

M  
S2270  
2009  
p.2



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA



**“MODULACIÓN SEROTONÉRGICA DE LA ANTINOCICEPCIÓN INDUCIDA POR  
PARACETAMOL EN ANALGESIA OROFACIAL EXPERIMENTAL”**

**Katherina Sáez Gutiérrez**

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

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

8208

**TUTORES ASOCIADOS**

**Prof. Dr. Fernando Sierralta G.**



**Santiago - Chile  
2009**

8208

# ÍNDICE

1-. INTRODUCCIÓN.....	1
2-. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1-. El dolor.....	4
2.2-. Clasificación del dolor.....	5
2.3-. Fisiopatología del dolor.....	7
2.4-. Nocicepción a nivel facial.....	9
2.5-. Vías descendentes modulatorias.....	11
2.6-. Clomipramina.....	12
2.7-. Ketanserina.....	14
2.8-. Tropisetron.....	17
2.9-. Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos.....	20
2.10-. Paracetamol.....	26
3-. HIPÓTESIS.....	30
4-. OBJETIVO GENERAL.....	31
5-. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
6-. MATERIAL Y MÉTODO.....	32
6.1-. Animales de experimentación.....	32
6.2-. Test de la formalina.....	33
6.3-. Evaluación de la analgesia.....	36
6.4-. Estudio de la modulación serotoninérgica.....	37
6.5-. Análisis estadístico.....	37
7-. RESULTADOS.....	36

7.1-. Animales controles.....	36
7.2-. Curvas dosis-respuesta de paracetamol.....	36
7.3-. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de paracetamol.....	38
7.4-. Modulación de los agentes serotoninérgicos en la analgesia del paracetamol.....	39
8-. DISCUSIÓN.....	44
9-. CONCLUSIONES.....	49
10-. SUGERENCIAS.....	50
11-. RESUMEN.....	51
12-. BIBLIOGRAFÍA.....	52

## 1.- INTRODUCCIÓN.

A lo largo de la historia la profesión odontológica ha sido relacionada con dolor, el cual es considerado como una experiencia subjetiva y desagradable, que complementa las experiencias físicas con las psicológicas y sociales del individuo, resultando una percepción individual (1,2). Esta sensación provoca en gran medida una brecha entre el paciente y el tratante. Por esta razón, es deber del profesional, conocer y manejar los métodos de control del dolor, y utilizarlos sobre todo en aquellas circunstancias en las que el dolor, pasa de tener una función benéfica a convertirse en una patología que se desea suprimir.

La farmacología es la disciplina que estudia el origen y las acciones que las sustancias químicas ejercen sobre los seres vivos. Dentro de esta disciplina se ha desarrollado medicamentos que tienen como objetivo principal eliminar el dolor o al menos disminuirlo.

En el tratamiento farmacológico del dolor existen actualmente fármacos que interfieren en la conducción del estímulo nervioso, analgésicos de acción central y analgésicos de acción periférica dentro de los cuales encontramos analgésicos antiinflamatorios esteroidales (AIEs) y los analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) (3) que comprenden un vasto grupo de moléculas de diferente estructura química pero con acciones farmacológicas comunes entre las que destacan sus propiedades



antiinflamatoria, antipirética, antiagregante plaquetario y analgésica. Entre los AINEs atípicos se encuentra el paracetamol, el que posee una excelente actividad analgésica y la ventaja de poder administrarse por diferentes vías en procesos dolorosos diversos <sup>(3,4)</sup>.

Tanto en la clínica como en la vida cotidiana hemos visto a pacientes que, con el fin de aminorar sus dolencias, recurre a la automedicación y cuando no obtienen el resultado esperado con un fármaco, comienzan a combinar diferentes fármacos lo que puede resultar inefectivo y hasta peligroso. Por esta razón debemos tener una muy buena base de farmacología para poder saber tratar a cada paciente según su umbral doloroso, por lo que el control con un único fármaco es a veces insuficiente. Por ello se realizan ensayos experimentales asociando diversos fármacos a fin de encontrar combinaciones que permitan aminorar lo máximo posible el síntoma del dolor, sin provocar con ello reacciones adversas desagradables para el paciente o provocar algún daño en la salud del paciente a menos que estas reacciones sean justificadas por el beneficio obtenido.

Como resultado de estos ensayos, se ha demostrado que el uso de antagonistas no selectivos y selectivos de diversos neurotransmisores, como por ejemplo el tropisetron o la ketanserina, pueden modificar los efectos analgésicos de los AINEs, ya sea aumentándolos o bien disminuyéndolos <sup>(5-9)</sup>.

2 - M En este estudio se evaluará la modulación serotoninérgica del efecto analgésico del paracetamol, usando el método algesiométrico agudo de la formalina orofacial <sup>(10)</sup>.

Según la asociación internacional para el estudio del dolor (IASD), el dolor puede ser definido como "una experiencia subjetiva y desagradable, asociada a daño tisular presente o potencial, derivado en realidad de ese daño", y el mecanismo mediante el cual los estímulos nocivos son transmitidos al sistema nervioso central se denomina nocicepción<sup>(1)</sup>.

El mecanismo de la nocicepción participa en la capacidad de evaluar la naturaleza, localización, intensidad y duración de la estimación dolorosa.

Este mecanismo consta de tres partes:

## 2.- MARCO TEÓRICO.

### 2.1.- El Dolor.

Según la asociación internacional para el estudio del dolor (1979), el dolor puede ser definido como: "una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a daño tisular presente o potencial, descrita en términos de ese daño", y el mecanismo mediante el cuál los estímulos nocivos son transmitidos al sistema nervioso central se denomina nocicepción <sup>(2)</sup>.

El mecanismo de la nocicepción participa en la capacidad de analizar la naturaleza, localización, intensidad y duración de la estimulación dolorosa.

Este mecanismo consta de tres partes:

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.

## 2.2.- Clasificación del dolor:

Hay distintas formas de clasificar el dolor <sup>(2)</sup>:

### A) Evolución:

**Dolor agudo:** es aquel que comprende el lapso estimado para que los tejidos sanen, considerándose como tiempo máximo 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 limitando el daño e iniciando los procesos de reparación.

**Dolor crónico:** es aquel que tiene una duración de más de tres meses. Este dolor tiene poco o nulo componente neurovegetativo, pero es acompañado por gran compromiso psicológico.

### B) Fisiopatología u origen:

**Dolor somático o nociceptivo:** es aquel que aparece cuando un estímulo potencialmente dañino para la integridad física excita los receptores nociceptivos de la piel, músculos o articulaciones. Es habitualmente bien localizado y el paciente no tiene grandes dificultades en describirlo.

**Dolor neuropático:** es aquel que se presenta como el resultado de lesiones o alteraciones crónicas en vías nerviosas periféricas o centrales. Puede desarrollarse y persistir en ausencia de estímulo nocivo evidente.

**Dolor psicógeno:** es aquel dolor de causa psíquica. Puede existir un daño presente o pasado, pero el problema central es la amplificación y distorsión de esos impulsos periféricos por el estado psicológico.

**Dolor visceral:** es aquel producto de la estimulación de receptores de dolor que inervan estructuras viscerales. Suele ser referido por el paciente como un dolor inespecífico de localización difusa, mal definido.

### C) Características somatosensoriales:

**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.



### 2.3.- Fisiopatología del dolor.

Son muy variadas las estructuras nerviosas que participan en la percepción de la experiencia dolorosa. Existen niveles de integración, donde la información nociceptiva es procesada de forma organizada y sometida a control de los sistemas individuales. Los eventos generados entre el sitio activo del tejido dañado y la percepción de dicho daño se denominan nocicepción y este mecanismo puede ser graficado como una cadena de tres neuronas<sup>(11,12)</sup>:

**Neurona de primer orden** que se origina en la periferia, lugar donde se encuentra el nociceptor. Desde aquí se proyecta a la médula espinal.

**Neurona de segundo orden** que asciende a través del asta posterior de la médula espinal.

**Neurona de tercer orden** que se proyecta a la corteza cerebral.

La neurona de primer orden puede ser de dos tipos: fibra del tipo A $\delta$  (mielínica, de conducción rápida), y/ o del tipo C (polimodal, amielínica, de conducción más lenta). Esta neurona posee forma de T, con su cuerpo en el ganglio raquídeo correspondiente y dos prolongaciones axónicas, una periférica en cuyo extremo se produce una arborización, que actúa como receptor de dolor (nociceptor) y una segunda prolongación, central que penetra en el asta posterior de la médula espinal<sup>(13)</sup>. Esta última se

introduce en la médula hasta llegar a las láminas de Rexed en la sustancia gris periacueductal

La neurona de segundo orden presenta un cuerpo ubicado en el asta posterior de la médula espinal, y una prolongación axónica que da origen a tres haces contralaterales que ascienden hacia estructuras del tallo cerebral y tálamo <sup>(2)</sup>:

- Haz neospinotalámico: hace sinapsis con los núcleos ventral posterior y pósterolateral del tálamo y de allí con la corteza parietal otorgando información de la ubicación topográfica del dolor.
- Haz paleospinotalámico: se proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo y luego a zonas frontales de la corteza, adquiriendo importancia en la evaluación cualitativa del dolor. Junto con el haz neospinotalámico forman la vía espinotalámica.
- Haz *espinoreticulotalámico*: está conformado por fibras que hacen sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia, zona reticular mesencefálica y sustancia gris periacueductal. De allí se dirige en forma bilateral hacia los núcleos inespecíficos del tálamo, terminando en la corteza inespecífica. Nos entrega el componente afectivo del dolor <sup>(2)</sup>.

Existen además interneuronas que actúan sobre las neuronas nociceptivas de la vía, que modulan la transmisión de los tractos sensitivos ascendentes, especialmente, a nivel de la llamada sustancia gelatinosa del asta posterior de la médula espinal <sup>(14)</sup>.

