

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

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

Darío Felipe Alcayaga Cáceres

TRABAJO DE INVESTIGACION  
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE  
CIRUJANO DENTISTA

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

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

**Santiago – Chile  
2006**

# ÍNDICE

	<b>Páginas</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>Marco teórico</b> .....	<b>5</b>
<b>Hipótesis y Objetivos</b> .....	<b>28</b>
<b>Material y método</b> .....	<b>29</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>36</b>
<b>Discusión</b> .....	<b>42</b>
<b>Conclusiones</b> .....	<b>45</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>46</b>
<b>Referencias</b> .....	<b>47</b>

## INTRODUCCIÓN

A través de la historia podemos encontrar controversias con relación a la conceptualización del dolor. En todas las épocas el dolor ha sido una preocupación inmediata y real, pero las actitudes y creencias de la gente han variado su enfoque pasando por lo mágico, lo teológico, lo fisiológico y lo práctico en diferentes grados y con diferente énfasis. El dolor es principalmente un mecanismo que sirve para proteger al organismo. 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” (1). El término potencial indica que si el dolor se mantiene por un tiempo prolongado, implicara que la permanencia de la noxa produce daño tisular.

El componente fisiológico del dolor se denomina nocicepción, el cual consiste en el proceso de transducción, transmisión y modulación de las señales nerviosas generadas por un estímulo nocivo externo o interno y los mecanismos por los cuales estas señales son transmitidas al sistema nervioso central. La fisiopatología del dolor involucra interacciones muy complejas de diversas estructuras periféricas y centrales (2). Para producir una sensación dolorosa es necesaria la estimulación de receptores específicos, conocidos como terminaciones nerviosas libres, estos se encuentran en el tejido celular subcutáneo, músculos, articulaciones, vísceras y piel, pueden ser estimuladas por varios agentes como calor superior a 45<sup>o</sup> grados, presión, lesión de fibras del dolor, por inyección de sustancias químicas o daño tisular. 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 (3,4).

Los estímulos nociceptivos activan simultáneamente mecanismos de modulación inhibitoria, situados a nivel periférico, espinal y supraespinal. Se han identificado a nivel periférico sistemas inhibitorios que participan en la modulación inhibitoria del proceso inflamatorio (5). Entre ellos tiene especial relevancia el sistema opioide endógeno (SOE). Este sistema se encuentra ampliamente distribuido en el organismo y entre otras funciones fisiológicas, participa en la modulación inhibitoria de la nocicepción. También es de vital importancia el óxido nítrico (NO) a través del sistema NO-GMP cíclico en la modulación de la nocicepción.

Para lograr una mejor comunicación entre los clínicos, debe haber un lenguaje común y un sistema de clasificación que pueda ser usado de manera consistente. 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 (6). 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 (7). El dolor asociado con daño tisular, inflamación o un proceso patológico, que relativamente, es de breve duración (horas, días o semanas), independientemente de la intensidad, es considerado como dolor agudo. Al

contrario, el dolor que persiste por largo período de tiempo (meses o años), que acompaña a una enfermedad o que está asociado a una injuria que no se ha resuelto en el tiempo esperado se denomina dolor crónico.

El dolor representa una de las preguntas más antiguas y angustiantes que se plantean todos los médicos desde los tiempos de Hipócrates, por un lado aliviar el sufrimiento y por otro, comprender los mecanismos de producción de dolor, que se presentan hoy en día como aspectos prioritarios, por lo que más de la mitad de los médicos lo desconocen por falta de información y de enseñanza sobre este tema, así como el de no saber distinguir la diferencia esencial que existe, entre lo que es el dolor agudo y dolor crónico, persistiendo las consecuencias adversas de esta confusión en el plano del diagnóstico y el tratamiento.

En odontología el dolor es un problema común en todas sus áreas, por lo que el conocimiento de las diferentes alternativas terapéuticas para el tratamiento y control del dolor resulta fundamental, para una práctica médica adecuada y requiere una consideración de una dosis apropiada, del tipo de medicamento y la enfermedad que se está tratando.

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  $\alpha$ -adrenérgicos, serotoninérgicos, anestésicos locales, colinérgicos, cannabinoides, antiinflamatorios no esteroideos, opioides. 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 sus 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 mas 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 (8). 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 (8), la naturaleza de la interacción entre nimesulida y dexketoprofeno no ha sido reportada. por lo que esta investigación aporta una visión mas global respecto al estudio de la interacción entre AINEs. El propósito de esta investigación es valorar la naturaleza de la interacción entre dexketoprofeno y nimesulide en un ensayo algesiometrico en ratones y estudiar la participación del sistema opioide y de la vía NO-GMP cíclico en dicha actividad.

## MARCO TEÓRICO

La definición de dolor de la IASP considera en primer lugar que el dolor no es una experiencia puramente nociceptiva (sensorial), sino que incluye además componentes emocionales y subjetivos inseparables de la sensación dolorosa; en segundo lugar esta definición evita decir claramente que el dolor está producido únicamente por el daño tisular, pudiendo aparecer sin causa somática que lo justifique. El componente fisiológico del dolor se denomina nocicepción, el cual consiste en el proceso de transducción, modulación y transmisión de las señales nerviosas generadas por un estímulo nocivo (externo o interno) hacia el sistema nervioso central (SNC), en el que se realiza el análisis de la naturaleza, localización, intensidad y duración de la estimulación nociceptiva.

