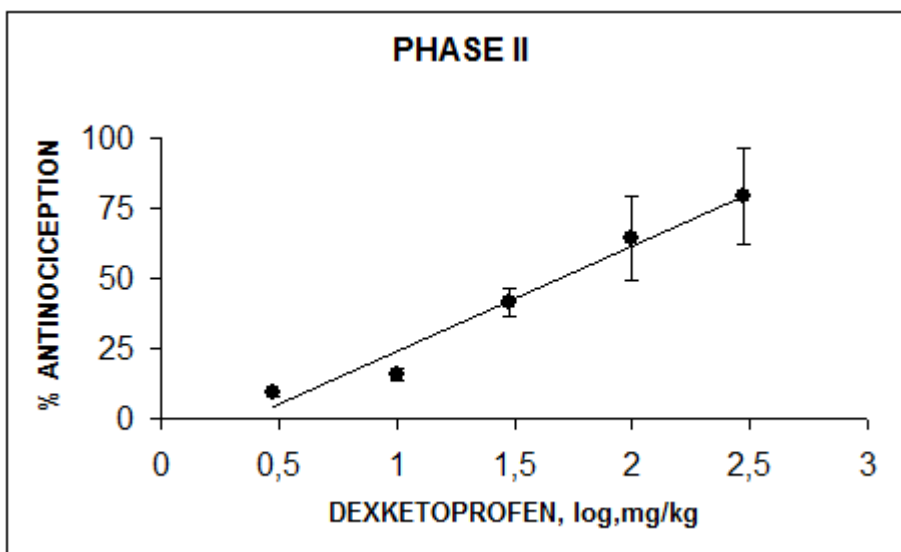


Figura 9: Curva dosis respuesta para la administración i.p. de DKP en la fase II (20-30 min) del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 6 animales. Todos los puntos son significativos ($P < 0.05$)

3. Grupo tratado con L-NAME

El grupo tratado con L-NAME (0.1 mg/kg) produjo 40.67 ± 11.61 segundos de rascado en la fase I (n=24) y de 67.17 ± 5.52 segundos de rascado en la fase II (n=24). El grupo tratado con L-NAME (1 mg/kg) produjo 48.00 ± 3.25 segundos de rascado en la fase I (n=20) y de 64.00 ± 6.33 segundos de rascado en la fase II (n=20). El grupo tratado con L-NAME (10 mg/kg) produjo 31.50 ± 7.74 segundos de rascado en la fase I (n=20) y de 49.17 ± 5.10 segundos de rascado en la fase II (n=20).

Estos resultados se muestran en las figuras 10 y 11 que muestran los resultados en la fase I y en la fase II, respectivamente.

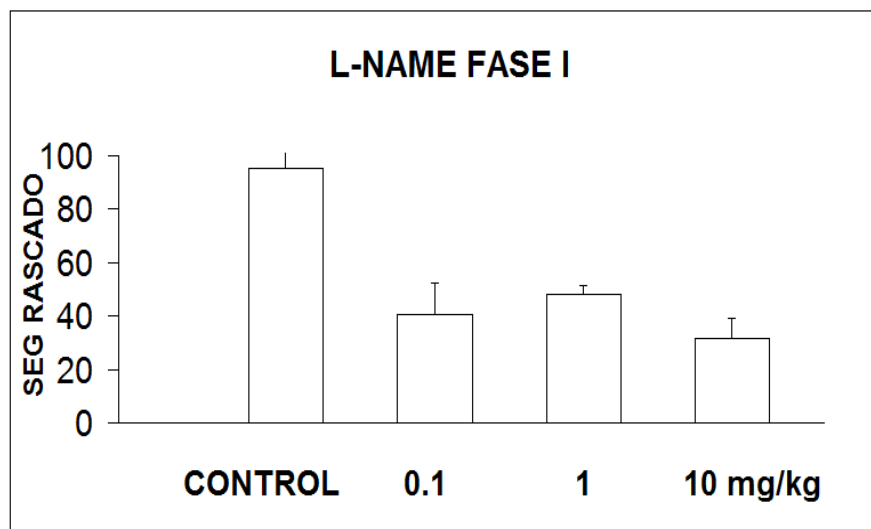


Figura 10: Histograma del efecto del L-NAME en el ensayo de la formalina orofacial correspondiente a la fase I. Se puede apreciar la respuesta de los ratones tratados con las 3 diferentes dosis de L-NAME, comparado con el grupo control tratado con suero salino. Las dosis de L-NAME son significativas con respecto al control ($P < 0.05$).

