

M
A3482
2006
Φ.2

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE NEUROFARMACOLOGIA

**“INFLUENCIA DEL SISTEMA SEROTONERGICO EN LA
ANALGESIA BIMODAL DE DEXKETOPROFENO Y NIMESULIDA”**

Maria Paz Alcayaga Cáceres

TRABAJO DE INVESTIGACION
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE
CIRUJANO DENTISTA

7780

FACULTAD DE ODONTOLOGIA
BIBLIOTECA CENTRAL

TUTOR PRINCIPAL
Prof.Dr.Hugo F. Miranda

TUTOR ASOCIADO
Prof.Dr.Gianni Pinardi T

7780
Santiago – Chile
2006

AGRADECIMIENTOS

- A mis Padres, por entregarme valores y enseñanzas que me han permitido luchar día a día por ser lo más mejor. A mis hermanos que me han brindado todo su apoyo y confianza.

A Cristóbal, mi hijo y fuente de energía durante todo este proceso, por el amor y la comprensión que a tus cortos años me entregaste.

- A Sebastián, por haberme acompañado y apoyado en cada paso que he dado.

AGRADECIMIENTOS

- A mis Padres, por entregarme valores y sueños, que me han permitido luchar día a día por un futuro mejor. A mis hermanos que me han brindado todo su apoyo y confianza.
- A Sebastián, mi pareja, por la compañía y amor que me has dado.
- A aquellos con los que tuve la oportunidad de convivir durante todo este tiempo, por enseñarme a valorar y notar la fragilidad del ser humano, no solo en el laboratorio y oficina sino en la vida cotidiana.

- A los doctores del Departamento de Farmacología, Hugo Miranda y Gianni Pinardi, por su paciencia, colaboración, voluntad y gran espíritu docente durante la realización de este trabajo.
- A los señores Alejandro Correa y José López, por su valiosa ayuda en la etapa experimental.
- A aquellos con los que tuve la oportunidad de compartir durante todo este tiempo, que lograron conocerme y notar la fragilidad del ser humano, en especial a Graciela mi amiga y compañera.

ÍNDICE

	Páginas
Introducción	1
Marco teórico	5
Hipótesis y Objetivos	25
Material y método	26
Resultados	31
Discusión	38
Conclusiones	42
Resumen	43
Sugerencias	44
Referencias	45

INTRODUCCIÓN

Definir el dolor es muy difícil, es así como durante todas las épocas el hombre a tratado de explicar y conocer su naturaleza, de manera de esclarecer el enigma que para el representa. El dolor tanto desde una perspectiva estructural como funcional es una modalidad sensitiva muy compleja, cuyo objetivo o fin último es proteger al organismo. El carácter dual del dolor implica la sensación física corporal de la agresión, junto con la experiencia emocional, individual e intransferible del sufrimiento, la cual se expresa como un factor difícilmente objetivable. La asociación internacional para el estudio del dolor (IASP) define al dolor como "Una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociado a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño" (15). El término potencial indica que si el dolor se mantiene por un tiempo prolongado, implicará que la permanencia de la noxa produce daño tisular.

El dolor generalmente es iniciado por un estímulo nocivo externo o interno, que generará un potencial de acción al activar células nerviosas relativamente no especializadas, denominadas nociceptores. Al proceso de recepción, traducción, transmisión y modulación de la señal nerviosa se le conoce como nocicepción. La principal vía nociceptiva, comprende un sistema de relevo de tres neuronas desde la periferia hasta la corteza cerebral, los nociceptores o terminaciones nerviosas libres inician esta cadena; estos se encuentran ampliamente distribuidos en piel, mucosas, músculos, articulaciones, vísceras etc. Recordando que los estímulos para cada uno es de naturaleza distinta. La transmisión de los impulsos dolorosos se realiza a través de diferentes tipos de neuronas, que haciendo sinápsis en la médula espinal

conducirán los impulsos dolorosos al tálamo, región que se caracteriza por ser responsable de la integración del impulso doloroso, y finalmente a la corteza cerebral lo que resulta en la conciencia del dolor (39).

Los estímulos nociceptivos activan simultáneamente mecanismos de modulación inhibitoria, situados a nivel periférico, espinal y supraespinal. Muchas sustancias participan en este proceso de modulación y dependiendo de su ubicación (central o periférica) y del tipo de receptor estimulado ejercerán una acción inhibitoria o excitatoria. Lo que se traducirá en un aumento o disminución del umbral del dolor, entre ellos se encuentra el sistema opioide endógeno, sistema colinérgico y peptidérgico. A nivel central el subsistema serotoninérgico estaría involucrado en la inhibición del dolor (12, 27, 28)

Los criterios de clasificación del dolor son múltiples e incluyen características como: duración del dolor, etiología, mecanismo, localización, intensidad, calidad, etc. El tiempo que dura el dolor es una forma de clasificarlo (38). Generalmente se distinguen dos tipos básicos de dolor: agudo y crónico, la diferenciación entre dolor agudo y crónico se basa tanto en el factor tiempo, como en los mecanismos fisiopatológicos que originan el dolor (6). Es importante diferenciarlos, en el caso del dolor agudo, se percibe una clara relación causal con el daño tisular, como el dolor por traumatismo, o el dolor postoperatorio; el cual adquiere la significación de una voz de alerta. El dolor crónico se inicia siempre por un episodio de dolor agudo en el cual a pesar de ser reconocidas sus causas y de efectuarse todos los tratamientos necesarios para su resolución, el dolor persiste por un periodo prolongado de tiempo .

La supresión del dolor, ha sido una de las mayores preocupaciones de los médicos. En la odontología no deja de ser un problema común en todas sus áreas, por un lado se debe tratar de aliviar el sufrimiento y por otro, comprender los mecanismos de producción de dolor, pero se debe tener conciencia que más allá de los problemas fisiopatológicos que genera, priva a quien lo experimenta de una parte importante de su dignidad y el hecho se transforma en un sufrimiento innecesario, por lo que se hace imprescindible el conocimiento de las diferentes alternativas terapéuticas para el tratamiento de este, y la necesidad de una constante búsqueda de mejores terapias, más efectivas y con menos efectos secundarios.

Varios fármacos son capaces de producir un poderoso y selectivo efecto en la inhibición de la neurotransmisión dolorosa, tanto a nivel preclínico, en animales, como a nivel clínico, en el hombre. Así, se pueden mencionar los fármacos α -adrenérgicos, serotoninérgicos, anestésicos locales, colinérgicos, cannabinoides, antiinflamatorios no esteroideos, opioides, entre otros. El manejo con medicamentos para controlar el dolor, además de buscar como objetivo secundario el prevenirlo de una manera continua, manteniendo un efecto analgésico constante en el plasma, busca evitar el recuerdo o la vivencia desagradable del dolor. Se deberá escoger la opción terapéutica analgésica que tenga la mejor eficacia y tolerancia.

De acuerdo a lo propuesto por la OMS (escalera analgésica), el tratamiento farmacológico del dolor debe hacerse mediante una jerarquización de los analgésicos y su uso escalonado para aplicarlos a los diferentes tipos de dolor, la escalera analgésica de la OMS menciona en su primer escalón a los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), estos son un grupo de

fármacos que comparten efectos específicos como: analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios.

La combinación de analgésicos de probada eficacia es una estrategia que intenta conseguir uno o más objetivos terapéuticos tales como: facilitar el cumplimiento del paciente, simplificar la prescripción, mejorar la eficacia sin aumentar los efectos adversos, etc. En ciertos casos la coadministración de agentes antinociceptivos tiene un efecto sinérgico y las dosis de los medicamentos pueden ser sustancialmente reducidas (23). Nimesulida y dexketoprofeno son drogas generalmente usadas para tratar el dolor leve y moderado en odontología. Si bien existen estudios que valoran la naturaleza de la interacción entre AINEs (22, 23), la influencia del sistema serotoninérgico en la analgesia producida por la interacción entre dexketoprofeno y nimesulida no ha sido reportada, por lo que esta investigación aporta antecedentes importantes en la interacción entre AINEs y los sistemas de modulación del dolor. El propósito de esta investigación es valorar el tipo de interacción entre dexketoprofeno y nimesulida en un ensayo algesiométrico en ratones e intentar dilucidar que participación tiene el sistema serotoninérgico.

MARCO TEÓRICO

El dolor es un fenómeno complejo, que puede ser abordado desde muchas perspectivas, no es solamente un problema físico; sino también, una experiencia emocional para el paciente.

El dolor puede entenderse como un comportamiento, ya que la experiencia de dolor es comunicada por quien la sufre por una constelación conocida de conductas que son la expresión social de dolor.

Hoy en día entendemos el dolor como la integración de 3 componentes: (i) el sensitivo, que hace referencia al impulso desencadenado desde los receptores periféricos del dolor, (ii) el cognitivo, que se relaciona con el aprendizaje cultural, entorno social y experiencias previas respecto al dolor y las conductas que se asocian a este y (iii) el componente emotivo-afectivo, que hace referencia a las emociones que se producen frente a un impulso doloroso y la manera en que estas pueden influir en la interpretación del mismo.

