



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

“EFECTO DEL SISTEMA SEROTONÉRGICO EN LA ANTINOCICEPCIÓN
DE DEXKETOPROFENO EN DOLOR OROFACIAL”

Natalia Isabel Moral Bustamante

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL
Dr. Hugo F. Miranda G.

TUTOR ASOCIADO
Dr. Fernando Sierralta G.
Dr. Gianni Pinardi T.

Santiago – Chile
2007

Dedico este trabajo y estos años de esfuerzo a

Enrique Moral, mi papá.

Agradecimientos

Agradezco a mi mamá y a mis hermanos por el apoyo y amor que me han dado siempre.

A mis sobrinas Paz y Emilia por la alegría que me da su compañía.

A Ramón Bustamante por su preocupación y afecto durante todos estos años.

A mis amigos y compañeros por estar conmigo siempre.

A José y Alejandro por su tiempo, paciencia y ayuda en el trabajo experimental, pero sobretodo por su calidez y amistad.

Al Dr. Gianni Pinardi por su cooperación y ayuda en el análisis estadístico.

Agradezco al Dr. Hugo Miranda, por su gran ayuda, su inmensa paciencia y disposición, que hace que este trabajo sea una agradable experiencia.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	4
Dolor	4
- Definición de Dolor	4
- Características del Dolor	4
- Clasificación del Dolor	5
- Fisiología del Dolor	6
- Neuroanatomía del Dolor	6
- Vías Descendentes	12
- Serotonina	14
- Tratamiento del Dolor	16
- Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroidales	16
- Clasificación de los AINEs	17
- Mecanismo de Acción de los AINEs	18
- Efectos Terapéuticos de los AINEs	19
- Reacciones Adversas de los AINEs	19
- Interacciones Farmacológicas de los AINEs	21
Dexketoprofeno Trometamol	22
- Características Farmacocinéticas	26
- Indicaciones y Eficacia Analgésica	27
- Efectos Adversos	27

Tropisetron	28
Clomipramina	30
HIPÓTESIS	35
OBJETIVOS	36
MATERIAL Y MÉTODO	37
- Animales	37
- Test de la Formalina	38
- Evaluación de la Analgesia	40
- Estudio de la Modulación Serotonérgica	41
- Análisis Estadístico	42
RESULTADOS	43
- Grupo Control	43
- Dexketoprofeno	43
- Tropisetron	44
- Clomipramina	46
- Dexketoprofeno / Tropisetron	48
- Dexketoprofeno / Clomipramina	51
DISCUSIÓN	54
CONCLUSIONES	59
SUGERENCIAS	60
RESUMEN	61
BIBLIOGRAFÍA	62

INTRODUCCIÓN

El dolor envuelve un concepto complejo. Se ha definido como una experiencia sensorial y emocional desagradable que experimenta un individuo de manera única, razón por la cual es referido y vivido en cada persona de manera diferente. El dolor también es un problema físico, psicológico y social, que puede afectar la conducta de una persona.

En muchos casos el dolor es considerado uno de los síntomas más importantes de lo que se considera enfermedad. El dolor es un tema frecuente en el quehacer profesional del odontólogo debido a la existencia de una gran cantidad de cuadros que involucran algias agudas y crónicas. Por ello es importante tener un conocimiento integral del tema para poder comprender las manifestaciones y alteraciones que puedan suceder en los pacientes y resolverlas de forma correcta.

Una de las alternativas en el manejo del dolor es el uso de fármacos con acción analgésica. Dentro de los medicamentos utilizados encontramos a los opioides, los analgésicos antiinflamatorios no-esteroidales (AINEs) y otros coadyuvantes; p. ej., antidepresivos, antiepilépticos, anestésicos locales (1). Entre los fármacos citados, los AINEs son los más usados en los diferentes tipos de dolor, tanto agudo como crónico. Por lo tanto, son los más estudiados en varias especialidades médicas y, en especial, en el

campo odontológico. Se usan en el preoperatorio como postoperatorio de diversos cuadros clínicos odontológicos álgidos o inflamatorios.

Los AINEs producen sus efectos primariamente por bioinhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs). A su vez inhiben la producción de prostaglandinas. Estas están directamente relacionadas con la patogénesis de la inflamación y del dolor. Sin embargo, existen evidencias que demuestran que el efecto analgésico es modulado por fármacos que interactúan con otros receptores; p.ej., agentes adrenérgicos, colinérgicos, serotoninérgicos, nitridérgicos (2,3).

Se ha demostrado que, con el uso de antagonistas no selectivos y selectivos de diversos neurotransmisores se pueden modular los efectos analgésicos de los AINEs. Se pueden aumentar o bien disminuir, porque alteran los factores que intervienen en el proceso nociceptivo. Esto, a nivel de los receptores involucrados o por modificación de la conductancia de ciertos iones. También por interferir con la señal intracelular emergente de los mediadores celulares o modificar el sistema de control del dolor inhibitorio descendente. O bien, por influir en la liberación de péptidos endógenos analgésicos y/o en la liberación de sustancias algógenas. Ejemplos son Prazosin, Yohimbina, Atropina, Tropisetron, L-nitroarginina, etc., (2,3).

En relación a lo expresado en el párrafo anterior, la búsqueda de una analgesia efectiva, con el mínimo de reacciones adversas, ha planteado la posibilidad de tratar distintos tipos de dolor con la administración de dos o más analgésicos. Igualmente, la administración de agentes antagonistas selectivos o no selectivos de ciertos neurotransmisores. La administración de dos o más fármacos, con efectos diferentes, puede originar interacciones cuya consecuencia es aditiva. Por otro lado, puede ocurrir que el resultado observado sea mayor que la suma de los efectos de los agentes individuales, llamado sinergia. También puede ser un efecto menor, denominado antagonismo (4,5).

En este estudio se evaluará la modulación serotoninérgica sobre la acción analgésica del Dexketoprofeno, utilizando el método algiesiométrico agudo de la formalina orofacial (6). La actividad serotoninérgica se evaluará por el efecto de Tropisetron, antagonista selectivo del subtipo 5-HT₃ serotoninérgico, y de Clomipramina, inhibidor de la recaptación neuronal de serotonina.

MARCO TEÓRICO

DOLOR

Definición de Dolor

El dolor, según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), se define como “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño existente o potencial, o descrita en término de ese daño”. Esta definición considera que el dolor no es una experiencia puramente nociceptiva, en la cual estímulos nocivos son transmitidos al sistema nervioso central (SNC). Este participa en la capacidad de analizar la naturaleza, localización, intensidad y duración de dichos estímulos. Además, incluye componentes emocionales, afectivos y subjetivos inseparables de la sensación dolorosa (7).

Características del Dolor

Las características del dolor son inicio, localización, duración, frecuencia, intensidad, irradiación, carácter y factores asociados. Según estas peculiaridades se puede conocer el origen o etiología de la algia y, por lo tanto, su diagnóstico, pronóstico y tratamiento. El origen del dolor puede ser traumático, físico, infeccioso, psicógeno o deberse a una disfunción neurológica (7).

Clasificación del Dolor

Existen múltiples clasificaciones del dolor. Tal vez la más utilizada sea aquella basada en el tiempo de evolución. Según ello el dolor se clasifica en:

a. Dolor agudo: se describe como una sensación intensa, punzante y rápida. Aparece por una estimulación térmica, química o mecánica, que produce la activación inmediata de los sistemas nociceptivos. Se manifiesta, generalmente, luego de una lesión tisular somática o visceral. Es autolimitado y desaparece junto con la injuria que lo originó. Cumple una función de protección biológica a nivel del tejido dañado, porque indica que existe alguna alteración en éste. Los síntomas psicológicos asociados son escasos; están limitados a una ansiedad leve. Constituye un mecanismo fisiológico de alarma para limitar el daño e iniciar procesos reparativos (7).

b. Dolor crónico: es una sensación de tipo urente, lenta, sorda o profunda, pulsátil. No cumple una función protectora; más que un síntoma de la lesión se le puede considerar como la enfermedad misma. Se observa la persistencia del dolor aún después de que se ha reparado el daño del tejido que lo desencadenó. Suele ser refractario a variados tratamientos y está asociado a factores psicológicos, p. ej., depresión, miedo, ansiedad, insomnio, alteraciones del comportamiento (7).

Fisiología del Dolor

El dolor comienza cuando los nociceptores se activan por sustancias químicas denominadas sustancias algogénicas; p. ej., iones H^+ y K^+ , serotonina, noradrenalina, histamina, prostaglandinas, leucotrienos, bradicinina, óxido nítrico y sustancia P. Son liberadas por la acción de distintas noxas. En la periferia los estímulos nociceptivos activan fibras sensoriales A δ y C. Las terminaciones centrales liberan transmisores excitatorios (sustancia P, glutamato y otros), que ejercen su acción sobre receptores específicos y provocan la depolarización de neuronas de segundo orden. Con esto último la información nociceptiva se transmite hacia centros superiores del sistema nervioso. En su paso por las distintas estructuras nerviosas, los impulsos nociceptivos sufren una modulación inhibitoria en distintos niveles (periférico y central). Los sistemas moduladores de la nocicepción están formados por transmisores y receptores capaces de disminuir la liberación de transmisores excitatorios y la excitabilidad neuronal (7, 8, 9).

Neuroanatomía del Dolor

Para comprender el proceso de nocicepción en el territorio orofacial es preciso dar una breve descripción de la morfología del sistema trigeminal. Este sistema, compuesto por el nervio trigémino o V par craneal, con sus

núcleos de origen y vías nerviosas, constituye la base estructural más importante de la transmisión tanto sensitiva como motora del territorio encefálico (8).

La cavidad oral constituye una de las regiones del organismo humano más ricamente inervadas y con mayor representación y diversificación de receptores. La sensibilidad oral está a cargo de estos receptores junto a las vías sensitivas de conducción. Los receptores son estructuras especializadas del sistema nervioso ubicadas en diferentes zonas del cuerpo. Son capaces de captar o recibir estímulos del medio ambiente externo o interno y transformarlos en potenciales de tipo bioeléctrico (potenciales de acción).

La capacidad de transformar un cambio energético ambiental no nerviosa llamado “estímulo” (térmicos, mecánicos, químicos o eléctricos), en energía de tipo nervioso se denomina “transducción”. Una vez generados los potenciales de acción por el mecanismo de transducción, éstos son transmitidos, a través de vías aferentes o sensitivas, hacia el SNC. Se pueden evocar por sus conexiones corticales una sensopercepción, la cual consiste en la apreciación de un cambio significativo en el ambiente y depende de la estimulación de terminaciones receptoras (8).

Entre la gran cantidad de receptores ubicados en las diferentes estructuras que componen el sistema estomatognático, se pueden encontrar tres grupos: (8)

- Propioceptores: estos entregan información relativa a los movimientos y posiciones del cuerpo en el espacio.
- Visceroceptores: ubicados en las vísceras reciben informaciones relacionadas con actividades viscerales como la digestión, respiración, etc.
- Exteroceptores: ubicados en el tegumento externo (piel, tejido conectivo y subcutáneo) y en las mucosas ectodérmicas que tapizan cavidades y anexos (uñas y dientes). Están adaptados para recibir o captar estímulos del exterior. Se pueden mencionar:
 1. receptores del tacto y presión
 2. termorreceptores (calor y frío)
 3. receptores dentarios (intradentarios y periodontales)
 4. receptores del dolor o nociceptores

Los receptores de mayor interés para este trabajo son los últimos cuatro recién mencionados. Las vías involucradas en la transmisión de los impulsos dolorosos comienzan en los nociceptores que transmiten la información a través de fibras nerviosas. Son clasificadas dependiendo de su diámetro y

grado de mielinización en fibras A y C. Las fibras A se subdividen en los tipos α , β , γ y δ . De todos estos tipos, sólo los tipos A δ y C conducen los impulsos nociceptivos. Las fibras tipo A δ transmiten impulsos de origen mecánico y térmico. Estas son correlacionadas con el dolor agudo. Las fibras de tipo C conducen dolor crónico proveniente de estímulos que son fundamentalmente de naturaleza química (8). Estas fibras tienen su soma en el ganglio de Gasser, aquí cabe recordar que el nervio trigémino o V par craneal es un nervio mixto, cuyo origen aparente se localiza en las porciones laterales de la cara ventral de la protuberancia por medio de dos raíces: una raíz motora y una sensitiva.

La raíz sensitiva resume la percepción general de la piel y membranas mucosas del territorio cefálico. Nace del borde posterior del ganglio de Gasser. Desde el borde anterior del ganglio nacen las tres ramas terminales del trigémino: nervio oftálmico, nervio maxilar y nervio mandibular.

El ganglio de Gasser, es semejante a un ganglio raquídeo. Está compuesto por los somas o cuerpos celulares de neuronas unipolares con axones en T (receptoras del dolor). Los axones periféricos se distribuyen por las tres ramas terminales del V par. El conjunto de axones centrales o profundos constituyen la raíz sensitiva trigeminal. Esta penetra en la protuberancia y conecta con los núcleos sensitivos del V par, ubicados en el tronco del encéfalo (8,9).

