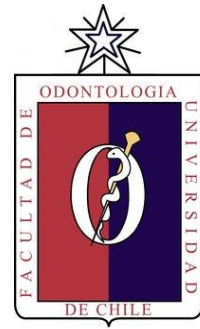




**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
LABORATORIO DE FARMACOLOGIA DEL DOLOR**



INTERACCIÓN ANALGÉSICA DE CELECOXIB Y KETOPROFENO EN DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL

SEBASTIÁN ANDRÉS ZÚÑIGA QUIDENAO

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

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

**TUTOR ASOCIADO
Prof. Dr. Fernando Sierralta G.**

**SANTIAGO, CHILE
2012**

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
MARCO TEÓRICO.....	6
HIPÓTESIS.....	27
OBJETIVOS.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
RESULTADOS.....	37
DISCUSIÓN.....	45
CONCLUSIONES.....	48
SUGERENCIAS.....	49

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Jorge Zúñiga y Marisol Quidenao por su apoyo y amor incondicional a lo largo de mi vida.

A mi "Mami" María Alcarruz, por estar siempre ahí, cuando la necesite, por su cariños y cuidados.

A toda mi familia por su apoyo, y la confianza que depositaron en mí.

A mi Polola Teresa Loyola, por su apoyo, cariño y amor que me ha entregado y que me entrega cada día

A mis amigos David Sandoval, quien ha estado conmigo desde 8vo básico apoyándome y ayudándome a crecer como persona. A Matías Bahamondes, Hernán Pérez, Pablo Tisi, Cristian Bersezio, Francisco Araya, Jaime Gomez, Cecilia Lillo.

A los funcionarios de la facultad, ya que sin ellos esto no sería posible, mencionando en especial a Consuelo por su inmensa ayuda y cariños entregados en mi desarrollo como profesional.

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a todo el equipo de Farmacología, por su increíble disposición para desarrollar este trabajo. Al Dr. Hugo Miranda, por su paciencia, y a Don José y Don Alejandro por su simpatía, calidez y entrega en la labor que realizan con los alumnos.

RESUMEN

Los AINEs son fármacos que han sido utilizados en el tratamiento tanto del dolor agudo como del crónico. En el presente estudio se evaluó la analgesia del ketoprofeno, del celecoxib y la combinación de ellos, fármacos que inhiben la ciclooxigenasa 1 y 2, siendo el celecoxib un inhibidor selectivo de la ciclooxigenasa 2. Como método algesiométrico en este trabajo se utilizó el test de la formalina orofacial al 2%. Para ello, se utilizaron 160 ratones *Mus musculus* cepa CF/1 a los que se les inyectó solución salina, ketoprofeno, celecoxib y la combinación de ellos en un volumen constante de 10 mg/kg, 30 minutos antes del ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, este consiste en la inyección de formalina en el labio superior del animal, evaluando el tiempo de frotamiento del animal en la zona inyectada, tanto en la fase algésica, aguda o fase I, como en la fase inflamatoria, crónica o fase II. Luego, se elaboró el análisis isoblográfico para evaluar la acción combinada de ambos fármacos.

El análisis estadístico de los parámetros relativos al presente estudio, se expresaron como el promedio \pm SEM (error estándar del promedio) o con su límite de confianza del 95% (95% L.C) y se calcularon en un programa computacional elaborado en base a antecedentes publicados por Tallarida. La significación estadística fue considerada a un nivel de 5%, a través del análisis de varianza ANOVA y prueba de t de Student

La administración vía intraperitoneal de ketoprofeno, celecoxib y la combinación de estos fármacos produce un efecto antinociceptivo dosis dependiente en ambas fases del test; la coadministración de ketoprofeno y

celecoxib actúan de forma supraaditiva o sinérgica, resultado arrojado en el análisis isobolográfico. La DE50 para el ketoprofeno fue, en fase I, 4.49 mg/kg, para fase II fue 6.56. mg/kg; celecoxib en fase I fue 8.86 mg/kg, para fase II 6.15 mg/kg; y su combinación 4.05 mg/kg para la fase I, y de 1.83 mg/kg para la fase II.

Estos hallazgos poseen relevancia clínica, ya que la combinación de estos fármacos disminuye la dosis a emplear sin aumentar los efectos adversos.

I. INTRODUCCIÓN

El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable que experimentan los individuos de manera única a través de la experiencia personal, lo cual es referido y vivido en cada persona de manera diferente.

La importancia fisiológica del dolor es su función de preservación de la integridad del individuo. Es una estrategia adaptativa que le permite protegerse de las agresiones del medio externo e interno, produciendo una reacción del sujeto para eliminar de manera oportuna el estímulo doloroso. Sin embargo, en algunas circunstancias el dolor pasa de tener una función benéfica y se convierte en sí mismo en una patología que debe ser suprimida para permitirle al organismo sobrevivir (1,2).

El dolor tiene múltiples causas, diversas características anatómicas y fisiopatológicas, y variadas interrelaciones con aspectos psicológicos y culturales.

La International Association for the Study of Pain (IASP) define el dolor como “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de este daño” (1,2,3). Esta definición incorpora varios elementos: el dolor es una experiencia individual, una sensación, evoca una emoción y ésta es desagradable. Habitualmente existe un estímulo nocivo que produce daño tisular o eventualmente lo produciría de mantenerse. Por otra parte, muchas personas refieren dolor en ausencia de daño tisular o causa fisiopatológica conocida; sin embargo, esta experiencia debe ser aceptada como dolor, puesto que no hay

manera de distinguirla de aquella debida a un daño tisular efectivo. Otra manera de expresar el concepto de la naturaleza subjetiva del sufrimiento, es "dolor es lo que el paciente dice que es" (1,2).

En el manejo del dolor (pre y postoperatorio), disponemos de una amplia gama de medicamentos. Un grupo son los conocidos genéricamente como antiinflamatorios no esteroidales (AINES)

Los AINEs han sido ampliamente utilizados para el tratamiento del dolor agudo y crónico, ya sea en el preoperatorio como postoperatorio médico y dental. Los AINEs comprenden un amplio grupo de moléculas con diferentes estructuras químicas, pero que tienen la particularidad de poseer ciertas acciones farmacológicas en común. Sus principales propiedades son: *antiinflamatoria* (por inhibición de distintas fases en la cascada del ácido araquidónico, particularmente en la vía COX2), *analgésica* (pudiendo incluso superar los efectos de los opioides) y *antipirética* (ya que los AINEs inhiben la síntesis de PGE2 suprimiendo la respuesta que conlleva al aumento de la temperatura corporal). Además, se podría también considerar el efecto de *antiagregante plaquetario*. Esta acción la cumplen el ácido acetilsalicílico y otros AINEs que inhiben la COX plaquetaria. Las características antes mencionadas han llevado a que estos fármacos sean ampliamente prescritos para tratar la inflamación, los estados de fiebre y los diferentes tipos de dolor (4).

Algunos de los fármacos que pertenecen a este grupo tienen ciertas propiedades más acentuadas, mientras que otros las poseen en forma equivalente. Como consecuencia de este mecanismo de acción común, también comparten algunas reacciones adversas a medicamentos (RAMs) al

inhibir en mayor o menor grado las COXs. Hasta el momento se han descrito tres isoformas de COXs, las cuales son: COX-1, COX-2 y COX-3. Si bien su estructura es similar, se diferencian en cuanto a sustratos, ubicación intracelular y selectividad de sus inhibidores (4).

Existe un grupo de AINES inhibidores selectivos de la COX-2, dentro de los que se encuentra el celecoxib, que forman parte de una nueva generación de fármacos que, manteniendo sus beneficios terapéuticos, intentan disminuir los diferentes efectos indeseables descritos, entre los que destacan los gastroerosivos. (5,6).

La investigación básica está generando gran cantidad de información en lo que se refiere al conocimiento del sistema nociceptivo. En gran medida, estos avances se producen como consecuencia de la utilización de los modelos animales de dolor. Aunque no se puede conocer las sensaciones de un animal, ya que éste no las puede comunicar, se pueden estudiar las reacciones de éstos ante estímulos nocivos de diversa naturaleza (1).

El objetivo de este trabajo, es, por tanto, evaluar la interacción antinociceptiva de ketoprofeno y celecoxib en dolor orofacial experimental, utilizando el test de la formalina al 2% en ratones.

II. Marco Teórico

1. Dolor:

El dolor ha sido una experiencia compañera a lo largo de toda la historia de la humanidad, la que se ha tratado de erradicar de las más distintas formas. En la actualidad, seguimos combatiendo esta desagradable sensación, que como odontólogos afrontamos diariamente en nuestra práctica profesional.

El término dolor ha sido definido por la asociación internacional para el estudio del dolor (IASP) como una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño” (1). En circunstancias fisiológicas tiene una función protectora, desencadenando reacciones e induciendo comportamientos para evitar posibles daños. Sin embargo, existen patologías en que el dolor deja de ser un signo de alerta y se convierte en el síntoma principal de la enfermedad. La sensación de dolor es considerada una experiencia subjetiva y desagradable, que se complementa con experiencias físicas, psicológicas y sociales del individuo, resultando una percepción individual y subjetiva (2,7). En esta definición el término *potencial* indica que si el dolor se mantiene por un tiempo prolongado, la permanencia de la noxa provocará un daño tisular efectivo (8).

Actualmente, entendemos el dolor como la integración de tres componentes:

- Un **componente sensitivo**, que hace referencia al impulso desencadenado desde los receptores periféricos de dolor.
- Un **componente cognitivo**, que se relaciona con el aprendizaje cultural, entorno social y experiencias previas respecto al dolor.

- Un **componente emotivo-afectivo**, que hace referencia a las emociones frente a un impulso doloroso y la manera en que éstas puedan influir en la interpretación del mismo. (1)

2. CLASIFICACIÓN DEL DOLOR.

Existen varias clasificaciones de dolor, siendo las más usadas en el campo odontológico, según duración o evolución y según discriminación espacial, debido a que tienen implicaciones de tipo diagnóstico y terapéutico. Entre ellas tenemos:

2.1 Según duración o evolución:

Dolor agudo: es aquel que comprende el lapso estimado para que los tejidos sanen, considerándose como norma un tiempo máximo de 3 meses. El dolor agudo constituye un mecanismo fisiológico útil, necesario y protector, puesto que evita que nos exponamos a estímulos dañinos, mediando reflejos de protección para limitar el daño e iniciando los procesos de reparación.

Dolor crónico: es aquel que persiste más allá del tiempo necesario para que los tejidos sanen, incluso posterior a la eliminación de la causa. Este dolor tiene poco o nulo componente neurovegetativo, pero grandes efectos psicológicos y conductuales. En la mayoría de los casos, se le atribuyen causas de tipo neurológica, endocrina e inclusive genéticas. Este tipo de dolor constituye un problema de salud pública, debido a los problemas que genera a quien lo padece en términos de calidad de vida, capacidad para desenvolverse en el medio, ausentismo laboral, etcétera (1).