1.-Clasificación del Dolor:

Los criterios de clasificación del dolor son múltiples, pero tal vez los criterios más utilizados son aquellos basados en su evolución (dolor agudo o crónico) (38).

a- Dolor Agudo: Descrito también como dolor intenso, punzante, rápido o de descarga eléctrica. El dolor agudo es la consecuencia inmediata de la activación de los sistemas nociceptivos; se manifiesta generalmente después de una lesión tisular somática o visceral, es autolimitado y desaparece habitualmente con la lesión que lo originó. Tiene una función de protección

biológica al actuar como una señal de "alarma" a nivel del tejido lesionado. Los síntomas psicológicos asociados son escasos y habitualmente limitados a una ansiedad leve. Se trata de un dolor de naturaleza nociceptiva y que aparece por una estimulación química, mecánica o térmica de nociceptores específicos.

b.- Dolor Crónico: Conocido también como dolor urente o de quemazón lenta, sordo o profundo, pulsátil, nauseoso. El dolor crónico, sin embargo, no posee una función protectora y más que un síntoma de una lesión, puede considerarse en sí mismo una enfermedad. Se ha definido como un dolor que persiste al menos 3 meses después de la lesión causal, pudiendo perpetuarse por un período prolongado después de dicha lesión e incluso en ausencia de lesión periférica. El dolor crónico suele ser refractario a múltiples tratamientos y está asociado a numerosos síntomas psicológicos: depresión, ansiedad, miedo, insomnio y alteraciones del comportamiento, en especial de las relaciones sociales (6).

2.- Fisiología del dolor

El daño tisular libera sustancias químicas con capacidad algogénica en el entorno inmediato de las terminaciones sensoriales periféricas o nociceptores. Entre otras encontramos: iones (H^+ y K^+), aminas (serotonina, noradrenalina, e histamina), citocinas, eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos), cininas (bradicinina), radicales libres (óxido nítrico) y péptidos (sustancia P, somatostatina, CGRP, entre otros) (12). Los estímulos nociceptivos periféricos activan fibras sensoriales $A\delta$ y C, las terminaciones centrales de estas fibras liberan transmisores excitatorios (SP, CGRP, glutamato, entre otros), que actúan sobre receptores específicos e inducen la despolarización de neuronas

de segundo orden, con lo que la información nociceptiva se transmite hacia centros superiores del sistema nervioso (41). A su paso por las distintas estructuras nerviosas, los impulsos nociceptivos (transmisión excitatoria) sufren una modulación inhibitoria a varios niveles: periférico, espinal y supraespinal. Los sistemas moduladores de la nocicepción están formados por transmisores y receptores capaces de disminuir la liberación de transmisores excitatorios y la excitabilidad neuronal.

3.- Neuroanatomía del Dolor:

Para percibir el dolor es necesaria una estructura periférica que actúe como receptor, una sinapsis en la médula espinal, vías de conducción desde la médula espinal hasta los centros superiores y desde estos a los efectores; además de un centro integrador que involucra a las áreas superiores del SNC.

3.1.- Estructuras Periféricas:

En la mayor parte de los órganos y sistemas del organismo, existe un grupo especial de receptores sensoriales a los que se conoce como nociceptores. Los nociceptores son las terminaciones periféricas de las fibras aferentes sensoriales primarias, capaces de responder a estímulos dolorosos.

El umbral de estimulación de los nociceptores no es constante, sino que depende del tejido donde se encuentre. En función de su localización y de sus distintas características, se distinguen tres grupos de nociceptores: cutáneos, musculares - articulares y viscerales (6, 7). Estos nociceptores transmiten la información a través de fibras nerviosas conocidas como fibras aferentes primarias o neuronas de primer orden, las que se clasifican dependiendo de su

diámetro y grado de mielinización en fibras A y C. Las fibras A se subdividen a su vez en los subtipos α , β y δ . De todos estos tipos, solo los tipos $A\delta$ y C conducen los impulsos nociceptivos. Los nociceptores transforman por tanto, estímulos locales (químicos, térmicos, mecánicos) en potenciales de acción que se transmiten mediante las fibras aferentes sensoriales primarias hacia el SNC (7).

3.1-a.- Aferencias Nociceptivas al Sistema nervioso central:

Las fibras $A\delta$ y las fibras C terminan en neuronas de segundo orden en el cuerno dorsal de la médula espinal, conocido también como asta dorsal de la médula espinal (ADME), donde los neurotransmisores secretados por las fibras aferentes primarias, para la sensación dolorosa son la sustancia P, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) y el glutamato (6).

3.2.- Estructuras Centrales y Vías del Dolor:

Una vez que las fibras nociceptivas de primer orden entran a la médula espinal hacen sinapsis en el asta posterior. Según Rexed la sustancia gris está dividida en 10 láminas o capas: las seis primeras (láminas I a VI) forman el asta posterior aunque funcionalmente la lámina X, también puede ser incluida. Las fibras tipo $A\delta$ terminan en las láminas I y V y las de tipo C lo hacen en las láminas I y II. La prolongación central de la neurona hace sinapsis en el asta dorsal que llega al núcleo ventro-pósterolateral del tálamo en donde hace sinapsis. A este núcleo llega la información de dolor y temperatura de todo el cuerpo a excepción de la cabeza. Desde allí sale una tercera neurona tálamo cortical que terminará en la corteza cerebral, específicamente al área sensitiva

primaria que se establece en el giro poscentral (6, 39). Esta vía consta por lo tanto, de tres neuronas y es conocida como sistema neoespinotalámico. Esta vía emerge de la lámina I a partir de las fibras A δ , es polisináptico, de conducción rápida (fibras mielinizadas), produce un dolor agudo y de localización precisa, ya que llega a la corteza e indica en forma somatotópica el tejido estimulado, no responde a morfina. A nivel de la sustancia reticular del bulbo esta vía deja una colateral. Este sistema reticular continúa ascendiendo y se relaciona con el hipotálamo quien finalmente comanda el sistema vegetativo. Se conecta también con los núcleos intralaminares del tálamo y desde allí al circuito límbico que es quien comanda las emociones, de manera que es un sistema que contribuye al procesamiento afectivo de la nocicepción. Allí se integra también la memoria y experiencias previas con respecto al dolor que determina una mejor o peor respuesta ante un estímulo. Este sistema se conoce como retículoespinal o paleoespinotalámico, es polisináptico, de conducción más lenta, percibe el dolor de naturaleza más difusa porque no llega a la corteza, responde bien a morfina, y desencadena respuestas circulatorias, respiratorias y endocrinas, ya que está involucrando al sistema límbico y el hipotálamo, como comando vegetativo (6, 12, 39).

Actualmente la idea de "tractos" o "fascículos" como vías medulares que transmiten unidireccionalmente los estímulos nociceptivos es un concepto relativamente obsoleto ya que trabajos recientes sugieren la presencia de múltiples conexiones capaces de transmitir la información en sentido bidireccional (39).

Los estímulos nociceptivos activan simultáneamente mecanismos de modulación inhibitoria, situados a nivel periférico, espinal y supraespinal. El sistema de control inhibitorio descendente mejor caracterizado es el que desde la sustancia gris periacueductal (SGPA), la formación reticular encefálica, el

bulbo rostral ventromedial (BRVM) y el tegmento pontino dorsolateral, proyecta hacia las láminas superficiales del asta dorsal de la médula. También existen mecanismos intrínsecos espinales formados por interneuronas inhibitorias (39).

Entre los transmisores implicados en la regulación inhibitoria de la nocicepción a nivel del SNC encontramos: serotonina; noradrenalina; acetilcolina; péptidos opioides endógenos: encefalinas, dinorfinas y endorfinas (12). Además nivel periférico existen mediadores implicados en la activación / sensibilización de los nociceptores, en donde la serotonina (5-HT) junto con otros mediadores de la inflamación; desempeñaría un papel importante en el fenómeno conocido como hiperalgesia (31, 37)

4.- Serotonina (5- Hidroxitriptamina)

El neurotransmisor serotonina (5-HT) se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza. Se sintetiza en los sistemas biológicos a partir del aminoácido L- triptofano. Se considera un neurotransmisor que mediaría la respuesta rápida, localizándose en neuronas del rafe, de la protuberancia y el tronco encefálico superior como también en el asta dorsal de la médula espinal. Las neuronas serotoninérgicas participan en diversas funciones, tales como: sueño, ánimo, apetito, regulación de la temperatura, percepción del dolor, reflejo del vómito, regulación de la presión arterial y también en depresión, ansiedad y migraña. La 5-HT actúa en varios subtipos de receptores, reconociéndose 7 familias. Excepto para el receptor 5-HT₃, todos estos receptores son metabotrópicos. El receptor 5-HT₃, ionotrópico, ejerce una rápida acción excitatoria sobre un muy limitado número de neuronas del sistema nervioso central. En casi todas las áreas del SNC la 5-HT tiene una acción inhibitoria mediada por receptores 5-HT_{1A}. Otros tipos celulares son

excitados lentamente por 5-HT debido al bloqueo de canales de K⁺ por medio de receptores 5-HT₂ – 5-HT₄ (43).

La 5HT es una importante molécula en el procesamiento del dolor (22, 32); sin embargo, tiene una acción analgésica o hiperalgésica dependiendo del tipo celular y del receptor sobre el que actúe. En la periferia la 5-HT contribuiría a la hiperalgesia en la inflamación y la injuria nerviosa, excitando y sensibilizando fibras nerviosas aferentes, rol que ejercería a través de receptores 5-HT₃ y 5-HT₂ (31, 32, 42). En el sistema nervioso central, está involucrada en el mecanismo de inhibición descendente del dolor, cuyas vías se originan en neuronas del rafe o protuberancia anular y parte superior del tallo encefálico. La gran diversidad de receptores serotoninérgicos, en conjunto con la complejidad de las relaciones sinápticas que involucran la transmisión-modulación de las vías nociceptivas, no permite generalizar sobre la acción inhibitoria de la 5-HT, pero se ha evidenciado en diversas investigaciones el rol antinociceptivo a través de receptores 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆, 5-HT₇ a nivel espinal (9, 27, 32, 43).