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) y en la naturaleza de su origen o mecanismo (dolor somático, visceral, neuropático y psicogénico)

**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 (7).

**c.- Dolor Somático:** Se origina por una lesión a nivel de la piel, los músculos, ligamentos, articulaciones o huesos. Se caracteriza por ser un dolor bien localizado, circunscrito a la zona dañada y que no suele acompañarse de reacciones vegetativas (náuseas, vómitos, diaforesis). Es habitualmente bien localizado y el paciente no tiene grandes dificultades para describirlo (10).

**d.- Dolor Visceral:** Se origina por la lesión de órganos internos, aunque en condiciones fisiológicas, no todas las vísceras manifiestan dolor en respuesta a estímulos nocivos. El dolor visceral se caracteriza por ser difuso y extenderse a otros territorios alejados del órgano lesionado. Con frecuencia se localiza en una superficie del organismo distante de la víscera que lo origina (por ejemplo el dolor en la extremidad superior izquierda en la angina de pecho), casos en los que se denomina dolor referido. Se acompaña con frecuencia de reacciones vegetativas y es clásicamente descrito por el paciente como un dolor inespecífico, de localización difusa, mal definido (10).

**e.- Dolor Neuropático:** Llamado también “anormal” o “patológico”, aparece en una minoría de individuos y es el resultado de una lesión y alteración de la transmisión de la información nociceptiva a nivel del SNC o Periférico. En este caso no existe relación causal entre la lesión tisular y el dolor. Una de sus principales características, que se puede considerar patognomónica, es la presencia de *alodinia*, es decir la aparición de dolor frente a estímulos que habitualmente no son dolorosos; así por ejemplo en pacientes con neuralgia post-herpética, el roce de las sábanas sobre la zona afectada, produce dolor. Otros ejemplos de dolor neuropático son las radiculopatías, la neuralgia del trigémino, el dolor de miembro fantasma, los síndromes de dolor regional complejo y distintas neuropatías periféricas (diabética, urémica).

**f.- Dolor Psicogénico:** Ocurre cuando el paciente describe problemas psicológicos o psiquiátricos. Si bien el daño estuvo o está presente, el problema central es la amplificación y distorsión de los impulsos periféricos por el estado psicológico.

## **2.-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.

### **2.1.- 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. Debido a su capacidad de responder a estímulos dolorosos, los nociceptores han sido llamados también “receptores del dolor”.

La característica esencial de un nociceptor es su capacidad para diferenciar entre estímulos inocuos y estímulos nocivos. Esto es debido al hecho, de que estos son capaces de activarse frente a estímulos de una determinada intensidad, mientras que no responden o responden irregularmente a estímulos de intensidad baja. 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 (11). 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  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ . 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.

### **2.1-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 medula espinal, conocido también como asta dorsal de la medula 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.

### **2.2.- 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 (laminas I a VI) forman el asta posterior aunque funcionalmente la lámina X, también puede ser incluida (4). Las fibras tipo A $\delta$  terminan en las láminas I y V y las de tipo C lo hacen en las laminas I y II. Las láminas II y parte de la III corresponden a la sustancia gelatinosa. La prolongación central de la neurona pseudo unipolar hace sinapsis en el asta dorsal, desde allí una segunda neurona cruza la línea media y asciende junto a la información que viene de niveles inferiores a través del tracto espinotalámico lateral, que asciende por el cordón lateral. Luego esta información llega al núcleo ventro -pósterio-lateral del tálamo en donde hace sinapsis. A este núcleo llega la información de dolor y temperatura de todo el cuerpo a excepción de la cabeza. Desde allí sale una tercera neurona tálamo cortical que terminara en la corteza cerebral, específicamente al área sensitiva primaria que se establece en el giro poscentral o circunvolución parietal

ascendente, en donde se encuentra el homúnculo sensitivo. 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 la fibras  $A\delta$ , es polisináptico, de conducción rápida (fibras mielinizadas), produce un dolor agudo y de localización precisa, ya que llega a la corteza e indica en forma somatotópica el tejido estimulado. Finalmente otra característica es que no responde a morfina. A nivel de la sustancia reticular del bulbo esta vía deja una colateral. Este sistema reticular continúa ascendiendo producto de múltiples sinápsis 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 quién 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 mas 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 esta involucrando al sistema límbico y el hipotálamo, como comando vegetativo.

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 (12).

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.

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 (5, 13). Además de los mediadores implicados en la activación /sensibilización de los nociceptores, se han identificado a nivel periférico sistemas inhibitorios que participan en la modulación inhibitoria del proceso inflamatorio. Entre ellos tiene especial relevancia el sistema opioide endógeno (SOE), formado por transmisores /moduladores de naturaleza peptídica y receptores específicos ( $\mu$ ,  $\delta$  y  $\kappa$ ). Este sistema se encuentra ampliamente distribuido en el organismo y entre otras funciones fisiológicas, participa en la modulación inhibitoria de la nocicepción.

Actualmente se ha demostrado la presencia de genes que codifican para los transmisores y receptores opioides en localizaciones periféricas, concretamente a nivel de los ganglios de la raíz dorsal, en células endocrinas y en el sistema inmune. En la periferia los receptores opioides están localizados en las fibras sensoriales y simpáticas de distintas estructuras (piel, articulaciones, plexos intestinales, etc.) y en células inmunes. Estas últimas expresan además genes que codifican  $\mu$ ,  $\delta$  y  $\kappa$  endorfinas y encefalinas y es

posible que a nivel periférico, el SOE constituya uno de los mecanismos de modulación inhibitoria de la inflamación (14).

### **2.3.- 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) (5,10). Los estímulos nociceptivos periféricos activan fibras sensoriales  $A\delta$  y C, que conducen esta información nociceptiva hacia el asta dorsal de la médula espinal (ADME). 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 (15). 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. Los mejor caracterizados hasta el momento en el ADME son el opioide, el  $\alpha_2$  –adrenérgico, el colinérgico, y el gabaérgico. Estos sistemas se activan por el estímulo nociceptivo y podrían actuar de forma sinérgica (7).

