



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
FACULTAD DE MEDICINA  
INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS  
PROGRAMA DE FARMACOLOGÍA MOLECULAR Y CLÍNICA**

**INTERACCIÓN NITRIDÉRGICA EN LA ANTINOCICEPCIÓN OROFACIAL  
EXPERIMENTAL DE MELOXICAM**

**María José De La Quintana Rojas**

**TRABAJO DE INVESTIGACION  
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

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

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

**Santiago - Chile  
2009**



*Dedicado a mis padres, por todo el amor y la confianza con la que me han formado y ser sin duda el pilar principal de mi educación.*

*Los amo.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres...Gloria Angélica, a quien admiro como madre, esposa y mujer, por su infinita paciencia e incondicional entrega y dedicación hacia mi familia y conmigo, virtudes que son la base de mi hogar; a Luis Alberto, mi padre, por sus palabras, consejos y manera de ver y vivir la vida que me han acompañado desde siempre y son el reflejo de la sabiduría adquirida a lo largo de sus años. Les estaré siempre agradecida.

Al equipo de Farmacología que participó de manera muy comprometida en este proyecto y me hizo sentir siempre respaldada. Dr. Hugo Miranda, por su generoso tiempo y gran espíritu docente; a José Lopez y Alejandro Correa por compartir su inigualable experiencia conmigo y por toda la hospitalidad y buena disposición que siempre tuvieron; al Dr. Fernando Sierralta por el respeto y confianza demostrado hacia mi trabajo.

Para finalizar, a mis amigos, compañeros y funcionarios de la Universidad con los cuales compartí inolvidables momentos durante estos años, les agradezco su compañía, apoyo y comprensión, los cuales fueron indispensables para tener el mejor de los recuerdos de esta etapa.

## INDICE

Introducción .....	1
Marco Teórico .....	3
- Definición del dolor .....	3
- Clasificación del dolor.....	3
- Neurofisiología del dolor .....	5
- Vías del dolor orofacial .....	9
- Regulación del dolor .....	12
- Oxido nítrico .....	13
- Oxido nítrico y dolor .....	19
- Inhibidores de las NOS .....	21
- Tratamiento del dolor .....	22
- Analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs).....	22
- Clasificación de los AINEs.....	23
- Mecanismo de acción .....	24
- Efectos terapeuticos de los AINEs .....	26
- Efectos adversos de los AINEs .....	27
- Meloxicam .....	28
- Interacción de fármacos .....	30

Hipótesis .....	32
Objetivos .....	33
- General.....	33
- Específicos .....	33
Material y método .....	34
-Test de la formalina .....	35
-Evaluación de la analgesia .....	37
-Estudio de la interacción antinociceptiva .....	37
Resultados .....	39
-Grupo control .....	39
-Determinación de la DE50 para meloxicam .....	40
-Paralelismo de las curvas dosis-respuestas .....	40
-Grupo tratado con L-NAME .....	41
-Grupo Tratado con meloxicam y L-NAME .....	42
Discusión .....	46
Conclusiones .....	49
Sugerencias .....	50
Resumen.....	51
Referencias bibliográficas .....	52

## INTRODUCCIÓN

El dolor es un fenómeno complejo, una experiencia sensorial y emocional desagradable que enfrenta un individuo de manera única, la importancia fisiológica de este síntoma es la preservación de la integridad del individuo, es una estrategia adaptativa que le permite al sujeto protegerse de las agresiones del medio externo o interno, produciendo una reacción en él, para eliminar de manera oportuna el estímulo doloroso (1).

Para los odontólogos el dolor es uno de los principales síntomas de patología por lo que un paciente acude al profesional, puede ser de origen odontogénico o no odontogénico como también secundario al tratamiento odontológico, por esto una de las principales preocupaciones que tiene el cirujano dentista es minimizar al máximo este padecimiento, eliminando la patología que lo produce y tratando la sintomatología, con el fin de lograr el bienestar del paciente.

Hoy en día existe una amplia gama de fármacos capaces de producir un poderoso y selectivo efecto inhibitorio del impulso doloroso, tales como opioides, anestésicos locales y analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), estos últimos son sin duda los más usados en los diferentes tipos de dolor, tanto agudo como crónico, siendo su mecanismo de acción la

inhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs) responsables de la producción de prostaglandinas directamente relacionadas con la patogénesis de la inflamación y del dolor (2,3). Sin embargo existen evidencias que el efecto analgésico de los AINEs es además modulado por fármacos que interactúan con otros receptores, como por ejemplo agentes adrenérgicos, colinérgicos (ACh), serotoninérgicos (5-HT), nitridérgicos (NO), opioides, etc (3). Así se ha demostrado que con el uso de antagonistas no selectivos y selectivos de diversos neurotransmisores, se puede modificar los efectos analgésicos de los AINEs, ya sea aumentándolos o bien disminuyéndolos, por que alteran los factores que intervienen en el proceso nociceptivo (3,4).

Por lo tanto es de interés evaluar la interacción existente entre uno de estos sistemas, el sistema nitridérgico, mediante el uso de L-NAME, inhibidor no selectivo de las enzimas nitrosintasas (NOs) que sintetizan el óxido nítrico (NO), y el efecto analgésico y antiinflamatorio de meloxicam, un AINE de uso en la práctica odontológica por su excelente tolerancia con mínimos efectos adversos debido a su selectivo mecanismo de acción inhibitorio de COX-2 (3).



## MARCO TEÓRICO

### Definición de dolor

El 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).

Para obtener una aproximación a la etiología, diagnóstico y tratamiento para la algia es importante identificar las características del dolor las cuales deben ser consignadas en la anamnesis, las principales son: localización, distribución, inicio, duración, intensidad, irradiación, carácter y factores asociados (1).

### Clasificación de dolor

Existen múltiples clasificaciones del dolor pero tal vez la más utilizada es aquella basada en su **duración** en donde el dolor se divide en **agudo** y **crónico**. El dolor dental es típicamente de naturaleza aguda y corresponde a aquel dolor que comprende el lapso estimado como necesario para que los tejidos sanen. El dolor crónico en cambio es aquel que tiene una duración

mayor a tres meses, presentando poco o ningún componente neurovegetativo, pero grandes efectos psicológicos y conductuales (1, 3, 5).

De acuerdo a su **característica somatosensorial** se puede clasificar en **epicrítico** cuando es superficial, localizado, y a su vez punzante, lacerante y opresivo. Por naturaleza no es referido. Por el contrario se clasifica como **protopático** cuando es difuso, mal localizado, sordo. Este tipo de dolor es descrito por el paciente como en un lugar distante al sitio donde se genera.

Según las **características temporales** del dolor este puede ser **continuo**, es decir, permanece estable en una cierta intensidad durante su duración; o bien, puede ser **recurrente**, experimentando periodos completos de alivio o agregándose momentos de dolor mas intensos, puede presentar características de la periodicidad (1, 3, 5).

En cuanto al **sitio de origen** o localización, el dolor ha sido descrito como periférico, visceral y central. El dolor **periférico** se origina en los tegumentos. El dolor **visceral** o profundo es el que se inicia en vísceras pélvicas, abdominales o torácicas, y en las articulaciones. El dolor **central** incluye el que tiene su origen en el sistema nervioso central (SNC).