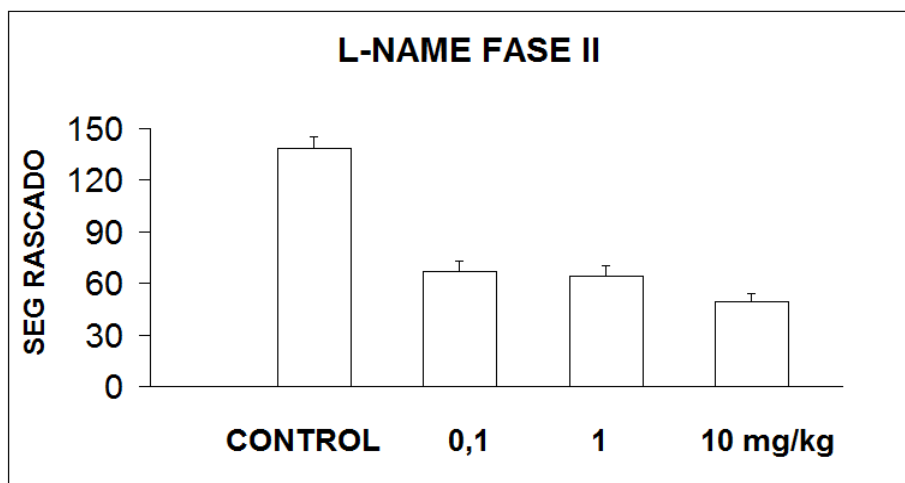


Figura 11: Histograma del efecto del L-NAME en el ensayo de la formalina orofacial correspondiente a la fase II. Se puede apreciar la respuesta de los ratones tratados con las 3 diferentes dosis de L-NAME, comparado con el grupo control tratado con suero salino. Las dosis de L-NAME son significativas con respecto al control ($P < 0.05$).

4. Grupo tratado con Dexketoprofeno y L-NAME

El grupo pretratado con L-NAME (0.1 mg/kg) i.p. produjo un cambio en los segundos de rascado, observados al realizar el test de la formalina, utilizando la DE50 DKP (16.13 ± 3.25 mg/kg) de 55.5 ± 2.09 a 61.83 ± 4.34 en la fase I (n=6) y utilizando la DE50 del DKP (50.16 ± 8.10) de $65,80 \pm 9.10$ a 67.2 ± 9.88 segundos de rascado en la fase II (n=6).

El grupo pretratado con L-NAME (1 mg/kg) cambió los segundos de rascado, observados al realizar el test de la formalina, utilizando la DE50 de DKP de 55.5 ± 2.09 a 37.17 ± 5.79 en la fase I (n=6) y de 65.80 ± 9.10 a 66.33 ± 7.34 segundos de rascado al utilizar la DE50 de DKP en la fase II (n=6).

El grupo pretratado con L-NAME (10 mg/kg) y DKP i.p. produjo un cambio en los segundos de rascado, observados al realizar el test de la formalina, utilizando la DE50 DKP de 55.5 ± 2.09 a 41.17 ± 3.57 segundos de rascado en la fase I (n=6) y utilizando la DE50 DKP de $65,80 \pm 9.10$ a $19,00 \pm 5.58$ segundos de rascado en la fase II (n=6)

En las siguientes figuras (n° 12 y 13) se observarán los histogramas correspondientes a las fases I y II, respectivamente, en donde se analiza el efecto del tratamiento de L-NAME, en sus tres diferentes concentraciones, y DKP de manera combinada comparado con el grupo control tratado solamente con DKP.