La tercera neurona se denomina tálamocortical puesto que termina en la corteza cerebral.

#### **2.4.- Nocicepción a nivel facial.**

Lo detallado anteriormente son las vías del dolor que inervan caudal al cuello. Por esta razón es necesario detallar el proceso doloroso de la zona facial por separado. La inervación sensitiva de los tejidos orofaciales está dada principalmente por ramas nerviosas del trigémino y en menor medida, por el nervio facial, glossofaríngeo y vago.

##### Nervio Trigémino o V par craneal.

Al recibir un estímulo, el nociceptor lo transmite hacia el ganglio de Gasser, lugar donde se encuentran los núcleos sensoriales. Luego sus axones penetran en la protuberancia anular por delante del pedúnculo cerebeloso medio. Aquí, las fibras sensitivas del trigémino se dirigen hacia alguno de los 3 núcleos sensitivos <sup>(14)</sup>:

**Núcleo sensitivo Principal o Pontigo** en el que llegan aferencias de las fibras de gran diámetro para el tacto discriminativo y ligero. También recibe algunas ramas del núcleo mesencefálico.

**Núcleo Mesencefálico**, que posee los somas de las neuronas propioceptivas.

**Núcleo espinal**, el cual se divide en 3 subnúcleos; oral, interpolar y caudal. La porción caudal, que recibe fibras para el dolor y temperatura, se extiende desde el nivel de la decusación piramidal hasta los primeros 3 segmentos cervicales, relacionándose con las láminas I-IV del cuerno gris dorsal que permitirían así el control por la teoría de la compuerta <sup>(12)</sup>. En estos tres subnúcleos está representada la sensibilidad de labios, dientes y mucosas de la cavidad oral.

Desde los núcleos trigeminales sale una 3ª neurona que sinapta en el núcleo ventral pósteromedial (VPM) del tálamo y desde aquí se proyecta al extremo inferior del área somatosensorial primaria de la corteza cerebral.



## 2.5.- Vías descendentes moduladoras.

Las neuronas que conforman las vías descendentes se comunican y ejercen su rol modulador sobre neuronas que pueden ser serotoninérgicas, noradrenérgicas y, con menor importancia, dopaminérgicas, a través de la secreción de múltiples neurotransmisores y neuromoduladores presentes en el asta dorsal ya sea en terminales aferentes primarios, en interneuronas y/ o neuronas de proyección supramedular <sup>(16)</sup>. Desde los centros superiores, las vías descendentes realizan sinapsis en otros centros de control del dolor como por ejemplo el hipotálamo o el núcleo del tracto solitario y finalmente a los nociceptores periféricos A $\delta$  y C, formándose un complejo de retroestimulación y posteriormente de inhibición.

Un tipo neuronal monoaminérgica importante en el rol modulador es la serotoninérgica. La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es un importante neurotransmisor y neuromodulador. Se encuentra en altas concentraciones en plaquetas, células enterocromatoafines, en ciertas regiones del cerebro - alcanzado mayor concentración en el área postrema- en los terminales periféricos del nervio vago así como también en tejido intestinal no neuronal. Se han descubierto distintos receptores de membrana, los cuales pueden dividirse en varias clases (del 5-HT<sub>1</sub> al 5-HT<sub>7</sub>) según su estructura y características operacionales <sup>(15,17)</sup>.



En términos evolutivos, la 5-HT es el neurotransmisor más antiguo y ha sido implicado en numerosas enfermedades tales como depresión, ansiedad, fobia social, esquizofrenia, desórdenes obsesivo-compulsivos, migraña, hipertensión, desórdenes alimenticios, entre otros <sup>(17)</sup>. Además, es un reconocido por ser un importante inhibidor de la transmisión nociceptiva a nivel espinal. En la periferia, se ha demostrado que 5-HT produce una respuesta algésica en el proceso inflamatorio y que la aplicación periférica de 5-HT evoca dolor en humanos <sup>(18)</sup>.

## **2.6.- Clomipramina.**

La clomipramina es un fármaco inhibidor de la recaptación de la serotonina. Se emplea con frecuencia en el tratamiento de diferentes formas de dolor crónico, sea éste de índole neurogénica o no <sup>(19)</sup>. Se cree que el efecto antinociceptivo de los antidepresivos es independiente de sus propiedades como tal, puesto que se ha visto pacientes que no presentan síntomas depresivos tienen una respuesta positiva frente a tratamientos cortos de bajas dosis. Por otra parte, la depresión es difícil de diagnosticar por lo que, en ciertos casos, es pasada por alto sobretodo cuando el síntoma doloroso es el único que se manifiesta. Dentro de los antidepresivos tricíclicos, la clomipramina es la que tiene mejor tolerancia. A pesar de esto,

entre sus reacciones adversas se encuentran mareos, aumento de apetito, confusión y desorientación <sup>(20,21)</sup>.

Hay estudios que indican que la terapia con antidepresivos en pacientes que padecen de dolor en la espalda baja y en pacientes con dolor mandibular crónico, provee de alivio moderado comparado con un placebo, siendo mayor el beneficio en pacientes que poseen un fuerte componente psicológico. Otros estudios observaron que pacientes que padecían de depresión y artritis reumatoide simultáneamente, bajo terapia con antidepresivos mejoraban su humor, dolor y función. Sin embargo, los antidepresivos no pueden ser usados como reemplazo de analgésicos estándar o AINEs, sino que deben usarse combinados con éstos <sup>(20)</sup>.

El mecanismo exacto por el cual los antidepresivos ejercen su acción antinociceptiva aun no se sabe <sup>(20)</sup>, pero se ha visto en investigaciones que la clomipramina, junto con otros fármacos tricíclicos convencionales, actúan inhibiendo la recaptación de noradrenalina y de serotonina en el espacio presináptico de la membrana neuronal. Por otra parte, el efecto antiinflamatorio de la clomipramina se debe a su acción sobre la PGE<sub>2</sub> y la sustancia P, disminuyendo su concentración en el exudado inflamatorio <sup>(22)</sup>.

En la búsqueda de nuevos usos de los antidepresivos se ha encontrado que:

- Los antidepresivos tienden a ser particularmente efectivos en el tratamiento de las formas atípicas de neuralgia trigeminal. Dentro de éstos, la clomipramina es el agente bloqueador de la recaptación de 5-HT más potente y puede ser mejor tolerado que otros antidepresivos tricíclicos como la amitriptilina <sup>(21)</sup>.
- Overall, Allper y Lewis concluyeron que los antidepresivos tricíclicos son los que poseen mayor evidencia de efectividad reduciendo el dolor o las molestias provocadas por la neuralgia post-herpética <sup>(23)</sup>.
- En un estudio de Abdel Salan O. et al, observaron que la acción antinociceptiva de la clomipramina es dosis-dependiente, disminuyendo, en el experimento, el edema inducido hasta inhibirlo en dosis más altas <sup>(22)</sup>.

## 2.7.- Ketanserina.

Una vez que se provoca una injuria, se elevan los niveles de serotonina, aunque esto no es de manera proporcional a la magnitud de la injuria <sup>(24)</sup>. La serotonina interactúa con varios subtipos de receptores 5-HT

en la periferia provocando nocicepción y dentro de éstos, 5-HT<sub>2</sub> al parecer resulta esencial. Evidencias demuestran que 5-HT induce hiperalgesia y aumento del dolor mediante la noradrenalina y prostaglandina E<sub>2</sub> y la sustancia P<sup>(25,26)</sup>, situación que es imitada por el agonista 5-HT<sub>2</sub>, pero no así por los agonistas 5-HT<sub>1</sub> o 5-HT<sub>3</sub>. Es así como la respuesta nociceptiva producida por 5-HT es abolida por los antagonistas 5-HT<sub>2</sub>, en cambio, los antagonistas 5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>3</sub> sólo atenúan la respuesta<sup>(27 - 30)</sup>. Además el 5-HT<sub>2</sub> está implicado en el desarrollo de la hiperalgesia y edema inducido por adenosina<sup>(30)</sup>. El receptor 5-HT<sub>2</sub> se encuentra presente en células de mastocitos y células epiteliales de la mucosa intestinal y entre los antagonistas que se conocen está la ketanserina - que es el antagonista más selectivo - bloquea los receptores 5-HT<sub>1c</sub> y 5-HT<sub>2</sub> y receptores α<sub>1</sub> adrenérgicos vasculares como 5-HT<sub>2</sub> en las plaquetas y antagoniza la agregación plaquetaria promovida por la serotonina y reduce la hipertensión arterial tanto en animales como en humanos. Sus reacciones adversas son muy infrecuentes y entre ellos están el aumento de peso, sofoco o hipotensión<sup>(24-30)</sup>.

Ketanserina produce anti-hiperalgesia actuando en los receptores 5-HT<sub>2</sub> previniendo la sensibilización de nociceptores y activando neuronas del cuerno de la espina dorsal durante el proceso inflamatorio, originado a nivel del sistema nervioso periférico (en los receptores 5-HT<sub>2A</sub> localizados en los axones amielínicos de los tejidos periféricos). De estos resultados se



concluye que el bloqueo del receptor periférico 5-HT<sub>2</sub> es un posible método terapéutico analgésico para abolir el dolor limitando la respuesta nociceptiva a nivel central <sup>(25)</sup>. Un estudio realizado por Millan <sup>(31)</sup> reporta que la ketanserina suprime la injuria inducida a ratones mediante la actividad que presenta en el cuerno de la médula espinal. En adición, otras investigaciones <sup>(37)</sup>, observaron que el receptor 5-HT<sub>2</sub> se encuentra en la parte del cerebro encargada de la modulación de la vía del dolor descendente, incluyendo el núcleo del rafe magnus (NRM), sustancia periacueductal y el cuerno de la espina dorsal.