Es imposible tratar de separar las diferentes vías y sus neurotransmisores para otorgarles una acción de forma categórica, por la existente interrelación que ocurre entre ellos. Desde esta perspectiva es posible analizar las relaciones que se establecen entre serotonina y las vías GABAérgicas, dopaminérgicas, noradrenérgicas y colinérgicas (12).

Se ha identificado que receptores 5-HT₁ a nivel periférico tendrían un carácter pronociceptivo, al inhibir la liberación de acetilcolina, noradrenalina y posiblemente dopamina, moléculas antinociceptivas (43). Aunque a nivel espinal se sugiere una actividad antinociceptiva para este receptor (9). De esta misma forma receptores 5-HT₂ ejercerían efectos negativos sobre neuronas dopaminérgicas y noradrenérgicas a nivel supraespinal e inducirían la liberación

de ácido araquidónico desde los fosfolípidos de membrana, aunque aparentemente estos receptores no jugarían un rol importante en condiciones fisiológicas (37, 43). Los receptores 5-HT₃ a nivel central probablemente controlan la liberación de GABA (43), se sugiere que tendrían un efecto antinociceptivo a nivel espinal (9, 28).

Como es posible observar la plasticidad del sistema nervioso, lo hace uno de los sistemas más complejos y el hecho de que múltiples receptores existan para un único neurotransmisor constituye una importante ventaja adaptativa, lo que a su vez es un importante factor en la selectividad de la interacción serotoninérgica con otros sistemas de neurotransmisores.

Para identificar la participación de serotonina en la antinocicepción ejercida por los AINEs, se pueden utilizar agonistas o antagonistas de 5-HT. Entre ellos se cuenta al propranolol que es un antagonista de receptores 5-HT_{1B}, el que se encuentra acoplado negativamente a adeniliclasa, y bloqueador β -adrenérgico (43). Su uso terapéutico se debe principalmente a su acción de bloqueador β -adrenérgico, lo que le da su carácter de antihipertensivo, antianginoso y antiaritmico. Por otra parte, se tiene a la risperidona, que es un potente antagonista de receptores 5-HT₂ y D₂ y con menor afinidad por receptores α -1 y α -2 adrenérgicos y H₁. Se considera un antipsicótico neuroléptico atípico, que se emplea para el tratamiento de la psicosis esquizofrénica aguda y crónica. La biodisponibilidad oral de risperidona es cercana al 70%, esta es rápidamente absorbida alcanzando concentraciones plasmáticas máximas dentro de 1 a 2 hr, con una vida media de 24 hr y posee una buena tolerancia (13, 29). Además, se dispone de tropisetron, antagonista competitivo y muy selectivo del receptor 5-HT₃, su uso terapéutico es para la prevención de náuseas y vómitos inducidos por la quimioterapia y radioterapia. Su biodisponibilidad oral es cercana al 60% con

una dosis de 5 mg. y casi 100% con dosis de 45 mg., la máxima concentración plasmática la alcanza al cabo de 3 hr. Posee una vida media de eliminación de 8 hr, pero en metabolizadores lentos puede llegar a 24 hr (14).

5.- Analgésicos –antiinflamatorios no esteroideos:

Los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) constituyen un grupo farmacológico heterogéneo que tiene en común un mecanismo de acción, caracterizado por inhibir la síntesis de prostaglandinas, las cuales se liberan cuando hay daño tisular, a través del bloqueo de ciclooxigenasas ejerciendo así un papel tanto en la sensibilización de los nociceptores, como en la mediación de procesos de inflamatorios, fiebre e interferencia en los mecanismos de agregación plaquetaria (40). Por eso son usados en terapéutica como:

- Analgésicos
- Antiinflamatorios.
- Antipiréticos.
- Antiagregantes plaquetarios.
- Antitumorígenos

5.1.- Clasificación de los AINEs:

Los AINEs pueden ser clasificados según su estructura química (40):

- a. Derivados del ácido salicílico, salicilatos: Aspirina, diflunisal.
- b. Derivados del para-aminofenol, anilínicos: Acetaminofeno (paracetamol)
- c. Derivados pirazolónicos: Metamizol; fenibutazona.
- d. Derivados del ácido acético: Diclofenaco, ketorolaco.

- e. Derivados de ácidos antraínicos, fenamatos: Ácido mefenámico, clonixinato de lisina.
- f. Derivados enólicos: Piroxicam, tenoxicam, meloxicam.
- g. Metanosulfonamidas: Nimesulida.
- h. Derivados del ácido propiónico: Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprosina.
- i. Alcalonas: Nabumetona.
- j. Coxib: Celecoxib, lumiracoxib.

5.2.- Mecanismo de acción de los AINEs:

El mecanismo de acción de los AINEs clásicos consiste principalmente en la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs) de manera que impiden la síntesis de eicosanoides a partir del ácido araquidónico, el cual se encuentra esterificado a los fosfolípidos de membrana (40). Frente a la injuria de los tejidos existe destrucción celular y ruptura de membranas liberándose fosfolípidos y lisosomas. La liberación de lisosomas conlleva a la aparición de múltiples mediadores pro-inflamatorios como la histamina y la bradicinina. A su vez, se produce la activación de la enzima fosfolipasa A2. Esta enzima hidroliza el enlace éster de los fosfolípidos de membrana con la liberación del ácido araquidónico. El ácido araquidónico puede seguir dos vías; la vía de la ciclooxigenasa (COX) o la vía de la lipooxigenasa (LOX). Por acción de las COXs se generan prostaglandinas y tromboxanos, que sin ser los únicos constituyen importantes mediadores de la inflamación. Además, por la vía de la LOX se producen leucotrienos, sustancias hipersensibilizantes y vasoconstrictoras con efecto quimiotáctico sobre eosinófilos, neutrófilos y macrófagos. Estos favorecen la broncoconstricción y trastornos de

permeabilidad capilar. Cabe recalcar que los AINEs al inhibir a las COXs no suprimen la formación de leucotrienos.

Existen tres isoformas de la enzima ciclooxigenasa, COX-1, COX-2 y COX-3. La primera se expresa en la mayoría de los tejidos en forma fisiológica o constitutiva (mucosa gástrica, plaquetas y riñones) y es responsable de la síntesis de prostaglandinas (PGs) con función protectora de la mucosa gástrica (citoprotectoras), que regulan la función renal y la actividad plaquetaria. La COX-2 (principal isoenzima asociada a la inflamación) se expresa en forma constitutiva en el sistema nervioso central, riñón y aparato reproductor. La COX-2 es inducida por estímulos inflamatorios producidos por macrófagos, monocitos y células endoteliales, donde se generan PGs que median el dolor y la inflamación. Estas PGs probablemente juegan un papel en el riñón, cerebro, fisiología de la reproducción, desarrollo del embrión y reparación de los tejidos. La COX-3, es codificada por dos genes que comparten la misma estructura, pero que se sitúan en diversos cromosomas. Es la más abundante en la corteza cerebral, médula espinal y el corazón. Los AINEs ejercen su actividad antiinflamatoria principalmente a través de la inhibición de las COXs en el sitio de la inflamación. Se postula que la Inhibición de la COX-1 sería la responsable de los efectos adversos de los AINEs clásicos sobre la mucosa gastrointestinal, mientras que sus beneficios terapéuticos dependerían de la inhibición de la COX-2. La principal ventaja de los fármacos que actúan inhibiendo la 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. La actividad de COX-3 es inhibida selectivamente por AINEs, es

así, que la inhibición de esta representa un mecanismo central primario por el cual estas drogas disminuyen el dolor y la fiebre (40).

La mayor parte de los AINEs son ácidos orgánicos que inhiben de forma competitiva y reversible las COXs. Además cada molécula puede tener ciertas acciones farmacológicas diferenciales que potencien su utilización como antiinflamatorios tal como; interferir la activación de neutrófilos, producción de aniones superóxido, inhibición de moléculas de adhesión, o como analgésicos. También debe considerarse la posibilidad de efectos en el SNC, modulando la síntesis del glutamato, la transducción del receptor NMDA, la síntesis de sustancia P, etc (12).

Diversos estudios experimentales intentan diferenciar el efecto analgésico y antiinflamatorio de cada AINE en función de la dosis necesaria para conseguir cada uno de ellos. El efecto analgésico puede ser medido por la prueba de las contorsiones inducidas por ácido acético en el ratón. En esta prueba se inyecta en el abdomen del ratón una dosis conocida de irritante (ácido acético) que le produce una serie de espasmos. La administración de diversas dosis de diferentes AINEs, produce inhibición dosis dependiente de las contorsiones abdominales. El efecto antiinflamatorio se puede medir, entre otros ensayos, mediante la prueba del edema plantar inducido por carragina en la rata. La carragina inyectada en la almohadilla plantar de una extremidad de la rata produce una gran inflamación que se puede medir por pletismografía (diferencial del volumen de líquido que desplaza la extremidad sumergida antes o después de inyectar la carragina). La administración de varias dosis de AINEs inhibe este efecto inflamatorio. Con estas pruebas se demostró que los AINEs presentan una diferente selectividad por los efectos analgésicos y antiinflamatorios (17).