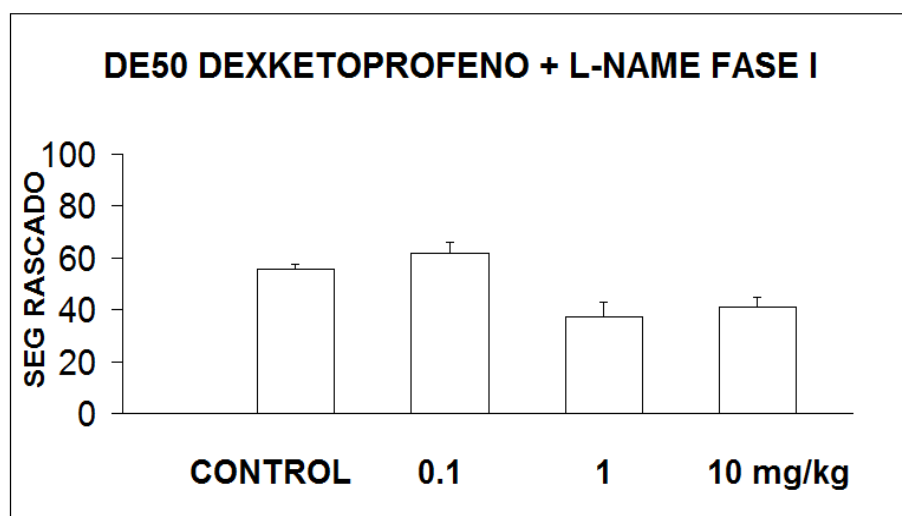


Figura 12: Histograma del efecto de L-NAME, en sus tres diferentes dosis, en la actividad de DE50 del DKP en el ensayo de la formalina orofacial en la fase I, comparado con el grupo control tratado solamente con DKP (DE50= 16.13 ± 3.25 mg/kg). Las dosis de 1 y 10 mg/kg de L-NAME, son significativas con respecto al control ($P < 0.05$).

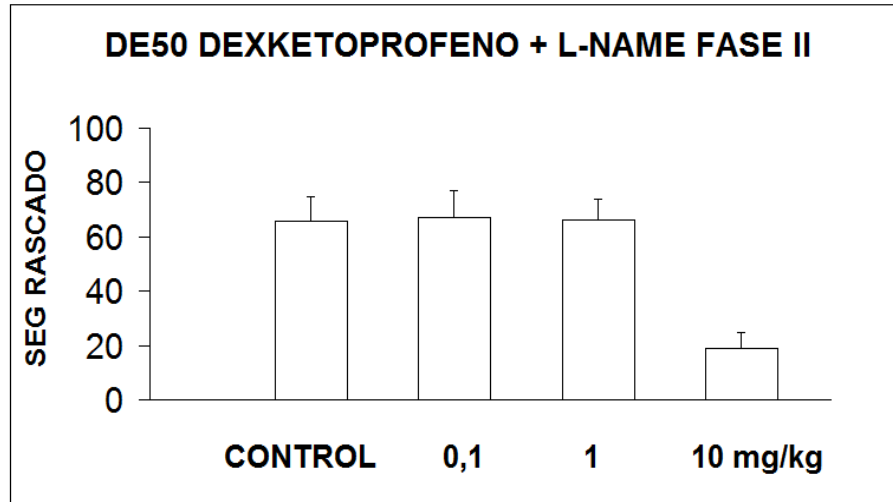


Figura 13: Histograma del efecto de L-NAME, en sus tres diferentes dosis, en la actividad de DE50 del DKP en el ensayo de la formalina orofacial en la fase II, comparado con el grupo control tratado solamente con DKP ($DE50 = 50.16 \pm 8.10$). La dosis de 10 mg/kg de L-NAME es significativa con respecto al control ($P < 0.05$).

Discusión

La administración subcutánea de formalina en el labio superior del ratón indujo una conducta nociceptiva reproducible, traducido en frotamiento o rascado de la zona facial puncionada.