2.2 Según características somatosensoriales o discriminación espacial:

Dolor epicrítico: es superficial, de localización precisa y delimitada por el paciente, quien lo puede describir como punzante, lacerante, quemante, opresivo o fulgurante.

Dolor protopático: es difuso, mal localizado por el paciente y referido en varios cuadros clínicos. En relación a la etiología del dolor, ésta puede ser traumática, genética, infecciosa, inflamatoria, mecánica o psicógena (1).

2.3 Según fisiología:

a) Dolor fisiológico: es aquel desencadenado por estímulos específicos de gran intensidad, bien localizados y de tipo transitorio. Su rol fundamental es proveer un sistema protector, advirtiendo sobre estímulos potencialmente dañinos.

b) Dolor inflamatorio: es generado por la existencia de una lesión tisular, la cual conduce a un estado inflamatorio, con la consecuente liberación de mediadores químicos y una activación permanente de las vías nociceptivas.

c) Dolor neuropático: se produce por anomalías funcionales o estructurales en el sistema nervioso periférico (SNP) o central (SNC), lo que ocasiona descargas espontáneas y paroxísticas que son interpretadas como dolor. Se presenta como una sensación basal dolorosa o quemante, con hiperalgesia y alodinia :dolor producido por un estímulo que normalmente no lo produce (1,2).

3. NEUROFISIOLOGIA DEL DOLOR

El componente fisiológico del dolor se denomina nocicepción que corresponde al proceso de transducción, transmisión y modulación de las señales nerviosas

que se generan en respuesta a un estímulo nocivo y que son enviadas al sistema nervioso central :SNC, (9,10).

Para entender la fisiología del dolor se deben conocer previamente las estructuras periféricas, centrales y las sustancias moduladoras involucradas.

Para percibir el dolor debe estar presente:

- Una estructura periférica que actúe como receptor.
- Una sinapsis en la médula espinal.
- Vías de conducción desde la médula espinal hasta los centros superiores como bulbo, diencéfalo y corteza
- Vías descendentes desde los centros superiores: corteza, tálamo y núcleos reticulares a la médula. (1, 9)

La propagación del dolor es iniciada con la activación de receptores de dolor, llamados **nociceptores** los cuales son receptores no encapsulados periféricos de una neurona bipolar cuyo cuerpo neural se encuentra en el ganglio raquídeo de la raíz dorsal que por medio de neurotransmisores envían mensajes hacia la vía central, distribuidos en distintos tejidos a través de todo el organismo, son considerados de adaptación lenta, es decir, que envían señales eléctricas mientras persiste el estímulo, estos pueden ser de origen mecánico, térmico y químico. También existen los nociceptores polimodales, que responden a más de un tipo de estímulo (1, 7, 14).

Los nociceptores responden directamente a estímulos lesivos o también de forma indirecta, al responder a sustancias liberadas por el tejido lesionado

(histamina, bradicinina, etc), o alteraciones metabólicas, como baja de pH, y aumento de concentración de ciertos iones, es por esto que los nociceptores pueden ser considerados quimioceptores (2, 7, 9).

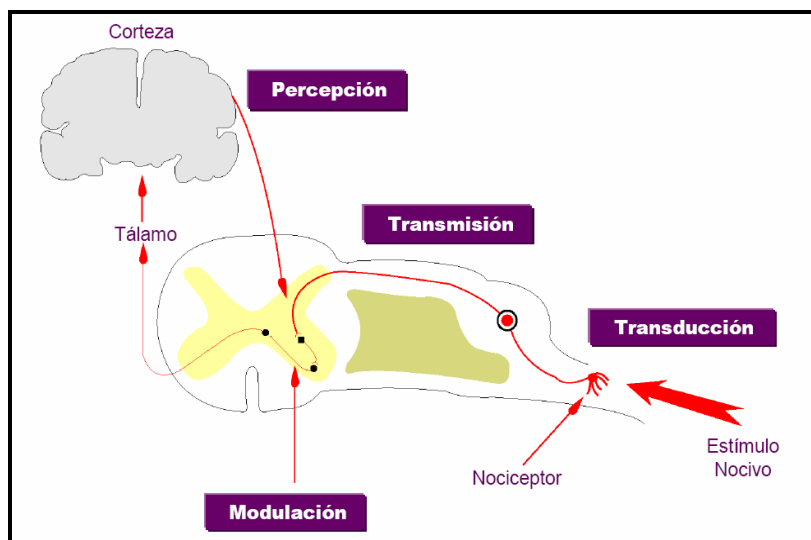


Figura 1. Representación esquemática de los eventos del proceso nociceptivo. Modificada del Curso de Neurología, IASP. Perú. 2006.

El sistema nociceptivo es dual, y la sensación de dolor que se experimenta llega al SNC por medio de dos tipos de fibras, A δ y C. Las fibras A δ son mielinizadas y de conducción rápida, responde a estímulos mecánicos y térmicos, lo cual se correlaciona con el dolor agudo, su diámetro es de 1,0 a 5,0 micrones. Las fibras C son amielínicas y de conducción lenta, son polimodales (pueden transmitir además del estímulo nociceptivo, sensaciones térmicas en todo su rango, táctiles o de presión), se correlaciona con el dolor crónico proveniente de estímulos que son fundamentalmente de naturaleza

química, su diámetro es de 0,3 a 1,5 micrones. Las fibras A δ y C terminan en neuronas de segundo orden en el cuerno dorsal de la médula espinal, donde los neurotransmisores secretados por las fibras aferentes primarias, para la sensación dolorosa son la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina :CGRP (11,12,13).

La vía general del dolor es la termoalgesia, que es la vía que conduce el dolor y la temperatura. Una vez que las fibras nociceptivas entran en la médula espinal hacen sinapsis en el asta posterior, a través de señales químicas mediadas por aminoácidos y neuropéptidos excitatorios e inhibitorios. Estos son producidos, almacenados y liberados en los terminales de aferencias primarias, interneuronas del asta dorsal y terminales de fibra descendentes del sistema supraespinal, en resumen tras el proceso de activación de los nociceptores periféricos; es en la médula donde se modulan las respuestas nociceptivas a través de las fibras A δ y C que terminan a nivel superficial del asta dorsal de la médula (15,16). El asta dorsal de la médula espinal permite el primer nivel de integración en el SNC y su modulación por las interneuronas espinales, dirige la información a través de las vías ascendentes y, finalmente, permite la elaboración de respuestas reflejas, tanto vegetativas como motoras (16).

Desde el punto de vista neurofisiológico, dos grupos de neuronas son activadas en el asta dorsal por las mismas fibras, por tanto, es necesario precisar que la organización espacial de las neuronas es importante en la codificación de los mensajes y depende también de la intensidad del estímulo para la activación: de las neuronas específicas que son activadas por estímulos nociceptivos propiamente tal y las neuronas de rango dinámico o de convergencia que

tienen la capacidad de activarse ante estímulos nociceptivos y no nociceptivos (15,16).

Las vías ascendentes están constituidas por tres haces que llegan al tálamo, desde donde son proyectados a distintas zonas del cerebro. Uno de ellos, el haz **neoespinotalámico**, que hace sinapsis en núcleos específicos del tálamo: ventral-posterior y posterolateral y de allí con la corteza somatosensorial, cuya función es entregar la ubicación topográfica del dolor. Un segundo haz, el **paleoespinotalámico**, el cual se proyecta junto al neoespinotalámico en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo, mediales e intralaminares, luego se proyecta a la corteza frontal donde se conecta con el sistema límbico, hipotálamo, ganglios basales, constituyendo la evaluación cualitativa del dolor (1,17). Finalmente, el haz **espinoreticulotalámico** que corresponde a la comunicación más directa entre la médula espinal y la formación reticular. La formación reticular desempeña un papel importante en los mecanismo nociceptivos, siendo sus principales funciones: desencadenar los mecanismo de alerta, contribuir a la actividad neuronal de los aspectos motivacionales y afectivos del dolor y participar en reflejos somáticos y autonómicos motores (1).

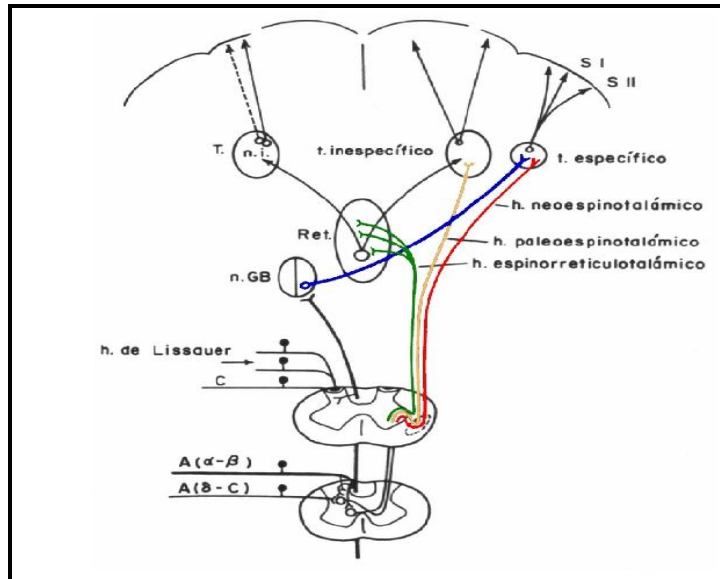


Figura 2. Representación esquemática de las vías nociceptivas aferentes (10).

3.1 Nocicepción a nivel facial.

Los impulsos nerviosos que codifican el dolor a nivel orofacial, se originan principalmente en la distribución periférica sensorial de cuatro nervios craneales: el nervio trigémino (V par), y en menor medida el nervio facial (VII par), glossofaríngeo (IX par) y vago (X par). Y también en la terminación de los tres nervios cervicales superiores. En toda esta región existen fibras nociceptivas A δ y C, pero son especialmente abundantes en la pulpa dental. Algunas penetran en los túbulos dentinarios y la caries dental las deja expuestas, junto con otros nervios de la pulpa, a los estímulos que provocan dolor. Es probable que el dolor sordo producido por la inflamación de la pulpa se deba a la actividad de las fibras tipo C. La hipersensibilidad de los dientes, caracterizada por dolor agudo, corresponde a la activación de las fibras A δ (18). El V par, es un nervio mixto, contiene fibras sensitivas (aférentes) y motoras (eferente). Posee un gran ganglio (trigeminal) que da lugar a tres ramas principales: V1 oftálmica; V2 maxilar y V3 mandibular. Su porción

sensorial transmite el tacto, dolor, temperatura, y propiocepción de: la cara, músculos faciales y masticatorios, de la articulación temporomandibular y cavidad bucal (fig. 2).