La información sensorial, exteroceptiva y propioceptiva, de la boca y de la cara se transmite a través de fibras nerviosas periféricas hacia el SNC. Se proyectan en un complejo nuclear trigeminal ubicado en el tronco del encéfalo. Se extiende desde el mesencéfalo hasta los primeros segmentos medulares. Esta gran columna de sustancia gris puede ser dividida en tres núcleos en sentido rostrocaudal: núcleo mesencefálico, núcleo sensitivo principal y núcleo espinal que representan los centros segmentarios somatosensitivos del V par.

El núcleo espinal se divide en tres subnúcleos, el oral, interpolar y caudal. El subnúcleo interpolar y el caudal (conocida como unidad caudal del núcleo espinal) resume la sensibilidad térmica y dolorosa del territorio cefálico.

La neurona en T (nociceptor), distribuida en la región cefálica a través de las tres ramas terminales del nervio trigémino, tiene su soma en el ganglio de Gasser. Su axón central se dirige al subnúcleo interpolar y caudal del núcleo espinal del trigémino. Aquí sinapta con una neurona de segundo orden. Esta neurona puede ser una interneurona, la que se conecta a nivel de los núcleos trigeminales. O puede ser una neurona de proyección que lleva información a centros superiores; p. ej., tálamo, cerebelo. (Figura 1).

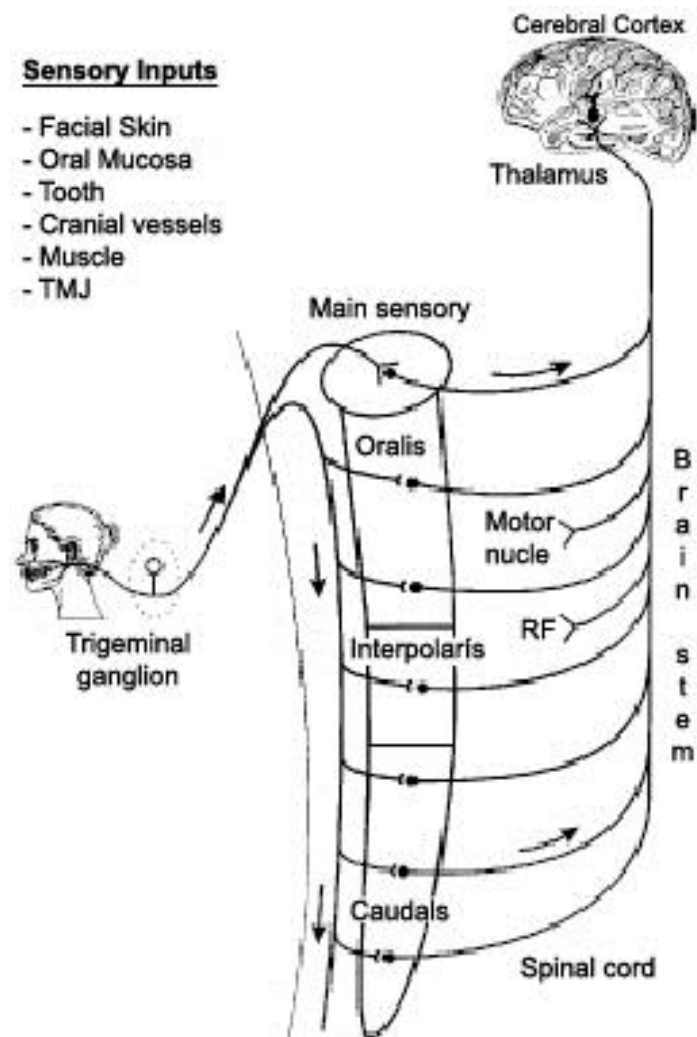


Figura 1: Principal vía somatosensorial desde la cara y la boca. Las aferencias trigeminales primarias tienen sus cuerpos celulares en el ganglio trigeminal, sus proyecciones sinaptan con neuronas de segundo orden en el complejo nuclear trigeminal. Estas neuronas se proyectan a centros superiores como el tálamo o pueden dirigirse a otras regiones como la formación reticular (RF). (9)

Las neuronas de proyección llegan específicamente al núcleo ventro postero lateral del tálamo. A partir de aquí las neuronas talámicas se proyectan a la porción basal o inferior del área cortical somatosensitiva (área 1-2-3). Estas importantes conexiones trigémino-tálamo-corticales permiten explicar, en parte, el origen de las sensopercepciones de la región orofacial. Es decir, a la apreciación y asignación de significación de los estímulos o cambios significativos que impresionan al sistema estomatognático (8,9).

Vías descendentes

Existen varios sistemas que modulan la vía de transmisión nociceptiva. Entre ellas está la vía descendente, que va desde los centros cerebrales hasta el tronco encefálico, en el cual, ejercen una marcada acción inhibitoria sobre la transmisión del subnúcleo caudal.

Dentro de los sistemas moduladores están los controles segmentarios. Aquí se producen efectos inhibitorios generados por fibras de las neuronas serotoninérgicas y noradrenérgicas. Estas descienden desde el tallo cerebral y terminan a nivel de los núcleos trigeminales, contribuyendo a la modulación del dolor (9).

Los controles segmentarios son ejercidos desde la sustancia gris periacueductal, núcleo del rafe magno, corteza cerebral y otros centros cerebrales. Dichos procesos moduladores pueden involucrar mecanismos de regulación pre y post sinápticos, junto con una variedad de sustancias

neuroquímicas endógenas y mecanismos receptores. Algunos de ellos tienen una influencia facilitatoria en la transmisión nociceptiva (sustancia P y NMDA). Otros ejercen primariamente una influencia inhibitoria (encefalina, GABA y 5-HT) (9,10).

La principal fuente de la inervación serotonérgica sobre el subnúcleo caudal del trigémino ocurre en el cerebro medio, en el núcleo del rafe magno al interior del tronco encefálico (9). (Figura 2)

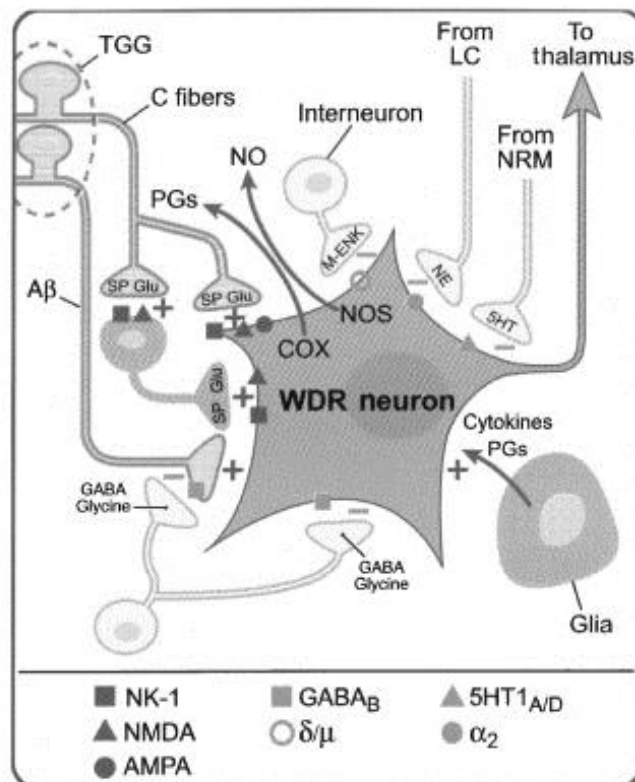


Figura 2: Procesos neuroquímicos relacionados con la transmisión nociceptiva en el subnúcleo caudal del trigémino. Terminales descendentes de fibras provenientes de regiones como el núcleo del rafe magno (NRM) pueden relacionarse con serotonina (5HT). (9)

Serotonina

La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) es liberada después de la lesión tisular. Puede activar directamente o sensibilizar los nociceptores, posiblemente a través de la activación de algunos subtipos de receptores serotoninérgicos. Dentro de los receptores de serotonina se encuentran siete grupos (5-HT₁₋₇) con un total de al menos 14 subtipos. Dentro de ellos el receptor 5-HT₃ ocupa un lugar especial, es una canal compuerta-ligando de iones y se encuentra en neuronas periféricas y centrales (Figura 3).

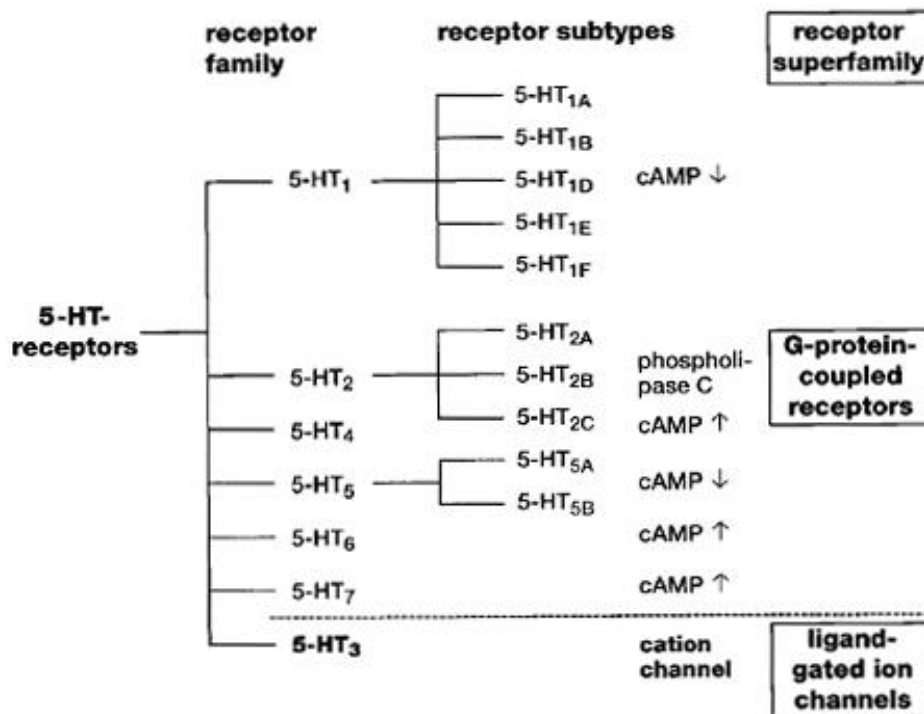


Figura 3: Esquema de los siete grupos de receptores 5-HT con distintos subtipos. El receptor 5-HT₃ ocupa un lugar especial como canal compuerta-ligando de iones. (25)

En la periferia los receptores 5-HT₃ son detectados en neuronas pre y post ganglionares y en neuronas del sistema entérico. Hay una gran densidad de estos receptores en el SNC, distribuidos en el área postrema, núcleo del tracto solitario, núcleo dorsal del nervio vago, núcleo caudal, amígdala, hipocampo, asta dorsal (25). Estos receptores están involucrados en el reflejo del vómito y el procesamiento del dolor (25). El rol de los receptores 5-HT₃ en la percepción y procesamiento del dolor ha sido sujeto a intensivos estudios.

Los antagonistas selectivos de receptor 5-HT₃ (5-HT₃-RA) pueden reducir el dolor agudo provocado por la inyección periférica de serotonina (26). En modelos animales de tejidos dañados se evidencia la activación de los receptores 5-HT₃ en neuronas periféricas aferentes que inician una nocicepción aguda y persistente y efectos inflamatorios que pueden ser bloqueados por 5-HT₃-RA (26).

Los efectos inflamatorios en modelos de tejidos dañados pueden ser atribuidos a la secreción neuronal inducida de serotonina y de varios péptidos, como sustancia P y el factor relacionado con el gen de calcitonina (CGRP). Estos ejercen una potente acción sobre macrófagos y mastocitos con la consecuente liberación de un extenso rango de citoquinas proinflamatorias y prostaglandinas. Los antagonistas de receptores 5-HT₃ impiden la activación y sensibilización de los nociceptores en el tejido

inflamado. Los receptores 5-HT₃ también están implicados en el procesamiento central del estímulo nociceptivo.

Se ha descrito que los receptores 5-HT₃ han sido involucrados en la modulación de la nocicepción. Están implicados en el mecanismo de control del dolor por activación de la inhibición descendente (26).

Tratamiento del Dolor

En el tratamiento farmacológico del dolor se usan fármacos capaces de producir un poderoso y selectivo efecto en la inhibición de la neurotransmisión dolorosa. Entre ellos se encuentran:

- Anestésicos generales
- Anestésicos locales
- Analgésicos opioides
- Analgésicos anti-inflamatorios no esteroidales (AINEs)

Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroidales (AINEs)

Los AINEs constituyen un grupo farmacológico muy heterogéneo que tienen en común su mecanismo de acción y ciertas características farmacológicas; p. ej., efectos analgésicos, antiinflamatorios, antipiréticos. La eficacia de cada AINE puede ser diferente para cada efecto. Por lo tanto, un fármaco puede mostrar una mayor actividad analgésica que antiinflamatoria o viceversa. Esto explica la utilización en una u otra indicación terapéutica dependiendo de su grado de eficacia y de su toxicidad (11).