Hay que mencionar que el dolor también lo podemos clasificar según su **fisiología**, en dolor fisiológico, inflamatorio y neuropático. El dolor de tipo **fisiológico** es 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. El dolor **inflamatorio** es generado a partir de la existencia de una lesión tisular, la cual conduce a un estado inflamatorio. Existe una activación permanente de las vías nociceptivas que puede evolucionar a la resolución del dolor cuando cesa la inflamación, a la cronicidad o a la transformación en dolor neuropático. El dolor **neuropático** es el resultado de lesiones o alteraciones de las vías nerviosas periféricas o centrales, de tal manera que puede desarrollarse y persistir en ausencia de un estímulo nocivo evidente. Se presenta como una sensación basal dolorosa o quemante, con hiperalgesia y alodinia (1, 3,5).

### **Neurofisiología del dolor**

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

Para percibir el dolor es necesario:

1. una estructura periférica que actué como receptor;
2. una sinapsis en la médula espinal;
3. vías de conducción desde la medula espinal hasta los centros superiores como bulbo, diencéfalo y corteza;

4. vías descendentes desde los centros superiores: corteza, tálamo y núcleos reticulares a la medula. (1, 6)

La propagación del dolor es iniciada con la activación de receptores de dolor, llamados **nociceptores**, 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 químicos. También existen los nociceptores polimodales, que responden a más de un tipo de estímulo.

Los nociceptores responden directamente a estímulos lesivos o también de forma indirecta, al responder a sustancias liberadas por el tejido lesionado (histamina o bradiquinina), o alteraciones metabólicas, como baja de pH, y aumento de concentración de ciertos iones, es por esto que los nociceptores pueden ser considerados quimioceptores. (1, 3, 6)

A diferencia de otros receptores, otras estructuras pueden modular las propiedades receptoras de los nociceptores. (5,7)

Existen 2 tipos, dependiendo de su diámetro y grado de mielinización, fibras A y fibras C:

- **Fibras A**, mielínicas, de mayor diámetro y velocidad de conducción que las fibras C. Dan información de tipo mecánica y térmica. Su

información es localizada, y no evocan componente afectivo de la experiencia sensorial. Responsable del dolor agudo, de aparición rápida y corta duración, llamado primer dolor. Su umbral es menor al de las fibras C. Secretan glutamato.

- **Fibras C**, amielínicas, de diámetro 0,2 -1,5 mm, velocidad de conducción entre 0,4 y 2 m/s. En la piel son el 70% de las fibras sensitivas. Son polimodales. Transmiten sensaciones mal localizadas. Responsables del dolor urente o punzante y persistente, que sigue al dolor agudo, o segundo dolor. Evocan el componente afectivo de la experiencia dolorosa. El principal neurotransmisor es el glutamato pero libera también sustancia P (5, 6,7).

Los cuerpos celulares están en el ganglio de la raíz dorsal medular, posteriormente estas pueden dar origen a una de las tres vías ascendentes del dolor, que corresponden en el hombre al haz Neo-Espinotalámico, haz Paleo-Espinotalámico y haz Espino-Reticulotalámico (ver figura 1).

El **haz neoespinotalámico**, como su nombre lo indica, es el de desarrollo filogenético más reciente; sus fibras sinaptan en los núcleos específicos del tálamo. Estos núcleos se proyectan a la corteza somestésica o parietal, a una zona restringida encargada de darle la ubicación topográfica al dolor (1,5,6).

El **haz paleoespinotalámico**, se proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo, para luego dirigirse a la corteza frontal, contribuyendo a la evaluación cualitativa del dolor (1,5,6).

El **haz espinoreticulotalámico** sinapta con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia reticular mesencefálica y sustancia gris periacueductal. Luego se proyecta al tálamo en forma bilateral a los núcleos inespecíficos. Este haz, es el que aporta el componente afectivo al dolor (1,5,6).

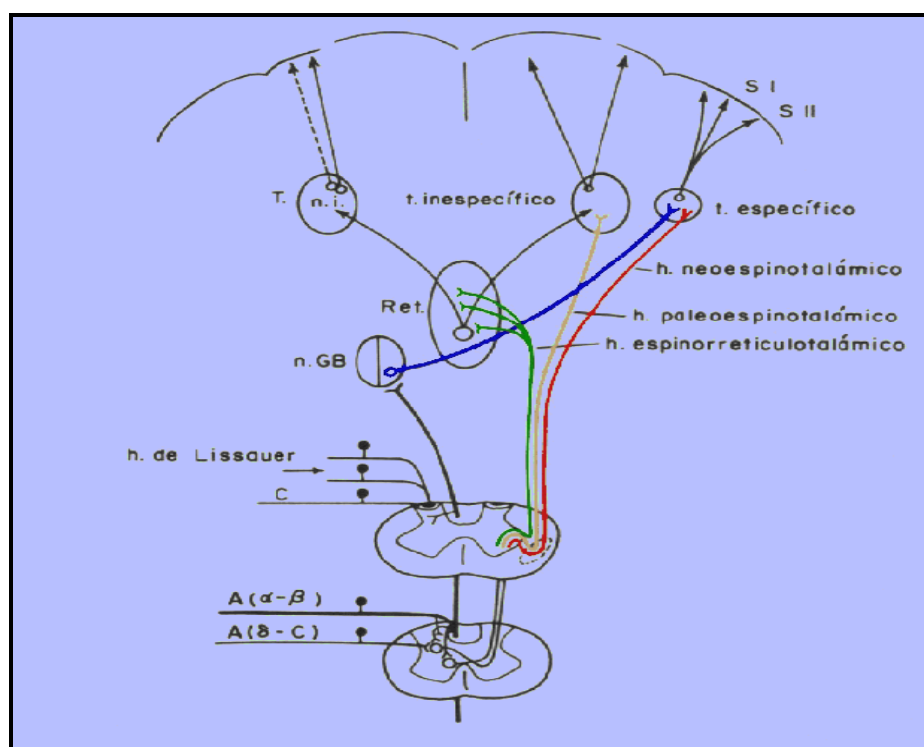


Figura 1. Representación esquemática de las vías nociceptivas aferentes (1).

Existen además sistemas endógenos moduladores del dolor que corresponden a vías descendentes originadas desde el tronco encefálico y constituyen uno de los principales mecanismos de control del dolor. Este sistema de modulación, comprende la sustancia gris periacueductal (SGP), la médula rostral ventromedial (MRV) y la médula espinal. Actualmente se sabe que la analgesia inducida por este sistema, depende de una gran cantidad y variedad de receptores y neurotransmisores (8).

### **Vías del dolor orofacial**

La nocicepción orofacial esta a cargo del sistema trigeminal, compuesto por el nervio trigémino, con sus núcleos de origen y vías nerviosas.