5.3.- Reacciones Adversas de los AINEs:

Una reacción adversa a una droga es cualquier respuesta no deseada y no intencionada que ocurre con la dosis terapéutica de ella. Además de tener diferentes propiedades terapéuticas, los AINEs tienen una serie de efectos indeseados, consecuencia de acciones farmacodinámicas expresadas por todos aquellos sistemas en los que las prostaglandinas cumplen funciones fisiológicas. Algunas de las reacciones adversas a estos fármacos afectan los sistemas gastrointestinal, renal, cardiovascular y hepático. Además, alteran la actividad plaquetaria, la gestación y producen reacciones anafilácticas. Con el desarrollo de AINEs selectivos para la COX-2, se ha logrado la disminución en gran parte de los efectos indeseables de estos fármacos, sobre todo los gastrointestinales, los cuales se asocian con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas citoprotectoras.

5.4.- Perfil Farmacológico del Dexketoprofeno Trometamol

El Dexketoprofeno es el ácido S (+)-2(3- benzoilfenil) propiónico o enantiómero S (+) del ketoprofeno. Farmacológicamente pertenece a la familia de los AINEs propiónicos usados en terapéutica por sus efectos analgésico, antiinflamatorio y antipirético. El proceso de desarrollo e investigación del ketoprofeno se encuadra dentro de la tendencia actual hacia la sustitución de fármacos racémicos por su fórmula enantioméricamente pura, con el fin de reducir la dosis de fármaco necesaria para alcanzar un determinado efecto terapéutico e incrementar la potencia y seguridad del mismo. Muchas drogas y la mayoría de las moléculas de nuestro cuerpo están compuestas por quirales. Esta propiedad define la característica de algunas moléculas que poseen una

estructura espacial simétrica respecto de un átomo de carbono central, de tal forma que tiene la misma composición química, pero diferente configuración tridimensional. Es decir, pueden existir en el espacio dos formas diferentes que son imágenes especulares entre sí y no superponibles. A cada una de estas dos estructuras espaciales que presentan una simetría especular se les denomina isómeros ópticos (20). La descripción de los isómeros se realiza según la posición de la molécula alrededor del carbono central. El enantiómero en que la dirección o el orden de los radicales de mayor a menor sigue las agujas del reloj se le asigna la letra "R" (de "rectus", derecha) y aquel en que el orden de sus radicales es antihorario se les denominó como "S" (por "siniestra", izquierda). La dirección de la rotación óptica se denomina con (+) cuando es hacia la derecha y (-) cuando es hacia la izquierda. Técnicamente, los pares de isómeros opuestos son referidos como enantiómeros del griego "enantios", que significa opuestos (33).

En la síntesis química de los AINEs se producen numerosos quirales, por ejemplo los derivados del ácido propiónico; ibuprofeno y flurbiprofeno y otros como ketorolaco y butilbufeno. Los fármacos quirales suelen utilizarse como mezclas racémicas, las cuales contienen 50% de cada enantiómero. La importancia de la quiralidad en el mecanismo de acción de los AINEs, se debe a que el centro receptor de la 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 (8). En el caso de los AINEs quirales, solo el enantiómero S (+) es capaz de bloquear la acción de ambas COXs y por lo tanto en él reside la actividad farmacológica del ketoprofeno (21). Por el contrario el enantiómero R (-) carece de actividad terapéutica frente a esta enzima, destacando así la importancia de la estructura tridimensional en la inhibición de las COXs (11).

Ha habido un creciente conocimiento de que los enantiómeros de los AINEs pueden ser químicamente similares, sin embargo, son asimilados en forma diferente por el organismo. Al administrar el R (-) ketoprofeno se complica la cinética del fármaco, ya que es preciso metabolizarlo y excretarlo, sin obtener ningún provecho terapéutico (11). Por esta razón han sido separados, para utilizar sólo el isómero óptico activo, llamado "eutómero". Así, la cantidad de fármaco a ser absorbido, metabolizado y excretado se reduce a la mitad conjuntamente con la reducción de los efectos secundarios relacionados a este componente no activo, también llamado "distómero" (33).

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, atravesándolas fácilmente sin necesidad de transporte activo. Esta característica estaría asociada con una rápida y mayor penetración en el SNC a través de la barrera hematoencefálica y posiblemente actuar a nivel de la médula espinal, así como también en el tálamo. Esto plantea la posibilidad de un efecto analgésico central, distinto a la acción analgésica periférica que pueda ocurrir en el sitio de la injuria mediante la inhibición de la COX-2 (33). El dexketoprofeno ha demostrado inhibir estereoselectivamente la actividad de COX microsomal en cerebro de ratas, lo que se ha sugerido como mecanismo para explicar el efecto analgésico central de los AINEs (5). El dexketoprofeno administrado por vía oral se absorbe rápidamente en el intestino delgado. En el ser humano la biodisponibilidad relativa del fármaco oral en dosis de 25 mg es similar a la del ketoprofeno racémico oral en dosis de 50 mg (16). Estudios de farmacocinética en voluntarios sanos demostraron que la preparación como sal trometamínica tiene un rango de absorción más alto que su forma ácida libre y que el racemato. Una dosis de 25 mg alcanza la máxima

concentración plasmática (Tmax) en 0.25-0.75 horas, mientras que el ketoprofeno original con una dosis mayor de 50 mg, demora entre 0.5-3 horas en alcanzar su Tmax (4). La absorción del dexketoprofeno es tan rápida que en la práctica podría igualar a la inyección intramuscular. A su vez la concentración plasmática máxima (C max) es de 3.1 mg/L. Por su carácter ácido hace que se una altamente a proteínas plasmáticas (99%). Es metabolizado en el hígado utilizando la enzima citocromo P 450. La droga tiene un alto número de metabolitos, principalmente derivados hidroxilos, los cuales son rápida y completamente eliminados.

En humanos la principal vía de excreción es renal (aproximadamente 70-80 % en 12 horas). No hay presencia de la droga en su forma original en la orina. En la práctica, la absorción, distribución y eliminación de las preparaciones altamente lipofílicas como lo es el dexketoprofeno trometamol son controlados mayormente por el rango de difusión de la droga a través de las membranas y compartimientos hidrofílicos (4). El dexketoprofeno es usado ampliamente para el tratamiento del dolor leve a moderado en situaciones de odontalgias, alivio del dolor post-operatorio en cirugía bucal, afecciones músculo esqueléticas dolorosas como osteoartritis, etc. Su mayor ventaja es su rápida velocidad de acción analgésica y potente actividad antiinflamatoria (33). Al ser comparado con ibuprofeno en el manejo del dolor postoperatorio tras cirugía bucal de extracción de terceros molares incluidos o semi-incluidos, se comprobó que el dexketoprofeno 25 mg es más efectivo en la primera hora tras la intervención, que el Ibuprofeno 600 mg (16). Otro estudio donde se comparó la eficacia y tolerancia de dexketoprofeno v/s tramadol, demostró ser tan efectivo como tramadol 50 mg durante los primeros días del postoperatorio en cirugía ortopédica (4). Dexketoprofeno ha demostrado tener un perfil de seguridad comparable o mejor incluso que tramadol y diclofenaco (19). Su

rápida absorción pareciera ofrecer alguna protección frente a complicaciones gastrointestinales, provocadas por irritación directa de la mucosa gástrica independiente de la bioinhibición de la COX-1 (33). La acción ulcerogénica de las sales de trometamol, especialmente del ketoprofeno trometamol es muy baja; 5 veces menor que el ketoprofeno racémico. De esta forma tanto dexketoprofeno como el ketoprofeno racémico se deben evitar en pacientes con enfermedad gastrointestinal activa o en pacientes susceptibles a sufrir úlceras.

5.5.- Perfil farmacológico de Nimesulida

Este AINE (nitrofenoximetansulfonilida), es un agente antiinflamatorio no esteroide cuya estructura química se asemeja a los inhibidores selectivos de la COX-2. Es el primer AINE descrito para inhibir la COX-2, selectivamente (40). Nimesulida se absorbe en forma rápida y extensa, concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan en unas 4 horas después de la administración oral. El compuesto se liga altamente a proteínas plasmáticas (mayor a 95%). La vida media es de casi 3 horas. Nimesulida se metaboliza a un derivado 4-hidroxi y los metabolitos se excretan de modo preferente (más de un 80%) por vía renal. Tiene buenas actividades analgésicas y antipiréticas esperadas en AINEs y es efectiva en un amplio rango de desórdenes. Estos incluyen condiciones artríticas, desórdenes músculo esqueléticos, cefaleas, dolor post-quirúrgico y dolor de cáncer, enfermedades vasculares e inflamación de vías aéreas. Es particularmente interesante que nimesulida sea usualmente seguro para pacientes con broncoconstricción por aspirina u otros AINEs (1). En un estudio comparativo entre nimesulida y diclofenaco se encontró que nimesulida tiene un rápido comienzo de acción en el compartimiento sanguíneo, con una temprana inhibición en la generación de prostaglandina E2, el cual es un índice de

actividad de COX-2. Así otros factores además de la inhibición local de prostaglandinas pueden explicar el rápido comienzo de analgesia que es asociado con nimesulida, incluyendo un posible mecanismo central de alivio del dolor (10). Otro estudio comparativo de eficacia entre nimesulida, celecoxib y rofecocib para la osteoartritis de rodilla, encontró que nimesulida provee el efecto más rápido en el alivio del dolor comparado con las otras dos drogas (2).