La administración intraperitoneal de dexketoprofeno, L-NAME, y de su combinación, produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente en ambas fases del test de la formalina orofacial en ratones. La respuesta conductual frente a este ensayo consistió en el típico curso temporal bifásico visto en todos los modelos de formalina. Es decir, la primera fase resulta esencialmente de la directa estimulación de los nociceptores periféricos, mientras que la segunda fase involucra un periodo de sensibilización durante el cual ocurren fenómenos de síntesis de mediadores inflamatorios (40).

De acuerdo a los valores DE50 de la actividad antinociceptiva, el dexketoprofeno resultó ser 3.1 veces más potente en la fase I que en la fase II.

La actividad antinociceptiva del DKP, puede deberse a la capacidad de este AINE de inhibir, en forma no-selectiva tanto a COX-1 como a COX-2. Además se ha descrito una acción a nivel central, capaz de inhibir la síntesis de eicosanoides, los que han sido señalados como mediadores pro-inflamatorios, que producen una disminución del umbral de descarga de las neuronas nociceptivas, facilitando la transmisión del impulso nervioso (2, 35, 37).

La actividad del L-NAME en el efecto de DKP está relacionada con la concentración del inhibidor de NOS en la biofase. Así, en la fase I, cuando la concentración del inhibidor es suficientemente alta (1 y 10 mg/kg) se produce un aumento en la actividad del DKP, posiblemente por predominar en esta fase la acción a nivel de COX-1 del DKP.

Sin embargo, en la fase II, que representa una situación de inflamación, la analgesia inducida por DKP solamente es sinérgica cuando la concentración de L-NAME es alta (10 mg/kg). Esto se podría explicar porque se requiere que la acción inhibitoria no selectiva que ejerce L-NAME sobre NOS, sea eficaz en inhibir la formación de NO (15-18).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, confirman la acción dual del NO, como ha sido demostrada en otros trabajos (15-18). Se podría entender esta doble acción del L-NAME, dependiendo de su concentración y de la fase en la cual se está midiendo su efecto sobre el DKP. Así, al evitar la formación del NO, se produce una inhibición de su función moduladora, que en este caso sería como agente pro-nociceptivo, pues su ausencia genera un aumento de la analgesia. Estos hallazgos concuerdan con los descritos previamente, en los cuales se observa que el NO puede producir analgesia o hiperalgesia, según el tipo de ensayo algésiométrico. En pruebas químicas su rol sería hiperalgésico (15).

El hecho que la modulación de la analgesia, por acción del L-NAME, no sea en forma completamente eficaz, podría indicar que la vía NO-GMPc no es la única que estaría modulando la nocicepción trigeminal, lo que concuerda con los antecedentes antes presentados en el marco teórico (11, 12, 13, 20).

En conclusión, la administración de DKP produce efectos antinociceptivos, parcialmente dependientes de la modulación del sistema NO-GMPc en el test de la formalina orofacial. Este hallazgo permite sugerir la exploración de asociaciones farmacológicas con otros agentes relacionados con el sistema NO-GMPc, en diversas dosis, evaluando cuidadosamente sus efectos colaterales, y así contribuir, en forma significativa, al incremento de alternativas en analgesia, para el tratamiento farmacológico del dolor agudo postoperatorio, como también del dolor crónico.

Conclusiones

1. La administración de DKP i.p., en el tratamiento del dolor, induce una acción antinociceptiva dosis-dependiente en el ensayo de la formalina orofacial.
2. El pretratamiento con L-NAME (1 o 10 mg/kg) produce un aumento, estadísticamente significativo, en la actividad analgésica del DKP en la primera fase del test.
3. El pretratamiento con 10 mg/kg L-NAME produce una sinergia en la actividad analgésica del DKP en la segunda fase del test de la formalina orofacial.
4. Se puede concluir la participación del sistema nitridérgico en la actividad del DKP en la vía trigeminal, en el test de la formalina orofacial, de tipo hiperalgésica.
5. Los resultados alcanzados, sugieren que la vía NO-GMPc no es la única que modula la nocicepción trigeminal.
6. Los hallazgos del presente estudio permiten explorar una vía alternativa para el tratamiento farmacológico del dolor.