El **nervio trigémino** o V par craneal es un nervio mixto, cuyo origen aparente se localiza en las porciones laterales de la cara ventral de la protuberancia por medio de dos raíces; una motora y una sensitiva, la raíz sensitiva resume la percepción general de la piel y membranas mucosas del territorio cefálico y nace del borde posterior del ganglio sensitivo del V par, llamado **ganglio de Gasser**, penetra en la protuberancia y conecta con los núcleos sensitivos del nervio trigémino, ubicados en el tronco encefálico; mientras los axones periféricos que nacen del borde anterior del mismo ganglio, se distribuyen por las tres ramas terminales del V par: nervio oftálmico, maxilar y mandibular (6, 7, 9).

Las vías involucradas en la transmisión de impulsos dolorosos comienzan en los nociceptores que transmiten la información a través de las fibras mencionadas (A y C). Estas fibras tienen su soma en el ganglio de Gasser, el cual está compuesto por neuronas unipolares con axones en T (receptores del dolor).

La nocicepción del territorio máxilo facial se transmite a través de fibras nerviosas periféricas hacia SNC, se proyectan en un **complejo nuclear trigeminal** ubicado en el tronco del encéfalo, como se mencionó, el cual se extiende desde el mesencéfalo hasta los primeros segmentos medulares, dicho complejo se divide en tres núcleos en sentido rostrocaudal: núcleo mesencefálico, sensitivo principal y espinal que representan los centros segmentarios somatosensitivos del V par craneal (ver figura 2).

El núcleo espinal se divide en tres subnúcleos; el oral, interpolar y caudal. El subnúcleo interpolar y el caudal resume la sensibilidad dolorosa del territorio cefálico (9,10).



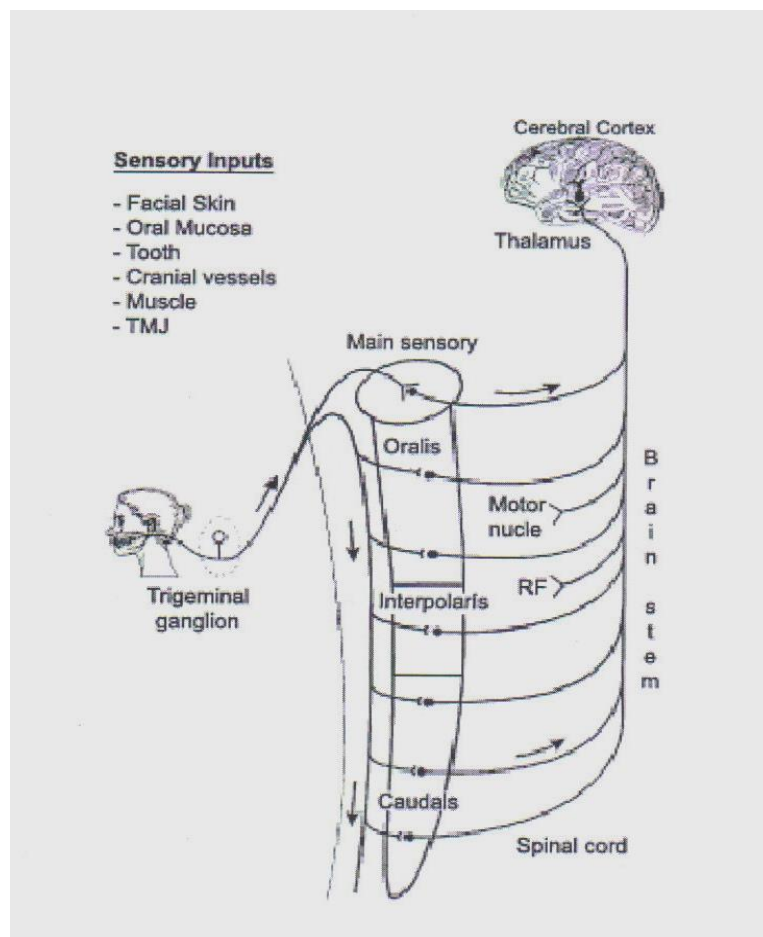


Figura 2. Vía somatosensorial principal de cara y boca según Sessle (9).

La neurona en T (nociceptor), tiene su soma en el ganglio de Gasser. Su axon central se dirige al subnúcleo interpolar y caudal del núcleo espinal del trigémino, donde sinapta con una neurona de segundo orden. La que puede ser una interneurona, y que se conecta a nivel de los núcleos trigeminales. O puede ser una neurona de proyección que lleva información a centros superiores; por

ej., tálamo, cerebelo. Las neuronas de proyección llegan específicamente al núcleo ventro postero lateral del tálamo. Desde aquí las neuronas talámicas se proyectan a la porción basal o inferior del área cortical somatosensitiva. Estas conexiones trigémino-tálamo-corticales explican, en parte, el origen de las sensopercepciones de la región orofacial (9, 10).

### **Regulación del dolor**

La nocicepción esta constituida por cuatro procesos neurofisiológicos, involucrados en su transmisión y procesamiento, estos son la transducción, conducción, modulación y percepción.

- **Transducción**, proceso por el cual los nociceptores transforman la energía del estímulo a un potencial de acción, se puede manejar con el uso de anestésicos locales (AL) y con AINEs, que alteran el proceso de transducción al inhibir la síntesis de mediadores inflamatorios.
- **Conducción**, propagación de estos potenciales hacia el SNC y sistema nervioso periférico (SNP), puede ser abolida por AL, al modificar la capacidad de descarga
- **Modulación**, es la modificación cuantitativa o cualitativa de la información, en el SNC como en el SNP. Pueden producir hiperalgesia o

hipoalgesia. Farmacológicamente se puede interrumpir interfiriendo en la síntesis de mediadores de la inflamación, como los AINEs

- **Percepción**, produce la experiencia emocional, subjetiva y consciente del dolor y permite determinar localización, magnitud y naturaleza del estímulo, acompañándose tanto de angustia como de necesidad de alivio. Se puede alterar con AL, AINEs, opiodes y antidepresivos, entre otros (3, 11).

Existen circuitos neuronales moduladores de la percepción dolorosa, tanto a nivel central como periférico, estos procesos implican mecanismos de regulación presináptico o postsinápticos, así como una variedad de sustancias endógenas, neuroquímicas y receptores (1).

### **Óxido Nítrico**

El óxido nítrico (NO) estructuralmente, es una de las moléculas biológicas inorgánicas más simples, sin embargo participa en uno de los circuitos de señalización más intrincados y versátiles actualmente conocidos. El NO es un gas, incoloro, formado por un átomo de nitrógeno y uno de oxígeno, con un electrón desapareado. El carácter de radical libre del NO le confiere características específicas, como su alta reactividad, y determinan su interacción, in vivo, con numerosos blancos.

Como gas es altamente lipofílico e hidrofílico, posee un alto poder de difusión, que determina una rápida extensión tridimensional y fácil acceso a células vecinas, a menudo, lejos del sitio de su síntesis. Esto sugiere que, cuando actúa como neurotransmisor, tiene un papel neuromodulatorio. Su vida media es de 5-6 segundos. El NO in vivo se neutraliza rápidamente por la hemoglobina, y los aniones del superóxido (12).