Clasificación de los AINEs

Los AINEs pueden ser clasificados según estructura química, de acuerdo a Warner y Mitchell, en los grupos esquematizados en la siguiente tabla (11):

Clase Estructural	No selectivo para COX-1	Selectivo para COX-2
Alcoholes	nabumetona	
Ácidos antranílicos	ácido meclofenámico, ácido mefenámico	amidas y ésteres meclofenamatos
Ácidos arilpropiónicos	ibuprofeno, flubiprofeno, ketoprofeno, naproxeno, SC560	
Diarilheterociclos		celecoxib, etoricoxib, parecoxib, rofecoxib, valdecoxib.
Di-tert-butil fenoles		darbufelona
Ácidos enólicos	piroxicam, tenoxicam, fenilbutazona.	Meloxicam
Ácidos heteroarilacéticos	diclofenaco, ketorolaco, tolmetin.	lumiracoxib
Ácidos indolacéticos	indometacin, sulindac	etodolac, indometacina amidas (y ésteres)
Derivados del para-aminofenol	paracetamol	
Derivados del ácido salicílico	aspirina, diflunisal, sulfasalazina.	APHS
Sulfonamidas		nimesulida, flosulida

Tabla I: Clasificación de los AINEs según su estructura química. (11)

Mecanismo de Acción de los AINEs

El mecanismo de acción de los AINEs consiste principalmente en la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs). De esa manera impiden la síntesis de eicosanoides a partir del ácido araquidónico, uno de los fosfolípidos que integran las membranas celulares. Frente a la injuria de los tejidos se activa la enzima fosfolipasa A2, que actúa sobre el ácido araquidónico y desencadena un conjunto de procesos bioquímicos que llevan a la síntesis de un elevado número de metabolitos. Estos procesos son realizados a través de dos enzimas, la ciclooxigenasa (COX) y la lipooxigenasa (LOX). La COX es la responsable de la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano. La LOX es responsable de la síntesis de los leucotrienos (11,12).

Existen tres isoformas de la enzima ciclooxigenasa, COX-1, COX-2 y COX-3. La COX-1 se denomina constitutiva; se encuentra de manera fisiológica en la mayoría de los tejidos (mucosa gástrica, plaquetas y riñones), y su función es proteger estos tejidos. La COX-2 es inducida durante la inflamación y tiende a facilitar la respuesta inflamatoria, se encuentra en células inflamatorias, riñón y tejido óseo. La COX-3 ha sido recientemente descubierta y corresponde a una variante de la COX-1.

Los AINEs de mayor uso inhiben de manera no selectiva las isoformas de COX-1 y COX-2. La inhibición de las COXs es la responsable

de las acciones antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas de los AINEs.

La inhibición de la COX-1, además, causa reacciones adversas; p. ej., irritación gastrointestinal, disminución de la actividad plaquetaria (11,12). Se cree que la inhibición de la COX-3 podría representar un mecanismo central primario por el cual estas drogas disminuyen el dolor y posiblemente la fiebre (11,13).

Efectos Terapéuticos de los AINEs

Los AINEs tienen acción antipirética, que consiste en llevar la temperatura anormalmente elevada hasta un nivel normal, a través de la inhibición de la síntesis de PGE₂ (12). Por la inhibición de las COXs se frena la producción de prostaglandinas y tromboxano, con lo que se obtiene un efecto antiinflamatorio terapéutico (12). El bloqueo de la vía ciclooxigenasa impide la liberación de prostaglandinas y, por lo tanto, se controla el dolor, obteniendo una acción analgésica (12).

Con el bloqueo de tromboxano se produce un efecto antiagregante plaquetario (12). Finalmente, se encuentra una acción antitumorígena, que se manifiesta en la prevención del cáncer colorectal (11).

Reacciones Adversas de los AINEs

Los efectos terapéuticos de los AINEs dependen de la inhibición de las ciclooxigenasas. Ellas catalizan la formación de prostaglandinas citoprotectoras en el endotelio vascular, la mucosa estomacal, riñones,

páncreas, islotes de Langerhans, vesículas seminales y cerebro. Por esta razón la terapia con inhibidores de las COXs está asociada a un número de eventos adversos. Estas incluyen erosiones gastrointestinales, insuficiencia renal e insuficiencia hepática. Las mencionadas son dependientes, principalmente, de la inhibición de la COX-1(15). A nivel gastrointestinal las alteraciones duodenales, erosiones intramucosas, úlceras y hemorragias se producen en pacientes que consumen AINEs por tiempo prolongado (11,12).

En los riñones, por la vía de inhibición de las COXs, se producen, p. ej., reducción del fluido sanguíneo renal, disminución del índice de filtración glomerular, retención de sodio y potasio, debido a una menor excreción de estos iones (16). En el hígado es conocido el daño provocado por el uso de AINES. La nimesulida es uno de los fármacos que provoca hepatotoxicidad. Debe ser contraindicado su uso en pacientes con insuficiencia hepática (17).

Las reacciones de hipersensibilidad producidas por el uso de AINEs, se manifiestan como urticaria y ataques de asma. Las reacciones de hipersensibilidad se generan, principalmente, por la inhibición de la COX-1. El uso de inhibidores selectivos para COX-2 (Coxibs) es una alternativa de tratamiento en pacientes intolerantes a los AINEs no selectivos (18).

Un estudio hecho en ratas, publicado por Loftin y col. (20), demuestra que los AINEs pueden prolongar el periodo de gestación, ya que, a través del bloqueo de la COX-1 se produce una disminución de las contracciones.

Su administración durante el tercer trimestre de embarazo está contraindicada, debido a que provoca un cierre prematuro del *ductus arteriosus* e induce una hipertensión pulmonar persistente en el recién nacido (19 y 20).

Con el desarrollo de AINEs selectivos para COX-2 se ha logrado la disminución de los efectos indeseables de estos fármacos, sobretodo los gastrointestinales, las cuales se asocian con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas citoprotectoras. Sin embargo, se han reportado la ocurrencia de eventos tromboembólicos (11,14).

Interacciones Farmacológicas de los AINEs

El conocimiento de las posibles interacciones entre AINEs, o con otros fármacos, podría aumentar la eficacia de su efecto analgésico, disminuir la dosis y bajar a niveles mínimos sus efectos adversos.

La administración de dos o más drogas, cada una de las cuales puede tener efectos farmacológicos diferentes, los efectos resultantes pueden ser:

- Aditivos: si corresponde a la suma de los efectos que producen cada una de ellas separadamente.
- Subaditivo o antagónico: cuando el efecto es menor que la suma de cada agente por separado.
- Supraaditivo o sinérgico: es un efecto mayor a la suma de los efectos separados de cada droga.

Las drogas que produzcan sinergismo, presentan un futuro más promisorio en el tratamiento del dolor. Además, el sinergismo generalmente va acompañado de una disminución de las reacciones adversas (4).

Dexketoprofeno Trometamol

El Dexketoprofeno Trometamol es un fármaco perteneciente a la familia de los AINEs propiónicos. Son usados en terapéutica por sus efectos analgésico, antiinflamatorio y antipirético. Corresponde a una sal hidrosoluble del enantiómero dextorotatorio del Ketoprofeno (22).

El proceso de desarrollo e investigación del Dexketoprofeno se encuadra dentro de la tendencia actual que busca la sustitución de fármacos racémicos por su fórmula enantioméricamente pura. Ello con el fin de reducir la dosis de fármaco necesaria para alcanzar un determinado efecto terapéutico, incrementar la potencia y seguridad del fármaco, disminuyendo la incidencia de efectos adversos (22,23).

Para comprender el desarrollo del Dexketoprofeno debemos definir el concepto de quiralidad. Este corresponde a la característica de algunas moléculas que poseen una estructura espacial asimétrica respecto a un átomo de carbono central. De tal forma 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 (23). 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. Técnicamente, los pares de isómeros opuestos son referidos como enantiómeros, del griego “enantios” que significa “opuestos” (23).

Actualmente se utiliza la lengua latina para 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 que el orden de sus radicales es antihorario se le denominó como “S” (por “*siniestra*”, izquierda).

Las propiedades físicas de ambos enantiómeros difieren entre sí. Cada uno de los enantiómeros desvía la luz polarizada hacia un lado. En los AINEs, salvo escasas excepciones, los enantiómeros S son “dextrógiros”, es decir, desvían la luz hacia la dirección de la rotación de la luz polarizada hacia la derecha, y los enantiómeros R son “levógiros”, desvían la luz hacia la izquierda. En nomenclatura química los compuestos dextrógiros se designan con el signo (+) y los levógiros con el signo (-) (23). (Figura 3)

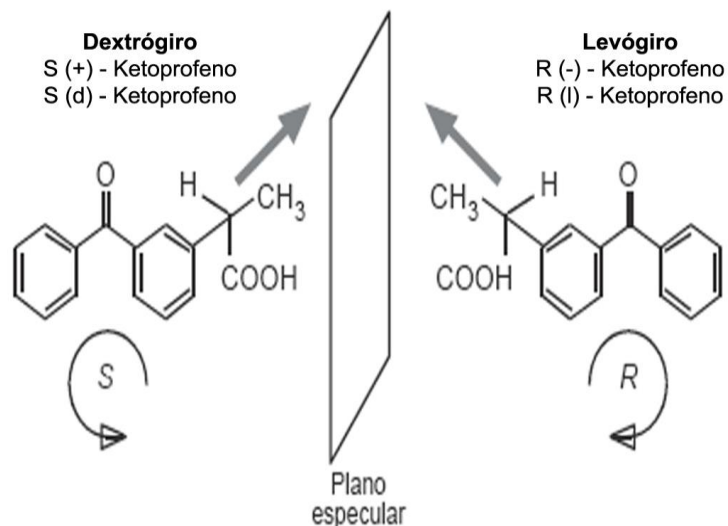


Figura 3. Nomenclatura de los enantiómeros del Ketoprofeno en función de sus propiedades químicas y físicas. (21)

En la síntesis química de los analgésicos se producen numerosos AINEs quirales; p. ej., derivados del ácido propiónico, Ibuprofeno, Flurbiprofeno, Ketorolaco, Butibufeno. Los fármacos quirales suelen utilizarse como mezclas racémicas; 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 (23). (Figura 4)

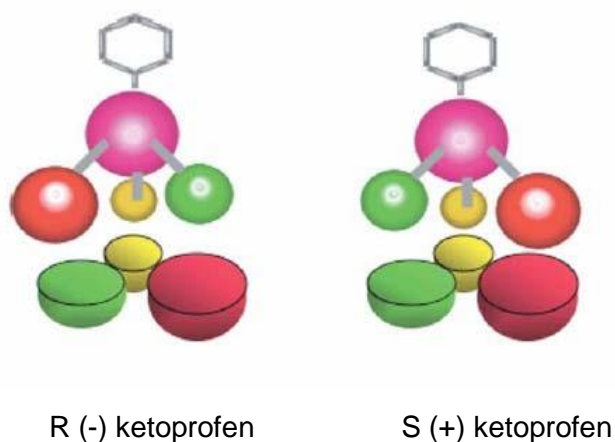


Figura 4. Unión a receptor específico. Este es el caso de los AINEs y las dos formas de la ciclooxigenasa, la cual puede ser bloqueada por solo uno de los enantiómeros, el S (+). (21)

En el caso de los AINEs quirales, sólo el enantiómero S (+) es capaz de bloquear la acción de ambas ciclooxigenasas. Por tanto, en ese elemento reside la actividad farmacológica del Ketoprofeno. Por el contrario, el enantiómero R (-) carece de actividad terapéutica frente a esta enzima. Esto último destaca la importancia de la estructura tridimensional en la inhibición de las ciclooxigenasas (22).

Ha habido un creciente conocimiento 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 pues es preciso metabolizarlo y excretarlo, sin obtener ningún provecho terapéutico. Por esta razón han sido separados,

para utilizar sólo el isómero óptico activo, que posee una alta afinidad por el receptor, llamado “eutómero”. De esta manera, la cantidad de fármaco que puede ser absorbida, metabolizada y excretada es reducida a la mitad. Se descarta el isómero no deseado, con la potencial reducción de los efectos secundarios relacionados a este componente no activo, con baja afinidad sobre los receptores, también llamado “distómero” (23).