Sugerencias

En el presente estudio se demuestra el desarrollo de la actividad antinociceptiva de DKP, modulado por la vía NO-GMPc, en el test de la formalina orofacial. De este trabajo, surge la importancia de generar las mismas curvas dosis-respuesta, evaluando con el mismo test, la posible participación de otras vías involucradas en la modulación nociceptiva, tales como: adrenérgicos, colinérgicos, serotoninérgicos, dopaminérgicos, entre otros, determinando, de esta manera, cual de ellas es la más relevante en cuanto a participación y cual es, también, la más apropiada para nuevas alternativas de tratamiento del dolor.

Sería de gran interés, también, evaluar combinaciones de otros tipos de AINEs con inhibidores de la NOS, estudiándolos tanto en este test, como en otros ensayos algesiométricos y modificando las vías de administración.

Referencias Bibliográficas

1. Bonica JJ. "Anatomic and physiology basics of nociception and pain". En: Bonica JJ (ed). The Management of pain. 2ª ed. Pennsylvania, Lea & Febiger. 28-94; 1990.
2. Barbanj MJ, Antonijoan RM, and Gich I. "Clinical Pharmacokinetics of Dexketoprofen" Clin Pharmacokinet. 40 (4): 245-262. 2001.
3. Jackson ID, Heidemann BH, Wilson J, Power I, Brown RD. "Double-blind, randomized, placebo controlled trial comparing rofecoxib with dexketoprofen trometamol in surgical dentistry". Br J Anaesthesia 92 (5): 678-680. 2004.
4. Sweetman BJ. "Development and use of the quick acting chiral NSAID dexketoprofen trometamol (keral)". Acute Pain. 4:109-115, 2003.
5. Luccarini P, Childeric A, Gaydier AM, Voisin D, Dallel R. "The orofacial Formalin Test in the Mouse: A Behavioral Model for Studying Physiology and Modulation of Trigeminal Nociception" . J Pain 12: 908-914. 2006.
6. Busquets C, Ribera M. "Monografies mediques. Unidades de dolor. Realidad hoy, reto para el futuro". Gispert S.A. Barcelona, España. 426; 217-250. Cap 19. 2002.
7. Sessle BJ. "Mechanism of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates". J Oral Rehab. 33; 243-261. 2006.
8. Florez J, Armijo J.A, Mediavilla a, "Farmacología Humana" 3ª Edición, Masson S.A. Barcelona, España. Cap 2-11; 355-388. 1998.
9. Ahmad M. Gouche C. "Management strategies for treatment of neuropathic pain in the ederly". Drugs Aging 19 (12): 929-945. 2002.
10. Ganong WF, "Fisiología Médica". 16a edición , Manual Moderno: 155-162. 1998.
11. Takemura M. Sugiyo S, Moritani M, Kobayashi M and Yonehara N. "Mechanisms of orofacial pain control in the central nervous system". Arch Histol Cytol. 69(2): 79-100. 2006.
12. Sessle BJ. "Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates". Minerva Anesthesiol. 71:117-36. 2005.