A diferencia de los neurotransmisores establecidos, el NO es sintetizado según su demanda y no es almacenado en vesículas sinápticas ni liberado por exocitosis, simplemente difunde a medida que se produce desde el terminal del axon. Sus receptores moleculares incluyen una variedad de proteínas intracelulares y extracelulares. La mayor parte de sus acciones son consecuencia de interacciones intracelulares, por lo que es considerado principalmente como segundo mensajero.

La actividad de los neurotransmisores convencionales finaliza por mecanismos de recaptura o degradación enzimática, pero en el caso del NO, su reacción continúa hasta que se agote el sustrato. Por lo tanto, el control de su síntesis es la llave para la regulación de su actividad (12).

Las óxido nítrico sintasas (NOS) son las enzimas encargadas de la síntesis del NO al catalizar la reacción de oxidación del aminoácido L-arginine.

Tres isoformas de NOS han sido distinguidos; cada una es producida por diferentes grupos de genes:

- **NOS neuronal** (nNOS o NOS I) en trombocitos, células  $\beta$  del páncreas, en el músculo, pulmón, estómago, neuronas, células epiteliales del útero y células endoteliales de las arteriolas aferentes y eferentes.
- **NOS inducible** (iNOS o NOS II) se encontró en macrófagos, neutrófilos, células de Kúpffer y microglia
- **NOS endotelial** (eNOS o NOS III) en trombocitos y células endoteliales

Tanto nNOS y eNOS están normalmente expresadas en estos tejidos, por eso también son llamadas constitutivas. Se encuentran en el citosol y membranas celulares, su actividad depende de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulina, producen NO en bajas cantidades, micromolares y son muy importantes en la regulación de procesos fisiológicos (12,14).

La iNOS normalmente no se encuentra expresada, es sintetizada luego de la inducción por un estímulo inmunológico/inflamatorio como endotoxinas bacterianas o citoquinas inflamatorias. Es independiente de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulina, produce NO en mayores cantidades, nanomolares, en

períodos controlados y se considera que se expresan en cuadros patológicos. Su actividad aparece después de 6 -8 horas de la inducción, tiempo en que se realiza la activación del gen y síntesis de la enzima (12,13, 14).

Aunque todas las isoformas catalizan las mismas reacciones, cada una de ellas tiene su propia estructura y localización. Estas características determinan diferencias en los caminos de la activación, así como la especificidad de sus inhibidores. Las características del NO y las diferencias funcionales entre las isoformas de las NOS determinan su diverso rol en la regulación de muchos procesos fisiológicos y patológicos (4, 12, 14).

Una vez sintetizado el NO difunde a los tejidos vecinos, actuando sobre diversos sustratos, siendo el más importante la enzima guanilato ciclasa soluble. Esta enzima activada cataliza la transformación de guanosin trifosfato (GTP) en guanosin monofosfato cíclico (GMPc), esto se puede ver esquematizado en la figura 3 (12, 13).

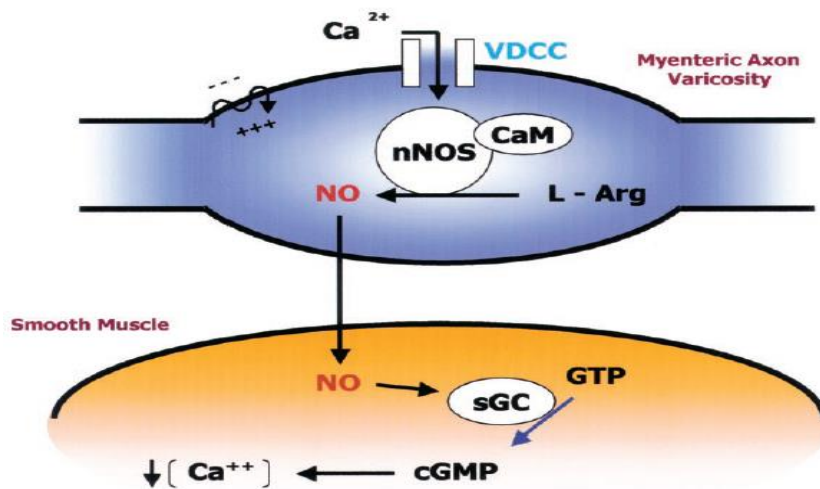


Figura 3. Biosíntesis de óxido nítrico, según Esplugues (12).

El NO tiene múltiples e importantes efectos en variados tejidos. A nivel vascular, eNOS, es un potente vasodilatador, inhibe la agregación plaquetaria y la adherencia de los neutrófilos activados (12, 13, 15).

La iNOS desempeña un papel importante en la supresión de actividad de bacterias, parásitos, virus y tumores. Sin embargo, bajo condiciones patológicas, tiene efectos dañinos, viéndose su expresión aberrante en numerosas condiciones inflamatorias, como la enfermedad de Crohn, shock hemorrágico y en la patogénesis de la hipertensión arterial (12, 13). También participaría en la patogénesis de enfermedades orales, como la enfermedad periodontal, en la que iNOS sería activada por la placa bacteriana, en quistes

odontogénicos e infección periapical, liquen plano oral, en desordenes témporomandibulares y en tumores de glándulas salivales (16).

El NO, proveniente de la nNOS, tiene complejas influencias en el desarrollo cerebral, es modulador de variadas funciones fisiológicas, entre ellas la conformación de la memoria, el comportamiento y en la regulación de la neuroplasticidad. También está implicado en la tolerancia opioide y de su retiro, ritmo circadiano, patrón respiratorio, regulación de la microcirculación, en respuestas neuroendocrinas, entre otras (12,13).

Por último, juega un controvertido rol en la modulación dolorosa, con un doble efecto, siendo agente promotor de hiperalgesia, y a su vez con una intrincada participación en la vía moduladora analgésica (4, 12).

El NO participa en la transmisión sináptica, tanto a nivel central como a nivel periférico, actúa como neurotransmisor retrógrado, así, el NO estaría implicado en la neurotransmisión excitatoria glutamatergica y en la potenciación del estímulo a largo plazo (12, 13).

Aunque la nNOS es considerada constitutiva, los niveles de actividad y expresión de esta parecen estar sujetos a una dinámica de up-down regulation, inducida por una gran variedad de estímulos, incluyendo injurias nerviosas y cerebrales, envejecimiento, tratamientos farmacológicos, lactancia, hipoxia, stress, gonadectomía y ejercicio (12).



Las distintas isoformas de NOS determinan el papel del NO como regulador fisiológico, ejerciendo efectos beneficiosos al organismo o como agente tóxico. Tales efectos negativos se producen porque las altas cantidades persistentes del NO puede reaccionar con aniones del superóxido, el cual genera compuestos altamente tóxicos (4, 13, 16).