Wei et. al., agregó que la ketanserina atenúa significativamente el edema inducido en modelos de estudio de manera dosis-dependiente. A pesar de esto, altas dosis de ketanserina inhibe el dolor, pero persiste un efecto moderado en la inflamación <sup>(25)</sup>.

Se ha demostrado que el pretratamiento con ketanserina en la antinocicepción inducida por un inhibidor de la recaptación de la norepinefrina (milnacipran) ó de la serotonina (fluvoxamina) aumenta el efecto antinociceptivo de éstos <sup>(28)</sup>. Sin embargo, este estudio y otro realizado por Kesim et. al., <sup>(18)</sup>, reportaron que la ketanserina no produce un efecto antinociceptivo por si solo.



## 2.8.- Tropisetrón.

Los primeros estudios reportaron que tropisetrón, un antagonista selectivo de 5-HT<sub>3</sub>, podía reducir el dolor agudo provocado por inyección periférica de serotonina. En tejido dañado de modelos animales existe evidencia que la activación del receptor 5-HT<sub>3</sub> en neuronas periféricas aferentes provoca nocicepción aguda y persistente además de efectos inflamatorios, los cuales podían ser reducidos o bloqueados mediante el uso de tropisetrón <sup>(32)</sup>.

En un estudio realizado por Zeitz et. al. <sup>(33)</sup>, mediante el test de formalina en ratones que presentaban alteración genética o farmacológica del receptor 5-HT<sub>3</sub>, se observó que en éstos la nocicepción aguda no se veía afectada, pero si se observó una disminución de la segunda fase del dolor. Este estudio se corroboró con otra investigación de inmunotinción donde se observó al receptor 5-HT<sub>3</sub> presente en nociceptores mielínicos y amielínicos, pero que sólo en algunos de ellos resultaban ser positivos para Sustancia P, factor clave en el desarrollo de inflamación de tejidos. Por otra parte, la distribución a nivel cerebral del receptor 5-HT<sub>3</sub> hace pensar que podría influenciar en la neurociología del dolor y relacionarse con fenómenos tales como la ansiedad y la depresión <sup>(32)</sup>.

La activación del receptor 5-HT<sub>3</sub> es seguido por una veloz despolarización de neuronas periféricas o centrales a causa de un rápido aumento de la concentración de Ca<sup>+2</sup> citosólico inducido por el movimiento de calcio intracelular, así como también una modulación de la liberación de varios neurotransmisores y neuropéptidos tales como la dopamina, colecistoquina, acetilcolina, GABA, sustancia P o serotonina <sup>(34,35)</sup>. Al bloquear los receptores 5-HT<sub>3</sub> en diversos modelos animales se observa una variación en estos efectos. Este estudio realizado también en voluntarios sanos no produjo cambios en el patrón de efectos inducidos por tropisetron pero que en condiciones patológicas presenta efectos pronunciados.

Tropisetron tiene mayor afinidad y especificidad por el receptor 5-HT<sub>3</sub> que el granisetron o el ondansetron, pero parece tener un efecto antagonista leve en los receptores 5-HT<sub>4</sub>. Además tropisetron es absorbido de manera rápida y casi completa después de su administración oral. Su metabolismo ocurre predominantemente en el hígado obteniendo metabolitos inactivos. En términos de los efectos generados con tropisetron se contempla que el tratamiento es bien tolerado y puede presentar como consecuencias constipación, dolor de cabeza y ocasionalmente una reacción de intolerancia. También fueron reportados casos de desórdenes de la conducción cardiaca y arritmias <sup>(32)</sup>.

Al comparar el efecto del tropisetron con anestésicos locales (lidocaína) en casos con periartropatías se evidenció que el efecto era más prolongado con el anestésico local. En otro estudio con granisetron se observó una respuesta inmediata, de corta duración y específica de dolor en *casos de dolor temporomandibular en pacientes con desorden sistémico inflamatorio*<sup>(15)</sup>.

Tropisetron fue de los primeros antagonistas selectivos de 5-HT utilizados en reumatología demostrando eficacia en la reducción del dolor en pacientes con fibromialgia. Müller et. al.<sup>(35)</sup>, reportaron que sólo un 50% de los pacientes con fibromialgia tuvieron una reducción del dolor, pero se sugiere que se debe a que es muy difícil realizar un diagnóstico diferencial. Stratz et. al., investigó el efecto de la aplicación local de tropisetron en casos de tendinopatías periartropatías, observando que la inyección de tropisetron era comparable a la de anestésicos locales en cuanto a la reducción del dolor, pero esto era sólo en tratamientos de larga duración con el fármaco<sup>(36)</sup>.

El efecto analgésico del paracetamol puede estar asociado a la estimulación de los receptores 5-HT<sub>3</sub>. En animales el efecto antinociceptivo del paracetamol es inhibido por la administración intratecal de tropisetron<sup>(34)</sup>.

Sin embargo, Sandrini et. al.,<sup>(37)</sup> encontró que interactúa con la actividad antinociceptiva del ácido acetilsalicílico pero no con el paracetamol.

## **2.9.- Analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs).**

Los fármacos AINEs, junto con los opiodes han sido fármacos comúnmente utilizados en el manejo del dolor agudo y crónico. Comprenden una numerosa familia de medicamentos de estructura química diferente pero que comparten actividades terapéuticas y efectos adversos a distintos niveles (gastrointestinal, renal, cardiovascular, encefálico, hematológico, respiratorio, dermatológico, SNC). En general, corresponden a ácidos orgánicos débiles que muestran uno o más de los siguientes efectos: analgésico, antiinflamatorio, antipirético y/o antiagregante plaquetario pudiendo ser diferente la eficacia relativa para cada una de sus acciones, es decir, un fármaco concreto puede mostrar mayor actividad antiinflamatoria o analgésica que otro. Su mecanismo de acción se produce mediante la inhibición de la síntesis de prostaglandinas actuando sobre las enzimas ciclooxigenasas (COXs)<sup>(3)</sup>.

### Mecanismo de acción de los AINEs

La familia de los prostanoides consta de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos. Éstos actúan como mediadores lipídicos de



procesos fisiológicos y patológicos. Se sintetizan a partir del ácido araquidónico, el cual es removido de las membranas celulares por la acción de fosfolipasas (PLA<sub>2</sub>) cuando las células son activadas por trauma mecánico, citocinas y/o factores de crecimiento. Una vez que se remueve el ácido araquidónico, éste sufre una conversión mediante la acción de la ciclooxigenasa (COX), formando la prostaglandina G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>) y luego PGH<sub>2</sub>, las cuales posteriormente se transforman, gracias a la prostaglandina sintasa, en variados productos como prostaciclina, tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) y prostaglandinas D<sub>2</sub>, E<sub>2</sub> y F<sub>2</sub> las cuales juegan un rol principal en la homeostasis celular así como también en la mediación de la respuesta inflamatoria <sup>(3)</sup>.

De acuerdo a investigaciones recientes, se sabe que existen por lo menos 3 tipos de isoformas de enzimas, COX-1, COX-2 y COX-3. La COX1 es reconocida como una enzima "constitutiva" responsable de la síntesis de prostanoides en cantidades fisiológicas, por ende, la preservación de la regulación de los prostanoides mantiene la homeostasis en el organismo y se encuentra expresada en casi todas las células. La COX2 se encuentra expresada en forma constitutiva en varios tipos de células, pero su concentración aumenta hasta 20 veces en células efectoras de la respuesta inflamatoria ante un estímulo nocivo contribuyendo directamente con la hiperalgesia e inflamación, por ello se le ha llamado también enzima



“inducible”. La COX3 o también conocida como COX-1b es una enzima construida a partir del gen de la COX1 más el intrón1 del ARN<sub>m</sub>. Se encuentra presente en el corazón y principalmente en el encéfalo. Su acción es analgésica y antipirética al actuar sobre el hipotálamo <sup>(38)</sup>.

Al utilizar un AINE como terapia farmacológica, se inhibirá la síntesis de prostanoïdes con el fin de modular el dolor y crear un efecto antiinflamatorio y antipirético. Sin embargo, los AINEs no se encuentran exentos de efectos secundarios ya que se produce una alteración de diversas funciones fisiológicas (RAMs), entre ellas <sup>(3, 39)</sup>:

**Gastrointestinales:** hasta un 60% de los pacientes que consumen AINEs por tiempo prolongado, presentan daño gastroduodenal, con erosiones intramucosas, úlceras y hemorragias.

**Renales:** disminuyen el flujo renal y la filtración glomerular produciendo retención de sodio, agua y potasio.

**Hematológicas:** bloquean la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub> prolongando el tiempo de sangría. El efecto se revierte al desaparecer el AINE de la circulación.

**Hepáticos:** aunque casi todos los AINEs se han asociado a daño hepatocelular, las dos drogas que más comúnmente se relacionan a toxicidad son la aspirina y el paracetamol.

**Agregación plaquetaria:** inhiben la agregación plaquetaria aumentando el tiempo de sangrado- excepto el paracetamol- provocando hemorragias por interferir con la función antiagregante de las plaquetas, neutropenia y otras citopenias por falla medular.

**Hipersensibilidad:** puede presentarse como una rinitis vasomotora, edema angioneurótico, urticaria generalizada, asma bronquial, edema laríngeo e hipotensión.

**Sistema nervioso central:** los salicilatos en altas dosis pueden producir tinitus y pérdida de la audición y, en los ancianos, confusión y complicaciones neuropsiquiátricas. La indometacina se asocia a cefalea y vértigo en forma dosis dependiente y, en los ancianos, a depresión, pérdida de memoria y confusión.