Características Farmacocinéticas

En el ser humano la biodisponibilidad relativa del Dexketoprofeno oral en dosis de 25 mg es similar a la del Ketoprofeno racémico oral en dosis de 50 mg (24). El Dexketoprofeno administrado oralmente, se absorbe en 0.25-0.75 horas hasta la concentración plasmática (t_{max}). El tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima del enantiómero S del fármaco racémico es 0.5-3 horas (24).

La concentración plasmática del Dexketoprofeno es de 3.1mg/l (25); la del Ketoprofeno racémico no ha sido determinada. Por su carácter ácido el Dexketoprofeno se une altamente a proteínas plasmáticas (99%), particularmente a la albúmina (22). Es metabolizado en el hígado, a través de una larga biotransformación a metabolitos inactivos glucoconjugados. No se encuentra el enantiómero R (-) Ketoprofeno en la orina luego de administrar Dexketoprofeno, lo que confirma la ausencia de bioinversión del enantiómero S (+) en humanos. Los metabolitos inactivos son excretados por la orina (22).

Indicaciones y Eficacia Analgésica

Ha sido descrita la eficacia analgésica del Dexketoprofeno en el manejo del dolor post operatorio de cirugía bucal (extracción de terceros molares incluidos o semiincluidos). Un estudio publicado por Jiménez-Martínez, comprobó que el Dexketoprofeno de 25 mg. es más efectivo, en la primera hora tras una intervención quirúrgica oral, que el Ibuprofeno de 600 mg.(24). El Dexketoprofeno, por sus propiedades de rápida acción analgésica, potente acción antiinflamatoria y sus reducidos efectos secundarios, es un fármaco de elección para las intervenciones quirúrgicas orales (24).

Efectos Adversos

La acción ulcerogénica de las sales de Trometamol, especialmente del Dexketoprofeno Trometamol, es muy baja; el número de lesiones provocadas por este compuesto es cinco veces menor que el debido al Ketoprofeno racémico (26). 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.

TROPISETRÓN

El Tropisetron, comercialmente conocido como Navoban ®, corresponde a un fármaco antagonista selectivo de receptores de serotonina del subtipo 5HT₃. Su estructura química deriva de anillos de Indol junto al Dolasetron (27).

Los receptores 5HT₃ se encuentran en neuronas del sistema nervioso central y periférico. En la periferia estos receptores se han encontrado en neuronas autónomas pre y post ganglionares y en neuronas sensoriales y del sistema entérico. Una gran cantidad de receptores 5HT₃ se han identificado en ciertas zonas del sistema nervioso central como el área postrema, núcleo del tracto solitario, núcleo dorsal del nervio vago, núcleo caudal, amígdala, hipocampo y corteza enteral. Estos receptores están concentrados en regiones involucradas en la integración del proceso de reflejo del vómito y del dolor, entre otras (27).

El Tropisetron es utilizado en el tratamiento preventivo de los vómitos y náuseas provocados por la quimioterapia oncológica y la radioterapia. Los pacientes bajo tratamiento de quimioterapia y radioterapia experimentan un aumento en la liberación de serotonina de la mucosa intestinal y una estimulación de los receptores 5HT₃ en aferencias vagales. Esta liberación de serotonina no es suficiente para inducir el vómito, pero probablemente se acompaña de una liberación neuronal local de serotonina en la región

postrema estimulando a receptores $5HT_3$ en la zona de gatillo quimireceptora. De esta manera, la acción sinérgica de aferencias centrales y vagales desencadena el reflejo emético. Por otra parte, la náusea y el vómito son suprimidos al bloquear los receptores $5HT_3$ centrales y periféricos (27). (Figura 5)

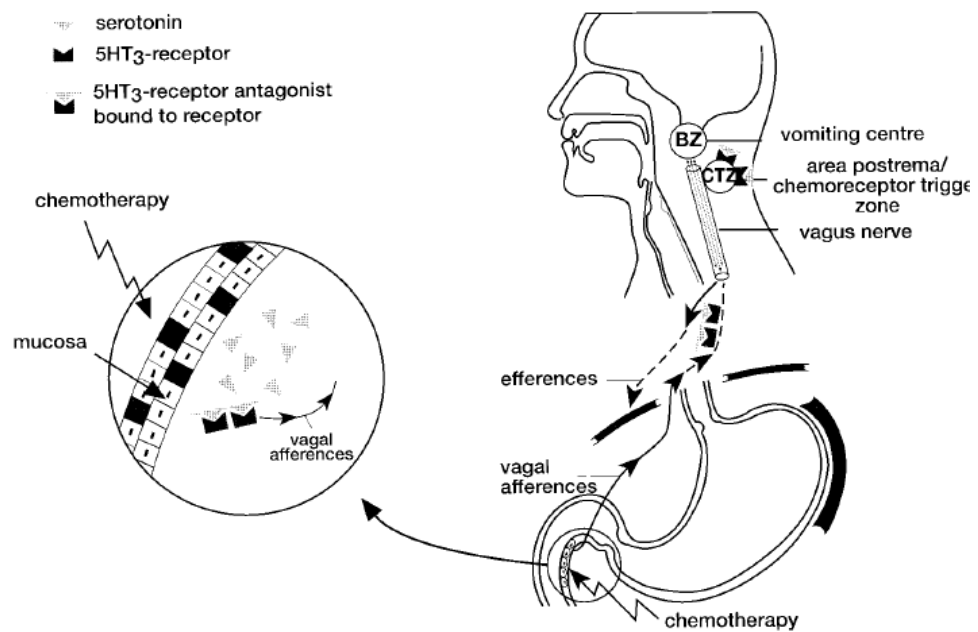


Figura 5: Estimulación de receptores $5HT_3$ en aferencias vagales y centrales (área postrema) en pacientes bajo quimioterapia. La acción sinérgica de aferencias centrales y vagales desencadena el reflejo emético. (27)

Los antagonistas selectivos de receptores $5HT_3$ pueden disminuir el dolor agudo provocado por la administración de serotonina. Tropisetron, como antagonista selectivo de receptores $5HT_3$ fue uno de los primeros

fármacos utilizados en reumatología, es efectivo en la reducción del dolor en pacientes con fibromialgia, comparado con un placebo, como demuestra el estudio doble ciego publicado por Faber y col (29). Se ha reportado que más del 50% de los pacientes con fibromialgia tratados con Tropicetrón responden con disminución del dolor. Se ha estudiado también el efecto de Tropicetrón en el tratamiento de tendinopatías y periartropatías. Ha sido descrito un efecto positivo de Tropicetrón en trastornos del sueño, fatiga y rigidez matinal, problemas frecuentes en pacientes con fibromialgia (28).

Los antagonistas de receptores 5HT₃ son, por lo general, bien tolerados. En algunos casos pueden presentar reacciones adversas; entre las más frecuentes están jaqueca, constipación, vértigo, fatiga, y alteraciones gastrointestinales como dolor y diarrea (30).

CLOMIPRAMINA

Es expandido con el nombre comercial de Anafranil ®. Es un fármaco utilizado por su efecto antidepresivo. Sus indicaciones se han ampliado, siendo usado en trastornos del ánimo y trastornos por ansiedad (31). Se utiliza actualmente en el tratamiento del trastorno obsesivo compulsivo y desorden de pánico (32). La particular potencia de su efecto sobre el sistema serotoninérgico le ha conferido un especial interés, renovado ante la disponibilidad de muchos fármacos inhibidores específicos de la recaptación

de serotonina (31).

Tal como su nombre lo indica, la Clomipramina posee una estructura química análoga a imipramina, pero con un átomo clorado en posición 3. La Clomipramina es una base orgánica con esqueleto tricíclico de naturaleza altamente lipofílica. (Figura 6)

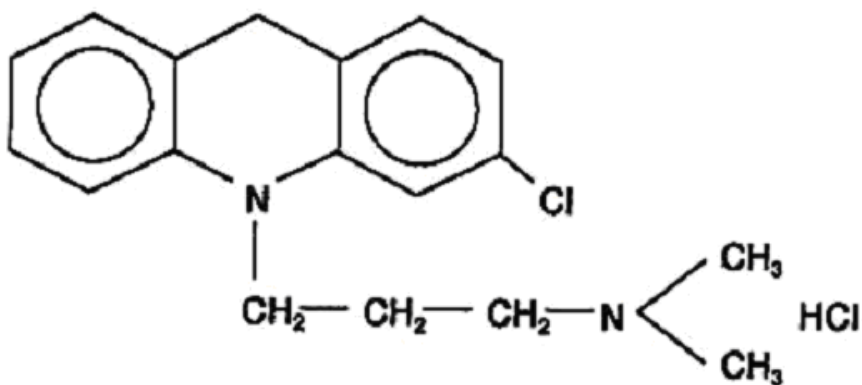


Figura 6: Fórmula estructural de Clomipramina (31)

La inhibición de la recaptación presináptica de serotonina y noradrenalina, con el resultado de una mayor disponibilidad del neurotransmisor a nivel de los receptores post-sinápticos, es una característica farmacológica de todos los antidepresivos de estructura tricíclica. La Clomipramina es el más potente inhibidor de la recaptación de serotonina, en comparación con los otros compuestos de la familia de los

tricíclicos. Sin embargo, su metabolito activo (desmetilclomipramina) inhibe de modo relativamente débil la recaptación de norepinefrina (31). (Tabla II)

Fármaco	Inhibición de la			Bloqueo del receptor post					
	recaptación presináptica			sináptico					
	NA	5-HT	DA	Alfa 1	Alfa 2	5-HT	H1	Ach	DA
Imipramina	+++	++	+	++	+	++	+++	++	+
Desipramina	+++++	+	+	++	+	++	++	++	+
Clomipramina	++	++++	++	++	-	+++	++	+++	+
Amitriptilina	+++	+	+	+++	+	++++	+++	++	++

Tabla II: Potencia del efecto de antidepresivos tricíclicos sobre diversos sistemas de neurotransmisión. NA= noradrenalina; 5-HT=serotonina; DA= dopamina; H= histamina; Ach= acetilcolina; Número de += potencia. (31)

La acción serotoninérgica de la Clomipramina se apoya en los resultados de diversas estrategias de investigación. La concentración del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en el líquido cefalorraquídeo, metabolito de serotonina, sugiere el nivel de síntesis de este neurotransmisor en el SNC. Se ha demostrado una reducción significativa de las concentraciones de 5-HIAA en pacientes depresivos y obsesivos luego de tres semanas de tratamiento con Clomipramina. Ello apoya la hipótesis que Clomipramina inhibe la recaptación de serotonina (31).

Los efectos de la administración de sustancias agonistas y antagonistas de serotonina en pacientes con trastorno obsesivo-compulsivo,

y la modificación de estos efectos en relación con el uso de Clomipramina, han servido para apoyar la hipótesis que los efectos terapéuticos están mediados por mecanismos serotoninérgicos. La administración del agonista serotoninérgico Metaclorofenilpiperazina exacerbó los síntomas obsesivos; sin embargo, en su readministración, luego del tratamiento con Clomipramina, se redujo significativamente este efecto.

Un estudio publicado por Peters y Davis (33) demostró que el uso de Metergolina, un antagonista serotoninérgico, aumenta los síntomas ansiosos y obsesivos en pacientes que estaban respondiendo al tratamiento con Clomipramina. Estos hallazgos apoyan la idea de que una respuesta frenada a serotonina puede estar relacionada con la psicopatología obsesiva, y también que los efectos de Clomipramina están mediados por la vía serotoninérgica (33).

La Clomipramina, posee una eficacia terapéutica en el tratamiento de trastornos del ánimo, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de pánico-agorafobia y tratamiento de patología miscelánea, como trastorno por ansiedad y alivio del dolor crónico (31,33). Junto con Amitriptilina e Imipramina, Clomipramina ha sido uno de los más utilizados, ya sea solo o en combinación con neurolépticos y/o carbamazepina, con lo cual se aprecia una potenciación del alivio del dolor (31).

La mayor parte de los efectos adversos asociados con el tratamiento

con Clomipramina está relacionada con sus propiedades farmacológicas, y en particular con los efectos anticolinérgicos. La incidencia de efectos adversos es dependiente de las dosis utilizadas. Algunos de los efectos anticolinérgicos observados son boca seca, sudoración excesiva, constipación, visión borrosa, retención urinaria y midriasis. También hay efectos sobre el SNC, alteraciones gastrointestinales, disfunción sexual, temblor, alteraciones cardiovasculares y trastornos del sueño, siendo menos frecuentes. Los síntomas específicos incluyen somnolencia, hipotensión ortostática, palpitaciones, sensación de embotamiento, mareo, náusea e insomnio (31,33).

Las interacciones farmacológicas incluyen efectos aditivos con el alcohol, con otros fármacos de efectos anticolinérgicos, aumento del tiempo de protrombina con anticoagulantes, aumento de las concentraciones de digoxina, aumento de la concentración plasmática de Clomipramina con Haloperidol y Fluoxetina.