### **Óxido nítrico y dolor**

Diferentes estudios sugieren la participación de sistema NO-GMPc en la vía del dolor, específicamente en la analgesia periférica y central. Estos trabajos establecieron que la acetilcolina, que estimula la liberación del NO constitutivo, antagoniza la hiperalgesia inducida en ratas por PGE2, carragenina y ácido acético. Junto con esto, se demostró que donadores exógenos del NO, como nitroglicerina y nitroprusiato sódico, antagonizan la hiperalgesia provocada por un estímulo inflamatorio como PGE2, carragenina, inflamación neurogénica, efectos bloqueados al inhibir GMPc, lo que sugiere que el efecto antinociceptivo del NO es mediado por la vía GMPc. Se observó también, que durante la inflamación experimental inducida por carragenina, la administración local de L-arginina produce antinocicepción, la que es bloqueada por inhibidores de la NOS. Estas afirmaciones provocaron una polémica, pues existen otros autores que sugieren que el NO tiene más bien un rol pro-nociceptivo en los estados de dolor inducidos por estímulos como carragenina, glutamato o formalina. Estas

inconsistencias podrían deberse a múltiples motivos, incluyendo la complejidad de factores involucrados en la regulación del dolor, los que involucran la interacción de una amplia variedad de estímulos, la intensidad de los mismos y de otras condiciones asociadas a la enfermedad de base que ocasiona el dolor (12, 13, 17).

En este contexto, los resultados clínicos y experimentales sugieren que el NO, carece de una participación importante como mediador del dolor, bajo condiciones fisiológicas de producción endotelial o neuronal, por acción de NOS constitutivas. Sin embargo, en caso de lesión tisular, luego de unas horas producida ésta, se induce la expresión de la iNOS que lleva a la producción prolongada del NO en distintas células, pasando a tener un rol en la hiperalgesia (12).

Es importante destacar que el rol del NO cambia según el tipo de estímulo doloroso. La inhibición del NO produce antinocicepción cuando el dolor se debe a estímulos químicos o térmicos en nociceptores periféricos o en dolor visceral y en la administración intratecal de L-arginina induce alodinia. En contraste, el bloqueo de la síntesis de NO exacerba el dolor en modelos de hiperalgesia mecánica. Sin embargo, el uso de ratones transgénicos solamente para nNos no han aclarado estos resultados contradictorios. Así estos animales

manifiestan una sensibilización normal a ciertos tipos de daños, sin modificaciones en el uso de inhibidores de NOS (12,17).

Este doble rol, podría deberse también a una regulación diferenciada del NO en fibras nerviosas aferentes o a que actúa como un mensajero molecular diferenciado en distintas neuronas, dependiendo del carácter excitatorio o inhibitorio en una vía nociceptiva dada. Si actúa sobre neuronas excitatorias, el efecto resultante será hiperalgesia, en tanto que si el NO induce la activación de neuronas inhibitorias, el efecto resultante será hipoalgésia (4, 12,17).

### **Inhibidores de las NOS**

Existe gran cantidad de inhibidores para NOS, útiles en farmacología como herramientas que permiten identificar el rol del NO en procesos fisiológicos como patológicos. Estos inhibidores actúan sobre los 3 tipos de NOS, de manera selectiva, con mayor potencia sobre un tipo de NOS en relación a las 2 restantes o no selectiva. Son un grupo de sustratos análogos a L-arginina, capaces de bloquear la síntesis de NO. Los inhibidores más comunes son: 7-NITROINDAZOL(7-NI), 3-BROMO-7-NITROINDAZOL, 6-NITROINDAZOL, L.NMMA, L-NNA y su Pro fármaco el N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME). El **L-NAME** actúa como un inhibidor no selectivo de las NOS (14, 15).

## **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 opiodes
- Analgésicos anti-inflamatorios no esteroidales (AINEs)

### **Analgésicos anti-inflamatorios no esteroidales**

Los AINEs constituyen un grupo farmacológico, químicamente muy heterogéneo, pero que tienen un mecanismo de acción común, que consiste en la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas responsables de la síntesis de prostanoïdes, los cuales se liberan cuando hay daño tisular. Son ampliamente usados por sus efectos terapéuticos, ya que la mayoría de ellos presenta acción antipirética, antiinflamatoria, analgésica, antiagregante plaquetario, etc. Pudiendo poseer diferente eficacia relativa para cada una de estas acciones (3).

## Clasificación de los AINEs

De acuerdo a su grupo químico, se clasifican en:

<b>Clase estructural</b>	<b>No selectivo para Ciclooxigenasa-1</b>	<b>Selectivo para Ciclooxigenasa -2</b>
Alcanoles	nabumetona	
Ácidos antranílicos	ácido meclofenámico, ácido mefenámico	Amidas y ésteres meclofenamatos
Acidos arilpropiónicos	ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno, flubiprofeno	
Diarilheterociclos		celecoxib parecoxib, rofecoxib, etoricoxib, valdecoxib.
Di- Pert-butyl fenoles		darbufelona
Acidos enólicos	piroxicam, tenoxicam, fenilbutazona	meloxicam
Acidos heteroarilacéticos	diclofenaco, ketorolaco, tolmetin	lumiracoxib
Acidos indolacéticos	indometacina, sulindac	etodolac, Indometacina - amidas ( y ésteres)
Derivados del paraaminofenol	paracetamol	
Derivados del ácido salicílico	aspirina, diflunizal, sulfasalazina	APHS
Sulfonamidas		nimesulida, flosulida

Tabla I. Clasificación de los AINEs según su estructura química, adaptado de Warner y Mitchell (18).

### **Mecanismo de acción**

Los AINEs actúan inhibiendo de manera competitiva y reversible a las ciclooxigenasas, enzimas responsables de la transformación de ácido araquidónico en prostanoïdes, entre los que se encuentran las prostanglandinas. Para que ocurra la síntesis de prostanglandinas 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 prostanglandinas y tromboxano a través de enzimas ciclooxigenasas (COXs) (19, 20).

Las COXs convierten mediante oxigenación el ácido araquidónico en prostanglandina G2 (Pg G2) y prostanglandina H2 (PgH2). Estas prostanglandinas posteriormente son transformadas por enzimas isomerasas, las que convierten PgH2 en diferentes prostanglandinas biológicamente activas: prostaciclina, tromboxano A2 y prostanglandinas D2, E2 y F2 $\alpha$ , llamados genéricamente prostanoïdes. (2, 18), ver figura 4.

Existen tres isoformas de las COXs codificadas por distintos genes, COX-1, COX-2 y COX-3. **COX-1** es definida como constitutiva, se encuentra en estómago, intestino y riñones, esta asociada con la producción de Pgs que

tienen importantes efectos fisiológicos como protección gástrica, agregación plaquetaria, homeostasis vascular y mantención del flujo renal. Por su parte **COX-2** es inducida durante la inflamación, facilita la respuesta inflamatoria; se encuentra en células inflamatorias, riñón, tejido óseo, cerebro y endotelio vascular (18, 21). **COX-3**, es una isoforma relacionada con COX-1, se encuentra principalmente en el SNC, pulmón, corazón y algunos tejidos periféricos (18,22).