#### **2.4.- Biosíntesis de Óxido Nítrico:**

El óxido nítrico (NO) es un gas simple que participa en la regulación de diversas funciones entre las que se cuentan: participación en el sistema cardiovascular, nervioso, muscular e inmune (16). Este gas se sintetiza a partir de la conversión de L-arginina en óxido nítrico y L- citrulina proceso que requiere la participación de una enzima la óxido nítrico sintasa (NOS), oxígeno molecular, calmodulina y cofactores. Se han identificado 3 isoformas de NOS: la neural o tipo I (nNOS), la calcio independiente o tipo II, que se encuentra en macrófagos y otras células inmunológicas (iNOS) y la endotelial o tipo III (eNOS). La NOS I y III se encuentran normalmente en tejidos y producen pequeñas cantidades de NO al ser activadas por una elevación del calcio intracelular. La iNOS o tipo II no es constitutiva sino que su expresión, es inducida por estímulos inmunológicos–inflamatorios, produciendo NO en concentraciones mayores que son citotóxicas y citostáticas para las células blanco. Al ingresar a la célula el NO activa la guanidilciclasa, catalizando la transformación de guanosin trifosfato (GTP), en guanosin monofosfato cíclico (GMPc), provocando un aumento intracelular de GMPc, el cual es el mediador de sus efectos fisiológicos, incluyendo dolor y analgesia (17).

La biodisponibilidad del GMPc esta modulada por una fosfodiesterasa cuyas isoformas son tejido dependiente, por lo que constituyen blancos farmacológicos para amplificar el efecto del NO; por ejemplo sildenafil, adquiere especificidad por inhibir una fosfodieterasa V, que se expresa particularmente en tejido eréctil y pulmonar. El NO tiene una vida media de 4 a 5 segundos en condiciones fisiológicas, siendo inactivado por oxidación. La NOS puede ser inhibida por derivados estructurales del aminoácido arginina tales como: N-nitro- L- arginina (L- NAME) y N- mono-metil-L-arginina (L-NMMA), usando

fármacos activadores e inhibidores de la cascada L-arginina/NO/GMPc, se ha reportado que el NO juega un rol nociceptivo y antinociceptivo en los tejidos periféricos donde se encuentra esta vía, ya que inhibidores de la NOS han demostrado ejercer un efecto antinociceptivo y nociceptivo en modelos animales. Así se ha demostrado la participación de la vía L-arginina –NO en la modulación del dolor. En ellos se ha establecido que la liberación de acetilcolina, sustancia que estimula la liberación de NO constitutivo, antagoniza la hiperalgesia inducida en ratas por prostaglandina E2 (PGE2) y carragenina, así como las contorsiones inducidas en ratones por ácido acético (18). Además, los donadores exógenos de NO como nitroprusiato sódico, nitroglicerina y SIN – L, antagonizan la hiperalgesia inducida por un estímulo inflamatorio como la carragenina o la PGE2, lo que sugiere que el efecto antinociceptivo del NO en estas condiciones experimentales es mediado a través de la estimulación de GMPc (19). Por el contrario, estudios sobre el rol del NO en la nocicepción periférica sugieren que el NO tiene más bien un rol pronociceptivo en los estados de dolor inducidos por estímulos como carragenina, capsaina, glutamato, formalina o estímulos mecánicos. Estos resultados contradictorios podrían depender del animal usado en el estudio y el estímulo doloroso utilizado (17).

Hay creciente evidencia que indica el rol del NO en el desarrollo y mantención de los mecanismos que provocan hiperalgesia, provocada por estímulos mecánicos, químicos, o térmicos. El NO juega un rol en la percepción del dolor en muchos niveles de la vía nociceptiva. Periféricamente; las neuronas primarias aferentes y los ganglios del asta dorsal contienen NOS. A nivel central, en el cerebro y el tálamo, varias estructuras sensoriales también contienen esta enzima. Pareciera ser que los reflejos nociceptivos involucran un receptor de glutamato, el NMDA (N-metil-D aspartato), el cual media la

producción de NO. Existe una serie de evidencias que indican que la activación aferente nociceptiva da como resultado una mayor excitabilidad de las neuronas espinales, fenómeno conocido como sensibilización central. Estudios farmacológicos sugieren que la sensibilización central es parcialmente mediada por la activación de receptores NMDA, lo que se relaciona con la producción de NO neural. Esto se produce por la liberación presináptica de glutamato, el cual produce un flujo transmembrana de calcio y la activación de la n-NOS, con la consecuente producción de NO. Este gas difunde y se introduce en la terminación presináptica, estimulando una mayor secreción de glutamato, es decir se produce un feed back positivo a nivel central (17). Basándose en estas observaciones se propuso que el NO neural puede modular la hiperexcitabilidad de neuronas dorsales y jugar por lo tanto un papel pronociceptivo en estados de dolor (19).

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

### **3.- Analgésicos –antiinflamatorios no esteroidales:**

Los analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (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, 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 (20).

Por eso son usados en terapéutica como:

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

### **3.1 Clasificación de los AINEs:**

Los AINEs pueden ser clasificados según su estructura química en:

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

### **3.2 Mecanismo de acción de los AINEs:**

El mecanismo de acción de los AINEs clásicos consiste principalmente en la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs) de manera que impiden la síntesis de eicosanoides a partir del ácido araquidónico, el cual se encuentra esterificado a los fosfolípidos de membrana (20). 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 bradiquinina. A su vez, cuando se produce la agresión de los tejidos por diferentes agentes, se activa 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 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 dos formas isoformas de la enzima ciclooxigenasa, COX-1 y COX-2. La primera se expresa en la mayoría de los tejidos en forma fisiológica o constitutiva (mucosa gástrica, plaquetas y riñones) y es responsable de la síntesis de prostaglandinas (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 (20). 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 (20).