Hay una interacción con inhibidores de la MAO, con los cuales se han descrito casos fatales, por el desarrollo de un estado de agitación, confusión, aumento de temperatura corporal, cianosis, hipotensión y coma. También se ha descrito el llamado “síndrome serotoninérgico” en asociación con precursores de serotonina y otros fármacos con fuerte acción sobre serotonina, compartiendo los mismos síntomas recién descritos (31).

HIPÓTESIS

La administración intraperitoneal (i.p.) de Dexketoprofeno produce actividad antinociceptiva en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, que es modulado por el sistema serotoninérgico.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la modulación del sistema serotoninérgico sobre la actividad antinociceptiva del Dexketoprofeno en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial en ratones.

Objetivos específicos

1. Evaluar la antinocicepción inducida por la administración i.p. de Dexketoprofeno en el test orofacial.
2. Evaluar el efecto modulador de Tropisetron y de Clomipramina en la analgesia inducida por Dexketoprofeno.

MATERIAL Y MÉTODO

Animales

Se usaron 120 ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1 de 28 a 30 g de peso y habituados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación. Los ensayos fueron realizados de acuerdo al protocolo N° 238 FMUCH, aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Basándose en este protocolo a cada animal fue administrada sólo una dosis de las drogas. Las observaciones durante el experimento fueron efectuadas en forma ciega, aleatoria y controladas con solución salina. El número de animales utilizados fue de un mínimo de 6 para cada tratamiento. Los animales se sacrificaron inmediatamente después de realizado el experimento mediante dislocación cervical por una persona altamente capacitada para dicha tarea. (Imagen 1)



Imagen 1. Ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1

Test de la Formalina

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó por medio del test algesiométrico orofacial de la formalina. Este permite medir dolor originado en la estimulación del nervio trigémino. El estímulo nociceptivo corresponde a una inyección subcutánea de 20 μ L de una solución de formalina al 5 % en el labio superior del animal. Ello induce un sostenido frotamiento de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal.

Los ratones son introducidos en un cilindro, especialmente diseñado para la observación. Por medio de un cronómetro digital se registra el tiempo total en que los animales se frotan el área perinasal, durante los 5 minutos inmediatos a la inyección. Esto corresponde a la fase algésica aguda (Fase I). Luego se registra por 10 minutos, a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30 minutos, el tiempo total durante el cual los animales se frotan el labio comprometido. Esto corresponde a la fase inflamatoria y que mide el dolor crónico (Fase II). No se contabiliza el tiempo entre la fase algésica y la inflamatoria, pues el ratón se encuentra en un período de quietud. (Imagen 2 y 3). 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 inyección de las drogas, tiempo de máximo efecto determinado previamente por experimentos pilotos.



Imagen 2. Inyección subcutánea de 20 μ L de una solución de formalina al 5 % en el labio superior del animal. Corresponde al estímulo nociceptivo.

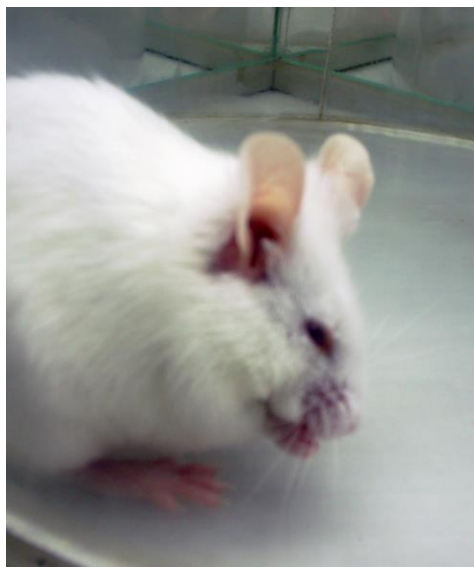


Imagen 3. Se observa la zona de inyección subcutánea de la solución de formalina en el labio superior del animal. Esta induce un sostenido frotamiento de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal.

Evaluación de la Analgesia

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva se construyeron curvas dosis-respuesta del AINE administrado por vía i.p., al momento del efecto máximo de la droga. Con un mínimo de 6 animales por cada ensayo, de al menos 4 dosis logarítmicas diferentes y crecientes (Imagen 4). A partir de ella se determinó la dosis que produce un 50 % del efecto máximo (DE₅₀), mediante regresión lineal por cuadrados mínimos de las curvas logarítmicas dosis-respuesta. Los animales controles fueron inyectados con solución salina al 0.9 %, en número de 1 o 3 por cada grupo experimental. El estudio de la actividad antinociceptiva fue idéntica a la de los animales tratados.



Imagen 4. Administración intraperitoneal de los fármacos.

Estudio de la Modulación Serotonérgica

Para estudiar el rol del sistema serotonérgico se pretrataron los animales con 0.1 mg/kg de Tropicetrón y con 0.1 mg/kg de Clomipramina. Las curvas dosis-respuesta a Dexketoprofeno fueron repetidas. Las dosis usadas de los agentes serotonérgicos corresponden a las usuales del laboratorio de Neurofarmacología del dolor, de la Facultad de Medicina. Este último es el lugar en el cual se realizó este trabajo.

Las dosis de los agentes serotonérgicos utilizados producen un efecto máximo posible (MPE), que no interfiere significativamente en la acción *per se* de dexketoprofeno. La MPE se calculó de acuerdo a 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 solución salina fisiológica.

La actividad moduladora de los fármacos serotonérgicos se evaluó por los cambios de la DE₅₀ del Dexketoprofeno y el desplazamiento de la curva dosis-respuesta.

Análisis Estadístico

Los resultados se expresaron como promedio con sus correspondientes errores estándar (EEM). El paralelismo de las curvas fue analizado estadísticamente de acuerdo con Tallarida y Murray (9). El análisis de los datos obtenidos fue realizado computacionalmente. La significación estadística fue determinada por “análisis de varianza” y pruebas de *t* Student y fue considerada a un nivel de 5% ($p < 0.05$).

El Análisis de Varianza es una prueba estadística. Sirve para analizar si más de dos grupos (experimentales) difieren significativamente entre sí en cuanto a sus medidas y varianzas (34). La Prueba *t* Student es una prueba estadística, que permite evaluar si dos grupos experimentales difieren entre sí de manera significativa respecto a sus medidas (34).

RESULTADOS

Grupo Control

La administración de formalina al 5 % en 22 animales, previamente tratados con suero salino, produjo un tiempo de rascado de 134.00 ± 4.70 segundos en la Fase I. En la Fase II fue de 163.20 ± 4.40 segundos.

Dexketoprofeno

La administración i.p de Dexketoprofeno en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente. A partir de la curva dosis–respuesta la ED₅₀ del Dexketoprofeno resultó ser de $16,10 \pm 2,60$ mg/kg durante los primeros 5 minutos luego de la inyección de formalina (fase I). Para la fase II, que se registra a desde los 20 hasta los 30 minutos desde la inyección orofacial, la ED₅₀ de Dexketoprofeno fue de $54,70 \pm 8,95$ mg/kg. Esta fue la dosis utilizada en los experimentos posteriores. (Ver gráficos 3 a 10).

Grupos Tratados con Antagonistas Selectivos de Serotonina

Tropisetron

La administración i.p de 0,1 mg/kg y 1 mg/kg de Tropisetron, en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, con un MPE de $34,05 \pm 8,36 \%$ y un MPE de $61,48 \pm 4,66\%$ durante la Fase I respectivamente. (Ver gráfico 1).

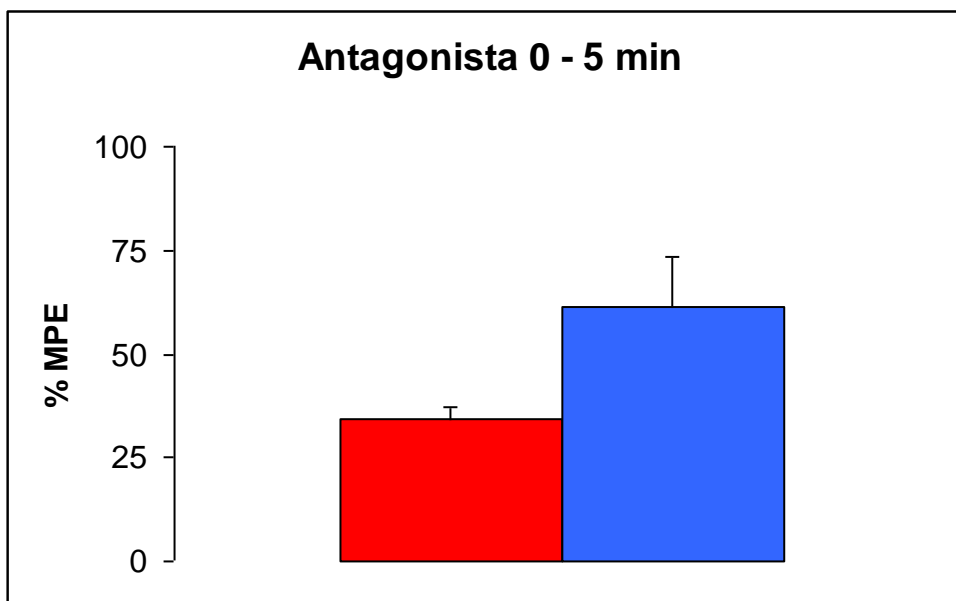


Gráfico 1. Histograma de la Fase I en el ensayo orofacial de la formalina. Tropisetron en dosis de 0,1 mg/kg (■); Tropisetron en dosis de 1 mg/kg (■). Cada barra es el promedio \pm EEM de 6 mediciones (n=6).

Para la Fase II, la administración i.p de 0,1 mg/kg y 1 mg/kg de Tropisetron en el ensayo algesiometrico de la formalina orofacial, produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, con un MPE de $31,67 \pm 2,62 \%$ y un MPE de $64,66 \pm 4,65\%$ respectivamente. (Ver gráfico 2).

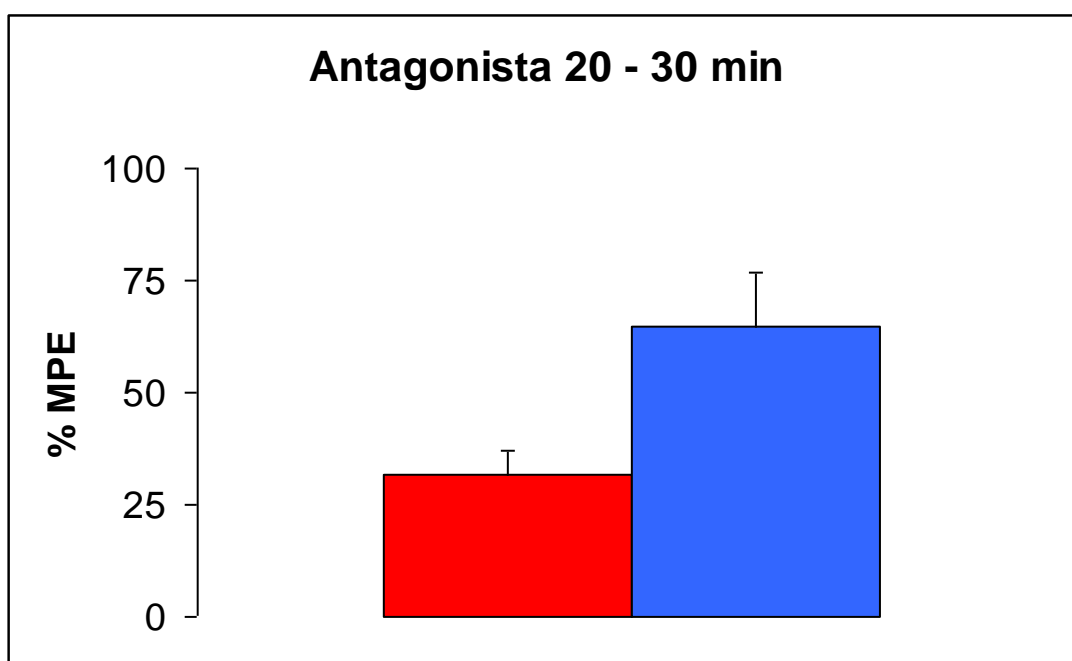


Gráfico 2. Histograma de la Fase II en el ensayo orofacial de la formalina. Tropisetron 0,1 mg/kg (■); Tropisetron 1 mg/kg (■). Cada barra es el promedio \pm EEM de 6 mediciones (n=6).

Clomipramina

La administración i.p de 0,1 mg/kg y 1 mg/kg de Clomipramina en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, con un MPE de $76,81 \pm 3,76$ % y un MPE de $80,05 \pm 6,72$ % durante la Fase I respectivamente. (Ver gráfico 3).