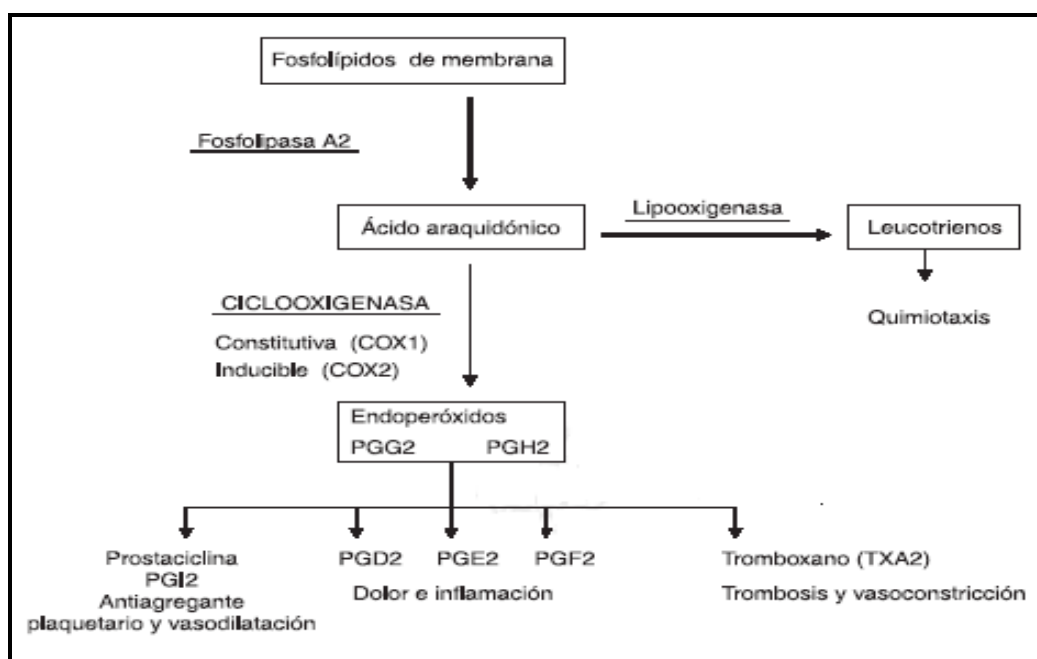


Figura 4. Secuencia de la síntesis de eicosanoides. Tomada de Warner y Mitchell (18).

La inhibición de la COX-2 es en gran parte la responsable de las acciones anti-inflamatorias, analgésicas y antipiréticas, por lo que existen inhibidores selectivos y no selectivos de la COX-2. Los inhibidores no selectivos, pueden inhibir tanto a la COX-1 como a la COX -2, produciendo efectos terapéuticos y adversos, particularmente este último a nivel gástrico. Diversos estudios sobre modelos de dolor agudo han demostrado que los inhibidores selectivos de la COX-2 no presentan una mayor eficacia que los no selectivos, además de contribuir a un incremento de la morbilidad cardiovascular. Sin embargo presentan beneficios tales como reducción de la incidencia de úlceras gástricas y efectos mínimos sobre la agregación plaquetaria. Por su parte la inhibición de la COX-3 podría ser un mecanismo central primario de disminución del dolor (18, 21, 22).

### **Efectos terapéuticos de los AINEs**

Los AINEs poseen una acción antipirética, por inhibición de la síntesis de PgE<sub>2</sub>, acción anti-inflamatoria: por la inhibición de la síntesis de prostaglandinas y tromboxano, acción analgésica: por el bloqueo de la vía ciclooxigenasa, acción antiagregante, por bloqueo del tromboxano; también se ha descrito una acción antitumorígena, que se manifiesta en la prevención del cáncer colorectal (20, 23).



### **Efectos adversos de los AINEs (RAM)**

Los AINEs tienen una serie de efectos indeseados como consecuencia de acciones farmacodinámicas expresadas por todos aquellos sistemas en los que las PGs cumplen funciones fisiológicas. La mayoría se presentan en individuos que consumen o han consumido estos fármacos por periodos prolongados de tiempo (consumos crónicos).

Las principales RAM que presentan los AINEs son las gastrointestinales como: alteraciones duodenales, erosiones intramucosas, úlceras y hemorragias. A nivel renal se ha reportado disminución del índice de filtración glomerular, retención de sodio y potasio. Con respecto al hígado, casi todos los AINEs se han asociado a daño hepatocelular. También se ha descrito efectos asociados a reacciones de hipersensibilidad, manifestados como urticaria y ataques de asma y otras RAM de tipo hematológicas se relacionan con la prolongación del tiempo de sangría y la inhibición de la agregación plaquetaria pudiendo provocar hemorragias. En mujeres embarazadas puede inhibir la motilidad uterina, prolongando el tiempo de embarazo además de cerrar el ductus arteriosus e inducir hipertensión pulmonar persistente en el recién nacido, por el mismo bloqueo (3, 20, 23).

Con el desarrollo de AINEs selectivos para la COX-2, se ha logrado la disminución en gran parte de los efectos indeseables de estos fármacos, sobre

todo los gastrointestinales, los cuales se asocian con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas citoprotectoras (21, 24).

### **Meloxicam**

El meloxicam es un fármaco que pertenece al grupo de los ácidos enólicos dentro de la clasificación de los AINEs, es un derivado enolcarboxamídico relacionado con los oxicanos, donde se incluyen el piroxicam y el tenoxicam. Desarrolla una potente actividad inhibitoria selectiva sobre COX-2 en la cascada de las prostaglandinas, por lo cual se le atribuyen efectos analgésicos, anti-inflamatorios y antipiréticos, además de una excelente tolerancia con mínimos efectos gastrolesivos o ulcerogénicos (3,25).

Desde el punto de vista cinético, el meloxicam se caracteriza por una absorción algo lenta, aunque casi completa tras su administración oral. Su biodisponibilidad por esta vía es del 89% y alcanza su concentración máxima en sangre a las 5-6 horas. El porcentaje de unión a proteínas plasmáticas de este fármaco es mayor a 99.5%. Al igual que otros AINEs, sufre metabolismo oxidativo hepático detectándose cuatro metabolitos, todos inactivos; su vida media de eliminación es prolongada (20 hrs), lo que permite una cómoda posología de 7.5 a 15 mg cada 24 hrs. Su eliminación es renal y fecal (26, 27).

El meloxicam está indicado en procesos inflamatorias dolorosas agudas y crónicas y patologías degenerativas del aparato osteomioarticular, como artritis

reumatoídea y osteoartritis donde su eficacia es similar al diclofenaco o piroxicam con un mejor perfil de tolerancia (3, 26, 27).

Su tolerancia es buena en la mayoría de los pacientes, sin embargo, se puede presentar dispepsia, náuseas, vómitos, epigastralgias, constipación, flatulencia y diarrea. A nivel cutáneo puede presentarse prurito, exantema, urticaria y reacciones de hipersensibilidad. También se ha descrito cefalea, taquicardia, edema, vértigo, tinnitus, mareos y somnolencia. En raras ocasiones, anemia, leucopenia, alteración transitoria de enzimas hepáticas y de los parámetros renales; sin embargo, en la mayoría de los casos, estas últimas alteraciones han sido discretas, transitorias y han remitido sin necesidad de interrumpir el tratamiento farmacológico (2, 26, 27).