Nimesulida es generalmente bien tolerada por todos los pacientes, incluyendo ancianos y también en niños. Interacciones con otras drogas son poco comunes y la incidencia de eventos adversos en ancianos es comparable a personas jóvenes. La acidez débil de nimesulida (PKa 6.5) también contribuye a su relativamente buena tolerabilidad gástrica (3). En 5 a 10 % de quienes la reciben, se han observado efectos adversos que suelen expresarse en vías gastrointestinales, piel y sistema nervioso. Nimesulida es útil en individuos con hipersensibilidad alérgica a la aspirina u otros AINEs. En un estudio sobre seguridad de nimesulida y meloxicam como drogas alternativas en pacientes intolerantes a AINEs se encontró que el 98.5 % de los pacientes toleró nimesulida y un 95.4 meloxicam (30).

El mecanismo de acción de nimesulida incluye: (a) Inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas, es la primera droga promocionada con un efecto preferencial sobre COX-2 comparada con COX-1, como es demostrado por estudios en leucocitos humanos y tejido de mucosa gástrica aislada, lo que está relacionado a su relativamente buena tolerabilidad (36); (b) Inhibición de la formación de metabolitos tóxicos del oxígeno: los metabolitos tóxicos del oxígeno contribuyen a la inflamación y al dolor. Con neutrófilos humanos activados in vitro, nimesulida reduce sustancialmente la actividad de la vía de la mieloperoxidasa (la cual forma ácido hipocloroso), disminuyendo también la formación de peróxido de hidrogeno. Nimesulida también protege la α -1

antitripsina de la oxidación mediada por neutrófilos, posibilitando así el atenuamiento de la actividad elastolítica de los neutrófilos (26); (c) liberación de citoquinas: la reducción en la liberación y acción de citoquinas por nimesulida muestra ser única entre AINEs. En ratas la droga inhibe la liberación de factor de necrosis tumoral α (TNF α) el cual gobierna la producción y liberación de otras citoquinas hiperalgésicas, disminuyendo de este modo la sensibilización de receptores como la amplificación de la respuesta nociceptiva (25); (d) degradación de cartílago: Nimesulida reduce significativamente la síntesis de enzimas degradativas en cartílago osteoartroítico humano in vitro por IL-1 esto resulta en una menor tendencia a la destrucción de cartilago (25). Estudios recientes en ratas, señalan que nimesulida presenta un significativo efecto analgésico en el test del movimiento de la cola y en el test de la formalina. Además la droga se muestra efectiva sobre la hiperalgnesia inducida con nitroglicerina. El mapeo cerebral de los núcleos activados por la administración de nitroglicerina muestra que el pretratamiento con nimesulida inhibe significativamente la activación neuronal en diversas áreas como el núcleo supraóptico, la columna ventrolateral de la sustancia gris periacueductal, locus coeruleus, núcleo del tracto solitario y área postrema. Se podría concluir que nimesulida posee una fuerte actividad analgésica y antihiperalgésica, siendo sus mecanismos de acción particularmente centrales (35).

Nimesulida presta una gran utilidad a la odontología en el alivio del dolor e inflamación en el postoperatorio de acciones como cirugía oral y maxilofacial. La eficacia y tolerancia de nimesulida fue comparada con el ketoprofeno, ambos administrados rectalmente en pacientes intervenidos en cirugía dental. Nimesulida resultó ser más efectivo y más rápido que el otro fármaco en aliviar los síntomas molestos de la inflamación (dolor en reposo y masticación) y signos como aumento de volúmen e hiperemia asociados con la operación.

Estos efectos se acompañan además de una mejoría de la calidad del sueño y un restablecimiento de la función masticatoria y de la deglución (26). En relación a las contraindicaciones y efectos adversos, hay que señalar que en pacientes bajo esquemas posológicos prolongados con nimesulida debieran realizarse controles hematológicos periódicos y pruebas de evaluación de las funciones hepática o renal. En forma ocasional se pueden presentar malestares gastrointestinales, derivados de la bioinhibición de la COX-1.

6.- Asociación de fármacos:

Si se co-administran 2 drogas es posible obtener 3 tipos de efectos:

(a) aditivos, que corresponde a la simple suma de los efectos que produce cada una de ellas, (b) subaditivo: también llamado antagónico, corresponde a un efecto menor que la simple suma de cada agente por separado y (c) sinérgico o supra-aditivo: que es un efecto mayor a la simple suma de sus efectos por separado (34). El estudio de drogas que produzcan sinergismo al co-administrarse, es de gran importancia para conseguir mayor eficacia en el tratamiento, en este caso, del dolor y una reducción de las reacciones adversas punto de alto interés en farmacología clínica.

HIPÓTESIS:

"La administración de dexketoprofeno y/o nimesulida produce actividad analgésica y antiinflamatoria en un ensayo algesiométrico visceral agudo, que es modulada por el sistema serotoninérgico".

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antinociceptiva de dexketoprofeno y nimesulida en el ensayo algesiométrico experimental de dolor agudo tónico visceral denominado test de las contorsiones abdominales y estudiar la participación del sistema serotoninérgico en dicha actividad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal (i.p.) de dexketoprofeno y/o de nimesulida en el test de las contorsiones abdominales.
2. Caracterizar la potencia analgésica de dexketoprofeno y/o de nimesulida.
3. Evaluar por isobogramas la interacción de nimesulida y dexketoprofeno en el mencionado test.
4. Estudiar la participación del sistema serotoninérgico en la actividad antinociceptiva de dexketoprofeno y/o nimesulida.

MATERIAL Y METODOS:

1. Animales y administración de fármacos:

En el estudio fueron usados ratones machos de la cepa CF/1 (*Mus musculus*), que se observan en la fotografía 1, con un peso de 28 a 30 gramos, los que fueron aclimatados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación, la cual se realizó de acuerdo a un protocolo aprobado por la comisión de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (protocolos 84 y 131). Cada animal seleccionado de manera aleatoria, fue usado solo una vez y recibió una dosis de las drogas estudiadas. Las observaciones fueron efectuadas en forma randomizada, ciega y controladas con salino. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después de realizado el experimento mediante el método de dislocación cervical. Las drogas que se administraron disueltas en solución salina fueron: dexketoprofeno (3, 10, 30 y 100 mg/kg) y nimesulida (1, 3, 10 y 30 mg/kg), para determinar su DE50. Las respectivas DE50 de ambas se administraron intraperitonealmente (i.p.), (fotografía 2), en un volumen constante de 10 (ml/Kg), 30 minutos antes del ensayo algiesiométrico, ya que experimentos preliminares demuestran que es el tiempo en que se alcanza el efecto analgésico máximo. Los animales usados como grupo control fueron tratados con salino al 0.9% (i.p.).

Además se efectuó un pretratamiento i.p., 30 minutos antes de la administración de dexketoprofeno y nimesulida con: 0,1 mg/kg de propranolol; 0.01 mg/kg de risperidona y 1 mg/kg de tropisetron en forma separada.



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



Fotografía 2: Administración de droga. (i.p)

2. Método de las contorsiones abdominales o writhing test.

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó mediante el método algiesiométrico writhing test o test de las contorsiones abdominales, en el cual se utilizó un estímulo nociceptivo, químico irritativo, que corresponde a la inyección intraperitoneal de 10 (mg/Kg.) de solución de ácido acético al 0.6%, que produce un dolor de tipo visceral, que se midió contando el número de contorsiones que presentó el animal durante un período de 5 minutos, después de 5 minutos post inyección del ácido acético. Una contorsión es definida como una contracción de los músculos abdominales acompañado de la elongación del cuerpo y extensión de una o ambas extremidades posteriores (23). Los resultados se expresaron como porcentaje de antinocicepción (% AN) de acuerdo con la siguiente expresión:

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

Donde: WE = número de contorsiones de los animales inyectados con droga, y
WC = número de contorsiones en los animales inyectados con salino (controles)

3. Análisis Isobolográfico de la interacción dexketoprofeno /nimesulida:

Para el estudio de las interacciones entre las drogas se utilizaron dosis que producen un 50% del efecto máximo (DE50), que se calcularon mediante el análisis de regresión lineal por cuadrados mínimos de las correspondientes curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados (i.p.) en seis animales

por cada una de cuatro dosis. La interacción entre las drogas se efectuó administrando i.p., combinaciones de dexketoprofeno y de nimesulida, en relación 1:1 de acuerdo a proporciones de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las DE50. La coadministración se efectuó en los animales después del pretratamiento con propranolol; risperidona; o bien tropisetron, antagonistas de los receptores 5-HT1, 5-HT2 y 5-HT3 respectivamente, que permitió estudiar la participación del sistema serotoninérgico.

La evaluación de las interacciones se realizó por el método isoblográfico del laboratorio, en la forma descrita por Tallarida y Murray (34), que corresponde a representaciones gráficas de dosis isoefectivas de cada uno de los fármacos utilizados individualmente y combinados. Este tipo de análisis permite conocer si existe interacción, de que tipo y cual es su magnitud.

Para la combinación de nimesulida con dexketoprofeno se determinó la DE50 mediante el análisis de regresión lineal de su curva dosis respuesta. Esta dosis se comparó estadísticamente con la que representa teóricamente la adición simple de efectos, la cual se obtiene según la siguiente fórmula:

$$DE50 \text{ aditividad teórica} = DE50 \text{ droga 1} / (P1 + R \times P2)$$

Donde:

R: relación de potencia entre las drogas 1 y 2 administradas por si solas.

P1: proporción de la droga 1 en la mezcla.

P2: proporción de la droga 2 en la mezcla.

El punto experimental resultante se grafica en un sistema de coordenadas cartesianas que contienen una línea que conecta la DE50 de

nimesulida en la abscisa con la DE50 de dexketoprofeno en la ordenada (línea de aditividad simple).