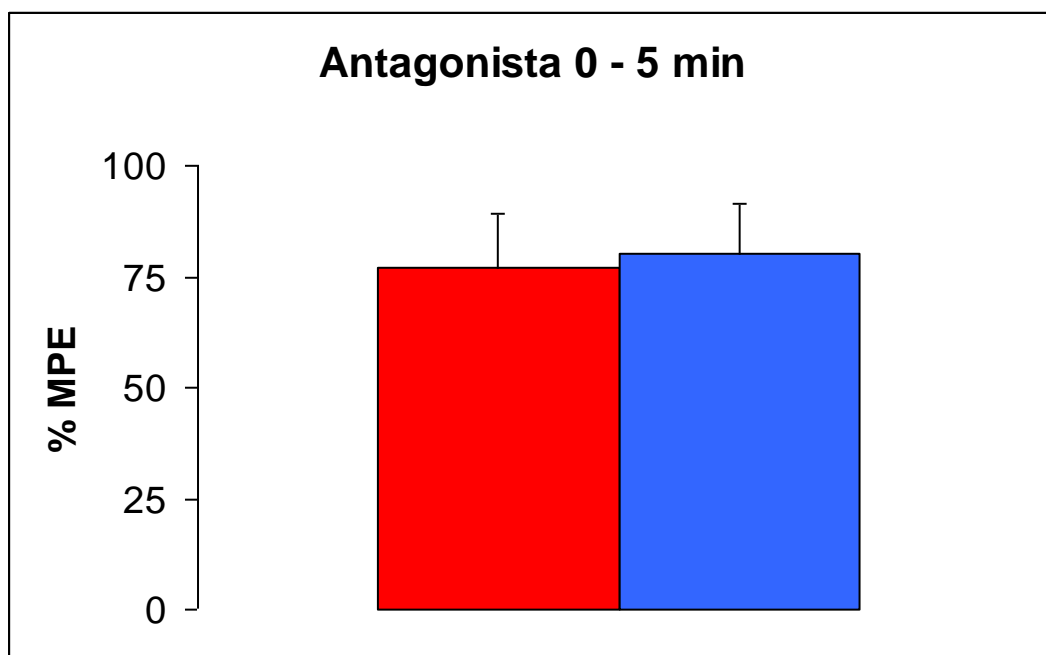


Gráfico 3. Histograma de la Fase I en el ensayo orofacial de la formalina. Clomipramina en dosis de 0,1 mg/kg (■); Clomipramina en dosis de 1 mg/kg (■). Cada barra es el promedio \pm EEM de 6 mediciones (n=6).

Para la Fase II, la administración i.p de 0,1 mg/kg y 1 mg/kg de Clomipramina en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, con un MPE de $49,51 \pm 2,65\%$ y un MPE de $70,48 \pm 2,53\%$ respectivamente. (Ver gráfico 4).

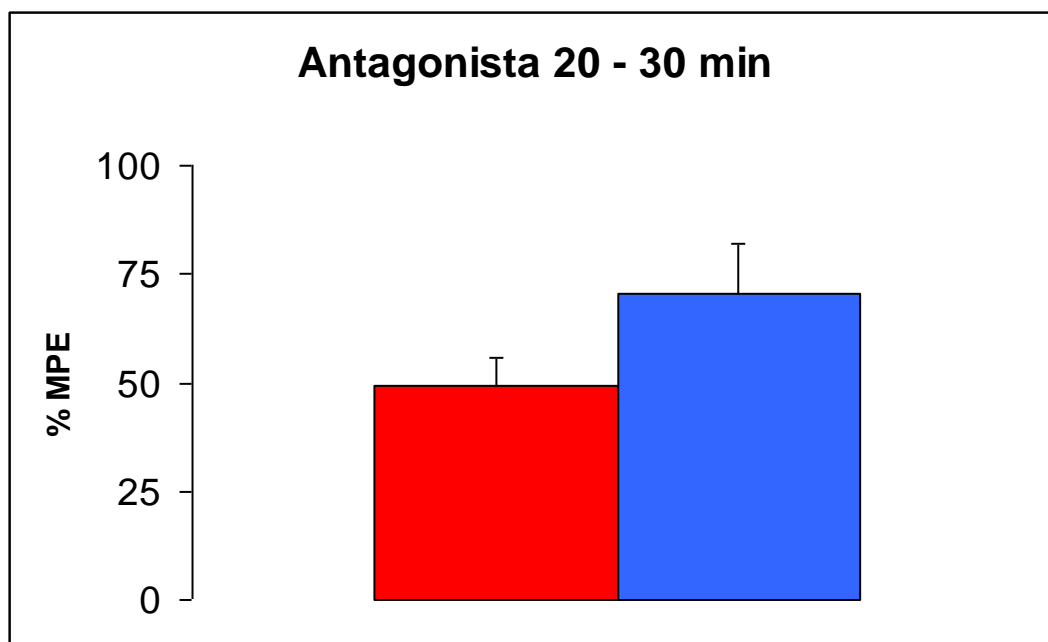


Gráfico 4. Histograma de la Fase II en el ensayo orofacial de la formalina. Clomipramina en dosis de 0,1 mg/kg (■); Clomipramina en dosis de 1 mg/kg (■). Cada barra es el promedio \pm EEM de 6 mediciones (n=6).

Para el pretratamiento de los animales se utilizó la dosis de 0,1 mg/kg de Tropisetron y de 0,1 mg/kg de Clomipramina. De esa manera no se interfiere, en forma significativa, con la actividad analgésica del Dexketoprofeno y se pudo estudiar solamente el rol modulador.

Grupos Pretratados con Antagonistas Selectivos de Serotonina

Dexketoprofeno / Tropisetron

La administración i.p de Dexketoprofeno, en animales, con pretratamiento con Tropisetron (0,1 mg/kg i.p), produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente con un desplazamiento hacia la izquierda de la curva dosis-respuesta. Adicionalmente, esto permite inferir que la ED₅₀ de Dexketoprofeno más Tropisetron fue de $4,48 \pm 1,10$ mg/kg durante los primeros 5 minutos de la inyección de formalina. Esto resultó ser significativamente diferente de la DE₅₀ control ($p < 0.05$), como se aprecia en los gráficos 5 y 6.

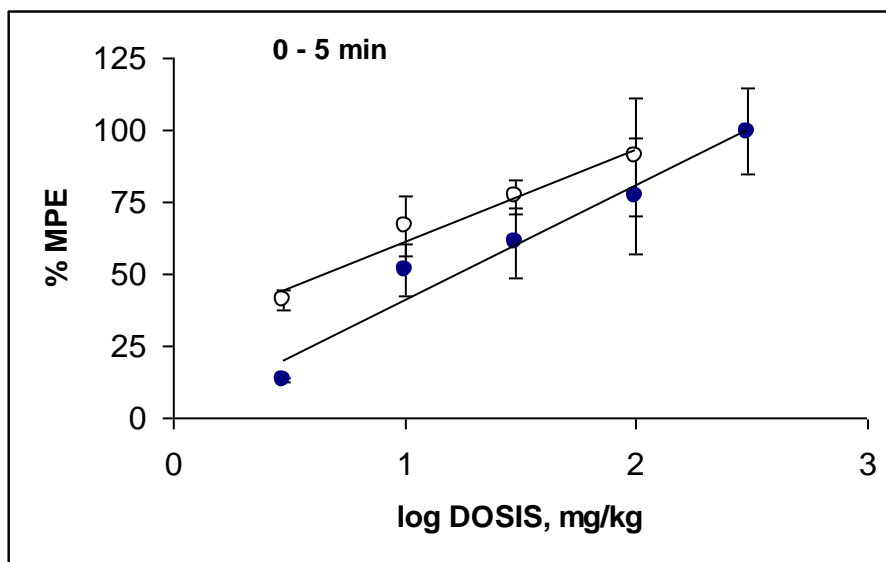


Gráfico 5. Curva dosis-respuesta en la Fase I del ensayo orofacial de la formalina. (●) Dexketoprofeno; (○) Dexketoprofeno más Tropisetron. Cada punto es el promedio \pm EEM de 6 mediciones (n = 6).

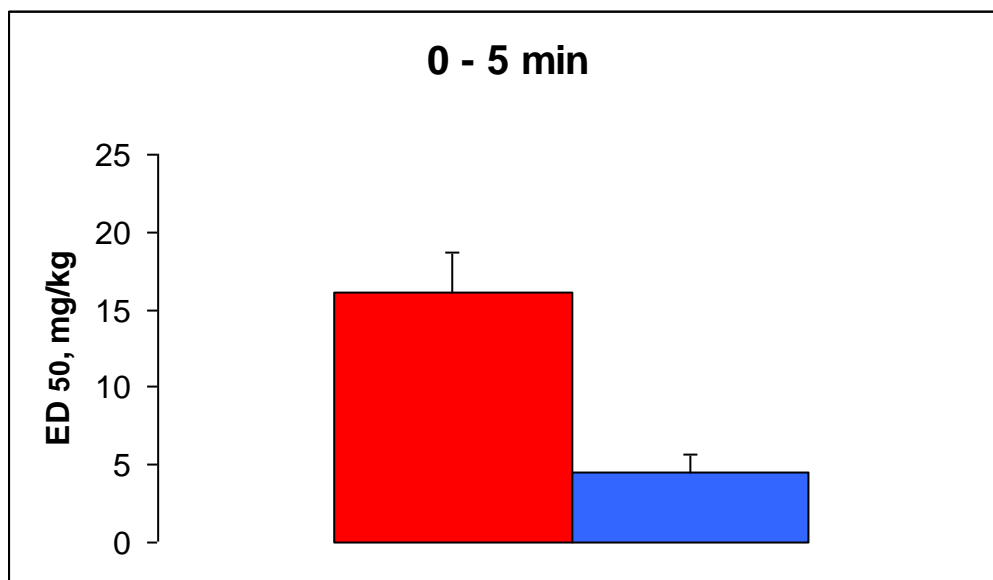


Gráfico 6. Histograma de la Fase I en el ensayo orofacial de la formalina. Dexketoprofeno control (■); Dexketoprofeno más Tropicetrón (■), ($p < 0.05$). Cada barra es el promedio \pm EEM de 6 mediciones ($n=6$).

En la Fase II de este ensayo, la curva dosis-respuesta del Dexketoprofeno fue desplazada en forma significativa hacia la izquierda ($p < 0.05$). En esta fase, la ED₅₀ resultante fue de $6,37 \pm 0,16$ mg/kg, menor respecto a su ED₅₀ control, que presentó un valor de $54,70 \pm 8,95$ mg/kg. ($p < 0.05$). Ver los gráficos 7 y 8 respectivamente.

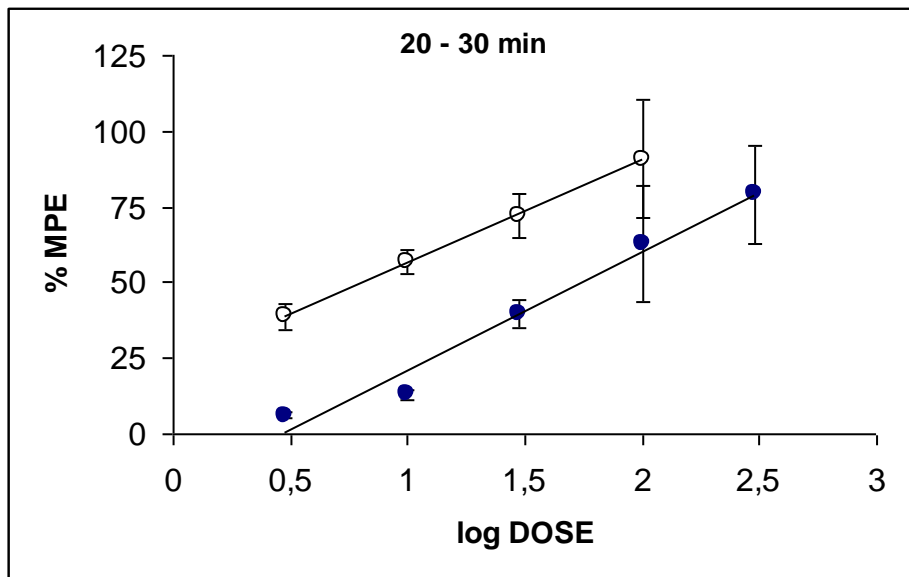


Gráfico 7. Curva dosis-respuesta en el ensayo orofacial de la formalina en la Fase II. (●) Dexketoprofeno; (○) Dexketoprofeno más Tropicetrón. Cada punto es el promedio \pm EEM de 6 mediciones (n = 6).