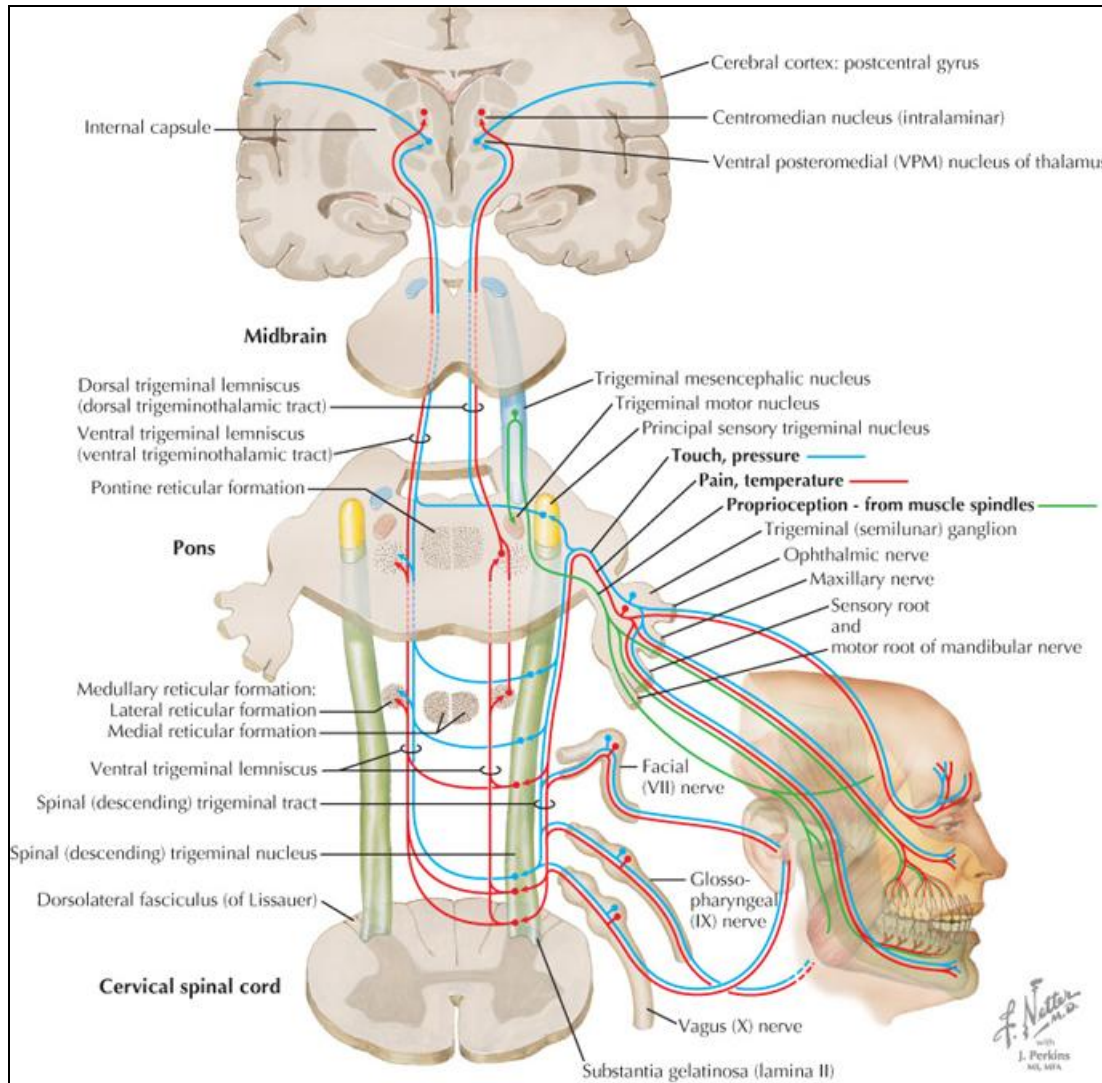


Fig. 3 Vía de nocicepción trigeminal. Extraída de Atlas de Neurofisiología de F. Netter.

El nervio trigémino, posee 3 núcleos sensitivos: *Núcleo Sensitivo Principal*, *Núcleo Mesencefálico*, *Núcleo Espinal*. En este último, se reconoce; una unidad superior, correspondiente al Subnúcleo Oral, que al igual que el núcleo sensitivo principal está encargado de la sensibilidad táctil discriminativa;

y otra unidad inferior, correspondiente al Subnúcleo Interpolar y al Subnúcleo Caudal que es el que resume tanto la sensibilidad táctil no discriminativa y de presión, como la sensibilidad térmica y dolorosa del territorio cefálico.

En el ganglio trigeminal se encuentra el soma de la primera neurona de la vía del dolor trigeminal, con una prolongación periférica que es una terminación libre y una prolongación central que se dirige al núcleo espinal trigeminal ipsilateral, llevando la información nociceptiva orofacial hacia los respectivos núcleos sensoriales del encéfalo, a través de las fibras A δ y C.

Las neuronas de segundo orden del núcleo sensitivo principal (porción dorsomedial/ventrolateral) se encargan de relevar la información del tacto discriminativo de la cabeza hacia el núcleo ventral posteromedial (VPM). Los axones derivados de su porción ventrolateral llegan al VPM contralateral junto con fibras procedentes del núcleo espinal (caudal) conforman el fascículo trigeminotalámico anterior. Las neuronas de la división dorsomedial del núcleo sensitivo principal inervan el VPM ipsilateral por medio del fascículo trigeminotalámico posterior. El núcleo mesencefálico contiene células de origen que participan en la propiocepción (18).

Las fibras que transmiten el dolor, temperatura y tacto general, descienden formando el fascículo trigéminoespinal. Esta última vía que contiene fibras tanto facilitatorias como inhibitorias junto con su núcleo, se extiende desde la unión de la protuberancia y el bulbo hasta los segmentos más altos (C2 o C3) de la médula espinal. En el tracto espinal del trigémino, se unen las fibras aferentes somáticas del resto de los pares craneales, que aportan información nociceptiva. Las fibras nociceptivas llegan al subnúcleo

caudal, que recibe también fibras de los segmentos cervicales superiores. En el núcleo espinal, se produce la sinapsis con la segunda neurona, cuyo axón se cruza y asciende (fascículo trigeminotalámico anterior), enviando colaterales a la formación reticular, para terminar en los núcleos de tálamo (VPM), posterior e intralaminares. Desde allí, la información va al área sensitiva primaria de la corteza, sector 1, 2, 3 de Brodman y a otras estructuras corticales y subcorticales como la corteza insular, que procesa información del estado interno del organismo, integrando los aspectos cognitivo, sensorial y afectivo, modulando así el umbral doloroso, y la circunvolución cingular, que es parte del sistema límbico, relacionada con el procesamiento efectivo y emocional del dolor (19).

4. TRATAMIENTO DEL DOLOR.

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

- Anestésicos locales.**
- Analgésicos opioides.**
- Analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs).**
- Co-analgésicos:** en forma sucinta, los co-analgésicos son un grupo de fármacos cuyo propósito original era otro distinto a eliminar el dolor. Así pues, se utilizan la mayoría de las veces, para tratar síntomas que pueden acompañar al proceso doloroso (insomnio, depresión, ansiedad) en cuadros

como el “síndrome del miembro fantasma” o en neuralgia post-herpética. Fármacos que pueden entrar en este grupo son: antidepresivos tricíclicos (ej. Amitriptilina, nortriptilina), anticonvulsivantes (ej: carbamazepina), los corticoesteroides (ej. prednisona) y los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (16, 20).

4.1 Analgésicos antiinflamatorios no esteroidales

Son los antiinflamatorios más utilizados en la actualidad, constituyendo un conjunto de fármacos que presentan acción similar, pero que pertenecen a diferentes familias químicas (tabla 1).

Los antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) abarcan un amplio grupo de moléculas que pertenecen a diferentes estructuras químicas, pero que tienen la particularidad de poseer ciertas acciones farmacológicas en común.

Sus principales propiedades son:

-*Antiinflamatoria*: por inhibición de distintas fases en la cascada del ácido araquidónico, particularmente en la vía COX2.

- *Analgésica*: pudiendo incluso superar los efectos de los opioides.

- *Antipirética*: ya que, los AINEs inhiben la síntesis de PGE2 suprimiendo la respuesta que conlleva al aumento de la temperatura corporal.

Actualmente se podría también considerar el efecto de antiagregante plaquetario. Esta acción la cumplen el ácido acetilsalicílico y otros AINEs que inhiben la COX plaquetaria

Grupo farmacológico	Fármaco prototipo
1) Ácidos	
A) salicílico	Acido acetilsalicílico
B) enólico	
i) Pirazolonas	Metamizol
ii) Pirazolidindionas	Fenilbutazona
iii) Oxicams	Piroxicam, meloxicam
C) Acético	
i) Indolacético	Indometacina
ii) Pirrolacético	Ketorolaco
iii) Fenilacético	Diclofenaco
D) Propiónico	Dexibuprofeno, Ibuprofeno, Ketoprofeno , Dexketoprofeno, Naproxeno
E) Antranílico	Ácido mefenámico, clonixinato de lisina
2) No Ácidos	
A) Sulfoanilidas	Nimesulida
B) Paraaminofenoles	Paracetamol
3) Inhibidores específicos de la COX-2	Celecoxib Rofecoxib Valdecoxib Parecoxib

Tabla 1. Principales grupos de AINEs. (21)

Las características antes mencionadas han llevado a que estos fármacos sean ampliamente prescritos para tratar la inflamación, los estados de fiebre y los diferentes tipos de dolor (23).

Los AINEs actúan inhibiendo de manera competitiva y reversible a las **ciclooxigenasas (COXs)**, con excepción de la aspirina, estas enzimas son las responsables de la transformación de ácido araquidónico en prostanoïdes. Para que ocurra la síntesis de prostaglandinas (PGs) debe existir daño a nivel de la membrana celular, con esto la enzima fosfolipasa A2, es activada por citoquinas inflamatorias produciendo degradación de los fosfolípidos de la membrana, generando ácido araquidónico. Este último al metabolizarse forma por una parte leucotrienos mediante la acción de lipooxigenasa, y por otra prostaglandinas y tromboxano a través de enzimas COXs (24,25).