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 (5).

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 (21).

### **3.3 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.

### **3.4 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 si y no superponibles. A cada una de estas dos estructuras espaciales que presentan una simetría especular se les denomina isómeros ópticos (22). 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 (9).

En la síntesis química de los AINEs se producen numerosos quirales, por ejemplo los derivados del ácido propionico; ibuprofeno y flurbiprofeno y otros como ketorolcaco 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 solo reaccionara con los enantiómeros que sean tridimensionalmente complementarios (23). 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 (24). 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 (5).

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 (25). Por esta razón han sido separados, para utilizar solo el isómero óptico activo, llamado “eutomero”. 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 “distomero”(9).

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 (5). 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 (9). 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 (26). 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 (27). 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 (28). 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/lit (19). 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 (19, 28). 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 (9). 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 (27). 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 (28). Dexketoprofeno ha demostrado tener un perfil de seguridad comparable o mejor incluso que tramadol y diclofenaco (29). 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 (9). 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 racemico se deben evitar en pacientes con enfermedad gastrointestinal activa o en pacientes susceptibles a sufrir úlceras.

### 3.5 Perfil farmacológico de Nimesulida

Este AINE (nitrofenoximetansulfonilida), es un nuevo agente antiinflamatorio no esteroide cuya estructura química se asemeja a los inhibidores selectivos de la COX-2. Es 20 veces más potente en inhibir la COX - 2 en monocitos, que la COX1.

Es el primer AINE descrito para inhibir la COX-2, selectivamente (20). 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 (30). 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 (31). Otro estudio comparativo de eficacia entre nimesulida, celecoxib y rofecicib para la osteoartritis de rodilla, se encontró que nimesulida provee el efecto más rápido en el alivio del dolor comparado con las otras dos drogas (32).

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 (33). 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 (34).

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, esto relacionado a su relativamente buena tolerabilidad (35); (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  $\alpha$ -1 antitripsina de la oxidación mediada por neutrofilos, posibilitando así el atenuamiento de la actividad elastolítica de los neutrófilos (36); (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  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 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 (37); (d) degradación de cartílago: Nimesulida reduce significativamente la síntesis de enzimas degradativas en cartílago osteoartístico humano in vitro por interleukina 1 esto resulta en una menor tendencia a la destrucción de cartílago (37).

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 bajo condiciones de laboratorio. Además la droga se muestra efectiva sobre la hiperalgesia 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, área postrema. Se podría concluir que nimesulida posee una fuerte actividad analgésica y antihiperalgésica, siendo sus mecanismos de acción particularmente centrales (38).

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 resulto 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. En un estudio realizado en pacientes del hospital San Juan de Dios, se demostró que la administración oral de 100 mg de nimesulida presenta una actividad analgésica superior al piroxicam a los 60, 120, 180, y 240 minutos después de la ingestión del medicamento, en pacientes que habían sido sometidos a cirugía de terceros molares incluidos (39,44). 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.

### **3.6 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 (40). Es importante el estudio de drogas que produzcan sinergismo, porque presentan un promisorio uso en el tratamiento del dolor y si a ello se agrega que normalmente el sinergismo va acompañado con una significativa disminución de las dosis y 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 opioide y nitridérgico.

### **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 opioide y de la vía NO-GMP cíclico 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 opioide en la actividad antinociceptiva de dexketoprofeno y/o nimesulida.
- 5.- Evaluar el efecto modulador de la vía NO-GMP cíclico, en la actividad antinociceptiva de dexketoprofeno y/o nimesulida.

## **MATERIAL Y METODOS:**

### **1. Animales y administración de fármacos:**

En el estudio fueron usados ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) machos de 28 a 30 gramos de peso, 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. 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 disueltas en solución salina fueron dexketoprofeno y nimesulida, los que se administraron intraperitonealmente (i.p.) en un volumen constante de 10 ml /Kg, 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, ya que experimentos preliminares demuestran que es el tiempo en que se alcanza el efecto analgésico máximo. Los animales usados como grupo control fueron tratados con salino (i.p.).

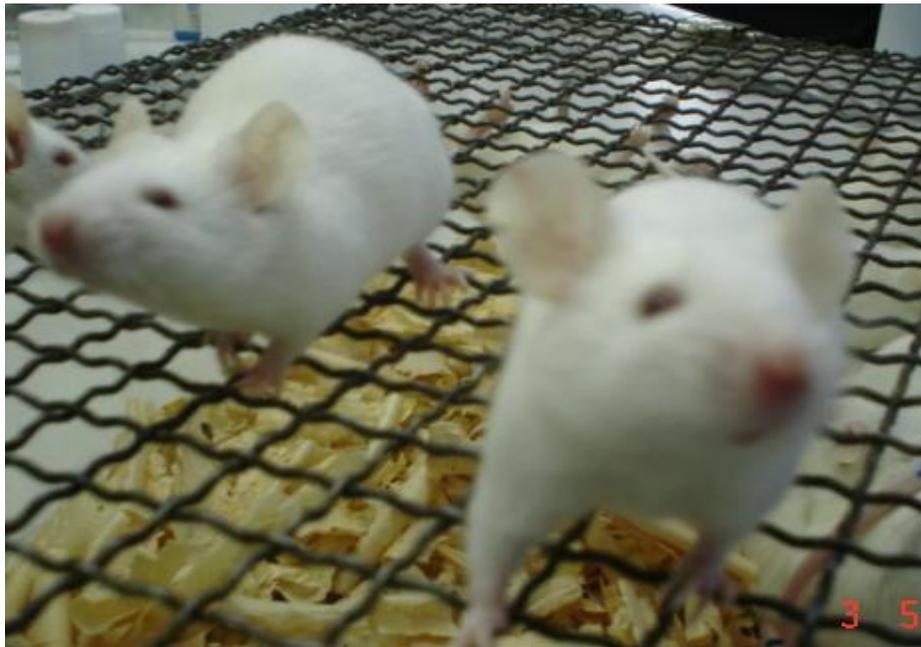


Figura 1: Ratones de la cepa CF/1, *Mus musculus*.