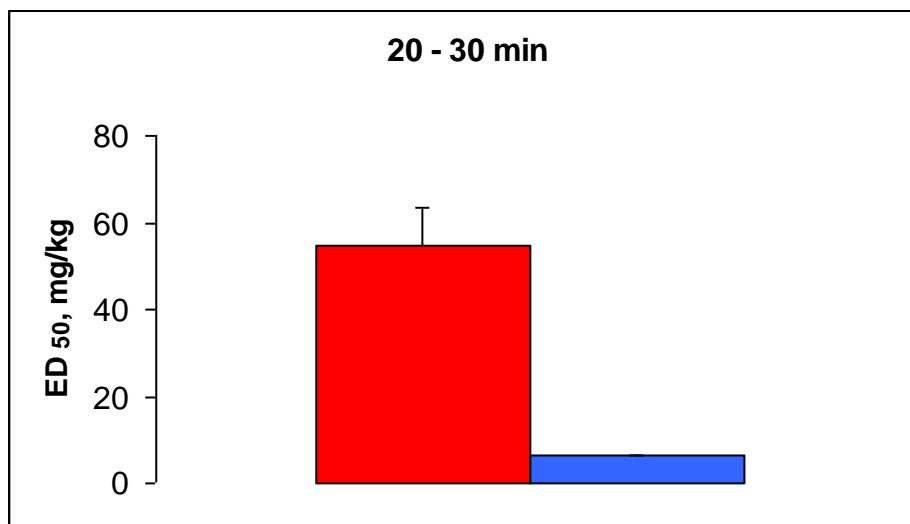


Gráfico 8. Histograma de la Fase II en el ensayo orofacial de la formalina. Dexketoprofeno control (■); Dexketoprofeno más Tropicetrón (■) ($p < 0.05$). Cada barra es el promedio \pm EEM de 6 mediciones (n=6).

Dexketoprofeno / Clomipramina

En la Fase I la administración i.p de Dexketoprofeno, con pretratamiento de los animales con Clomipramina 0,1 mg/kg i.p, produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente. La curva dosis-respuesta del Dexketoprofeno control fue desplazada en forma significativa hacia la izquierda ($p < 0.05$). Además, la ED₅₀ de la mezcla Dexketoprofeno más Clomipramina obtenida fue de $8,67 \pm 1,70$ mg/kg, que es significativamente diferente de la ED₅₀ control ($p < 0.05$). Estos resultados se muestran en los gráficos 9 y 10 respectivamente.

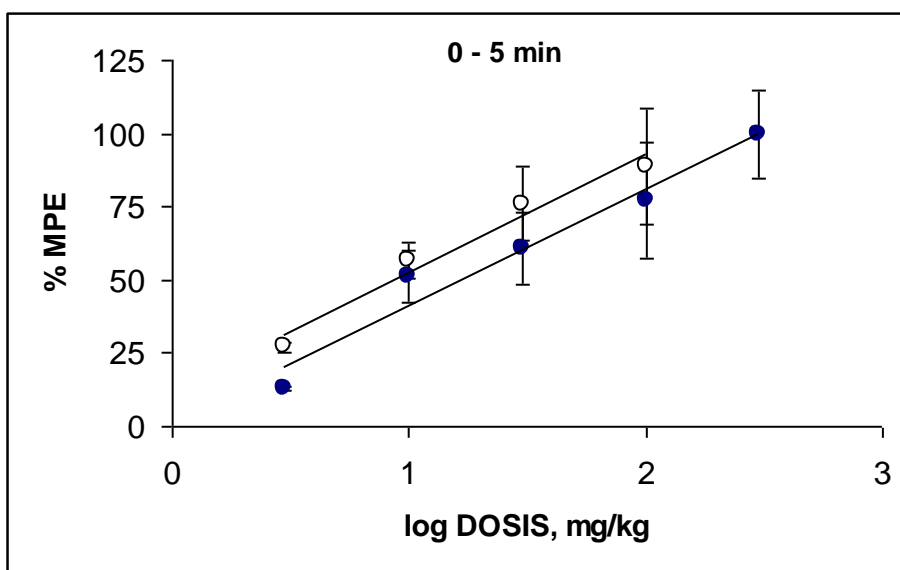


Gráfico 9. Curva dosis-respuesta en el ensayo orofacial de la formalina, en la Fase I. (●) Dexketoprofeno; (○) Dexketoprofeno más clomipramina. Cada punto es el promedio \pm EEM de 6 mediciones ($n = 6$).

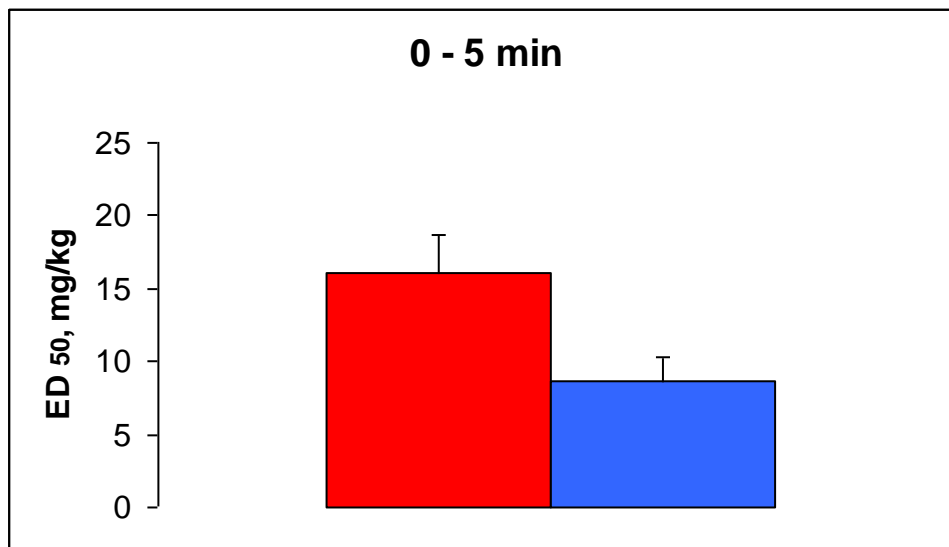


Gráfico 10. Histograma de la Fase I en el ensayo orofacial de la formalina. Dexketoprofeno control (■); Dexketoprofeno más Clomipramina (■) ($p < 0.05$). Cada barra es el promedio \pm EEM de 6 mediciones ($n=6$).

En la Fase II el pretratamiento con Clomipramina desplazó la curva control de Dexketoprofeno hacia la izquierda en forma significativa ($p < 0.05$). El valor de la ED₅₀ de la mezcla Dexketoprofeno más Clomipramina fue de $9,19 \pm 0,4$ mg/kg, significativamente diferente al valor de la ED₅₀ control (54.70 ± 8.95 mg/kg). Ver gráficos 11 y 12.

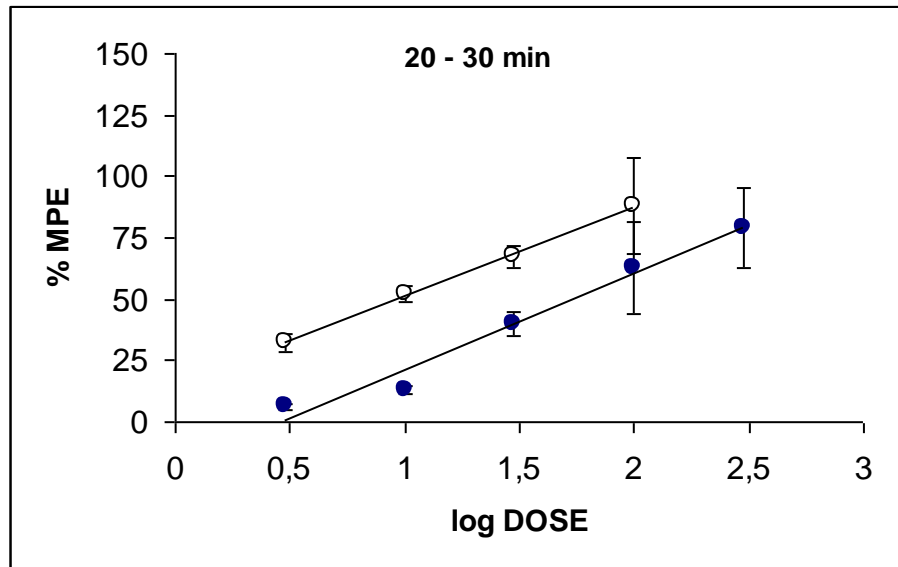


Gráfico 11. Curva dosis-respuesta en el ensayo orofacial de la formalina en la Fase II. (●) Dexketoprofeno; (○) Dexketoprofeno más Clomipramina. Cada punto es el promedio \pm EEM, de al menos 6 animales ($n = 6$).

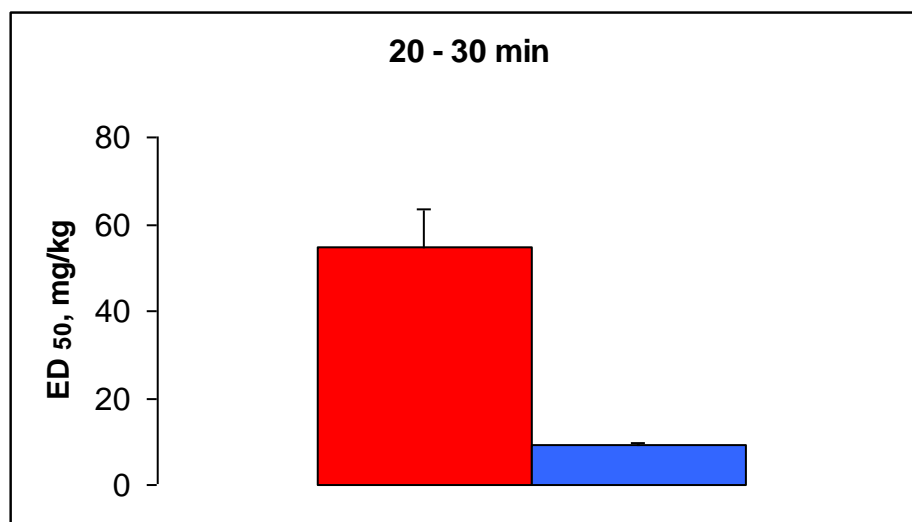


Gráfico 12. Histograma de la Fase II en el ensayo orofacial de la formalina. Dexketoprofeno control (■); Dexketoprofeno más Clomipramina (■) ($p < 0.05$). Cada barra es el promedio \pm EEM de 6 mediciones ($n=6$).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se utilizó Dexketoprofeno, un AINE con una eficacia analgésica demostrada en pacientes sometidos a intervenciones quirúrgicas orales (24), lo cual permitió su uso en un modelo de dolor orofacial. Es necesario tener presente que el modelo utilizado en este trabajo representa una de las áreas que recibe la mayor cantidad de terminales nerviosos del trigémino. También representa una de las zonas más comunes de generación de dolor agudo, como aquellas generadas por estados fisiopatológicos que afectan a los dientes y sus estructuras relacionadas.

La zona orofacial descrita en el párrafo anterior, es el sitio más frecuente de dolor crónico causado por neuralgias post-herpética, neuralgias trigeminales, migrañas, odontalgias.

La inyección subcutánea de formalina provoca injuria tisular y genera un enrojecimiento de la zona perinasal. Ello provoca un comportamiento temporal especial que involucra un vigoroso frotamiento de la zona (6). Este se caracteriza por ser bifásico, con una respuesta inmediata (Fase I). Es seguido de un período de quietud y luego, de una segunda fase de naturaleza tónica prolongada (Fase II).

Estudios han determinado que el Test de la Formalina Orofacial es un modelo confiable para estudiar la intensidad de la estimulación nociceptiva, los fenómenos de contra-irritación y para probar drogas analgésicas (6).

La actividad analgésica inducida por Dexketoprofeno en el ensayo orofacial de la formalina, tanto en la Fase I como en la Fase II, puede ser explicada por el efecto inhibitorio que tiene el AINE sobre las COXs (22). Sin embargo, aunque las propiedades y características farmacocinéticas del Dexketoprofeno son conocidas, su interacción con sistemas comprometidos en los procesos dolorosos, que ejercen una acción moduladora, como el sistema serotoninérgico, ha sido escasamente estudiada.

Para el estudio de la modulación serotoninérgica se escogieron dos fármacos con demostrados efectos mediados por la vía serotoninérgica. Uno de ellos, Tropisetron es usado como antiemético para contrarrestar los efectos adversos producidos por la radioterapia y quimioterapia. Este es un antagonista selectivo de los receptores del subtipo 5-HT₃ de serotonina (27,28); y Clomipramina, un antidepresivo tricíclico, potente inhibidor de la recaptación de serotonina (31).

Diferentes subtipos de receptores han sido involucrados en la modulación descendente de la nocicepción, la cual no sólo es inhibitoria sino también, excitatoria o facilitatoria. Está localizada en varias estructuras tanto espinales como supraespinales y comprende terminales presinápticos y postsinápticos (36). De acuerdo con estos hallazgos, el desplazamiento hacia la izquierda inducido por Tropisetron en la curva dosis-respuesta de Dexketoprofeno, en ambas fases del ensayo, podría ser explicado por un

efecto modulador positivo del antagonista de serotonina; es concordante con el reportado efecto analgésico de este antagonista (27,28).