Las COXs convierten mediante oxigenación el ácido araquidónico en prostaglandina G2 (Pg G2) y prostaglandina H2 (PgH2). Estas prostaglandinas posteriormente son transformadas por enzimas isomerasas, las que convierten PgH2 en diferentes prostaglandinas biológicamente activas: prostaciclina, tromboxano A2 y prostaglandinas D2, E2 y F2 α , llamados genéricamente prostanoïdes (25, 26, 27). Existen tres isoformas de las COXs codificadas por distintos genes, COX-1, COX-2 y COX-3. La **COX-1** es definida como una enzima constitutiva. Está presente en casi todos los tejidos cumpliendo diferentes funciones, como la síntesis de PGs citoprotectoras de la mucosa gástrica, contracción de musculatura lisa, homeostasis vascular y función renal. La **COX-2** es principalmente expresada por células que están comprometidas en el proceso inflamatorio. En los inicios de la individualización de COX-2 se

pensó que era una enzima que sólo se inducía durante el proceso inflamatorio, es decir, que su presencia se debía a un determinado estado mórbido y que en condiciones normales, no estaba presente, motivo por el cual se le acuñó el término de COX-2 inducida. No obstante, esta enzima cumple un rol fisiológico importante expresándose en forma constitutiva en el riñón, cerebro, huesos y endotelio vascular, aunque es indudable que en los cuadros inflamatorios hay una mayor producción de COX-2, como también de COX-1. Por lo tanto, usar un inhibidor específico de la COX-2 durante un período prolongado y sin control debido, puede provocar algún tipo de iatrogenia importante (1, 2, 25). La **COX-3** es muy similar a COX-1, pero conserva el intrón 1, siendo de esta manera su secuencia aminoacídica más larga. Su función exacta aún no está totalmente definida, pero se relaciona con el dolor, la fiebre e inflamación. Se encuentra principalmente en pulmón, corazón, sistema nervioso central y en algunos tejidos periféricos (1, 2).

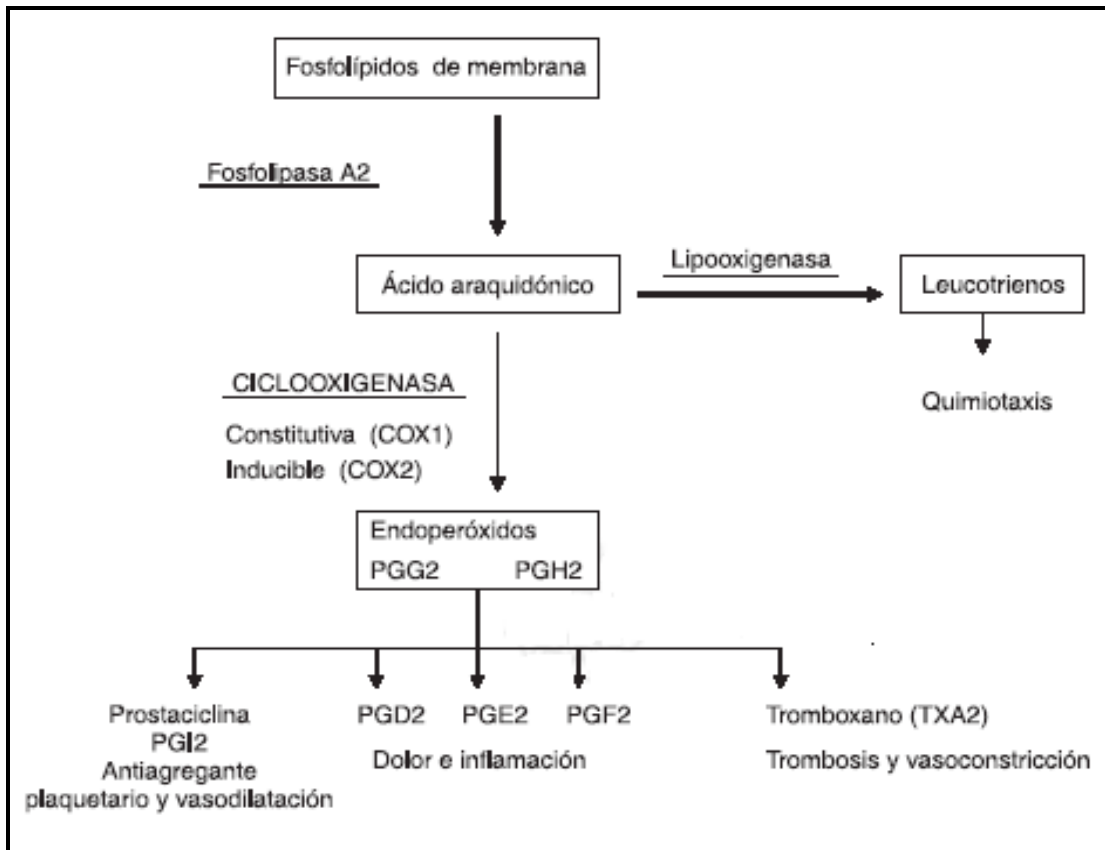


Figura 4. Secuencia de la síntesis de eicosanoides. (30).

La mayoría de los AINEs inhiben de manera no selectiva, tanto a la isoforma COX-1, como la COX-2. La inhibición de la COX-2, es la principal responsable de las reacciones antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas de los AINEs y por la inhibición simultánea de la COX-1, se sumarían las reacciones adversas(30). Estos potenciales efectos secundarios, llevaron al desarrollo de los inhibidores selectivos de la COX-2 (coxibs), pero estudios sobre modelos de dolor agudo demostraron que los inhibidores selectivos de la COX-2 no presentan una mayor eficacia que los no selectivos, además de contribuir a una mayor prevalencia de morbilidad cardiovascular (22). Esto se da en contraposición con ciertos beneficios tales como la no producción de

úlceras gástricas, efectos ligeros sobre agregación plaquetaria y un incremento en la duración de los analgésicos convencionales (fig. 5) (25, 26).

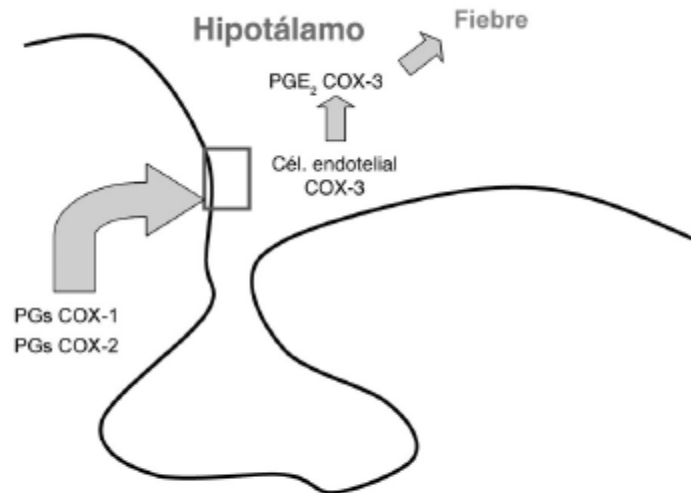


Fig. 5. Mecanismo de acción de las PGs, en un proceso febril.

Tomada de Chandrasekharan NV, Dai H, Lamar Turepe Roos K, et al. PNAS 99:13926-31, 2002.

La cinética compartida por los AINEs, incluye la buena absorción vía oral y el alto porcentaje de unión a proteínas plasmáticas, característica importante a la hora de prescribir AINEs. Los AINEs son eliminados por inactivación hepática (sistema citocromo P450) y excreción renal (28).

4.1.1 Principales reacciones adversas de los AINEs

Los AINEs tienen una serie de efectos indeseados como consecuencia de acciones farmacodinámicas expresadas por todos aquellos sistemas en los que las prostaglandinas cumplen funciones fisiológicas. La mayoría se presentan en

individuos que consumen o han consumido estos fármacos por periodos prolongados de tiempo (consumos crónicos) (29, 30).

El daño al aparato digestivo que generan dichos fármacos puede surgir de dos mecanismos diferentes: uno de ellos, es que la irritación local de las sustancias ingeridas permite la difusión retrógrada del ácido al interior de la mucosa gástrica y la inducción de daño tisular, y por otro lado, la administración parenteral del fármaco puede ocasionar daño y hemorragia, en relación con la inhibición de la biosíntesis de las prostaglandinas que actúan como citoprotectores de la mucosa estomacal. En general, la toxicidad gastrointestinal se agrupan en: dispepsia, lesiones en mucosa visibles a endoscopia y perforaciones de la mucosa o úlceras sangrantes (31, 32). Otras RAMs (Reacciones adversas a medicamentos) de estos fármacos, incluyen perturbaciones de la función plaquetaria, prolongación de la gestación o trabajo de parto espontáneo y cambios en la función renal. La función plaquetaria se altera porque los AINEs evitan la formación de tromboxano A₂ por parte de las plaquetas, que es un potente agregante, ello explica la tendencia de fármacos de este tipo a prolongar el tiempo de sangría (30, 33).

Otros efectos no deseados, se pueden expresar por signos o síntomas que incluyen desde una rinitis, edema angioneurótico, urticaria generalizada y asma bronquial, hasta edema laríngeo, broncoconstricción, hipotensión y shock.

4.1.2 Ketoprofeno.

El ketoprofeno, es un fármaco racémico, corresponde al grupo de los AINES derivados del ácido arilpropiónico, presentando ventajas notables con respecto a la aspirina e indometacina en muchos enfermos, ya que son mejor tolerados. Los estudios en humanos señalan que los derivados del ácido son similares a la aspirina para tratar signos y síntomas de artritis reumatoide y osteoartritis. Son inhibidores eficaces de las COXs aunque se advierte notable variación en su potencial al respecto. Todos los compuestos de este grupo modifican la función plaquetaria y prolongan el tiempo de sangrado.(30)

Todos son anti-inflamatorios eficaces en varios modelos de inflamación en animales de experimentación; todos poseen propiedades anti-inflamatorias, analgésicas y antipiréticas en seres humanos, aunque suelen ser menores que con el uso de aspirina. El ketoprofeno comparte las propiedades farmacológicas de otros derivados del ácido propiónico, es un AINE derivado de éste, relacionado con el ibuprofeno, y el naproxeno. Inhibe la actividad de la prostaglandinas y de los tromboxanos a partir del ácido araquidónico. Los efectos analgésicos pueden implicar bloqueo de la generación del impulso doloroso mediante una acción periférica por inhibición de la síntesis de prostaglandinas. Está indicado en artritis reumatoidea; osteoartritis; dolor leve a moderado; dismenorrea; inflamación no reumática (34).

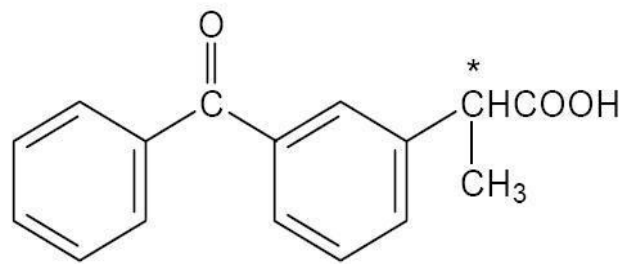


Figura 6: Estructura química del ketoprofeno (35)

4.1.2 Celecoxib

Los inhibidores selectivos de la COX-2 forman parte de una nueva generación de fármacos pertenecientes a la familia de los AINEs que, manteniendo sus beneficios terapéuticos, intentan disminuir los diferentes efectos indeseables descritos, entre los que destacan los gastroerosivos, renales, y efectos coagulantes.