Entre las precauciones y advertencias de su administración, debe considerarse su uso en sujetos que presenten hipersensibilidad a otros AINEs, ya que se puede manifestar hipersensibilidad cruzada, también pacientes que reciban tratamiento con anticoagulantes orales (triclopidina, heparina, trombolíticos) pudiendo aumentar el tiempo de sangrado (2, 25, 26, 27). Se ha reportado que, en pacientes con insuficiencia renal o sometidos a hemodiálisis, la dosis diaria no debe superar los 7.5 mg. En pacientes con insuficiencia leve o moderada, no es necesario reducir las dosis (26, 27). Es de importancia mencionar que en el embarazo y lactancia no se recomienda su uso, a pesar de

que en estudios realizados en animales, no se han detectado efectos teratogénicos (26, 27). Por último, es importante mencionar, que la sobredosificación lleva a una intensificación de los efectos adversos antes mencionados. Hasta ahora, no se han reportado casos. Además no se conoce ningún antídoto específico para ello, pero se recomienda aplicar medidas sintomáticas generales como el vaciamiento gástrico (2, 26, 27).

### **Interacción de fármacos**

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

- **Aditivos:** el efecto obtenido corresponde a la 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 los efectos de cada fármaco por separado.
- **Supraditivo** o sinérgico: el efecto obtenido es significativamente mayor que la suma de efectos separados de cada fármaco.

Es esta última interacción, la que representa una alternativa en el tratamiento farmacológico del dolor, mas aún si consideramos que se podría

obtener un incremento en la eficacia de los fármacos con disminución de las dosis y por esto mismo niveles mínimos de efectos no deseados (19, 28).

## **HIPÓTESIS**

La administración intraperitoneal (i.p.) de meloxicam produce actividad antinociceptiva en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial que es modulada por el sistema nitridérgico.

## **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar la actividad antinociceptiva de meloxicam en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial en ratones, en presencia y ausencia de L-NAME.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal (i.p.) de meloxicam (3 -100 mg/kg) en el test orofacial.
2. Estudiar la analgesia producida por la administración i.p. de L-NAME (1 o 10 mg/kg) en el ensayo de formalina orofacial.
3. Estudiar el tipo de interacción analgésica que se obtiene al administrar meloxicam en animales pretratados con L-NAME.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se usaron ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1 de 28 a 30 g de peso y habituados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes del experimento (ver figura 5). Los ensayos se realizaron de acuerdo al protocolo CBA N° 238 FMUCH aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina, según este protocolo cada animal recibe solamente una dosis de las drogas. Las observaciones fueron efectuadas en forma ciega, 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.



Figura 5. Ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1.



### **Test de la formalina**

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó utilizando una modificación al test algesiométrico orofacial de la formalina de Luccarini (29), que permite discriminar con menor daño tisular el efecto de la administración de formalina, con el fin de medir dolor originado en la estimulación del nervio trigémino, uno de los nervios de mayor inervación del territorio máxilofacial. Para ello se realizó una inyección subcutánea de 20  $\mu$ L de una solución de formalina al 2 % en el labio superior derecho del animal (ver figura 6). Ello induce un sostenido frotamiento de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal ( ver figura 7). Los ratones se colocaron en un cilindro diseñado para la observación y se registró por medio de un cronómetro digital el tiempo total que se frota el área perinasal durante los 5 minutos inmediatos a la inyección de formalina y que corresponde a la fase algésica aguda (fase I). Luego se registró por 10 minutos, a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30 minutos, el tiempo total durante el cual los animales se frota el área comprometida y que corresponde a la fase inflamatoria (fase II). No se registró el tiempo entre la fase algésica y la inflamatoria, debido a que el ratón se encuentra en un período de quietud (29).

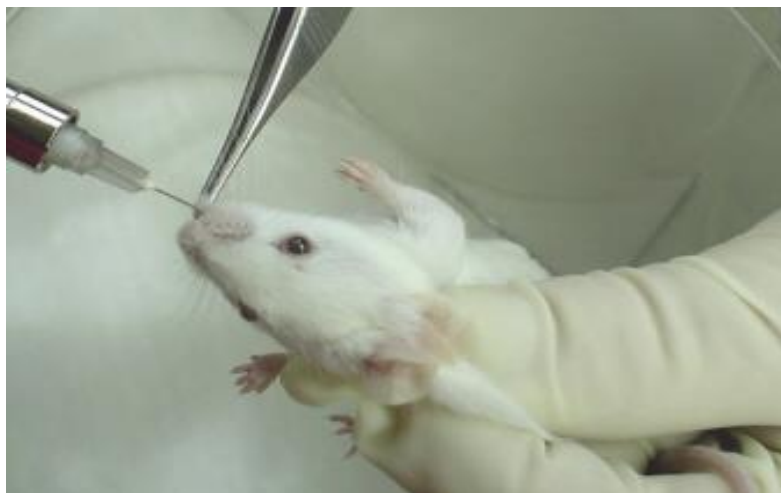


Figura 6. Inyección subcutánea de 20  $\mu$ L de una solución de formalina al 2 %.



Figura 7. Frotamiento del área perinasal en relación al sitio de la infección.

El ensayo de formalina se realizó a los 30 minutos después de la inyección de meloxicam, tiempo de máximo efecto que fue determinado por experimentos pilotos previos.

## **Evaluación de la analgesia**

El meloxicam fue administrado por vía i.p., con un mínimo de 6 animales por cada ensayo, en 4 dosis: 3, 10, 30 Y 100 mg/kg. Para la evaluación de la actividad antinociceptiva, se confeccionó una curva dosis-respuesta del AINE y a partir de ella se determinó la dosis que produce un 50% del efecto máximo (DE50). Luego del pretratamiento, por 5 minutos, de los animales con L-NAME en 2 dosis: 1 o 10 mg/Kg, administrándolo también via i.p. se repitió la curva dosis-respuesta de meloxicam. Los animales controles fueron inyectados con solución salina al 0.9 %, en un número de 2 por cada grupo experimental. El estudio de la actividad antinociceptiva fue idéntica a la de los animales tratados. Todos los tiempos utilizados para los diferentes tratamientos han sido previamente verificados en experimentos preliminares, basados tanto en la experiencia del laboratorio de neurofarmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, como los datos referidos en diversos estudios.

## **Estudio de la interacción antinociceptiva**

Para la evaluación de las interacciones se utilizó el método de Zelcer (30), que corresponde a representaciones gráficas de las curvas dosis-respuesta de un fármaco antes y después del pretratamiento con otro fármaco. La comparación de la posición relativa de las curvas dosis-respuestas y de los

valores de dosis equivalentes, por ejemplo DE50, permite conocer si existe interacción, de que tipo y cual es su magnitud.

Los resultados se expresaron como promedio con sus correspondientes errores estándar. Los datos de los diferentes protocolos se expresaron en curvas dosis-respuesta logarítmicas construídas mediante regresión lineal por cuadrados mínimos y a partir de ellas se determinó las DE50. La significancia estadística se determinó por pruebas t de Student o bien por análisis de varianza dependiendo de la comparación entre 2 o mas valores respectivamente y considerando un nivel del 5% ( $p < 0,05$ ). Todos los parámetros estadísticos, se calcularon con el programa computacional del laboratorio, adaptado de Tallarida (28).