**Figura 2: Administración de droga. (i.p)**



**Figura 3: Administración de droga. (i.p)**

## **2. Método de las contorsiones abdominales o Writing test.**

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó mediante el método algosiométrico writing test o test de las contorsiones abdominales, en el cual se utilizó un estímulo nociceptivo, químico imitativo, 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 (8). 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 acuerdo a proporciones de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las DE50 de dexketoprofeno y de nimesulida. La coadministración se efectuó en los animales después del pretratamiento con 1mg/Kg., i.p. de L-NAME, un inhibidor no selectivo de NOS, que permitió estudiar la participación del sistema NO-GMP cíclico. Para la evaluación de la modulación opioide se uso 1 mg/Kg. i.p. de naltrexona, un antagonista no selectivo de receptores opioides.

La evaluación de las interacciones se realizó por el método isobolográfico del laboratorio, en la forma descrita por Tallarida y Murray (40), que corresponde a representaciones gráficas de dosis isoeffectivas de cada uno de los fármacos utilizados individualmente y combinados. Este tipo de análisis permite conocer si existe interacción, de que tipo y cual es su magnitud.

Para cada combinación de las drogas se determino la DE50 mediante el análisis de regresión lineal de su curva dosis respuesta. Esta dosis se comparó estadísticamente con la dosis que representa teóricamente la adición simple de efectos, que se obtiene según la siguiente formula:

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

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 la droga 1 en la abscisa con la DE50 de la droga 2 en la ordenada (línea de aditividad simple).

La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. En el caso de que la interacción sea sinérgica, el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso contrario, si resultase 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 (8).

### **Análisis Estadístico:**

El análisis estadístico de los datos obtenidos en las curvas log dosis-respuestas como los parámetros estadísticos relativos a los isobogramas, 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  $19.77 \pm 0.3$  contorsiones, (n = 30). En la figura 4, se muestra una contorsión típica obtenida en el ensayo algiesiométrico.

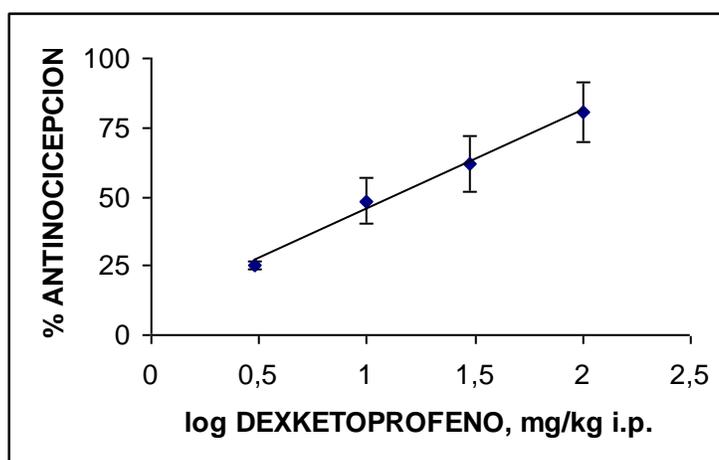


**Figura 4. Contorsión abdominal típica obtenida en el ensayo algiesiométrico**

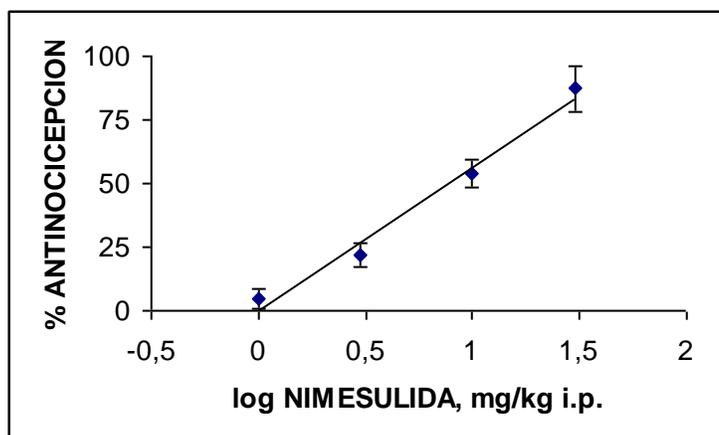
## 2. Grupo tratado con AINEs:

**Dexketoprofeno:** la administración de dexketoprofeno, i.p., en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales, produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, cuya curva se muestra en el figura 5. De esta curva se dedujo la DE50 que resultó ser de 14.6 +/- 1.8 mg/kg.

**Nimesulida:** Al administrar nimesulida por igual vía induce una respuesta antinociceptiva de naturaleza dosis-dependiente, como se observa en la figura 6. La DE50 calculada de este AINE resultó ser de 7.6 +/- 1.25 mg/kg.