Los coxibs son fármacos de diseño, surgidos de programas de desarrollo sobre la base del conocimiento de las diferencias entre COX-1 y COX-2, presentan alto grado de selectividad sobre la COX-2 y son los que han generado mayor interés (36).

Las principales indicaciones son en patologías articulares, Patologías artríticas y reumáticas. Artritis reumatoidea. Osteoartritis.

Las principales RAMs de este fármaco son gastrointestinales: dispepsia, constipación, epigastralgias, náuseas y vómitos. Dermatológicos: rash cutáneo, dermatitis, xerosis, urticaria, prurito, edema facial. Sistema nervioso: cefalea,

mareos, parestesias, vértigo, calambres, nerviosismo. Respiratorio: tos, broncospasmo, disnea. Metabólico: anomalías del funcionamiento hepático con elevación de las transaminasas (SGOT y SGPT), aumento de la fosfatasa alcalina, creatinina, glucemia, y colesterol que se normalizan con la suspensión o continuidad del tratamiento. Generales: astenia, sofocación, síndrome gripal, precordialgias, edemas periféricos y facial, ansiedad, taquicardia (4,38),

Se han documentado mediante historia clínica el primer caso de anafilaxia atribuible a celecoxib, obteniendo, sin embargo, pruebas cutáneas negativas a dicho fármaco (37). Además se reportó el primer caso de anafilaxia a celecoxib en una paciente de 56 años, que al igual que en el caso anterior presentó pruebas cutáneas en prick negativas a dicho fármaco. (38).

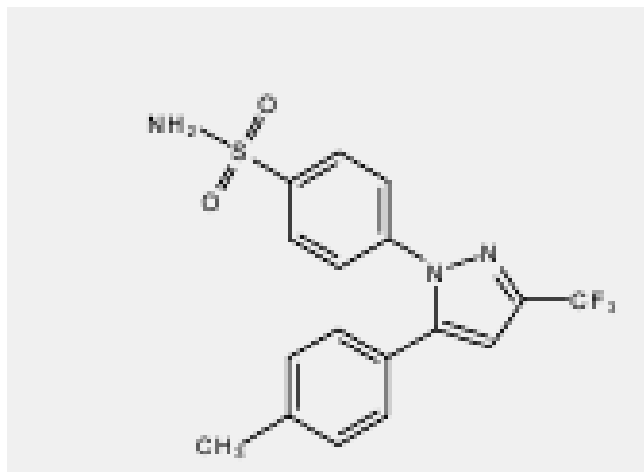


Figura 7: Estructura química del celecoxib (37).

5. INTERACCIÓN DE FÁRMACOS

La coadministración de dos fármacos, generalmente con diferente mecanismo de acción, pero con similar efecto, pueden generar las siguientes alternativas de interacción:

- Aditivos: el efecto obtenido corresponde a la simple suma de los efectos que produce cada uno de los fármacos por separado.
- Subaditivo o Antagónico: el efecto que se obtiene corresponde a un efecto menor que la suma de la actividad de cada fármaco por separado.
- Supraaditivo o Sinérgico: el efecto obtenido es significativamente mayor que la suma de los efectos de cada fármaco por separado.

La farmacología al realizar combinaciones de preparados, en general, busca interacción de tipo sinérgica, ya que esta asociación permitiría disminuir las dosis de cada fármaco reduciendo así sus RAMs, sin minimizar el efecto deseado (39)

III. HIPOTESIS

La administración intraperitoneal (i. p.) de celecoxib en combinación con ketoprofeno produce la antinocicepción sinérgica, en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial.

IV. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar la actividad antinociceptiva de celecoxib, ketoprofeno y de su combinación en ensayo algesiométrico de la formalina orofacial en ratones.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración i.p. de celecoxib en el test orofacial
- Estudiar la analgesia producida por la administración i.p. de ketoprofeno en el ensayo de la formalina orofacial.
- Estudiar el tipo de interacción analgésica al administrar la combinación de celecoxib con ketoprofeno en el mismo test.

V. MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1 de 28 a 30 g de peso (fig.8). Los animales fueron aclimatados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes del experimento, de acuerdo al protocolo CBA N° 238 y 455 FMUCH (ver anexos 1 y 2) aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina (cada animal recibe solamente una dosis de las drogas, las observaciones fueron efectuadas en forma ciega, en relación a los fármacos, aleatoria y controladas con solución salina). Se deja constancia que, basándose en las normas éticas internacionales que rigen este tipo de experimentación, el número de animales utilizados fue el mínimo estrictamente necesario, para un correcto análisis estadístico. Los animales se sacrificaron después del experimento mediante dislocación cervical, por personal experimentado.

El número total de la muestra fue de 160 ratones, separados en grupos de 8 ratones para cada una de las 4 dosis administrada de celecoxib, ketoprofeno y su combinación. En total para cada fármaco se utilizaron 32 ratones y para la combinación de ellos 64 ratones. La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó utilizando el test de la formalina. Las drogas disueltas en solución salina fueron ketoprofeno (3, 10, 30, 100 mg/Kg), celecoxib (6.25,12.5,25,50 mg/Kg) y la combinación de ellos (6.18, 3.3, 1.54, 0.77 mg/kg en fase I); (3.93, 1.96, 0.98, 0.49 mg/kg en fase II), estos se administraron vía intraperitoneal (i.p) (fig. 8), en un volumen constante de 10 ml/kg, 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, ya que existen evidencias previas que demuestran que es el tiempo en que se alcanza el efecto analgésico máximo(40,41). Los animales

utilizados como grupo control fueron tratados con solución salina al 0.9% i.p, 30 minutos antes del ensayo algiesiométrico. Se incluyeron, 2 ejemplares en cada grupo experimental. Ver tabla 2.

Tabla 2: Resumen de concentraciones de fármacos administradas y número total de ratones por grupo utilizados.

FÁRMACO	DOSIS (mg/kg)	Nº RATONES (n)
SALINO (control)	0.9 %	32
KETOPROFENO	3, 10, 30, 100	32
CELECOXIB	6.25,12.5,25,50	32
KETOPROFENO CON CELECOXIB	1.95, 3.9, 7.8,15.6 (fase I)	32
	1.2, 2.4, 4.97, 9.94 (fase II)	32
TOTAL		160



Figura 8. Inyección intraperitoneal de fármacos, en ratón *Mus musculus* de la cepa CF/1

1. TEST DE LA FORMALINA OROFACIAL

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó utilizando una modificación del test algesiométrico orofacial de la formalina de Luccarini y cols. (43), que mide el dolor originado en la estimulación del nervio trigémino, uno de los nervios de mayor inervación del territorio maxilofacial. Se usó la concentración de formalina al 2 %, debido a que esta concentración permite una mejor discriminación del efecto analgésico, sin alterar significativamente la actividad motora del animal. Para ello se realizó una inyección subcutánea de 20 μ L de solución de formalina al 2 %, en el labio superior derecho del animal (fig. 9).



Figura 9. Inyección subcutánea de formalina en el labio del ratón

La inyección induce un sostenido frotamiento de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal, con alguna de sus extremidades. Esto da lugar a un comportamiento que representa una respuesta dolorosa que puede ser dividida en 2 fases:

- **Fase I:** fase algésica aguda o temprana, los nociceptores reciben directamente la irritación química provocada por la formalina. Comienza en el

minuto 0 (inmediatamente después de realizada la inyección con formalina) y termina al minuto 5 (44).

□ **Fase II:** Fase inflamatoria o tardía, debida a la organización de un foco inflamatorio en el sitio de la injuria con la consecuente sensibilización central y periférica. Comienza al minuto 20 de realizada la inyección y termina al minuto 30 (44).

Los ratones se colocaron en un cilindro diseñado para la observación (fig. 10) y se registró por medio de un cronómetro digital el tiempo total que se frotaron el área perinasal, durante los 5 minutos inmediatos a la inyección (fase I). Luego, se registró por 10 minutos, a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30 minutos, (fase II). Los resultados se expresan en segundos de frotado en cada intervalo de tiempo medido en cada fase. No se contabilizó el tiempo entre la fase I y II, debido a que el ratón se encuentra en un período de quietud (39).

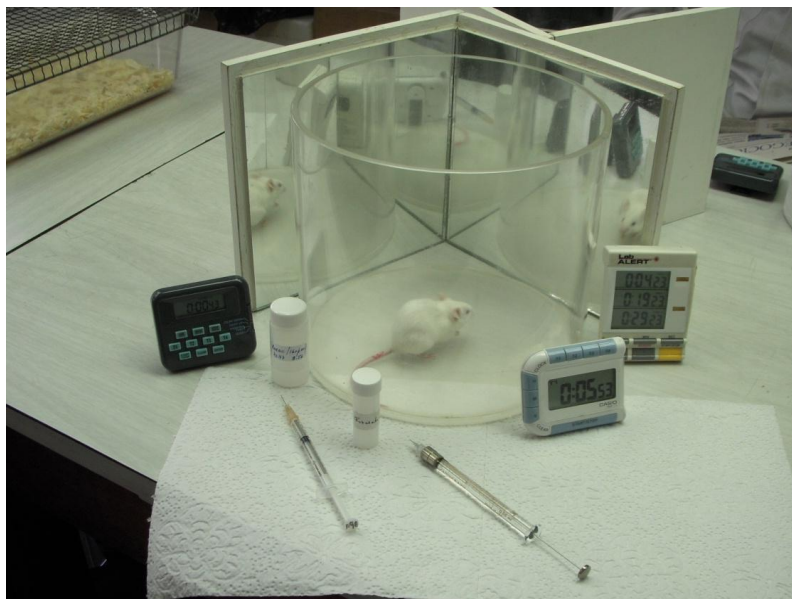


Figura 10. Cubículo de observación

2. EVALUACIÓN DE LA ANALGESIA

El tiempo total de frotamiento (grooming) en cada período (en segundos), se convirtió a % del máximo tiempo posible de analgesia (MPE). El valor del MPE se obtuvo de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%MEP = 100 - \left[\left(\frac{\text{tiempo de rascado experimental}}{\text{tiempo de rascado control}} \right) \times 100 \right]$$

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva, se construyeron curvas dosis-respuesta en 8 animales por dosis, usando para celecoxib, vía i.p., 6.25, 12.5, 25, y 50 mg/kg y para ketoprofeno 3, 10, 30, 100 mg/kg). Los animales controles fueron inyectados con solución salina al 0.9 %, durante el desarrollo del protocolo. Los fármacos se administraron i.p. en un volumen constante, de 10 mL/kg y el ensayo de la formalina se realizó al momento de obtener el efecto máximo de cada droga, el cual fue determinado previamente. Luego, se determinó la dosis efectiva 50 (DE50) de celecoxib y ketoprofeno, que es la dosis que produce el 50% del efecto máximo posible. La DE50 de cada fármaco, tanto para fase I como fase II, se calculó mediante el análisis de regresión lineal de las curvas dosis-respuesta, que fueron construidas utilizando el logaritmo de las dosis en la abscisa versus el máximo efecto posible (% MEP) en la ordenada.

3. ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ANTINOCEPTIVA

Para la evaluación de la interacción antinociceptiva de celecoxib y ketoprofeno, se construyeron curvas dosis-respuesta de la coadministración de celecoxib con ketoprofeno, en dosis combinadas de: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 de sus

correspondientes valores de DE50, obtenidos en la fase I como en la fase II de cada fármaco, en proporción fija 1:1. Las dosis combinadas corresponderán a A, B, C y D respectivamente. Luego se calcula la DE50 experimental de celecoxib más ketoprofeno, por análisis de regresión lineal de la curva obtenida por el trazado del logaritmo de la dosis versus %MPE.

En la evaluación de las interacciones se utilizó el método isobolográfico de Tallarida (39), que corresponde a representaciones gráficas de las curvas isoeffectivas para un efecto determinado de cada uno de los fármacos utilizados individualmente y combinados. Este tipo de análisis permite conocer si existe interacción, de qué tipo y cuál es su magnitud.

La DE50 (experimental) de la mezcla se compara estadísticamente con la DE50 (teórica) que representa teóricamente la adición simple de efectos, mediante un programa computacional elaborado en el laboratorio de dolor de farmacología.

La DE50 teórica se obtiene según la siguiente fórmula:

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

Dónde:

- R: relación de potencia entre celecoxib y ketoprofeno administradas aisladamente.
- P1: proporción de celecoxib en la mezcla
- P2: proporción de ketoprofeno en la mezcla.

El punto experimental resultante se graficó en un sistema de coordenadas cartesianas, que contiene una línea que conecta la DE50 de celecoxib en la ordenada abscisa con la DE50 de ketoprofeno en la abscisa (línea de aditividad simple o teórica). La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. En el caso de que la interacción sea sinérgica (supraaditiva), el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso contrario, si resultase una interacción antagónica, el punto se ubicará sobre la línea de aditividad, y por último, si el punto se ubica en un sector cercano a la línea de aditividad, la interacción será de simple aditividad.

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

$$\text{Índice de interacción} = \frac{\text{DE50 experimental}}{\text{DE50 teórica}}$$

Si el valor resultante es menor que 1 corresponde a una interacción sinérgica; al resultar igual a 1 la interacción es aditiva, y si es mayor que 1, es antagónica (39, 45).

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se expresaron como valores promedio + error estándar del promedio (EEM), o bien con sus correspondientes límites de confianza al 95 % (95 % LC). El análisis estadístico de los datos obtenidos de las curvas logarítmicas dosis – respuestas, se analizaron mediante regresión lineal por cuadrados mínimos para determinar las DE50, ya sea, de los fármacos administrados en forma aislada como de sus combinaciones. Todos los parámetros estadísticos, se calcularon con el programa computacional del

laboratorio (Pham Tools pro. Version 1.2 Mc Cary Group, PA, U.S.A). Para comparar los puntos experimental y teórico en los isobogramas, y la significancia estadística se realizó análisis de varianza (ANOVA) y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($p < 0,05$).

VI. RESULTADOS

1. GRUPO CONTROL

Los ratones pertenecientes al grupo control, dieron un tiempo de frotamiento de la zona labial y perinasal derecha de 92.63 ± 1.96 seg. , para la fase I (n=16) y de 97.75 ± 1.90 seg. para la fase II (n=16).

2. GRUPO TRATADO CON KETOPROFENO

La administración de ketoprofeno, resultó en una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, tanto en la fase I como en la fase II, del ensayo algiesiométrico orofacial, lo que se observa en las figuras 10 y 11 respectivamente. La DE50 en fase I resultó ser de 4.49 ± 0.30 mg/kg (n=32), mientras que en la fase II resultó ser de 6.56 ± 0.15 mg/kg. (n=32).

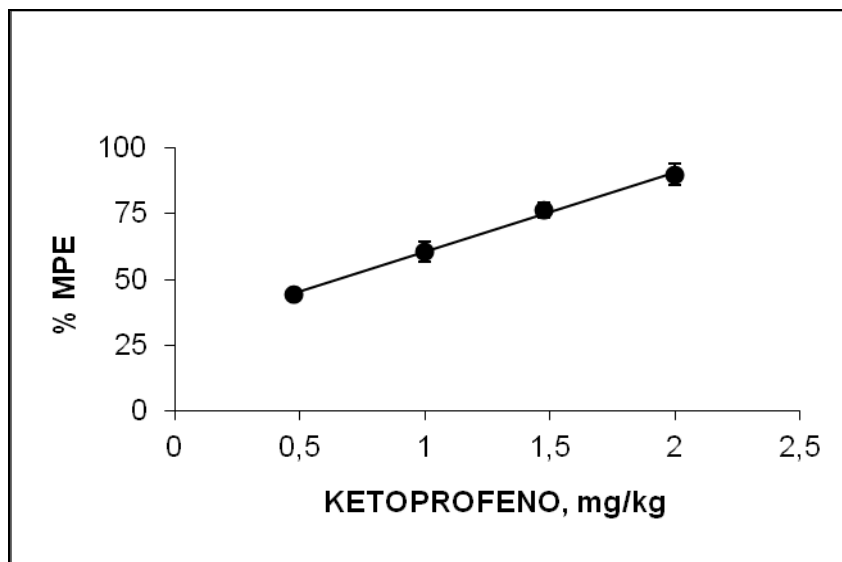


Figura 10. Curva dosis respuesta para la administración de ketoprofeno en la fase I del test de la formalina orofacial al 2 % en ratones. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales.

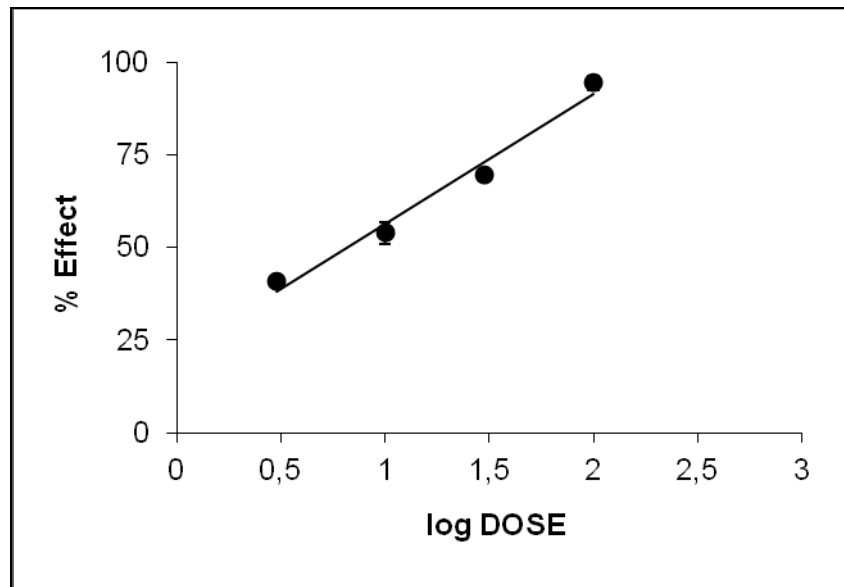


Figura 11. Curva dosis respuesta para la administración, de ketoprofeno en la fase II del test de la formalina orofacial en ratones. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales.

3. GRUPO TRATADO CON CELECOXIB

La administración de celecoxib, provocó una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, tanto en la fase I como en la fase II, del ensayo algesiométrico orofacial, lo que se observa en las figuras 12 y 13 respectivamente. La DE50 resultó ser en fase I de 8.86 ± 0.97 mg/kg (n=32), mientras que en la fase II fue de 6.15 ± 0.18 mg/kg. (n=32).

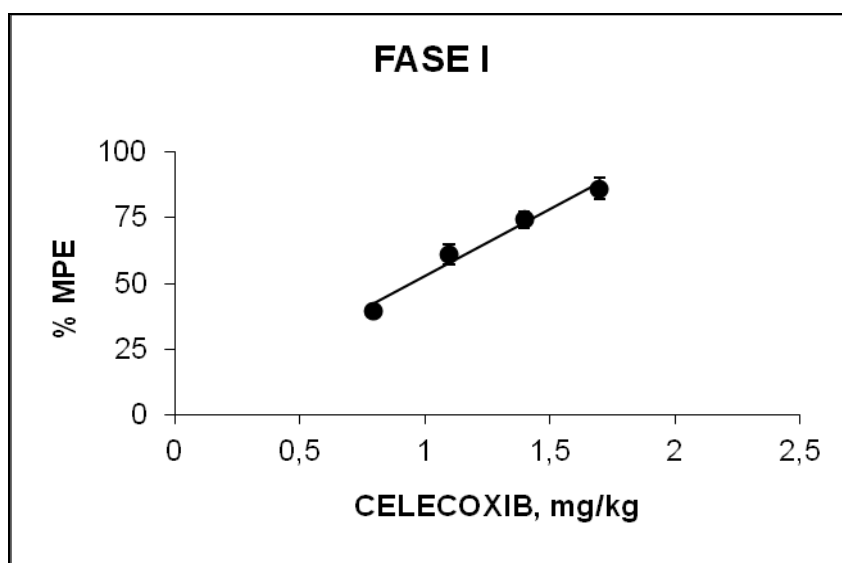


Figura 12. Curva dosis respuesta para la administración, de celecoxib en la fase I del test de la formalina orofacial 2% en ratones. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales.