**Embarazo:** pueden prolongar el embarazo al disminuir las contracciones por bloqueo de la COX-1. Además, la administración prolongada de AINEs durante el tercer trimestre podría provocar el cierre del ductus arteriosus e inducir hipertensión pulmonar persistente en el recién nacido, por el mismo bloqueo.

### Clasificación de AINEs

Existen diversas clasificaciones basadas, ya sea en su estructura química, sus efectos adversos o bien su selectividad inhibitoria sobre las COXs.

<b>Tipo estructural</b>	<b>Inhibidores no selectivos COXs</b>
Alcalinas	<i>nabumetona.</i>
Derivados ácido antranílico	<i>ác. mefenámico, ácido meclofenámico</i>
Derivados ácido propiónico	<i>ketoprofeno, ibuprofeno, naproxeno</i>
Derivados de ácido enólicos	<i>piroxicam, tenoxicam, fenilbutazona</i>
Der. de ácido hetero-aril-acético	<i>diclofenaco, ketorolaco, tolmetin</i>
Der. del ácido indolacético	<i>indometacina, sulindaco</i>
Der. del para-amino-fenol	<i>Acetaminofeno</i>
Der. del ácido salicílico	<i>aspirina, diflunisal, sulfasalazina</i>

**Tabla I.** AINEs inhibidores no selectivos de COXs. <sup>(3)</sup>

<b>Tipo estructural</b>	<b>Inhibidores selectivos COX-2</b>
Der. del ácido antranílico	<i>meclofenamato</i>
Di-aril-heterocíclicos	<i>celecoxib, etoricoxib, parecoxib, lumiracoxib.</i>
Der. de ácido enólicos	<i>meloxicam.</i>
Der. del ácido indolacético	<i>etodolaco, indometacina</i>
Der. del ácido salicílico	<i>APHS.</i>
Di-ter-butil fenoles	<i>darbufelona</i>
Sulfanilidas	<i>nimesulida</i>

**Tabla II.** AINEs selectivos de COX-2. <sup>(3)</sup>

### Interacción de fármacos:

La coadministración de dos fármacos, que pueden o no tener diferente mecanismo de acción, pero con un efecto similar, pueden producir distintas formas de interacción:

**Aditivos:** se *suma* el efecto producido por cada fármaco.

**Subaditivo o antagónico:** el efecto producido será *menor* que la suma de la actividad de cada fármaco por separado.

**Supraditivo o sinérgico:** el efecto obtenido es significativamente *mayor* que la suma de los efectos de cada fármaco por separado <sup>(40)</sup>.

Al realizar ciertas combinaciones de fármacos se puede tener una interacción de tipo sinérgica con el fin de disminuir las dosis de cada fármaco reduciendo así los RAMs que estos poseen.

### **2.10.- Paracetamol.**

Actúa a través de la vía de las ciclooxigenasas (COX) inhibiendo la producción de prostaglandinas (PGs) A pesar de que el paracetamol es analgésico y antipirético con efectos similares a los de la aspirina –que es el arquetipo de los antiinflamatorios no esteroideos-, no posee un rol significativo como antiinflamatorio o inhibiendo la producción pro-coaguladora



del TXAs. Además no tiene mayor efecto a nivel periférico, sino que su efecto es más bien a nivel central. Como mecanismos alternos de acción se han propuesto la inhibición de la vía L-arginina-óxido nítrico (NO) mediada a través de la sustancia P, reforzamiento de la inhibición de la vía serotoninérgica descendente y efectos en receptores canabinoides por metabolitos activos del paracetamol <sup>(4)</sup>.

La respuesta a la fiebre es mayor con una concentración de paracetamol en el fluido cerebroespinal en comparación con el plasma. Se ha visto en investigaciones con animales que el receptor 5-hidroxitriptamina tipo 3 (5-HT<sub>3</sub>) está involucrado en su efecto antinociceptivo. En humanos, la administración de tropisetron o granisetron (receptores antagonistas de 5-HT<sub>3</sub>) con paracetamol inhiben completamente el efecto algésico <sup>(4)</sup>.

Como se describió anteriormente, la prostaglandina H<sub>2</sub> sintetasa es la enzima responsable del metabolismo del ácido araquidónico a PGH<sub>2</sub> inestable, siendo las formas de esta enzima: PGHS-1 constitutiva (COX-1), PGHS-2 inducible (COX-2) y PGHS variante (COX-3) que se encuentra en el sistema nervioso central y es muy sensible al paracetamol. La conversión del ácido araquidónico ocurre en dos pasos: primero, éste gana dos moléculas de oxígeno, convirtiéndose en PGG<sub>2</sub> (vía COX) y luego el PGG<sub>2</sub> es reducido por electrones en la vía POX (sitio peroxidasa). COX es



dependiente de POX, pero POX puede actuar por sí solo. Esto debido a que el primer paso es dependiente del radical Tir385 en el sitio COX, el cual necesita para su generación al radical  $Fe_4^+=OPP^{*+}$  en el sitio POX. El paracetamol interfiere en este proceso reduciendo el co-sustrato en la reducción de  $Fe_4^+=OPP^{*+}$  (4).

Se ha demostrado que el paracetamol inhibe la actividad COX de manera más homogénea en el cerebro que en páncreas, lo que apoya la teoría de que el paracetamol actúa a nivel central, lo que concuerda con la propuesta actividad del metabolito activo del paracetamol (AM404) comparte la habilidad de los receptores canabinoides en producir actividad analgésica y bajar la temperatura corporal. El AM404, producido gracias a la conjugación del paracetamol con el ácido araquidónico, promueve un incremento de los niveles endógenos de CBs (4).

Por otra parte, el óxido nítrico (NO) es un neurotransmisor que lleva información nociceptiva a nivel espinal y su síntesis es promovida por el N-metil-D-aspartato (NMDA); el paracetamol así como otros AINEs interfieren en la activación del receptor NMDA. Sin embargo, su baja concentración de NO pareciera tener un efecto mínimo a nivel central en el mecanismo del dolor, mejorando el efecto antiinflamatorio (4).

### 3.- HIPÓTESIS GENERAL

La administración intraperitoneal (i.p.) de paracetamol produce una actividad antinociceptiva modulada por el sistema serotoninérgico, en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial.

### 5.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

5.1.- Medir la antinociceptiva inducida por el paracetamol (p.a.) en el test orofacial.

5.2.- Estudiar el efecto modulador de los antagonistas serotoninérgicos del subtipo  $5HT_2$  (ketanserina),  $5HT_1$  (trazodolona) y  $5HT_3$  (tropisetron), en la analgesia inducida por paracetamol.

#### 4.- OBJETIVO GENERAL.

Estudiar la actividad antinociceptiva del paracetamol, en el ensayo algiesiométrico de la formalina orofacial en ratones.

#### 5.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

5.1.- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración i.p. de paracetamol en el test orofacial.

5.2.- Estudiar el efecto modulador de los antagonistas de receptores serotoninérgicos del subtipo 5-HT<sub>1</sub> (clomipramina), 5-HT<sub>2</sub> (ketanserina) y 5-HT<sub>3</sub> (tropisetron), en la analgesia inducida por paracetamol.

## 6.- MATERIAL Y MÉTODO.

### 6.1.- Animales de experimentación.

En el ensayo se utilizaron ratones *Mus Musculus* machos de la cepa CF/1 de peso promedio entre 28 a 30 gramos habituados al ambiente de laboratorio al menos dos horas antes de realizar el experimento. El estudio se realizó de acuerdo al protocolo N° 238 FMUCH, el cual ha sido aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. De acuerdo a este protocolo se le aplicó una dosis de drogas única a cada animal seleccionado de manera aleatoria. Durante el experimento se realizaron observaciones en forma ciega, aleatorias y controladas con solución salina. El número de animales utilizados para cada ensayo fue de un mínimo de seis, los que fueron sacrificados inmediatamente después de realizado el ensayo mediante dislocación cervical por personal capacitado.

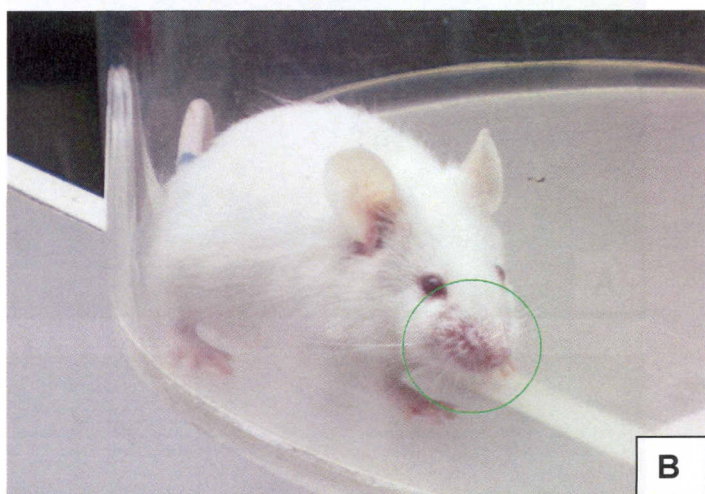




**Figura 1.** Ratón (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1

## 6.2.- Test de la formalina.

Para evaluar la actividad antinociceptiva se utilizó el test algesiométrico orofacial de la formalina, con el cual se puede medir el dolor originado por la estimulación de las ramas del nervio trigémino, uno de los nervios de mayor inervación del territorio máxilofacial. El estímulo se produce por la inyección subcutánea de 20  $\mu$ L de solución de formalina al 5% en el labio superior del animal. Esto provoca un sostenido frotamiento de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal <sup>(10)</sup>.