La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. En el caso de que la interacción sea sinérgica, el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso contrario, si resultase antagónica, el punto se ubicará sobre la línea de aditividad y por último, si el punto se ubica en un sector cercano a la línea de aditividad, la interacción será de simple aditividad.

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

$$\text{DE50 experimental / DE50 teórico}$$

Si el valor resultante es menor que 1 corresponde a una interacción de tipo sinérgica; al resultar igual a 1 la interacción es aditiva, y si es mayor que 1, es antagónica (23).

4. Análisis Estadístico:

El análisis estadístico de los datos obtenidos, se calcularon con un programa computacional del laboratorio. La significación estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($p < 0.005$).

RESULTADOS

1.-Grupo control:

La administración de una solución fisiológica vía i.p., 30 minutos antes del estímulo nociceptivo (ácido acético al 0.6%), produjo 19.77 ± 0.3 contorsiones, (n = 30). En la fotografía 3, se muestra una contorsión típica obtenida en el ensayo algesiométrico.



Fotografía 3. Contorsión abdominal típica obtenida en el ensayo algesiométrico.

2.-Grupo tratado con AINEs:

Dexketoprofeno: la administración de dexketoprofeno de 3-100 mg/kg, i.p., en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales, produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente. De esta curva se dedujo la DE50 que resultó ser de $13,3 \pm 1.8$ (mg/kg.). Ver gráfico 1.

Nimesulida: Al administrar nimesulida por igual vía en dosis de 1-30 mg/kg induce una respuesta antinociceptiva de naturaleza dosis-dependiente. La DE50 calculada de este AINE resultó ser de 7.6 ± 1.25 (mg/kg.). Ver gráfico 1.

3.-Paralelismo de las curvas dosis-respuesta.

El análisis estadístico de las curvas dosis-respuesta de dexketoprofeno y nimesulida, demostró que ellas no son estadísticamente paralelas, como se muestra en el gráfico 1.

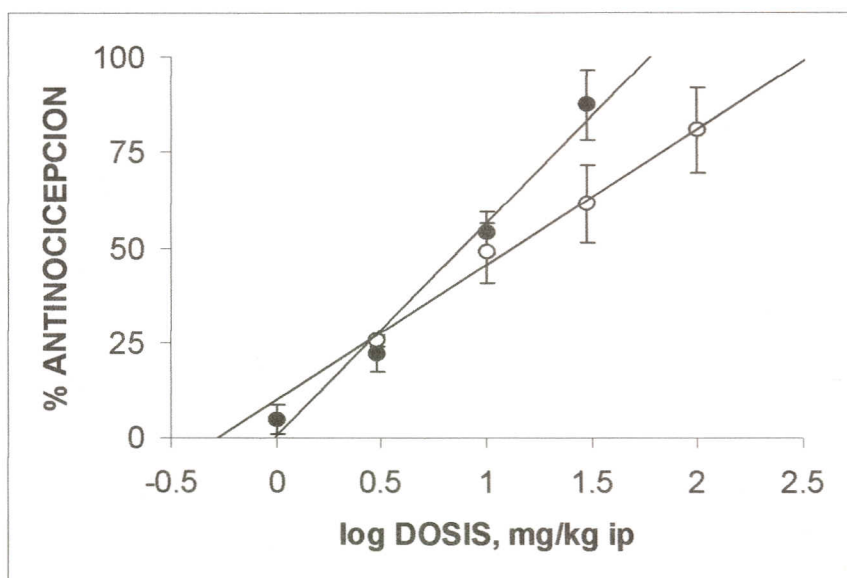


Gráfico 1. Curvas dosis-respuesta a dexketoprofeno (○) y nimesulida (●) en el ensayo del writing test.

4.-Análisis Isobolográfico:

El estudio de la interacción analgésica entre dexketoprofeno y nimesulida fue realizado por análisis isobolográfico. Los resultados demostraron que dicha interacción es de naturaleza sinérgica o supraaditiva, con un índice de interacción de 0.437, observable en el gráfico 2.

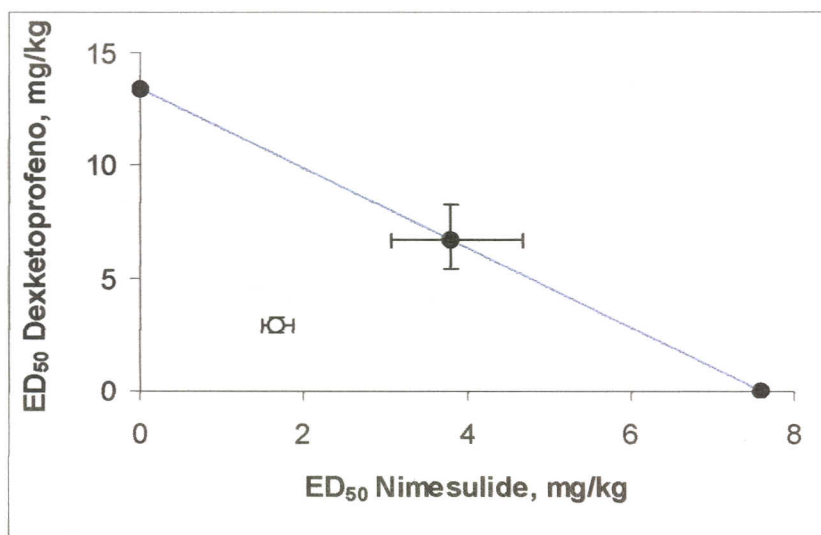


Gráfico 2. Isoblograma de la interacción analgésica entre dexketoprofeno y nimesulida, en el writing test. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, el (○) corresponde al punto experimental.

El pretratamiento de los animales con propranolol (0.1 mg/kg i.p.) no modifica la naturaleza de dicha interacción, el índice de interacción obtenido fue de 0.417, que no es significativamente diferente al índice 0.437 obtenido sin el pretratamiento con propranolol. Todos estos resultados se observan en el gráfico 3.

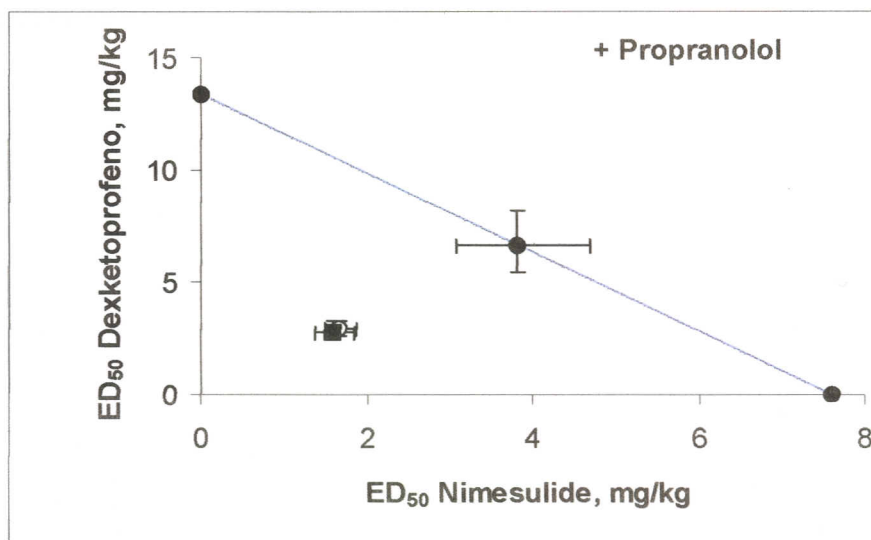


Gráfico 3. Isobolograma de la interacción analgésica entre dexketoprofeno y nimesulida, en el writing test. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, el (○) corresponde al punto experimental y el (■) al punto experimental obtenido después del pretratamiento con 0.1 mg/kg., de propranolol.

El pretratamiento de los animales con risperidona (0.01 mg/kg i.p.), no modificó la naturaleza de la interacción, ya que la ubicación del punto que representa la DE50 de la mezcla dexketoprofeno/nimesulida no es significativamente diferente al que se obtiene sin la previa administración del antagonista de receptores 5-HT₂. Además, el índice de interacción fue de 0.322 que no es significativamente diferente al índice obtenido sin pretratamiento con risperidona. Estos resultados se observan en el gráfico 4.

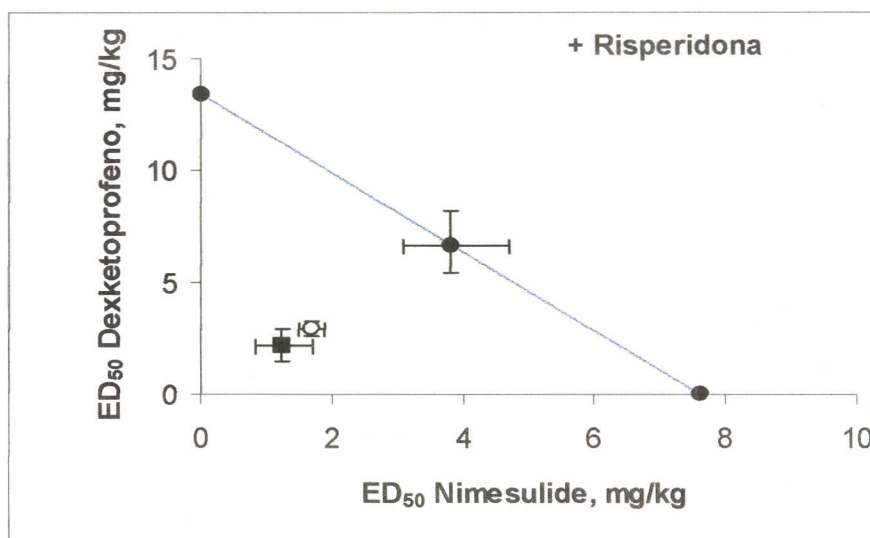


Gráfico 4. Isoblograma de la interacción analgésica entre dexketoprofeno y nimesulida, administrados por vía intraperitoneal, en el modelo del writing test. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, el (○) corresponde al punto experimental y el (■) al punto experimental obtenido después del pretratamiento con 0.01 mg/kg de risperidona.