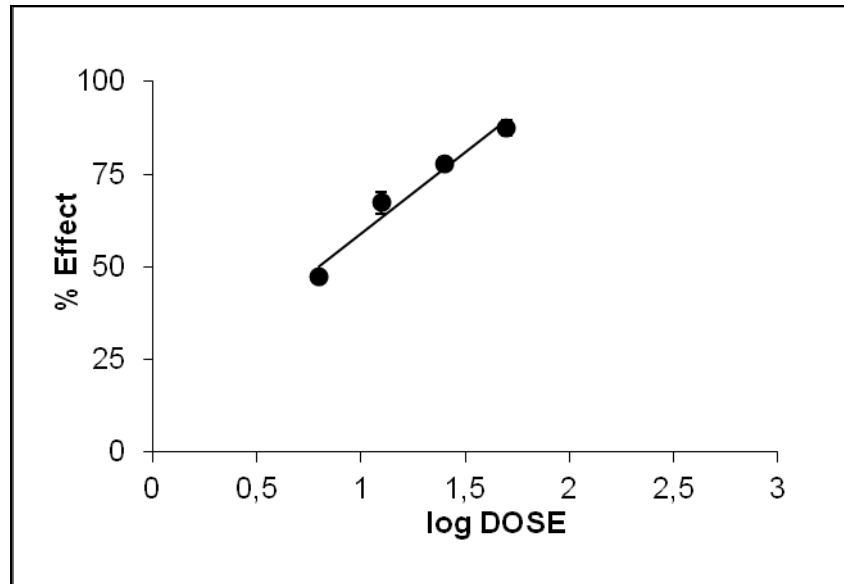


Figura 13. Curva dosis respuesta para la administración, de celecoxib en la fase II del test de la formalina orofacial 2%. En ratones. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales.

4. ANÁLISIS ISOBOLOGRÁFICO DE LA INTERACCIÓN ENTRE KETOPROFENO / CELECOXIB

La coadministración de la mezcla ketoprofeno with celecoxib en proporción 1:1 de cada una de sus correspondientes DE50, resultó en una actividad antinociceptiva dosis dependiente tanto en la fase I como en la fase II, lo que se muestra en las figuras 14 y 15 respectivamente. La DE50 en la fase I fue de 4.05 ± 0.08 mg/kg (n=32) y para la fase II de 1.83 ± 0.115 mg/kg. (n=32).

Del análisis isobolográfico de la combinación de celecoxib con ketoprofeno, se obtuvo como resultado una interacción antinociceptiva de tipo supraaditiva o sinérgica, tanto para la fase I como para la fase II, esto se concluye por la ubicación del punto experimental, bajo la línea de aditividad, y con índices de interacción estadísticamente menores a 1 en ambas fases: Fase I, I.I.= 0,.52 y fase II, I.I: = 0,34.

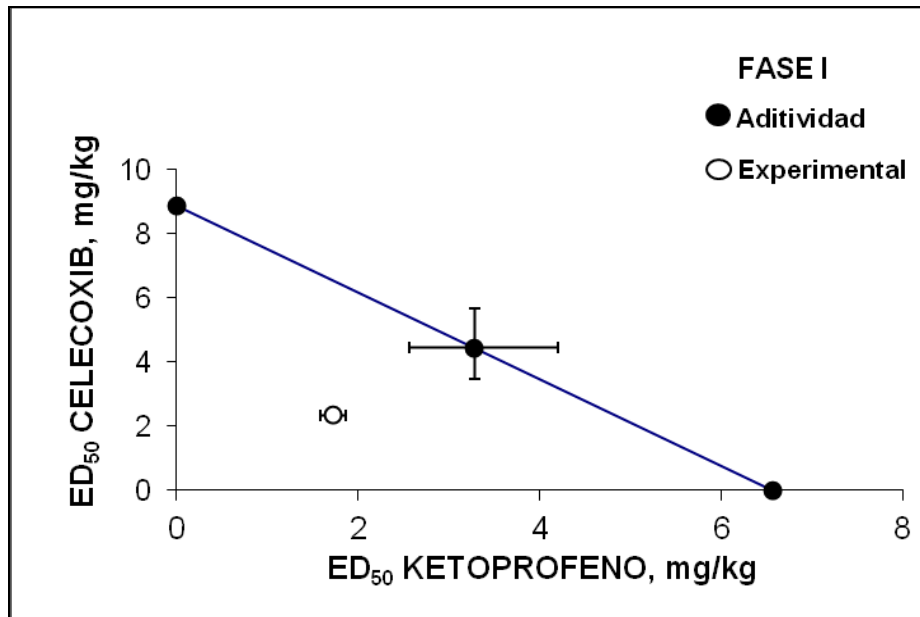


Figura 14. Isoblograma de interacción entre ketoprofeno con celecoxib , en el test de la formalina orofacial al 2%, en la fase I. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

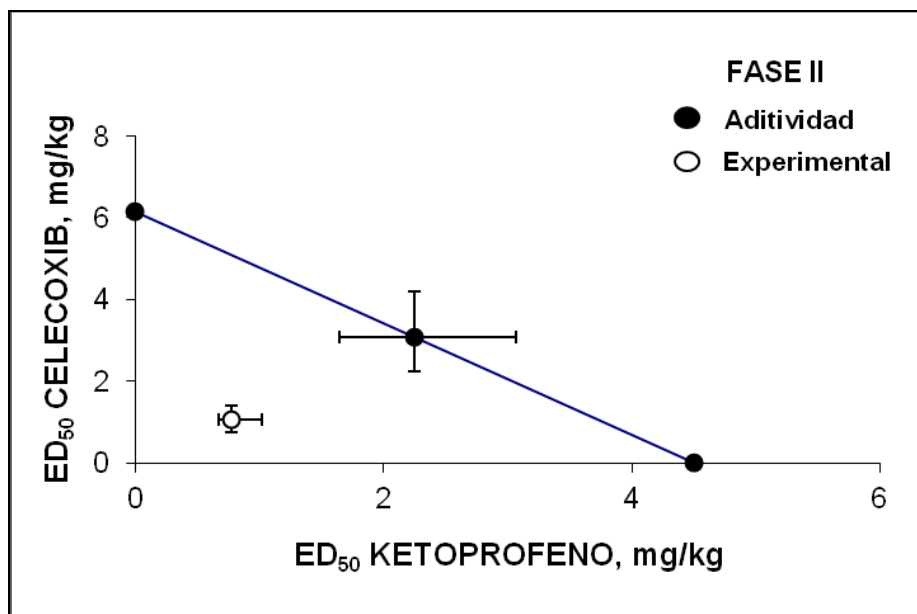


Figura 15. Isoblograma de interacción entre ketoprofeno y celecoxib , en el test de la formalina orofacial 2%, en ratones, durante la fase II. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%

Tabla 3. Valores dosis efectiva 50 (DE50) con sus respectivos errores estandar promedio (EEM), para el efecto nociceptivo de la administración intraperitoneal (i.p.) de: ketoprofeno, celecoxib, y de la mezcla ketoprofeno/celecoxib; en la fase I y II del test de la formalina orofacia 2% en ratones.

Fármacos	Fase I	Fase II
Ketoprofeno	4.49 ± 0.30 (n = 32)	6.56 ± 0.15 (n = 32) ^a
Celecoxib	8.86 ± 0.97 (n = 32)	6.15 ± 0.18 (n = 32) ^a
Ketoprofeno/Celecoxib	4.05 ± 0.08 mg/kg (n = 32)	1.83 ± 0.115 mg/kg (n = 32) ^a

^a = P<0.05

Tabla 4.

Razones de las potencias relativas de ketoprofeno y celecoxib en el test de la formalina orofacial en ratones.

Droga	Fase I	Fase II	Razón I/II
Ketoprofeno	4.49	6.56	1.46
Celecoxib	8.86	6.15	1.44
Mezcla	4.05	1.83	2.21

VII. DISCUSIÓN

En la labor diaria del odontólogo como profesional de la salud, el dolor es un síntoma que en nuestra profesión, se ve como un motivo de consulta de forma muy frecuente, del cual a su vez, debemos entender en sus diversas dimensiones emocionales y fisiológicas. Esta alta complejidad que involucra un cuadro doloroso, es lo que debemos saber enfrentar de una manera adecuada, debido a la gran cantidad de tratamientos que tienen como objetivo final eliminar el dolor, ya sea por acciones clínicas directas en el territorio maxilofacial, o por la administración de fármacos analgésicos.

El test algiesiométrico de la formalina orofacial al 2%, permite cuantificar el comportamiento durante el efecto antinociceptivo de fármacos en modelos animales experimentales y es uno de los métodos más adecuados para estudiar el dolor en este territorio, debido a que se considera similar a la respuesta dolorosa en humanos. La inyección de formalina, genera un comportamiento debido a la estimulación nerviosa de fibras A δ y C, en neuronas del asta dorsal y núcleos del trigémino, así como el rascado o frotamiento del animal es una respuesta directa a ésta, en la que se distinguen 2 fases, la algésica, debida a la estimulación directa de los nociceptores periféricos y la inflamatoria debida a la síntesis de los mediadores inflamatorios (40).

La administración de ketoprofeno y de celecoxib, produjo una actividad antinociceptiva de naturaleza dosis-dependiente en el test de la formalina orofacial que es concordante con resultados previos de otros AINEs (40,43).

Debe notarse que la potencia relativa del ketoprofeno es mayor en la fase I que en la fase II, lo contrario es cierto para el celecoxib. Estos resultados concuerdan con la afinidad relativa de cada uno de los AINEs (26 , 30).

La potencia relativa del celecoxib resultó ser 2 veces mayor en la fase I que la del ketoprofeno y por el contrario en la fase II el ketoprofeno resultó ser 1,06 veces mayor que la del celecoxib. Estos hallazgos podrían ser explicados por las características del perfil farmacológico de cada uno de los fármacos usados, así , ketoprofeno ha sido caracterizado como inhibidor de las enzimas COXs, preferentemente de COX-1, en cambio celecoxib, es un inhibidor selectivo de las COX-2 (46).

El sinergismo obtenido por la combinación de celecoxib y ketoprofeno, en ambas fases, podría explicarse por la saturación de los receptores de las COX-2, puesto que ambos fármacos las inhiben, esto permitiría al ketoprofeno, actuar en las vías de conducción del estímulo doloroso, en una mayor cantidad que cuando se aplica este fármaco en monoterapia. Así como resultado final, se produciría un efecto analgésico incrementado debido a una mayor cantidad de ketoprofeno disponible para su acción sobre el sistema nervioso central, estando bloqueadas las COX-2 periféricas por el celecoxib.

Colabora con el paradigma precedente, la hipótesis de que la acción de los AINEs en el SNC se debería a: a) inhibición de la síntesis de prostaglandinas a nivel espinal y cerebral, en respuesta a la estimulación periférica; b) penetración en la membrana plasmática que interferiría en señal de transducción dependiente de proteína G; c) activación de vías adrenérgicas y/o serotoninérgicas descendentes que participan en la inhibición de la

información dolorosa; d) retroalimentación del sitio modulador redox del complejo receptor NMDA-canal iónico y e) abolición de la inducción por aminoácidos excitatorios de genes de expresión inmediata (46) .