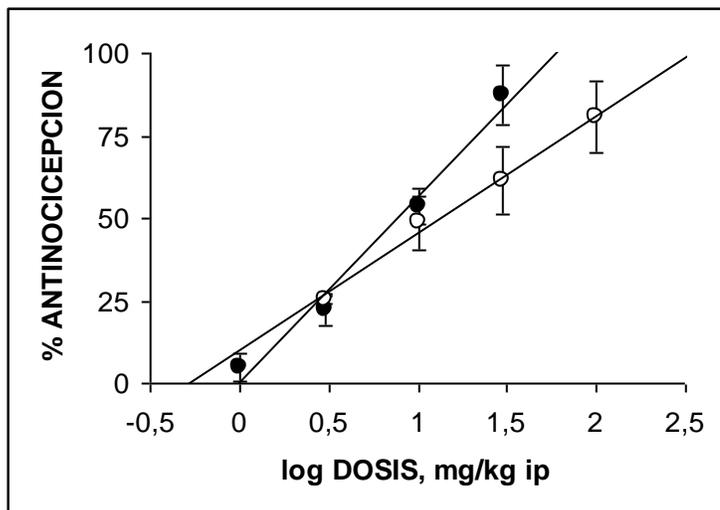
**Figura 5. Curva dosis -respuesta a dexketoprofeno en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético.**



**Figura 6. Curva dosis- respuesta a nimesulida en el ensayo del writing test.**

### **3. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta.**

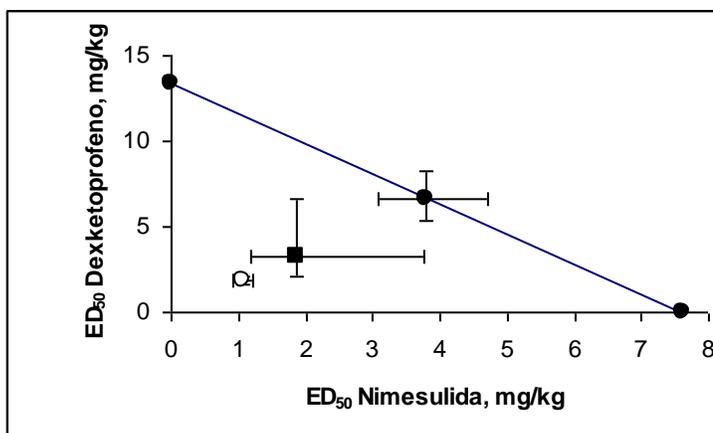
El análisis estadístico de las curvas dosis -respuesta de dexketoprofeno y nimesulida, demostró que ellas no son estadísticamente paralelas, como lo muestra la figura 7.



**Figura 7. Curvas dosis-respuesta a dexketoprofeno (○) y nimesulida (●) en el ensayo del writing test.**

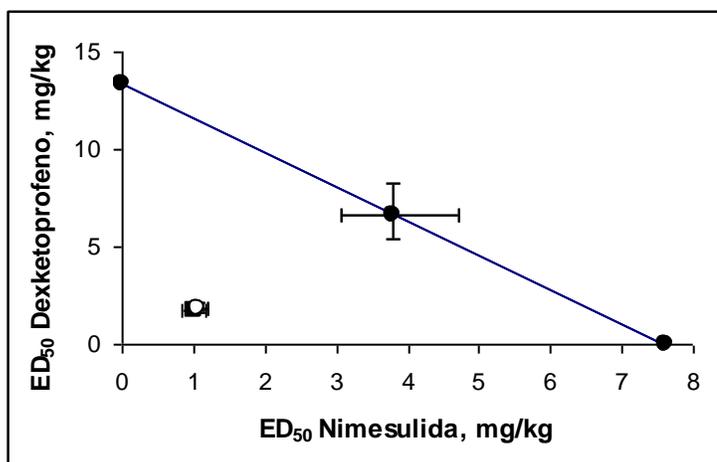
#### **4. Análisis Isoblográfico:**

El estudio de la interacción analgésica entre dexketoprofeno y nimesulida fue realizado por análisis isoblográfico. Los resultados demostraron que dicha interacción es de naturaleza sinérgica o supraaditiva, con un índice de interacción de 0.28. El pretratamiento de los animales con L-NAME (1 mg/kg i.p.) modifica la naturaleza de dicha interacción, a pesar que la ubicación del punto experimental obtenido se encuentra en el campo donde se ubican los puntos que representan sinergia, sin embargo, el índice de interacción obtenido fue de 0.48, que es significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) al índice 0.28 obtenido sin el pretratamiento con L-NAME. Todos estos resultados se observan en la Figura 8.



**Figura 8. 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 1 mg/kg de L-NAME.**

El pretratamiento de los animales con 1 mg/kg i.p. de naltrexona 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 no selectivo de receptores opioides. Además, el índice de interacción fue de 0.26 que no es significativamente diferente al índice obtenido sin pretratamiento con naltrexona. Todos estos resultados se observan en la figura 9.



**Figura 9 :** 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 naltrexona.

## 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 (8, 17, 41,42). En el caso de ambos AINEs, se explica su acción al inhibir en forma competitiva y reversible la actividad de la COX y en consecuencia la biosíntesis de PG y tromboxanos, mediadores del proceso inflamatorio. Sin embargo al analizar por separado cada uno de los fármacos se observa que la ED50 de nimesulida es aproximadamente un 50% menor que la ED50 de dexketoprofeno, lo que podría estar relacionado con la actividad inhibitoria mayor de COX-2 que de COX-1. La ED50 de dexketoprofeno es aproximadamente un 50% menor que la reportada para ketoprofeno (8). Este resultado concordante con los estudios clínicos donde se ha demostrado que 25mg de dexketoprofeno son equivalentes a 50 mg de ketoprofeno, lo que comprueba que la efectividad de los AINEs derivados de los ácidos propiónicos quirales reside en la administración del enantiómero S (+) de la mezcla racemica. Este enantiómero tiene muchos beneficios comparados con el racemato y presenta un perfil de tolerabilidad y una disminución de la variabilidad farmacocinética (27). 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 (+).