El pretratamiento de los animales con tropisetron (1 mg/kg i.p.), no modificó la naturaleza de la interacción, ya que la ubicación del punto que representa la DE50 de la mezcla dexketoprofeno /nimesulida no es significativamente diferente al que se obtiene sin la previa administración del antagonista de receptores 5-HT3. Además, el índice de interacción fue de 0.427 que no es significativamente diferente al índice obtenido sin pretratamiento con tropisetron. Resultados que se observan en el gráfico 5.

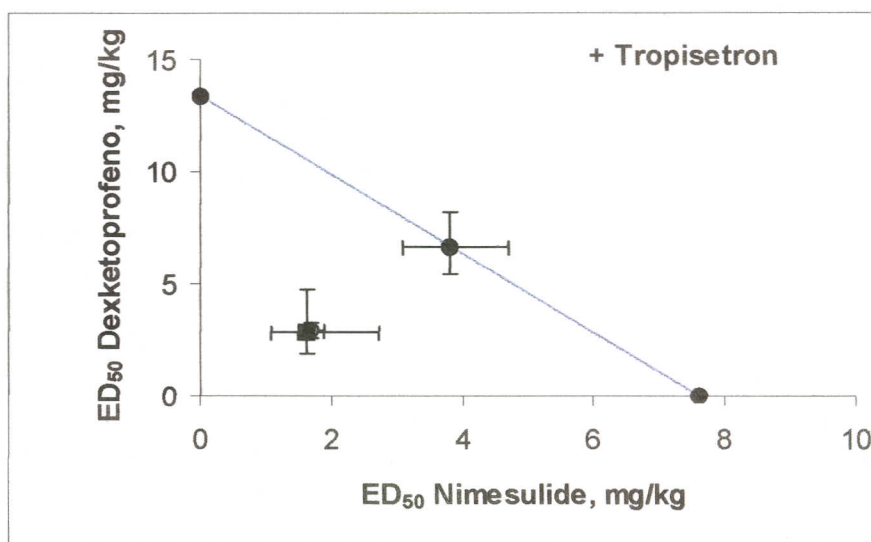


Gráfico 5. Isoblograma de la interacción analgésica entre dexketoprofeno y nimesulida, administrados por vía intraperitoneal, en el modelo del writing test. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, el (○) corresponde al punto experimental y el (■) al punto experimental obtenido después del pretratamiento con 1 mg/kg de tropisetron.

DISCUSIÓN

El presente trabajo demuestra que la administración de dexketoprofeno o de nimesulida por vía i.p. produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente en el test de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético. Los resultados obtenidos son concordantes con otros estudios algesiométricos (22, 23). Se explica su acción al inhibir en forma competitiva y reversible la actividad de la COX-1 y de la COX-2, respectivamente (40). La eficacia de nimesulida resultó ser 1,92 veces mayor que la de dexketoprofeno, lo que podría estar relacionado con la actividad inhibitoria mayor de COX-2 que de COX-1 (40).

La DE50 de dexketoprofeno es aproximadamente un 50% menor que la reportada para ketoprofeno (23), lo que comprueba que la efectividad de los AINEs derivados de los ácidos propiónicos quirales reside en la administración del enantiómero S (+) de la mezcla racémica. Este enantiómero tiene muchos beneficios comparados con el racemato y presenta un perfil de tolerabilidad y una disminución de la variabilidad farmacocinética. Aunque el enantiómero R (-) efectivamente posee propiedades analgésicas mediante mecanismos no relacionados a la inhibición de prostaglandinas, es menos potente que su contrapartida, el S (+) (5, 11, 33).

El hecho, de que las curvas dosis-respuesta de nimesulida y dexketoprofeno resultaron ser estadísticamente no paralelas, sugiere que poseen un mecanismo de acción analgésico diferente, agregado a la inhibición de las COXs. Se ha descrito que nimesulida, es un inhibidor selectivo de la COX-2 (40), pero además inhibe la producción de anión superóxido y otros radicales libres por parte de los leucocitos polimorfonucleares (25). Por otra parte dexketoprofeno también actúa inhibiendo la actividad de COXs pero se

ha demostrado que no actúa selectivamente sobre COX-2, presentando otros efectos como: actividad antibradicinina y actividad estabilizadora de la membrana lisosomal. Además la distribución cerebral y en médula espinal de dexketoprofeno marcado con carbono 14 en ratas, plantea la posibilidad de un efecto analgésico central, distinto a la acción periférica que pueda ocurrir en el sitio de la injuria (5, 11, 21). De lo anterior, es posible inferir que dexketoprofeno y nimesulida, actuarían a niveles diferentes para producir su actividad analgésica.

La administración de dexketoprofeno y de nimesulida por vía i.p produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente de tipo sinérgico o supra-aditivo que es concordante con la teoría de que al asociar dos o más fármacos que producen el mismo efecto, activando 2 mecanismos diferentes, se obtiene un efecto sinérgico (23).

La falta de cambios estadísticamente significativos en la sinergia antinociceptiva de dexketoprofeno con nimesulida producida por el pretratamiento con propranolol, antagonista 5-HT₁; risperidona, antagonista 5-HT₂; tropisetron, antagonista 5-HT₃; sugiere que el sistema serotoninérgico no está comprometido en los mecanismos de acción de dicha interacción. Esto puede deberse a que la selectividad de los antagonistas para los receptores 5-HT empleados, en la nocicepción, es insuficiente para caracterizar la participación de dicho sistema. Otra posibilidad es que las dosis administradas de propranolol, risperidona y tropisetron no resultaran las necesarias para competir en forma adecuada con la activación de los sistemas receptoriales involucrados en los efectos analgésicos de la serotonina. Es de suponer la existencia de receptores libres, no antagonizados, y por lo tanto la reducción esperada de analgesia podría no suceder. En consecuencia, se podría suponer que es necesaria la estimulación de todos los receptores para conseguir el

máximo de analgesia y por tanto, el bloqueo de todos ellos para lograr el efecto contrario.

Existen antecedentes de otros estudios, que sugieren que la serotonina (5-HT) está implicada en los mecanismos de inhibición descendente del dolor, de esta forma los receptores 5-HT tienen un rol en la modulación del dolor (12, 32), en donde a la 5-HT se le asignan efectos antinociceptivos a nivel central (9, 22, 27, 43). Lo esperable entonces sería que al administrar antagonistas de los receptores 5-HT se disminuyeran los umbrales del dolor y que por lo tanto la actividad antinociceptiva de los AINEs se viera disminuida como se ha evidenciado en otros estudios, en donde el pretratamiento con p-CPA, un inhibidor de la síntesis de serotonina, produjo una disminución significativa de la antinocicepción de AINEs (22). Sin embargo, en el presente estudio, la sinergia de la interacción de dexketoprofeno – nimesulida no se vio disminuida, lo que podría explicarse porque inhibiendo la síntesis de serotonina se alteran todos los mecanismos en los que ella participa, por ejemplo nocicepción, lo que no es posible de lograr con el bloqueo de sólo 3 subtipos de receptores. Aún más, contribuiría a explicar la falta de efecto en la sinergia, por el bloqueo de los receptores 5-HT₁, 5-HT₂ y 5-HT₃, las interacciones pronociceptivas de la serotonina al inhibir a otros neurotransmisores o las acciones periféricas de esta en donde el agonismo de sus receptores ha evidenciado su participación en la hiperalgesia (31, 32, 42).

La administración conjunta de dexketoprofeno y nimesulida produce efectos antinociceptivos sinérgicos que no dependen de la modulación del sistema serotoninérgico, por lo menos a través de los receptores 5-HT₁, 5-HT₂ y 5-HT₃. Este hallazgo permite sugerir la exploración de otras alternativas de antagonismo farmacológico en la asociación de fármacos.

La importancia del presente estudio, radica en que se demuestra que al coadministrar nimesulida y dexketoprofeno, se pueden obtener efectos analgésicos sinérgicos o supraaditivos. Este hallazgo es de relevancia clínica, ya que al usar dosis inferiores a las terapéuticas, de cada uno de los fármacos asociados, se logra disminuir significativamente los efectos adversos de cada uno de ellos y se incrementa paralelamente la potencia analgésica. Estos resultados son de gran utilidad para el tratamiento farmacológico del dolor agudo postoperatorio y también en tratamientos de dolor crónico.

CONCLUSIONES

- El dexketoprofeno y nimesulida administrados por vía intraperitoneal producen un efecto antinociceptivo dosis-dependiente, en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales.
- La administración combinada, vía i.p., de dexketoprofeno y nimesulida produce una interacción analgésica de naturaleza sinérgica.
- La efectividad de los AINEs derivados de los ácidos propiónicos quirales reside en la administración del enantiómero S (+) de la mezcla racémica.
- El pretratamiento de los animales con propranolol, antagonista 5-HT₁; risperidona, antagonista 5-HT₂ y tropisetron, antagonista 5-HT₃ no altera la naturaleza de la interacción sinérgica de la mezcla dexketoprofeno - nimesulida.
- Al coadministrar dos AINEs, que presentan diferencias en su mecanismo de acción, se producen efectos sinérgicos, que resultarían de importancia clínica, porque junto con disminuir las dosis se incrementa el efecto analgésico, minimizando las reacciones adversas.