13. Basbaum A, Julius D. "Toward Better Pain" . *Scientist american*. 60-67. 2006.
14. Fürst S. "Transmitters involved in antinociception in the spinal cord". *Brain Res. Bull.* 48: 129-141. 1999.
15. Esplugues J.V. "NO as a signalling molecule in the nervous system". *Br J Pharmacol*. 135 (5): 1079-1095. 2002.
16. Arzumanyan V, Stankevicius E, Laukevicius A, Kvelaitis E. "Mechanism of nitric oxide synthesis and action in cells". *Medicina*. 39(6): 535-541. 2003.
17. Sousa AM, Prado WA "The dual effect of a nitric oxide donor in nociception". *Br Res*. 897: 9-19. 2001.
18. Mollace V, Muscoli C, Masini E, Cuzzocrea S, Salvemini D. "Modulation of Prostaglandin Biosynthesis by Nitric Oxide and Nitric Oxide Donors" . *Pharmacol*. 57 (2): 217-252. 2005.
19. Julius D, Basbaum A. "Molecular mechanism of nociception". *Nature*. 413 (9): 203-210. 2001.
20. Kelly DJ, Ahmad M, Brull SJ. "Preemptive analgesia I: physiological pathways and pharmacological modalities". *Can J Anaesth*. 48 (10): 1000-10. 2001.
21. Ropper AH, Samuels MA, "Adams and Victor's Principles of Neurology" . Ninth Edition; 109-128. 2009.
22. Dudzinski D, Igarashi J, Greif D, Michel T. "The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthases". *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 46: 235-76. 2006.
23. Guyton AC, Hall JA. "Tratado de Fisiología Médica" . 10a Ed. Mc Graw Hill. 669-680. 2001.
24. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. "Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition". *Biochem J*. 375(3): 593- 615. 2001.
25. Ugar- Cankal D, Ozmeric N. "A multifaceted molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases". *Clinica Chimica Acta*. 366 (1-2): 90 - 100. 2006.
26. Brennan PA, Thomas GT, Langdon JD. "The role of nitric oxide in oral diseases". *Arch. Oral Biol*. 48: 93- 100. 2003.

27. Poveda R, Bagán JV, Jiménez Y, Gallud L. "Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs in dental practice". *Med Oral Patol Cir Bucal* 12:10-18. 2007.
28. Warner TD, Mitchell JA. "Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic". *FASEB J*. 18: 790-804. 2004.
29. Choi HS, Lee HJ, Jung CY, Ju JS, Park JS, Ahn DK. "Central cyclooxygenase-2 participates in interleukin-1 β -induced hyperalgesia in the orofacial formalin test of freely moving rats". *Neurosci Lett*. 352: 187-190. 2003.
30. Capone ML, Tacconelli S, Sciulli MG, Patrignani P. "Clinical pharmacology of selective COX-2 inhibitors". *Int J Immunopathol Pharmacol*. 16: 49-58, 2003.
31. Miranda HF, Sierralta F, Pinaridi G. "An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception". *Anesth Anal*. 93: 430-435. 2001.
32. Miranda HF, Sierralta F, Pinaridi G. "Nesotigmine interactions with non esteroidal anti-inflammatory drugs". *Br J Pharmacol*. 135: 1591-1597. 2002.
33. Vane J. "Aspirin and other antiinflammatory drugs". *Thorax* 55: 3-9. 2000.
34. Veys EM. "20 years' experience with ketoprofen". *Scand J Rheumatol*. 90:1-44. 1991.
35. Jiménez E, Gasco C, Arrieta JJ, Gómez J, Bartolomé B. "Study of the analgesic efficacy of Dexketoprofen Trometamol 25 mg. vs Ibuprofen 600 mg. after their administration in patients subjected to oral surgery". *Med Oral* 9: 138- 148. 2004.
36. Jamali F, Brooks DR. "Clinical pharmacokinetics of ketoprofen and its isomers". *Clin Pharmacokinet*. 19: 197-217. 1990.
37. Mazario J, Gaitan G, Herrero JF. "Cyclooxygenase-1 vs cyclooxygenase-2 inhibitors in the induction of antinociception in rodent withdrawal reflexes". *Neuropharmacology* 40: 937-746. 2001.
38. Burke D, Bannister J. "Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management". *Acute pain* 5: 57-62. 2003.

39. Marenco J.L., Perez M, Navarro F.J. "A multicentre randomised double blind study to compare dexketoprofeno trometamol versus diclofenac in the symptomatic treatment of knee osteoarthritis". *Clin. Drug Invest.* 19: 247-256. 2000.
40. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. "Animal Models of Nociception" . *Pharmacol Rev* ; 53: 597-652. 2001.
41. Raboisson P, Dallel R. "The orofacial formalin test" . *Neurosci Biobehav Rev* ; 28: 219-226. 2004.
42. Raffa RB. "Pharmacology of oral combination analgesics: rational therapy for pain" . *J Clin Pharm Ther*; 26: 257-264. 2001.
43. Ferrante FM. "Acute pain Management" . *Anesth Analg* ; 76: S102-S103. 1993.