El hecho, de que las curvas dosis –respuestas de nimesulida y dexketoprofeno resultaron ser estadísticamente no paralelas, sugiere que poseen un mecanismo de acción analgésico diferente. Se ha descrito que

nimesulida, es un inhibidor selectivo de la COX-2 (20), pero además inhibe la producción de anión superóxido y otros radicales libres por parte de los leucocitos polimorfonucleares (36) y posee otras actividades, como captador de estos radicales libres; inhibición de la liberación de histamina por basófilos y mastocitos; un rol en la reducción de la acción y producción de citoquinas(30, 36, 37, 38). Además, se ha descrito participación del sistema nitridérgico en el mecanismo de acción de este AINE (42). Por otra parte dexketoprofeno también actúa inhibiendo la actividad de COXs pero se ha demostrado que no actúa selectivamente sobre COX-2 (43). Dexketoprofeno tiene otros efectos como: actividad antibradikinina 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 (24, 25, 26,). Todos estos antecedentes sugieren 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 (8).

La falta de cambios estadísticamente significativos en la sinérgia antinociceptiva de la co-administración de dexketoprofeno y nimesulida producida por el pretratamiento con naltrexona, sugiere que el sistema opioide no está comprometido o bien que naltrexona al ser un antagonista no selectivo

de receptores opioides, puede tener un efecto débil como para caracterizar su participación en los procesos fisiopatológicos. Otra posibilidad que podría explicar la ausencia de cambios significativos, es que la dosis administrada de naltrexona por vía sistémica no alcanza una concentración capaz de inhibir la actividad de los receptores opioides.

En relación al efecto del pretratamiento con L-NAME, los resultados sugieren una participación del sistema GMPc-NO que podría obedecer a que L-NAME al ser un inhibidor no específico de la NOS, puede tener efecto para caracterizar la participación de NO en los procesos fisiopatológicos, como lo han sugerido otros autores (43). Además, debe tenerse presente que los cambios en los efectos antinociceptivos son dependientes de variables que pueden ser alteradas por la administración previa de otros fármacos, y variables como tiempo y administración, absorción, distribución, etc.

En conclusión, la administración conjunta de dexketoprofeno y nimesulida produce efectos antinociceptivos sinérgicos que no dependen de la modulación del sistema opioide, ni significativamente de la activación del sistema NO-GMP cíclico. Este hallazgo permite sugerir la exploración de otras alternativas de asociación de fármacos, contribuyendo en forma significativa al incremento de las alternativas de analgesia bimodal.

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 serían de gran utilidad para el tratamiento farmacológico del dolor agudo postoperatorio y también en tratamientos de dolor crónico.

## CONCLUSIONES

- El dexketoprofeno produce un efecto antinociceptivo dosis-dependiente al ser administrado en forma i.p., en el test de las contorsiones abdominales .
- La nimesulida induce un efecto antinociceptivo de naturaleza dosis-dependiente, después de su administración sistémica en el mismo ensayo algiesiométrico.
- La administración combinada, vía i.p., de dexketoprofeno y nimesulida produce una interacción de tipo sinérgica o supra-aditiva.
- El pretratamiento de los animales con naltrexona no altera la naturaleza de la interacción sinérgica de la mezcla dexketoprofeno /nimesulida.
- El pretratamiento de los animales con L-NAME modifica levemente el índice de interacción sin cambiar la naturaleza de la interacción sinérgica.
- En este trabajo se 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 estudio confirma la sugerencia que al coadministrar dos AINEs, que presentan diferencias en su mecanismo de acción, se producen efectos sinérgicos, que resultan de importancia clínica, porque junto con disminuir las dosis se incrementa el efecto analgésico, minimizando las reacciones adversas.

## RESUMEN

Dentro de la gran variedad de fármacos capaces de producir un potente y selectivo efecto en la inhibición de la nocicepción, se encuentran los AINEs, que son muy usados en diferentes tipos de dolor. Sin embargo, el análisis de la modulación nitridérgica y opioide de los AINEs ha sido poco estudiado. El efecto del NO, por modificación de la NOS y la influencia moduladora del sistema opioide no han sido evaluados para la actividad antinociceptiva de dexketoprofeno y/o nimesulida y de sus combinaciones en un modelo de dolor agudo experimental. En el presente trabajo se estudió la interacción analgésica del isómero S (+) del ketoprofeno racémico, llamado dexketoprofeno con nimesulida, en el test de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético, Se usaron ratones de la cepa CF-1 *Mus musculus*, a los que se les administró por vía i.p., al tiempo del máximo efecto, combinaciones de la DE50 de dexketoprofeno y nimesulida y por análisis isobolográfico se evaluó la naturaleza de la interacción que resultó ser sinérgica o supraaditiva. Esta interacción, es independiente de la vía opioide, ya que naltrexona, no la alteró. Sin embargo, el pretratamiento con L-NAME, cambió sólo el índice de interacción, sin modificar significativamente la naturaleza de la interacción. Estos resultados demuestran que en la asociación sinérgica de dexketoprofeno con nimesulida el sistema opioide no participa y que la vía NO-GMPc modula parcialmente dicha asociación.