RESUMEN

Existe una gran variedad de fármacos capaces de inhibir el dolor, entre ellos se destacan los AINEs, los cuales se ocupan para tratar el dolor leve a moderado y como co-adyudantes en otras terapias; sin embargo producen una serie de efectos adversos que dificultan su uso.

En el presente trabajo, se estudio la interacción analgésica de la co-administración de dexketoprofeno y nimesulida en el test de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético y la participación del sistema serotoninérgico en dicha interacción. Se usaron ratones de la cepa CF- 1, a los que se les administró vía intraperitoneal 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 de las DE50 de la combinación dexketoprofeno – nimesulida y por medio de análisis isobolográfico se determinó que interacción, resultó ser sinérgica o supra-aditiva. El pretratamiento con: propranolol 0,1 mg/kg (i.p.) antagonista 5-HT₁; risperidona 0,01 mg/kg (i.p.) antagonista 5-HT₂; tropisetron 1mg/kg (i.p.) antagonista 5-HT₃, no modificó la naturaleza de la interacción, lo que pone en evidencia que la participación del sistema serotoninérgico a través de estos receptores no participa significativamente, en el mecanismo de acción de la combinación dexketoprofeno – nimesulida.

SUGERENCIAS

En el presente estudio se demuestra el efecto sinérgico entre dexketoprofeno y nimesulida. La naturaleza de esta interacción no se vio modificada por el sistema serotoninérgico a través de los receptores estudiados. Se sugiere que para complementar el estudio de analgesia bimodal de AINEs, se podría evaluar:

- Mecanismo de acción de la nocicepción sinérgica en otros ensayos como tail-flick, formalina, dolor neuropático experimental, etc.
- Modulación del sistema serotoninérgico, a través de otros receptores.

REFERENCIAS

1. Bianco S, Robuschi M, Petrigli G, Sauri MG, Refini RM, et al. "Efficacy and tolerability of nimesulide in asthmatic patients intolerant to aspirin". *Drugs*.46(suppl.1): 115-20, 1993.
2. Bianchi M, Broggini M, " A randomised, double blind, clinical trial comparing the efficacy of nimesulide, celecoxib and rofecoxib in osteoarthritis of the knee". *Drugs*.63 suppl. 1:31-36, 2003.
3. Bjarnason I, Thjodleifsson B." Gastrointestinal toxicity of NSAIDs. The effect of nimesulide compared to naproxen on the human gastrointestinal tract". *Rheumatology*. 38(suppl.1): 24-32, 1999.
4. Burke D, Bannister J. "Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management" .*Acute Pain*. 5: 57-62, 2003.
5. Cabraza A, Cabre F, Garcia AM. "Stereoselective inhibition of rat brain cyclooxygenase by dexketoprofeno.Chirality". 9: 281-285, 1997.
6. Cerveró F, Laird JMA. Fisiología del dolor. En: Aliaga L. Baños JE, Barutell C, et al (eds). *Tratamiento del dolor: teoría y práctica*. Barcelona, MCR 1995: 9-25.
7. Cerveró F. Laird J. Visceral pain. *Lancet* 1999; 353:2145-2148.
8. Cheng CH, Wong CS, Ho ST. "Spinal action of non-steroidal antiinflammatory drugs" . *Acta Anaesthesiol*; 34:81-88, 1996.
9. Danzebrink. RM, Gebhart GF. "Evidence that spinal 5-HT₁, 5-HT₂ y 5-HT₃ receptor subtypes modulate responses to noxious colorectal distension in the rat", *Brain res*.538(1); 64-75, 1971.
10. Duffy T, Belton O, "Inhibition of PGE₂ production by nimesulide compared by diclofenac in the acutely inflamed joint of patients with arthritis". *Drugs*. 63 suppl.1:31-36, 2003.

11. Evans AM. "Enantioselective pharmacodynamic and pharmacokinetics of quiral non-steroidal anti-inflammatory drugs". *Eur Journal Clin Pharmacology*.43: 237-256, 1992.
12. Fürst S, "Transmitters involved in antinociception in the spinal cord". *Brain Res. bull.* 48 (2): 129-141, 1999.
13. He H. Richardson J. S. "A pharmacological, pharmacokinetic and clinical overview of risperidone a new antipsychotic that blocks serotonin 5-HT₂ and dopamine D₂ receptors". *Int. Clin. Psychopharmacol.* 10(1); 19-30, 1995.
14. H. Wolf. "Preclinical and clinical pharmacology of the 5-HT₃ receptor antagonists". *Scan. J. Rheumatol.* 29 suppl 113; 37-45, 2000.
15. International Association for the Study of Pain, 1986. *Definición of Pain Terms.*(Suppl): 1-222
16. Jiménez Martínez E, Gásco García C, Arrieta Blanco. "Estudio de la eficacia analgésica del dexketoprofeno trometamol 25 mg.v/s Ibuprofeno 600 mg, tras su administración oral en pacientes sometidos a una intervención quirúrgica oral". *Med Oral.* 9:38-148, 2004.
17. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. "Animal models of nociception". *Pharmacol Rev.*53: 597-652, 2001.
18. Lopez-Muñoz FJ, et al." Análisis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rat". *Eur J Pharmacol*, Jan 26; 484(2-3): 157-65, 2004.
19. Marenco L, Perez M, Navarro J. "A multicentre randomized double blind study to compare dexketoprofen trometamol v/s diclofenac in the symptomatic treatment of knee osteoarthritis". *Clin. Drug Invest.*19: 247-256, 2000.

20. Matheson D. "Through the chemical looking glass". *New Scientist*.132: 35-39, 1991.
21. McGurk M, and cols. "Clinical Comparison of dexketoprofen trometamol, ketoprofen , and placebo in postoperative dental pain.*J Clin Pharmacol*.38: 46s-54s, 1998.
22. Miranda HF, Lemus I., Pinardi G."Effect of the inhibition of serotonin biosynthesis on antinociception induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs". *Brain Res. Bull.* 61; 417-425, 2003.
23. Miranda HF, Puig MM, Prieto JC, Pinardi G. "Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain". *Pain* 121: 22-28, 2006.
24. Ottonello L.et al. "2 Nimesulide as a downregulator of the activity of the neutrophil myeloperoxidase pathway: Focus on the histoprotective potencial of the drug during inflammatory processes". *Drugs*.46 (suppl.1) :29-33, 1993.
25. Pelletier JP, Martel-Pelletier J. "Effects of nimesulide and naproxeno n the degradation and metalloprotease síntesis of human osteoarthritic cartilage". *Drugs*.468suppl.1): 34-9, 1993.
26. Pierleoni P, Tonelli P, Scaricabarozzi I. "A double blind comparison of nimesulide and ketoprofen in dental surgery". *Drugs*: 46: 68-70, 1993
27. Sasaki M. "Antinociception whit intrathecal alpha-metyl-5-hydroxytryptamine a 5-hydroxytryptamine 2A/2C receptors agonist, in two rat models of sustained pain". *Anesth. Analg.* 96(4); 1072-1078, 2003.
28. Sasaki M. and cols. "Effect of 5-HT2 an 5-HT3 receptors on the modulation of nociceptive transmission in rat spinal cord according to the formalin test". *Eur. J. Pharmacol* 424(1); 45-52, 2001.

29. Schreiber S. and cols. "Augmentation of opioid induced antinociception by the atypical antipsychotic drug risperidone in mice". *Neurosci. Lett.* 228(1); 25-28, 1997.
30. Senna GE , Passalacqua G. " Nimesulide and meloxicam are safe drugs for patients intolerant to nonsteroidal anti-inflammatory drugs." *Allerg Immunol (Paris)*. Dec; 35 (10): 393-6, 2003.
31. Sommer C. "Serotonin in pain and analgesia: actions in the periphery". *Mol. Neurobiol.* 30(2); 117-125, 2004.
32. Sommer C. "Is serotonin hyperalgesic or analgesic". *Curr. Pain Headache Rep.* 10(2); 101-106, 2006.
33. Sweetman BJ. "Development and use of quick acting chiral NSAID dexketoprofen trometamol (keral)". *Acute Pain.* 4: 109-115, 2003.
34. Tallarida Rj, Murray RB. *Manual of Pharmacologic Calculation with computer program*, 2nd edition, Springer-Verlag, New York 1987.
35. Tassorelli C., Greco R, "Central components of the analgesic/Antihyperalgesic effect of nimesulide". *Drugs*. 63 suppl.1: 9-22, 2003.
36. Tavares LA, " Activity of nimesulide on constitutive and inducible cyclooxygenases". *Arzneimittelforschung/Drug Res.* 45: 1093-117, 1995.
37. Tokunaga A. And cols. "5-HT_{2A} receptor subtype is involved in the thermal hyperalgesic mechanism of serotonin in the periphery". *Pain* 76(3); 349-355, 1998.
38. Turk D y Melzack R. "The measurement of pain and the assessment of people experiencing pain, en *Handbook of pain assessment*". Capítulo 1. Turk, D. y Melzack, R. (eds). The Guilford Press. New York. 1999.