El sinergismo producido entre estos fármacos, es concordante con la teoría general de interacción de drogas, que establece que la combinación de ellas es más efectiva cuando los agentes individuales actúan, a través de mecanismos de acción analgésicos diferentes, por lo tanto, la posibilidad de que actúen de forma sinérgica es mayor. Otros posibles mecanismos pueden explicar las interacciones sinérgicas entre los fármacos analgésicos, que comprometen prácticamente todos los niveles de la función celular. Entre ellos se podrían citar: cambios en la afinidad de los fármacos; disminución de la tasa de eliminación; mayor activación de proteína G con el consecuente aumento en la actividad del otro fármaco, etc. (41,45).

Se pueden mencionar múltiples factores que explicarían el sinergismo, pero en la actualidad el mecanismo íntimo es desconocido. Sin duda sus beneficios terapéuticos son importantes. Estos hallazgos podrían mejorar el perfil terapéutico de este tipo de combinación, sobre todo porque con bajas dosis de los componentes, es probable que los efectos secundarios disminuyan sensiblemente, y es posible utilizar estas combinaciones especialmente para el tratamiento farmacológico del dolor a largo plazo.

De esta forma, conocer las dosis más eficaces es la base para lograr nuestro propósito, y dentro de esto, conocer los fármacos analgésicos que pudieren desarrollar acciones sinérgicas nos proporcionará un abanico aún más amplio de opciones.

VII. CONCLUSIONES

- Ketoprofeno produce una actividad antinociceptiva que es dosis dependiente al ser administrado por vía i.p. en el test algesiométrico de la formalina orofacial al 2 % en ratones.
- Celecoxib produce una actividad antinociceptiva que es dosis dependiente al ser administrado por vía i.p. en el test algesiométrico de la formalina orofacial.
- Ketoprofeno posee mayor potencia analgésica en la fase I comparada con la fase II.
- Celecoxib posee mayor potencia analgésica en la fase II que en la fase I.
- Ketoprofeno posee mayor potencia analgésica que celecoxib en la fase I o algésica.
- Celecoxib posee mayor acción analgésica que ketoprofeno en la fase II o inflamatoria.
- La combinación de ambos fármacos interactúan en forma sinérgica en el test de la formalina orofacial.
- La coadministración de ketoprofeno y celecoxib permitiría buscar nuevas alternativas farmacológicas para producir un mejor efecto analgésico con menores dosis y así también reducir los efectos secundarios.

IX SUGERENCIAS

- Evaluar la interacción analgésica de ketoprofeno con otros AINEs, a través de distintos ensayos algesiométricos.
- Evaluar la interacción analgésica de celecoxib con otros AINEs, a través de distintos ensayos algesiométricos.
- Evaluar la interacción analgésica de celecoxib con fármacos opioides, a través de distintos ensayos algesiométricos.
- Estudiar si la administración asociada de ketoprofeno y celecoxib produce aumento o disminución reacciones adversas.

REFERENCIAS

1. Bonica, J.J. (1990) "Anatomic and physiology basics of nociception and pain". The management of pain. 2ª ed., Pennsylvania, Lea & Febiger; 28-94
2. Bonica, J.J. (1977) Neurophysiologic and pathologic aspects of acute and chronic pain. Arch Surg; 112:750-61;.
3. Busquets C., Maria Victoria R.,(2002) Monografías Médicas: Generalidades Sobre Dolor.;23-30.
4. Duane E. Haines. Principios de Neurociencia. 2a edición (2003). Pág. 264-292.
5. González R., Poza P., Vives R., Canto G. (2002). Antinflamatorios inhibidores selectivos de la cicloxigenasa-2 (COX-2). Alergol Inmunol Clin.; 17: 247-254.
6. Busquets C., Maria Victoria R.,(2002) Monografías Médicas: Tratamiento Farmacológico del dolor.;116-127.
7. Ortega A., Roca A., Mico J.A (2002), Modelos animales de dolor. Una visión crítica, Rev Soc Esp Dolor; 9: 447-453.
8. Schwartz S.I., (1999). Principios de Cirugía, (Vol II pág. 2032-2033), Mc Graw Hill Interamericana, Séptima Edición, Mexico,
9. Almeida T.F., Roizenblatt S. (2004), Tufik S., Afferent pain pathways: A neuroanatomical review. Br Res. 1000:40-56.
10. Carrillo JM, Hernández V, Collado S. (2002), Dolor y personalidad (I): Epidemiología y perspectiva biomédica. Jano; LXII (1431).
11. Lamont L, Tranquilli W, Grimm K, (2000), Physiology of Pain. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 30: 703-723.
12. Paeile, C., Saavedra H. (1990), "El dolor, aspecto básicos y clínicos". Páginas 23-27. Ed. Mediterráneo

13. Besson, J.M., Chaouch, A. (1987) "Peripheral and spinal mechanisms of nociception". *Physiol Rev.* 67: 67-186.
14. Romera E, Perena MJ, Perena MF and Rodrigo MD (2000), Neurophysiology of pain. *Rev Soc Esp Dolor* 7: Supl. II, 11-17.
15. Ganong WF, Fisiología médica (1998), 16ª edición, Manual moderno, páginas 155-162.
16. Dworkin RH, Corbin AE, Young JP Jr, Sharma U, LaMoreaux L, Bockbrader H, Garofalo EA, Poole RM (2003), Pregabalin for the treatment of postherpetic neuralgia: a randomized, placebo-controlled trial. *Neurology*.2; 60:1274-1283.
17. Dagnino J (1994). Definiciones y clasificación del dolor. *Boletín Escuela de Medicina, Universidad Católica de Chile.* 23:148-151.
18. Duane E. Haines. Principios de Neurociencia. 2a edición (2003). Pág. 264-292.
19. Sessle, B.J. (2006) "Mechanisms of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates". *J. Oral Rehabil* 33: 243–261.
20. Martorell LC, García B M, Peñarrocha M D (2004). Actualización en el tratamiento del dolor orofacial. *Med Oral*; 9:293-9.
21. Florez J., Armijo J.A., Mediavilla A.F. (2003) *Farmacología Humana.* 4ª edición, Masson, Barcelona, España.; 22: 375-385.
22. Grosser T., Fries S., Fitzgerald GA., (2006) Biological Bases for the cardiovascular Consequences of cox-2 inhibition: Therapeuties challenges and opportunities. *J Clin. Invest*; 116:4-15
23. Ulrich, H.Z. (2007), "Prostanoids in nociception and pain". *Biochem. Pharm.* 73: 165-174.
24. Poveda-Roda R., Bagan J.V., Jiménez-Soriano Y., Gallud-Romero L. (2007), "Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs in dental practice. A

review". *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* 12: 10-18.

25. Simmons D.L., Botting R.M., Hla T. (2004), "Ciclooxigenase isoenzymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition". *Pharmacol. Rev.* 56:387-437.

26. Vane J. (2003) The mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Int J Clin Pract Suppl.* Apr;(135):2.

27. Klasser G.D., Epstein J. (2005), "Nonsteroidal Anti-inflammatory drugs: confusion, controversy and dental implications" *J. Can Dent Assoc* 71:575-580.

28. Poveda-Roda R., Bagan J.V., Jiménez-Soriano Y., Gallud-Romero L., "use of nonsteroidal antiinflammatory drugs in dental practice. A review. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* 12: 10-18, 2007.

29. Huber, M.A., Terezhalmay, G.T. (2006) The use of COX-2 inhibitors for acute dental pain. *J. Am Dent Assoc*; 137: 480-7;

30. Warner T., Mitchell j., (2004) Ciclooxigenases: new forms, new inhibitors and lessons from the clinic. *The FASEB journal*; 18:790-804.

31. Smecuol E, Bai J C, Sugai E, Vazquez H, Niveloni S, Pedreira S, Mauriño E, Meddings J (2001). Acute gastrointestinal permeability responses to different non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Gut*; 49:650–655.

32. Micklewright R., Lane S., Linley W., McQuade C., F. Thompsom & N. Maskrey (2003). Review article: NSAIDs, gastroprotection and cyclooxygenase-II-selective inhibitors*, *Aliment Pharmacol Ther*; 17: 321–332.

33. Chandrasekharan N.V., Dai H., Roos L.T., Evanson N.K., Tomsik J., Elton T.S., Simmons D.L. (2002) "COX-3, a cyclooxygenase -1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression" *Proc Natl Acad Sci, USA* 99:13926-13931.

34. Hardman J, et al., (1996) *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. McGraw Hill internacional Editores, SA.; 1: 586-587,662.666

35. Miralles J. C., Negro J. M., Sánchez-Gascón F., García García M. (2001) Dermatitis de contacto por ketoprofeno con buena tolerancia de piketoprofen .Alergol Inmunol Clin; 16: 105-1081049: 165-170.
36. Hawkey CJ (1999) Cox-2 inhibitors. The Lancet; 353:307-311
37. Levy MB, Fink JN. Anaphylaxis to celecoxib (2001). Ann Allergy Asthma Immunol; 87: 72-73.
38. Grob M, Pichler WJ, Wüthrich B (2002). Anaphylaxis to celecoxib.
39. Tallarida RJ. (2001) Drug synergism: its detection and applications. J Pharmacol Exp Ther. 298(3): 865-872.
40. Miranda H.F., Sierralta F., Prieto J.C. , (2009). Synergism between NSAIDs in the orofacial formalin in mice. Pharmacol. Biochem. Behav; 92; 314-318.
41. Miranda HF, Prieto JC, Pinnardi G. (2005). Spinal synergy nonselective ciclooxigenase inhibitors and morphine antinociception in mice. Brain Res;
43. Luccarini P, Childeric A, Gaydier A-M, Voisin D, Dallel R. (2006), The orofacial formalin test in the mouse: A behavioural model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception. J Pain; 12: 908-914.
44. Raboisson P, Dallel R (2004). The orofacial formalin test. Neurosci Biobehav Rev; 28:219-226.
45. Chou TC. (2006), Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies. Pharmacol Rev; 58:621-81.
- Allergy; 57: 264-265.
46. R. Borges y M. Feria (2005). Farmacología. Prácticas de laboratorio para alumnos universitarios
47. Norman G, Streiner D. (1996) Bioestadística. Barcelona. Editorial Mosby.

48. Tallarida R. J., Cowan A., Raffa R. B. (2003) Antinociceptive Synergy, Additivity, and Subadditivity with Combinations of Oral Glucosamine Plus Nonopioid Analgesics in Mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*; 307(2): 699–704.

49. Purves D, Augustine G J, Fitzpatrick D, Hall W C, LaMantia A S, McNamara J O, White L E. “Neuroscience”, third Edition. Sinauer Associates, Inc. 2004; 209-228

Anexo I

Carta de aprobación del protocolo N° 238, del comité de bioética sobre investigación en animales.

Anexo II

Certificado de aprobación del protocolo N° 455, del comité de bioética sobre investigación en animales.