## REFERENCIAS

- 1.- International Association for the Study of Pain, 1986. Definición of Pain Terms.(Suppl): 1-222
2. - Guyton AC, May JA, Tratado de fisiología médica, 10ª ed., McGraw-Hill 2001, 669-680.
- 3.- Paeile C, Saavedra H. "El dolor, aspectos básicos y clínicos". capítulo 1: 20-29; 1990.
- 4.- Ciancio S, Borgault P. Farmacología Clínica para Odontólogos. Ed El manual moderno, S.A de C.V. México. 3ª Edición: 83-104, 1990.
- 5.- Fürst S, Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. Brain Research bulletin. 48 (2): 129-141, 1999.
- 6.- 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.
- 7.- 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.
- 8.- Miranda HF, Puig MM, Prieto JC, Pinardi G. Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain. Pain 2006; 121: 22-28.
- 9.- Sweetman BJ. Development and use of quick acting chiral NSAID dexketoprofen trometamol (Keral). Acute Pain. 4: 109-115, 2003.
- 10.- Dickenson AH. Pharmacology of pain transmission and control. En: Gebhart GF, Hammond DL, Jensen T (eds). Proceedings of the 8th World Congress on

Pain, Progress in Pain Research and Management, IASP Press, Seattle, 1996: 113-121.

11.- Cerveró F, Laird J. Visceral pain. Lancet 1999; 353:2145-2148.

12.- Villanueva L, Nathan PW. Multiple pain pathways. En: Devor M, Rowbotham MC, Wiesenfeld-Hallin Z (eds). Progress in Pain Research and Management Vol 16, 2000; IASP Press, Seattle, 371-386.

13.- Stein C. Peripheral mechanisms of opioid analgesia. Anesth Analg 1993; 76:182-91.

14.- Basbaum AI. Spinal mechanisms of acute and persistent pain. Reg Anesth Pain Med 1999; 24:59-67.

15.- Yaksh TL. Spinal systems and pain processing: development of novel analgesic drugs with mechanistically defined models. Trends Pharmacol Sci 1999; 20:329-337.

16.- Espulgues JV. NO as a signalling molecule in the nervous system. British J Pharmacol. 135: 1079-1095, 2002.

17.- Abacioglu N, Tunçtan B, Akbulut E. Participation of the components of L-arginine/nitric oxide/cGMP cascade by chemically-induced abdominal constriction in mouse. Life Sciences; 67: 1127-1137, 2000.

18.- Duarte ID, Lorenzatti BB, Ferreira SH. Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway. Eur J Pharmacol. 186:289-93, 1990.

19.- Beirith A, Creczynski-Pasa TB, Bonetti VR, Konzen M, Seifriz I, Paula MS, Franco CV, Calixto JB. Antinociceptive properties and nitric oxide synthase inhibitory action of new ruthenium complexes. Eur J Pharmacol. 369: 289-97, 1999.

20.- Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. FASEB J. 18: 790-804, 2004

- 21.- Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.*53: 597-652,2001.
- 22.- Matheson D. Through the chemical looking glass. *New Scientist.*132: 35-39,1991.
- 23.- Cherng CH, Wong CS, Ho ST. Spinal action of non-steroidal antiinflammatory drugs. *Acta Anaesthesiol* 1996; 34:81-88.
- 24.- McGurk M, Robinson P, Rajayogeswaran V , De Luca M , Casini A, Artigas R. "Clinical Comparison of dexketoprofen trometamol, ketoprofen , and placebo in postoperative dental pain. *J Clin Pharmacol.*38: 46s-54s,1998.
- 25.- Evans AM. Enantioselective pharmacodynamic and pharmacokinetics of quiral non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Eur Journal Clin Pharmacology.*43: 237-256,1992.
- 26.- Cabraza A, Cabre F, Garcia AM. Stereoselective inhibition of rat brain cyclooxygenase by dexketoprofeno. *Chirality.*9: 281-285,1997.
- 27.- 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.
- 28.- Burke D, Bannister J. Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management. *Acute Pain.* 5: 57-62,2003.
- 29.- Marengo 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.
- 30.- 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.

- 31.- 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.
- 32.- Bianchi M, Brogгинi 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.
- 33.- Bjarnanason 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.
- 34.- 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.
- 35.- Tavares LA, " Activity of nimesulide on constitutive and inducible cyclooxygenases".*Arzneimittelforschung/Drug Res*.45: 1093-117, 1995.
- 36.- 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.
- 37.- Pelletier JP, Martel-Pelletier J. "Effects of nimesulide and naproxen on the degradation and metalloprotease synthesis of human osteoarthritic cartilage".*Drugs*.46(suppl.1): 34-9, 1993.
- 38.- Tassorelli C., Greco R, "Central components of the analgesic/Antihyperalgesic effect of nimesulide".*Drugs*.63 suppl.1: 9-22,2003.
- 39.- Gallardo, Ana María. "Estudio comparativo de la actividad analgésica de nimesulida y piroxicam en cirugía oral". Trabajo de investigación, requisito para optar al título de Cirujano Dentista .U de Chile, 1997.
- 40.- Tallarida Rj, Murray RB.*Manual of Pharmacologic Calculation with computer*

program, 2<sup>nd</sup> edition, Spronger-Verla G, New York 1987.

41.- 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.

42.- Islas Cadena M, Aguirre-Banuelos P, Granados-Soto U. "Evidence for the participation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway in the antinociceptive effect of nimesulide". J. Pharmacol Toxicol M. 1999 oct; 42(2):87-92.

43.- García -Nieto R, Pérez C, Checa A, Gago F, "Molecular model of the interaction between and human cyclooxygenase-2", Rheumatology. 38(suppl,1) : 14-8, 1999.

44.- Pierleoni P, Tonelli P, Scaricabarozzi I. "A double blind comparison of nimesulide and ketoprofen in dental surgery". Drugs: 46: 68-70.1993