---

**Figura 2.** Procedimiento del test de formalina orofacial.

---

**A)** Inyección de 20  $\mu$ L de la solución al 5%.

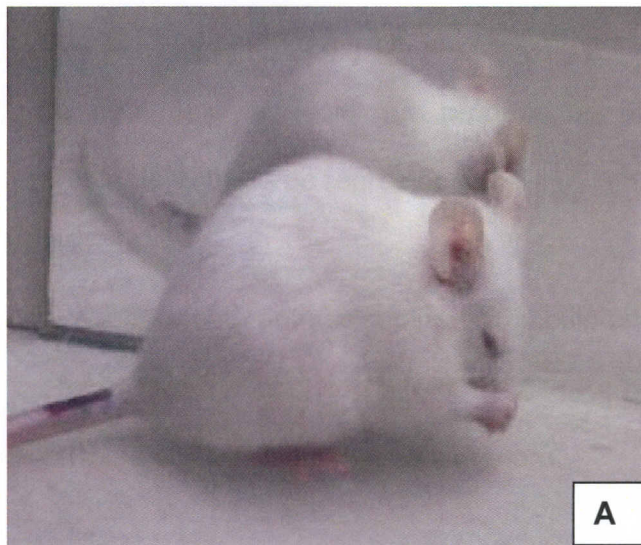
---

**B)** Inflamación y eritema de la zona perinasal luego de la inyección de

Una vez que los animales fueron inyectados, fueron depositados en un cilindro para su observación. Con un cronómetro digital se cuantificó el tiempo total (en segundos) de frotamiento en el área perinasal durante los primeros cinco minutos post-inyección de formalina, periodo correspondiente a la fase algésica aguda (fase I). Transcurridos 20 minutos de la inyección, se cuenta por 10 minutos el tiempo total de frotamiento, correspondiente a la fase inflamatoria (fase II). Los fármacos fueron administrados i.p., en un



volumen constante de 10 mL/kg. El ensayo de la formalina se realizó a los treinta minutos después de la inyección de las drogas, considerado como tiempo de máximo efecto determinado previamente.



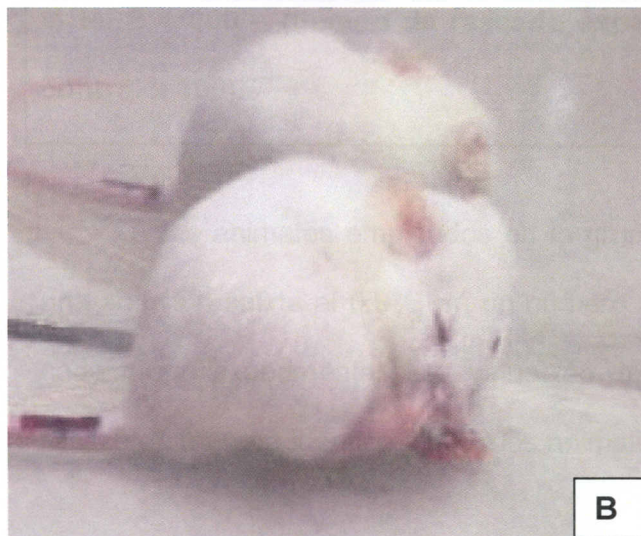
---

**Figura 3.** Frotamiento de la zona perinasal post-inyección con formalina.

---

**A)** Con la pata delantera.

---



**B)** Con la pata trasera

### 6.3.- Evaluación de la analgesia.

Para su evaluación se confeccionó una curva dosis-respuesta para paracetamol con el fin de probar su actividad antinociceptiva al administrarlo vía i.p. a un número mínimo de seis animales por cada una de 4 dosis administradas, tanto para la fase I como para la fase II. A partir de esta curva se determinó la dosis que produce un 50% del efecto máximo (DE<sub>50</sub>), mediante análisis de regresión lineal.

El efecto antinociceptivo se calculó en base al valor del porcentaje del efecto máximo posible (%MPE o % de analgesia o de antinocicepción) el cual se obtuvo de la siguiente manera:

$$\% \text{ MPE} = 100 - (\text{tiempo de rascado experimental} / \text{tiempo de rascado control} \times 100).$$

A los animales empleados en los grupos de control se les administró una solución salina al 0.9%, en un número de al menos dos ejemplares en cada grupo experimental. La evaluación de la actividad antinociceptiva se realizó de manera idéntica a la de los animales tratados en el estudio.



#### 6.4.- Estudio de la modulación serotoninérgica.

Para estudiar el rol del sistema serotoninérgico, se pretrató a grupos de al menos seis animales con los siguientes fármacos y dosis:

- Clomipramina 1 ó 0.1 mg/kg
- Ketanserina 0.01 ó 0.1mg/kg
- Tropicetrón 0.01 ó 0.1mg/kg

Cada uno de estos grupos se evaluó como fármaco único como también su interacción con paracetamol  $DE_{50}$ , evaluando el desplazamiento de la curva dosis-respuesta o la proporción de cambio del valor de la  $DE_{50}$ , después del tratamiento con los antagonistas de 5-HT, de acuerdo con el método de Zelcer<sup>(41)</sup>.

#### 6.5.- Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos se expresaron como promedios con sus respectivos errores estándar (EEM). Estos datos se analizaron de manera computacional, en base a los antecedentes publicados por Tallarida<sup>(40)</sup>. La significación estadística fue determinada por análisis de varianza y pruebas de *t Student*, considerando un nivel de 5% ( $p < 0.05$ ).

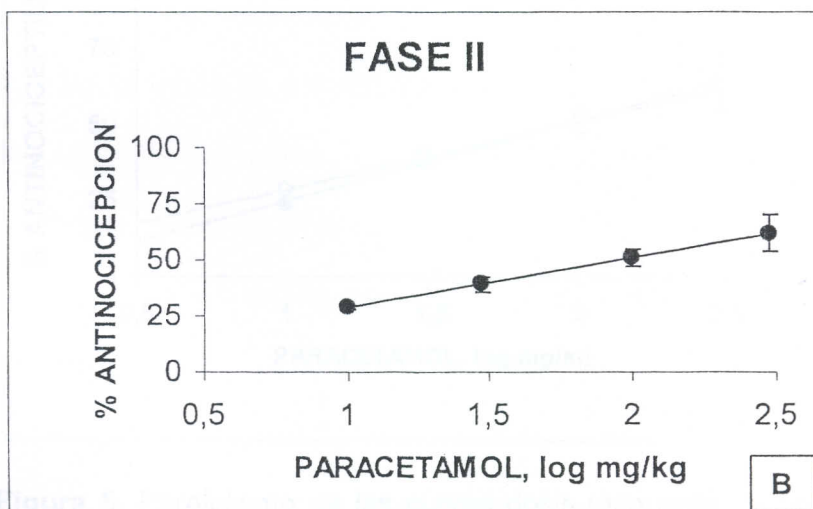
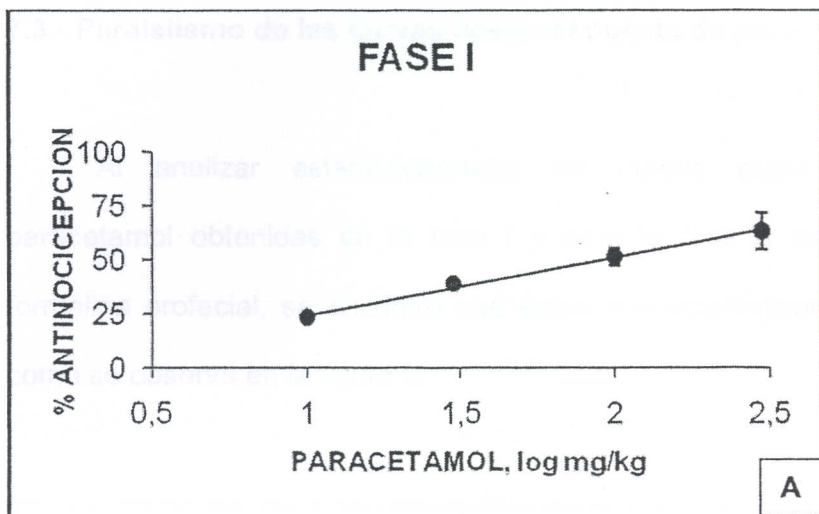
## 7.- RESULTADOS.

### 7.1.- Animales controles.

Los animales inyectados i.p. con salino y sometidos al ensayo orofacial arrojaron los siguientes resultados:  $103.13 \pm 8.70$  seg, para la fase I y  $141.63 \pm 11.80$  seg para la fase II. Estos valores fueron utilizados para calcular los porcentajes de antinocicepción, según la fórmula indicada en la página 34.

### 7.2.- Curvas dosis-respuesta de paracetamol.

La administración i.p., de paracetamol produjo una actividad analgésica dosis dependiente, tanto en la fase I como en la fase II cuyas curvas dosis-respuesta se observan en las figuras 4 y 5. A partir de estas curvas, por análisis de regresión lineal, se calculó la  $DE_{50}$ , que para la fase I resultó ser de  $89.96 \pm 6.48$  mg/kg y para la fase II de  $90.33 \pm 1.25$  mg/kg. Los tiempos de frotamiento correspondientes a estas  $DE_{50}$  se muestran en la Tabla III.



**Figura 4.** Curva dosis-respuestas de paracetamol, i.p. A) para la fase I B) para la fase II, ambos en el ensayo de la formalina orofacial. Cada punto es el promedio al menos 6 animales con su correspondiente EEM.