El bloqueo de los receptores serotoninérgicos del subtipo 5-HT₃ producen un efecto analgésico sinérgico al asociarse Dexketoprofeno y Tropisetron. Esta sinergia correspondería a la modulación del sistema inhibitorio descendente serotoninérgico, ejercida por Tropisetron (9, 36).

Por otra parte, Clomipramina, por su acción inhibitoria a nivel de la recaptación de 5-HT, induce un efecto analgésico, que incluso ha sido de utilidad clínica (35). Esta inhibición producida por la Clomipramina es capaz de modular en forma facilitatoria la actividad antinociceptiva de Dexketoprofeno, con un desplazamiento hacia la izquierda en las curva dosis-respuesta del AINE en las dos fases del test. Este efecto modulador positivo de la Clomipramina podría deberse, además de la acción cooperativa entre ambos fármacos, a la propiedad de la Clomipramina de afectar diversos sistemas de neurotransmisión. Entre ellos que se incluyen la serotonina y la noradrenalina, que están comprometidos en los procesos de inhibición descendente del dolor (32-36).

La inhibición pre-sináptica de serotonina, inducida por Clomipramina, produce una mayor disponibilidad del neurotransmisor a nivel de los receptores post sinápticos. Es necesario tener en cuenta que, además, se describe una interacción directa del metabolito activo de Clomipramina con

receptores muscarínicos, histaminérgicos y serotoninérgicos. Ello induciría cambios adaptativos post-sinápticos que estarían en relación con la modulación del sistema inhibitorio descendente, que es mediado por varias sustancias neuroquímicas, como noradrenalina, GABA y serotonina, entre otras (9, 32,36).

El analgésico ideal debe cumplir con condiciones como elevada potencia analgésica, rapidez de acción, duración prolongada del efecto analgésico, sin riesgo de adicción y tolerancia, bajo riesgo de reacciones adversas y comodidad de administración (24). Los AINEs han sido hasta ahora los fármacos de elección en el tratamiento del dolor dental. Sus propiedades analgésicas y antiinflamatorias se atribuyen a la inhibición de la vía de las COXs, COX-1 y COX-2 (24), pero con ello se producen efectos adversos como alteraciones gastrointestinales, renales, hepáticas, reacciones de hipersensibilidad.

Es importante encontrar la manera que los AINEs sean administrados en menor dosis obteniendo un adecuado efecto analgésico. Al obtener ED₅₀ analgésicas menores de Dexketoprofeno, al pretratar con dosis bajas de fármacos selectivos de los efectos de la serotonina, permite sugerir que la administración de combinaciones de estos fármacos sean capaces de inducir un efectivo control del dolor, y al reducir las posibilidades de que se

produzcan reacciones adversas. Ello constituye una vía innovadora para el manejo farmacológico de cuadros dolorosos, agudos y crónicos (4).

En conclusión. El mecanismo de actividad antinociceptiva de los AINEs no solo debe atribuirse a la inhibición de las COXs, sino también deben ser considerados otros mecanismos alternativos, como la modulación serotoninérgica demostrada por el uso del antagonista selectivo 5-HT₃ Tropisetron y el inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina Clomipramina.

CONCLUSIONES

- La administración de Dexketoprofeno induce antinocicepción, dosis dependiente, en la fase algésica aguda (Fase I) y también en la fase algésica-inflamatoria (Fase II) del Ensayo de la Formalina Orofacial.
- El pretratamiento con Tropisetron produce desplazamiento hacia la izquierda de la curva dosis-respuesta del Dexketoprofeno con una disminución significativa de la ED₅₀ del AINE.
- El pretratamiento con Clomipramina disminuye en forma significativa la ED₅₀ del Dexketoprofeno y desplaza hacia la izquierda de la curva dosis-respuesta del Dexketoprofeno.
- Tropisetron y Clomipramina, por sus efectos a nivel de 5-HT, producen sinergia con Dexketoprofeno.
 - El efecto sinérgico de Tropisetron y Clomipramina, en combinación con Dexketoprofeno, correspondería a la modulación del sistema inhibitorio descendente serotoninérgico, sobre la acción analgésica de Dexketoprofeno.

SUGERENCIAS

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se sugiere:

- Evaluar el tipo de modulación que ejercen drogas relacionadas con otros neurotransmisores, en la actividad analgésica del Dexketoprofeno.
- Estudiar dicha modulación usando diferentes vías de administración, p. ej., intratecal, anal, oral, en diversos modelos algesiométricos.

RESUMEN

En este trabajo se evaluó la modulación serotoninérgica del efecto analgésico de Dexketoprofeno, usando el Método Algesiométrico Agudo de la Formalina Orofacial en ratones. Este distingue la fase de dolor agudo (Fase I) y la fase inflamatoria de dolor crónico (Fase II). Para evaluar la actividad antinociceptiva se construyeron curvas dosis-respuesta del AINE administrado por vía i.p. y de ella se dedujo su ED₅₀. La modulación serotoninérgica se estudió por el efecto del pretratamiento de los animales, vía i.p, con Tropicetrón, antagonista selectivo del subtipo 5-HT₃ serotoninérgico, y de Clomipramina, inhibidor de la recaptación neuronal de 5-HT, evaluando los cambios de la ED₅₀ de Dexketoprofeno y el desplazamiento de la curva dosis-respuesta. Se obtuvo, en ambas fases, un desplazamiento hacia la izquierda de la curva dosis-respuesta de Dexketoprofeno y una ED₅₀ significativamente menor. El bloqueo de los receptores del subtipo 5-HT₃ produce un efecto analgésico sinérgico al asociarse Dexketoprofeno y Tropicetrón. Clomipramina por la inhibición de la recaptación de 5-HT a nivel presináptico y su acción directa sobre receptores serotoninérgicos, induciría cambios adaptativos post-sinápticos que se relacionarían con la modulación del sistema inhibitorio descendente mediado por sustancias neuroquímicas, entre ellas la serotonina. Estos efectos sinérgicos corresponderían a la modulación del sistema inhibitorio descendente serotoninérgico, ejercida por Tropicetrón y Clomipramina, sobre la acción analgésica de Dexketoprofeno.

BIBLIOGRAFÍA

1. Martin, T.J., Eisenach, J.C., "Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states". *J. Pharmacol. Exper. Ther.* 299: 811-817. 2001.
2. Miranda, H.F., Sierralta, F., Pinardi G. "Neotigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs". *Br. J. Pharmacol.* 135: 1591-1597. 2002.
3. Miranda, H.F., Sierralta, F., Pinardi G. "An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception". *Anesth. Anal.* 93: 430-435. 2001.
4. Tallarida, R.J., Murray, R.B. "Manual of pharmacologic calculation with computers programs Sringer-Velag". 2nd. ed. New York. 1986. 280 pages. p.10-15.
5. Miranda, H.F., Puig, M.M., Prieto, J.C., Pinardi, G. "Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain". *Pain.* 121 (1-2): 22-28. 2006.
6. Luccarini, P., Childeric, A., Gaydier, A.M., Voisin, D., Dallel, R. "The orofacial formalin test in the mouse: a behavioral model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception". *J. Pain.* 7 (12): 908-914. 2006.

7. Bonica, J.J. "Anatomic and physiology basics of nociception and pain". The management of pain. 1st. vol. 2nd. ed. Pennsylvania, Lea & Febiger. 1990; p. 1-198. Cap.3.
8. Manns, A y Díaz, G. "Sistema Estomatognático". Ed. Facultad de Odontología, Universidad de Chile.1995.249 p. p. 94-109. Cap.3.
9. Sessle, B.J. "Mechanisms of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates". Journal of Oral Rehabilitation. 33: 243-261. 2006.
10. Takemura, M., Sugiyo, S., Moritani, M., Kobayashi, M., Yonehara N. "Mechanisms of orofacial pain control in the central nervous system". Arch. Histol. Cytol. 69(2): 79-100. 2006.
11. Warner, T., Mitchel, J. "Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors and lessons from the clinic". The FASEB Journal. 18: 790-804. 2004.
12. Simmons, D.L., Botting, R. M. "Cyclooxygenase isoenzymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition". Pharmacol. Rev. 56: 387-437. 2004.
13. Chandrasekharan, N.V., Dai, H., Ross, L.T., Evanson, N.K., Tomsik, J., Elton, T.S., Simmons, D. L. "COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipiretic drugs: cloning, structure and expression". Proc. Natl. Acad. Sci. 99: 13926-13931. 2002.

14. Bolten, W.W. "Problem of the atherothrombotic potential of non-steroidal anti-inflammatory drugs". *Ann. Rheum. Dis.* 65: 7-13. 2006.
15. Süleymann, H., Demircan, B., Karagöz, Y. "Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors". *Pharmacological Reports.* 59:257-268. 2007.
16. Koppert, W. et al." The effect of paracetamol and parecoxib on kidney functions in elderly patients undergoing orthopedic surgery". *Anesth. Anal.* 103: 1170-1176. 2006.
17. Tan, H.H., Ong, W.M.C., Lai, S.H., Chow, W.C. "Nimesulide- induced hepatotoxicity and fatal hepatic failure". *Singapore Med. J.* 48 (6):582-585. 2007.
18. Weberschock, T., Müller, S., Boehncke, S., Boehncke, W. "Tolerance to coxibs in patients with intolerance to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): a systematic structured review of the literature". *Arch. Dermatol. Res.* 299: 169-175. 2007.
19. Poveda, R., Bagán, J.V, Jiménez-Soriano, Y., Gallud Romero, L. "Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs in dental practice. A review". *Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal.* Jan 1; 12 (1): E10-18. 2007.
20. Loftin, C., Trivedi, D., Langerbach, R. "Cyclooxygenase-1-selective inhibition prolongs gestation in mice without adverse effects on the ductus arteriosus". *J. Clin. Invest.* 110: 549-557. 2002.

21. Viacava Sánchez, Andrea Paulina. "Efecto del L-name en la analgesia experimental inducida por dexketoprofeno y ketoprofeno". Tesis Universidad de Chile, Trabajo de investigación para optar al Título de Cirujano Dentista. 2005. Página 29, figura 3. Página 30, figura 4.
22. Barbanoj, M.J. "Clinical Pharmacokinetics of Dexketoprofen". Clin Pharmacokined. 40: 245-247. 2001.
23. Hutt, A. J. "Drug Chirality and its Clinical Significance". Drugs. 52 (5): 1-12. 1996.
24. Jiménez-Martínez, E. "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: 138-48. 2004.
25. Mauleón, D., Artigas, R., García, M.L., Carganico, G." Desarrollo clínico y preclínico del dexketoprofeno". Drugs. 52: 24-46. 1996.
26. Gich, I., Bayés, M., Barbanoj, M.J., Artigas, R., Tost, d., Mauleón, D. "Bioinversión del R (-) ketoprofeno después de su administración oral a voluntarios sanos". Clin. Drug. Invest. 11:347-353. 1996.
27. Wolf, H. "Preclinical and clinical pharmacology of the 5HT₃ receptor antagonists". Scand J Rheumatol. 29 (113):37-45. 2000.
28. Riering, K. and Rewerts, C. "Analgesic effects of 5HT₃ receptor antagonist". Scand J Rheumatol. 33: 19-23. 2004.

29. Faber, L., Stratz, T.H., Bruckle, W., Spath, M., Pongratz, D., Lautenschlager, J. "German Fibromyalgia Study group. Short-term treatment of primary fibromyalgia with the 5-HT₃-receptor antagonist tropisetron. Results of randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial in 418 patient". *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* 21:1-13.2001.
30. Haus, U. and Spath, M. "Spectrum of use and tolerability of 5HT₃ receptor antagonists". *Scand J Rheumatol.* 33: 12-18. 2004.
31. Gloger, S. "Clomipramina, revisión de sus propiedades farmacológicas y terapéuticas". *Revista chilena de neuropsiquiatría.* 30, 2: 3-22. 1992.
32. McTavish, D. and Benfield, P. "Clomipramine. An overview of its pharmacological properties and a review of its therapeutic use in obsessive compulsive disorder and panic disorder". *Drugs.* 39 (1): 136-153. 1990.
33. Peters, M.D., Davis, S.K., Austin, L.S. "Clomipramine: an antiobsessional tricyclic antidepressant". *Clinical Pharmacy.* 9: 165-178. 1990.
34. Hernández Sampieri, R. "Metodología de la investigación". 4^a ed. Mc. Garw-Hill. 2006; 850p. p. 460-470.
35. Yaksh, T.L. and Malmberg, A.B. "Central pharmacology of nociceptive transmission". *The textbook of pain.* In: Wall, P. D.; Melzack, R., eds. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone. 1994. 1308 pages. p. 165–200.

36. Li, P. and Zhuo, M. "Cholinergic, noradrenergic, and serotonergic inhibition of the fast synaptic transmission in spinal lumbar dorsal horn of rat". *Brain Res. Bull.* 54 (6): 639-647. 2001.