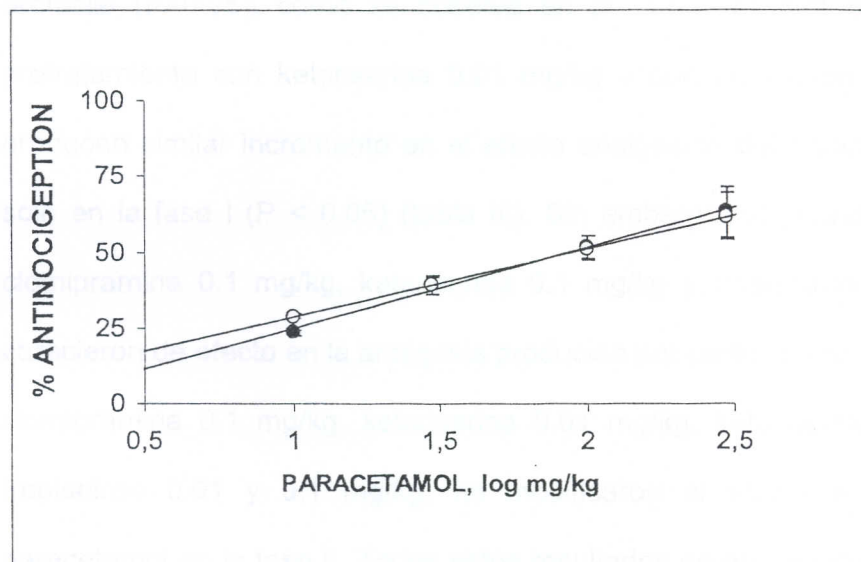
Todos los puntos son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ )

### 7.3.- Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de paracetamol.

del paracetamol.

Al analizar estadísticamente las curvas dosis respuesta de paracetamol obtenidas en la fase I y para la fase II del ensayo de la formalina orofacial, se encontró que éstas son estadísticamente paralelas, como se observa en la figura 5.

de un fármaco.



**Figura 5.** Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de paracetamol en la fase I (●) y en la fase II (○) del ensayo de la formalina orofacial en ratones. Cada punto es el promedio de al menos 6 ratones con sus correspondientes EEM.

antagónico.



#### 7.4.- Modulación de los agentes serotoninérgicos en la analgesia de la DE<sub>50</sub> del paracetamol.

Los agentes serotoninérgicos utilizados producen diferentes efectos en el frotamiento con respecto al control salino, como se observa en la tabla IV. Sin embargo, solo el pretratamiento con clomipramina 1 mg/kg incrementa el efecto analgésico del paracetamol en ambas fases del ensayo orofacial ( $P < 0.05$ ), como se observa en la tabla III. Por otra parte, el pretratamiento con ketanserina 0.01 mg/kg y con tropisetron 0.1 mg/kg, producen similar incremento en el efecto analgésico del paracetamol, pero solo en la fase I ( $P < 0.05$ ) (tabla III). Sin embargo, el pretratamiento con clomipramina 0.1 mg/kg, ketanserina 0.1 mg/kg y tropisetron 0.01 mg/kg, carecieron de efecto en la analgesia producida por paracetamol en la fase I y clomipramina 0.1 mg/kg, ketanserina 0.01 mg/kg, ketanserina 0.1 mg/kg, tropisetron 0.01 y 0.1 mg/kg, no modificaron el efecto analgésico del paracetamol en la fase II. Todos estos resultados se encuentran en la Tabla III y se representan en la figura 6. Los cambios en la razón de las DE<sub>50</sub> del paracetamol antes y después del tratamiento se resumen en la tabla V. Si la razón es superior a 1, el efecto del pretratamiento es sinérgico, si es igual a 1 el efecto es aditivo y si es menor que 1 el efecto de los antagonistas 5-HT es antagónico.

FARMACO (mg/kg)	FASE I (seg)	FASE II (seg)
Paracetamol 90	52.13 ± 6.04	60.17 ± 6.12
Id + clomipramina 0.1	48.67 ± 3.71	64.17 ± 4.7
Id + clomipramina 1	31.50 ± 2.13*	33.80 ± 5.36*
Id + ketanserina 0.01	30.33 ± 6.08*	75.50 ± 5.56
Id + ketanserina 0.1	41.50 ± 6.63	61.17 ± 7.46
Id + tropisetron 0.01	44.67 ± 3.83	71.83 ± 2.36
Id + tropisetron 0.1	34.75 ± 2.56*	52.83 ± 5.69

**Tabla III.** Valores del tiempo de frotamiento correspondiente a la DE<sub>50</sub> de paracetamol después el pretratamiento con los diferentes agentes serotoninérgicos en el ensayo de la formalina orofacial.

Los valores representan el promedio ± EEM entre 6 y 12 animales. \* P<0.05

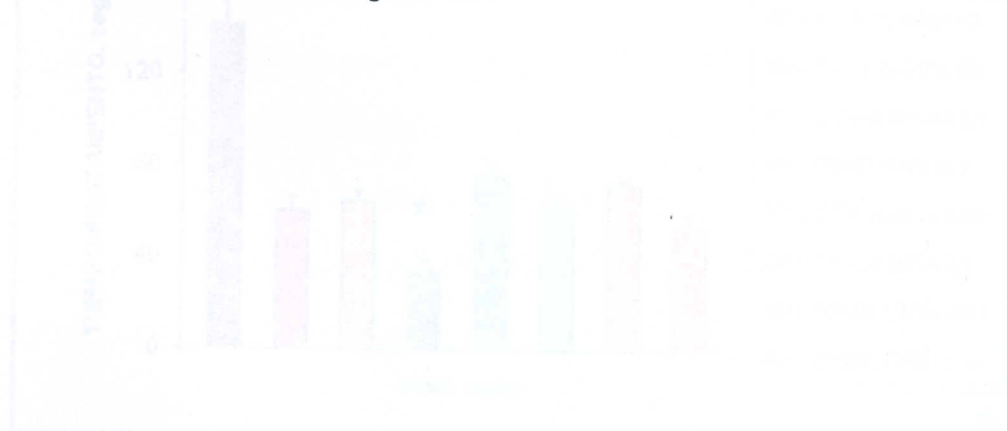
FARMACO (mg/kg)	FASE I (seg)	FASE II (seg)
Salino	103.13 ± 8.70	141.63 ± 11.80
Clomipramina 0.1	47.50 ± 4.82	70.00 ± 6.16
Clomipramina 1	41.83 ± 5.52	76.40 ± 5.56
Ketanserina 0.01	75.83 ± 6.99	81.33 ± 7.12
Ketanserina 0.1	49.83 ± 6.44	63.50 ± 7.62
Tropisetron 0.01	53.83 ± 4.38	86.17 ± 5.70
Tropisetron 0.1	49.83 ± 4.97	57.83 ± 8.27

**Tabla IV.** Valores del tiempo de frotamiento inducido por los diferentes agentes serotoninérgicos en el ensayo de la formalina orofacial.

Los valores representan el promedio ± EEM entre 6 y 12 animales. Todos los resultados son significativamente diferentes del control salino ( $P < 0.05$ )

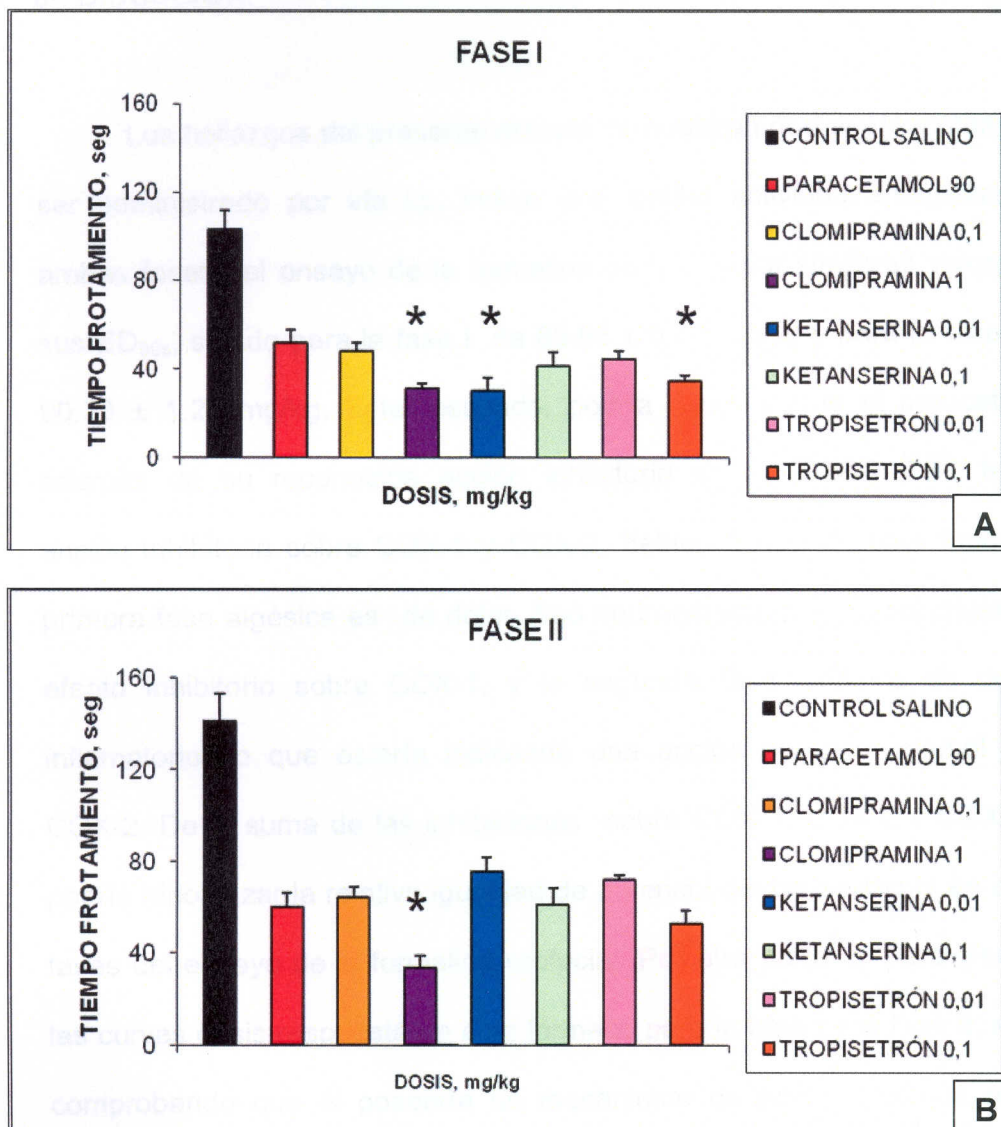
COMBINACIÓN en mg/kg	RAZÓN FASE I	RAZÓN FASE II
PARACETAMOL + ANTAGONISTA 5-HT		
+ Clomipramina 0.1	1.07	0.94
+ Clomipramina 1	1.65	1.78
+ Ketanserina 0.01	1.72	0.79
+ Ketanserina 0.1	1.26	0.98
+ Tropicetrón 0.01	1.16	0.84
+ Tropicetrón 0.1	1.50	1.4

**Tabla V.** Razón de las  $DE_{50}$  del paracetamol, i.p., antes y después del tratamiento con los antagonistas 5-HT.



**Figura 6.** Histograma de la actividad analgésica del paracetamol en animales pretratados con los antagonistas 5-HT (a) en la fase I (b) y en la fase II del estudio de analgesia.





**Figura 6.** Histograma de la actividad antinociceptiva de la  $DE_{50}$  de paracetamol en animales pretratados con distintos agentes serotoninérgicos **A)** en la fase I **B)** en la fase II del ensayo de la formalina orofacial. Cada barra representa el promedio  $\pm$  EEM de al menos seis animales. Todos los valores obtenidos con los agentes serotoninérgicos son significativos con respecto al control salino ( $p < 0.05$ ).

\*  $p < 0.05$  comparado con paracetamol

## 8-. DISCUSION.

Los hallazgos del presente estudio demuestran que el paracetamol, al ser administrado por vía i.p. indujo una similar actividad analgésica, en ambas fases del ensayo de la formalina orofacial, por similares valores de sus ED<sub>50s</sub>, siendo para la fase I de  $89.96 \pm 6.48$  mg/kg y para la fase II de  $90.33 \pm 1.25$  mg/kg. Este resultado, podría sugerir que el paracetamol, además de su reconocida acción inhibitoria sobre COX-3<sup>(4,38)</sup>, tendría acción inhibitoria sobre COX-1 y COX-2, debido a que en este modelo la primera fase algésica es de dolor tipo neurogénico, que respondería a un efecto inhibitorio sobre COX-1, y la segunda fase algésica es de tipo inflamatorio, lo que estaría indicando una acción del paracetamol sobre COX-2. De la suma de las inhibiciones sobre COX-1, COX-2 y COX-3, se podría hipotetizar la relativa igualdad de potencia del paracetamol en ambas fases del ensayo de la formalina orofacial. Por otra parte, el paralelismo de las curvas dosis-respuesta de este fármaco para la fase I y la fase II, estaría comprobando que él poseería un mecanismo de acción común para la antinocicepción. Este paralelismo sugiere que el paracetamol estaría actuando a nivel de un mismo sistema biológico, como serían las COXs, ya sea por activación de un receptor común, por intermedio de los mismos segundos mensajeros o por medio de similares neuromoduladores.

Se ha demostrado que 5-HT es un modulador importante tanto para los fenómenos algésicos como analgésicos. Dado que 5-HT está presente en neuronas centrales y periféricas, es liberada desde plaquetas y mastocitos después de la injuria tisular y ejerce su efecto algésico o bien analgésico dependiendo del sitio de acción y del subtipo de receptor activado <sup>(39)</sup>. Así, la administración de serotonina (5-HT) induce dolor por la activación de nociceptores primarios aferentes y por acción en las vías aferentes de la información nociceptiva a nivel supraespinial. Estos efectos son bloqueados por la inhibición de las ciclooxigenasas. De los diversos subtipos de receptores de 5-HT, los relacionados con 5-HT<sub>3</sub>, parecen ser los más importantes en los fenómenos de la nocicepción. Entre los bloqueadores de los receptores del subtipo 5-HT<sub>3</sub>, se debe mencionar al tropisetron que fue el primer compuesto en mostrar efectos antieméticos, como coadyuvantes en quimioterapia y radioterapia. Sin embargo, se han encontrado otras acciones a nivel de la nocicepción <sup>(32-37)</sup>.

En relación a la sinergia de clomipramina con paracetamol, existen evidencias experimentales, que podrían servir de base para este hallazgo. En general se afirma que los antidepresivos tricíclicos, como clomipramina, disminuyen la intensidad en la percepción del dolor, tanto en modelos inflamatorios como neuropáticos <sup>(22)</sup>. Se ha informado que la administración de clomipramina aumenta los niveles corticales de 5-HT, que de acuerdo con



Sommer <sup>(42)</sup>, posee efectos antinociceptivos. Por otra parte, ha sido reportado que clomipramina es capaz de producir efectos antiinflamatorios por alterar algunos de los mediadores locales de ella, como son PGE<sub>2</sub>, y la sustancia P. Todos los mecanismos descritos anteriormente confluyen en justificar los efectos sinérgicos en la actividad antinociceptiva del paracetamol después del pretratamiento con clomipramina. Debe tenerse en consideración, que además contribuirían a la sinergia clomipramina con paracetamol, los siguientes mecanismos propuestos para la clomipramina: antagonismo de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$ ; inhibición de NMDA; interacción con opioides y adenosina <sup>(22)</sup>.

En consecuencia de los hallazgos del presente trabajo, la asociación de tropisetron, ketanserina o clomipramina con paracetamol, al resultar sinérgica, permitiría una vía alternativa en el tratamiento farmacológico del dolor. Con las asociaciones antes señaladas, se podría reducir los efectos adversos de los agentes modificadores de los niveles de 5-HT.

El efecto sinérgico de ketanserina, antagonista de 5-HT<sub>2</sub>, sobre la analgesia inducida por paracetamol, es explicable por el rol de los receptores del subtipo 5-HT<sub>2</sub>, los cuales participan en forma importante en el desarrollo y mantenimiento de los procesos inflamatorios, incluso la administración tópica de ketanserina es capaz de reducir efectivamente el dolor artrítico. Por otra parte, existe evidencia que indican que la 5-HT induce hiperalgesia e incremento del dolor debido a noradrenalina y PGE<sub>2</sub>, que son imitados por



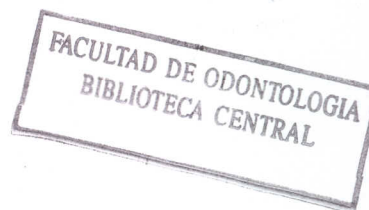
la administración de agonistas de 5-HT<sub>2</sub>, pero no por los que activan 5-HT<sub>1</sub> o 5-HT<sub>3</sub>. Estos efectos son abolidos por antagonistas de 5-HT<sub>2</sub>, como ketanserina, lo que confirma los hallazgos del presente trabajo. Sin embargo, las respuestas nociceptivas inducidas por 5-HT, no son antagonizadas por el bloqueo de los receptores 5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>3</sub>, lo que no es concordante con los hallazgos del presente trabajo. Estas discrepancias podrían explicarse por los diferentes protocolos experimentales <sup>(27-29)</sup>. Adicionalmente, otros roles en dolor, se han descrito para los receptores serotoninérgicos del subtipo 5-HT<sub>2</sub>, como la de inducir la extravasación de plasma con 5-HT en modelos de inflamación; el compromiso de 5-HT en modelos de dolor como la formalina y la inducción de hiperalgesia y edema por adenosina <sup>(30,43,44)</sup>. No puede descartarse que estos diferentes mecanismos contribuyan a la sinergia de paracetamol con ketanserina. Además, se ha comunicado que la activación de receptores 5-HT<sub>2</sub> tiene una acción facilitatoria en el efecto de la sustancia P liberada desde los aferentes presinápticos medulares. Esta acción podría ser antagonizada por ketanserina contribuyendo a la sinergia expresada con paracetamol.

La analgesia inducida por la administración de tropisetron, bloqueador selectivo del subtipo de receptores serotoninérgico 5-HT<sub>3</sub>, es concordante con los diferentes mecanismos de acción propuestos para 5-HT en la nocicepción. Se ha reportado que la activación del receptor 5-HT<sub>3</sub> es capaz

de inducir en modelos de tejidos inflamados la secreción de varios péptidos, tales como sustancia P y el factor relacionado con el gen de calcitonina (CGRP), los cuales actúan en macrófagos y otras células con la consiguiente liberación de elementos proinflamatorios como citocinas y prostglandinas. Por otra parte, la activación del subtipo 5-HT<sub>3</sub>, en monocitos produce la secreción de algunas citocinas, como (IL-1b; IL-6; TNF- $\alpha$ ). Además se ha propuesto que la activación del receptor 5-HT<sub>3</sub>, parece estar comprometida con la activación de células T a través de la vía de la fosfoquinasa C; adicionalmente se ha hipotetizado que los receptores 5-HT<sub>3</sub> modulan la excitabilidad de las neuronas gabaérgicas <sup>(32,34)</sup>. El efecto sinérgico del tropisetron en la fase I de la actividad analgésica del paracetamol, podría estar explicada por uno o todos los mecanismos de acción antes propuestos para el tropisetron. Este hallazgo es concordante con lo descrito por Sandrini, Pini y Vitale <sup>(37)</sup>, que demostraron similar efecto sinérgico entre tropisetron y paracetamol en la fase I del ensayo orofacial.

## 9.- CONCLUSIONES.

1. El paracetamol induce efecto analgésico, dosis dependiente, en ambas fases del ensayo de la formalina orofacial.
2. Paracetamol tiene efecto similar en ambas fases del ensayo orofacial.
3. La administración conjunta de paracetamol con ketanserina 0.01 ó con tropisetron 0.1 mg/kg, produce una interacción sinérgica en la fase I del proceso inflamatorio del ensayo de formalina orofacial.
4. La administración conjunta de paracetamol con clomipramina 1 mg/kg produce una interacción sinérgica tanto en la fase I como en la fase II del proceso inflamatorio inducido en el ratón.
5. La combinación de paracetamol con uno de los agentes serotoninérgicos de este estudio, disminuye significativamente las dosis, con la consiguiente reducción de los efectos adversos.



## 10.- SUGERENCIAS.

En base a los resultados obtenidos en este trabajo se puede sugerir:

1. Estudiar la interacción del paracetamol con agentes serotoninérgicos en otros ensayos algesiométricos, tales como el test de las contorsiones abdominales, formalina inyectada en la pata del animal, plancha caliente, etc.
2. Evaluar la actividad moduladora en la aninocicepción de paracetamol, usando otros agentes farmacológicos, como por ejemplo el óxido nítrico, antagonistas adrenérgicos, etc.
3. Evaluar la interacción entre los agentes serotoninérgicos estudiados con otros fármacos reconocidos por su acción analgésica.



## 11.- RESUMEN.

En odontología, el dolor ha sido siempre el principal motivo de consulta de los pacientes, razón por la cual se hace necesario para el profesional contar con una batería de agentes que produzcan analgesia, siendo los más prescritos los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). En este estudio se evaluó la actividad analgésica del paracetamol, en forma aislada y en combinación de tres agentes serotoninérgicos: clomipramina (5-HT<sub>1</sub>), ketanserina (5-HT<sub>2</sub>) y tropisetron (5-HT<sub>3</sub>). Para ello se utilizó un modelo de dolor agudo experimental que consiste en inducir un proceso algésico de dos etapas (fase I y II), mediante la inyección de 20 µL formalina al 5% en el labio superior de ratones. Los resultados demuestran actividad nociceptiva del paracetamol similar en ambas fases del ensayo. Además demostró que la clomipramina tiene un efecto sinérgico con paracetamol en ambas fases, no así la ketanserina o el tropisetron que sólo provocan este efecto en la fase I. En conclusión, la combinación paracetamol con un receptor antagonista serotoninérgico podría tener aplicación clínica, en el tratamiento farmacológico del dolor por su interacción sinérgica, evitando así efectos adversos por altas dosis.

## 12.- BIBLIOGRAFÍA.

- (1) Le Bars D, Gozariu M, Cadden S.W. Animal Models of Nociception. *Pharmacol Rev* 53:597–652, 2001.
- (2) Bonica JJ. Anatomic and physiology basics of nociception and pain. En: Bonica JJ (ed). *The management of pain*. 2ª ed. Pennsylvania, Lea & Febiger. 1990; pág. 28-94.
- (3) Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new inhibitors and lessons from the clinic. *Faseb J*. 2004; 18: 790-804.
- (4) Anderson B. Review article Paracetamol (Acetaminophen): mechanisms of action. *Pediatric Anesthesia* 2008 18: 915–921.
- (5) Miranda HF, Sierralta F, Pinardi G. Neostigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs. *Br. J. Pharmacol*. 2002; 135:1591-1597.
- (6) Miranda HF, Sierralta F, Pinardi G. An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception. *Anesth. Anal.* 201; 93:430-435.
- (7) Vane JR. Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Int. J. Clin Pract. Suppl.* 2003 Apr;(135):2.
- (8) Barbanoj MJ et al. Clinical pharmacokinetics of dexketoprofen. *Clin. Pharmacokinet*, 2001;40: 245-262.

- (9) Jackson ID et al. Double-blind, randomized, placebo-controlled trial comparing rofecoxib with dexketoprofen trometamol in surgical dentistry. *Br. J. Anaesthes.* 2004; 92:675-680.
- (10) Luccarini P et al. The orofacial formalin test in the mouse: a behavioral model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception. *J. Pain*, 2006; 12:908-914.
- (11) Guirimand F. Recent data on the physiology of pain. *Nephrologie.* 2003.7:401-407.
- (12) Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S. Afferent pain pathways: A neuroanatomical review. *Brain Res.* 2004. 1000:40-56.
- (13) Romera E, Perena M.J., Perena M.F. Neurofisiología del dolor. *Rev. Soc. Esp. Dolor.* 2000;7: Sup. II, 11-17.
- (14) Sessle BJ. Mechanisms of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates. *J. Oral Rehabil.* 2006. 33(4): 243–261.
- (15) Haus U, Späth M, Färber L. Spectrum of use and tolerability of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists. *Scand J Rheumatol* 2004. 33:12–18.
- (16) Milan M. Descending control of pain. *Progress in Neurobiology.* 2002. 66; 355- 374.
- (17) Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* 2002 . 71 533–554.

- (18) Kesim M et al. The different roles of 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptors on antinociceptive effect of paroxetine in chemical stimuli in mice. *J Pharmacol Sci.* 2005. 97, 61-66.
- (19) Flórez J, Armijo A, Mediavilla A. *Farmacología Humana*. 4ª Edición, Editorial Masson. 2003. Barcelona, España; cap. 32 pag. 579-594.
- (20) Bannwarth B. Antidepressant in rheumatic disorders: do they act as analgesics or antidepressants?. *Joint Bone Spine.* 2005. 72 351-353.
- (21) Chole R et al. Drug Treatment of Trigeminal Neuralgia: A Systematic Review of the Literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007. 65:40-45.
- (22) Abdel-Salam O, Nofal S, El-Shenawy S. Evaluation of the anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of different antidepressants in the rat. *Pharmacological Research.* 2003. 48 157–165.
- (23) Lewis M et al. Management of neuropathic orofacial pain. *Oral Radiol Endod.* 2007;103 (suppl 1):s32.e1-s32.e.24.
- (24) Natanda A, et al. Contribution of the peripheral 5-HT<sub>2A</sub> receptor to mechanical hyperalgesia in a rat model of neuropathic pain. *Neurochemistry International.* 2005. 47 394–400.
- (25) Wei H, Chen Y, Hong Y. The contribution of peripheral 5-hydroxytryptamine<sub>2a</sub> receptor to carrageenan-evoked hyperalgesia, inflammation and spinal fos protein expression in the rat. *Neuroscience.* 2005. 132 1073–1082.



- (26) Okamoto K et al. Activation of central 5ht2a receptors reduces the craniofacial nociception of rats. *Neuroscience*. 2007.147 1090–1102.
- (27) Grubb BD, McQueen DS, Iggo A, Birrell GJ, Dutia MB. A study of 5-HT-receptors associated with afferent nerves located in normal and inflamed rat ankle joints. *Agents Actions*. 1988. 25:216–218.
- (28) Abbott FV, Hong Y, Blier P. Activation of 5-HT2A receptors potentiates pain produced by inflammatory mediators. *Neuropharmacology*. 1996. 35:99–110.
- (29) Tokunaga A, Saika M, Senba E. 5-HT2A receptor subtype is involved in the thermal hyperalgesic mechanism of serotonin in the periphery. *Pain*. 1998. 76:349–355.
- (30) Sawynok J, Zarrindast MR, Reid AR, Doak GJ. Adenosine A3 receptor activation produces nociceptive behaviour and edema by release of histamine and 5-hydroxytryptamine. *Eur J Pharmacol*. 1997. 333:1–7.
- (31) Millan MJ. The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol*. 1999. 57:1–164.
- (32) Riering K, Rewerts C, Zieglgänsberger W. Analgesic effects of 5-HT3 receptor antagonists. *Scand J Rheumatol*. 2004;33:19–23.
- (33) Zeitz KP, Guy N, Malmberg AB, Dirajlal S, Martin WJ, Sun L, et al. The 5-HT3 subtype of serotonin receptor contributes to nociceptive processing via a novel subset of myelinated and unmyelinated nociceptors. *J Neurosci* 2002;22:1010 – 19.

- (34) Wolf H. Preclinical and clinical pharmacology of the 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists. *Scand J Rheumatol*. 2000;29 Suppl 113:37±45.
- (35) Müller W, Stratz T. 5-HT<sub>3</sub>-receptor-antagonists in therapy of rheumatic diseases. *Z Rheumatol* 2003;62:39 – 41.
- (36) Stratz T, Müller W. The use of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists in various rheumatic diseases. A clue to the mechanism of action of these agents in fibromyalgia?. *Scand J Rheumatol*. 2000;29 Suppl 113:66-71.
- (37) Sandrini M, Pini LA, Vitale G. Differential involvement of central 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptor subtypes in the antinociceptive effect of paracetamol. *Inflamm Res*. 2003;52:347 – 52.
- (38) Chandrasekharan NV et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. *Proceeding National Academy of Science, USA*. 2002. 99:13926-13931.
- (39) Vane J. Aspirin and other anti-inflammatory drugs. *Thorax*. 2000. 55: 3-9.
- (40) Tallarida RJ, Murray RB. 1986. *Manual of pharmacologic calculations with computer programs*. 2<sup>o</sup> edition. Springer-Verlag. New York.
- (41) Zelcer et al. Selective potentiation of opioid analgesia by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Brain Res*. 2005;1040:151-156.
- (42) Sommer C. Serotonin in pain and analgesia: actions in the periphery. *Mol Neurobiol*. 2004; 30: 117-125.

- (43) Pierce PA, Xie GX, Peroutka SJ, Green PG, Levine JD. 5-Hydroxytryptamine-induced synovial plasma extravasation is mediated via 5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub> receptors on sympathetic efferent terminals. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005. 275:502–508.
- (44) Abbott FV, Hong Y, Blier P. Persisting sensitization of the behavioural response to formalin-induced injury in the rat through activation of serotonin<sub>2A</sub> receptors. *Neuroscience*. 1997. 77:575–584.