## RESULTADOS

### 1.- Grupo control

La administración de formalina al 2% en ratones (n= 28) previamente tratados con suero salino, produjo un tiempo de rascado de  $95,3 \pm 3,35$  segundos en la fase I y de  $101,76 \pm 3,62$  segundos en la fase II. Estos resultados se observan en la figura 8.

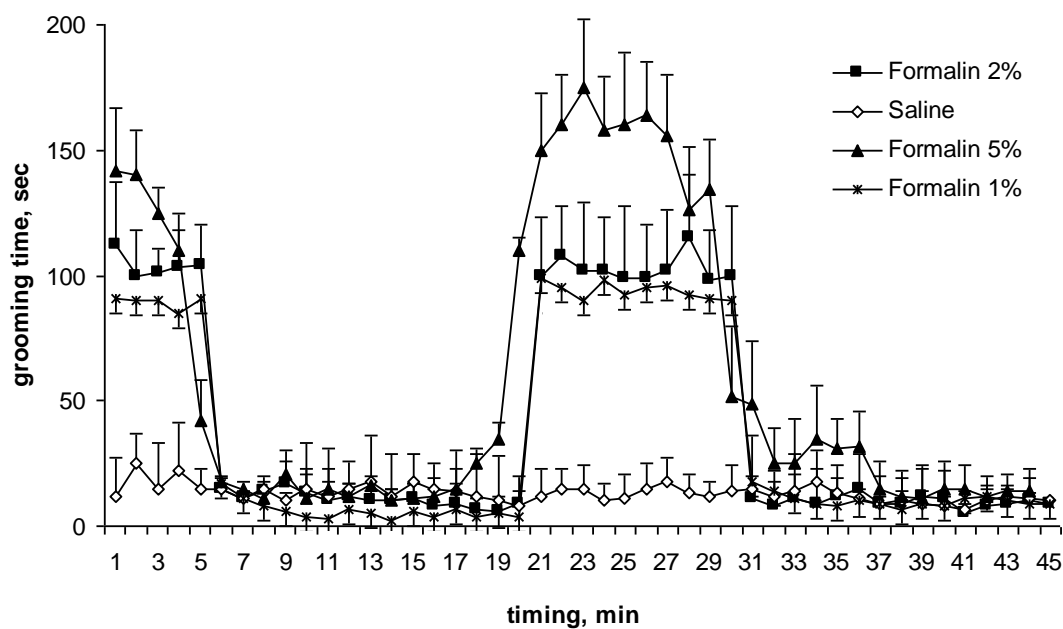


Figura 8. Curso temporal de la administración de formalina orofacial. Formalina al 1 % ( \* ), formalina al 2 % (■); formalina al 5 % (▲) y suero salino (◇). Cada punto representa el promedio de rascado (grooming ) de 28 ratones en el minuto de tiempo señalado (timing)  $\pm$  EEM.

## 2.- Determinación de la DE50 para meloxicam

La administración de meloxicam, indujo una respuesta antinociceptiva dosis-dependiente (n=25) como se observa en la figura 2. La DE50 resultó ser  $14,74 \pm 2,88$  mg/Kg para la fase I y de  $6,60 \pm 1,13$  mg/kg para la fase II. Estos resultados se muestran en la figura 9.

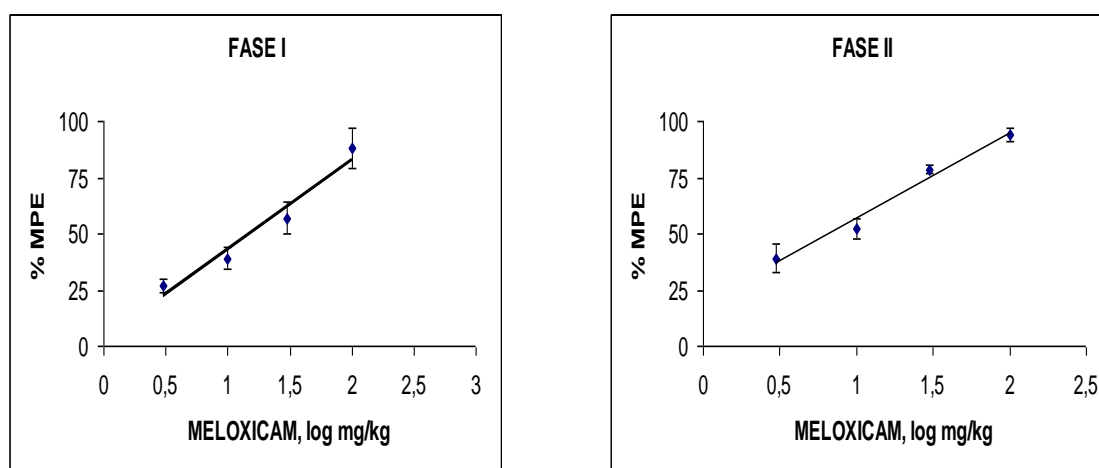


Figura 9. Curvas dosis-respuesta de meloxicam, en fase I y fase II, en el ensayo algiesométrico de la formalina orofacial en ratones. Cada punto es el promedio de al menos 6-7 animales con sus respectivos EEM.

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

El análisis estadístico de las curvas dosis-respuesta de meloxicam, tanto en la fase I como en la fase II, demostró que ellas eran estadísticamente paralelas, como se muestra en la figura 10.

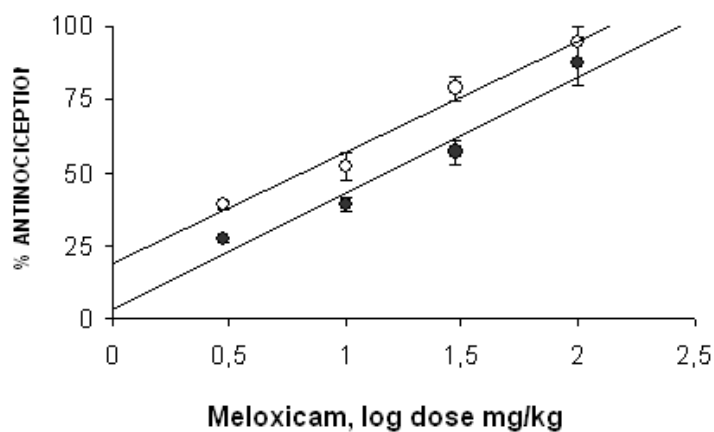


Figura 10. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de meloxicam en el test orofacial de la formalina, Fase I (●) y fase II (○).

#### 4.- Grupo tratado con L-NAME

El grupo tratado con L-NAME en la dosis de 1mg/Kg (n=7) produjo  $59,43 \pm 5,04$  segundos de frotamiento en el área perinasal en la fase I mientras que en la fase II fue de  $63,86 \pm 3,51$ , por su parte el grupo tratado con L-NAME en la dosis de 10 mg/Kg (n=6) en la fase I indujo  $26,57 \pm 5,78$  segundos de frotamiento y en la fase II  $35 \pm 2,85$ . ( ver figura 11).

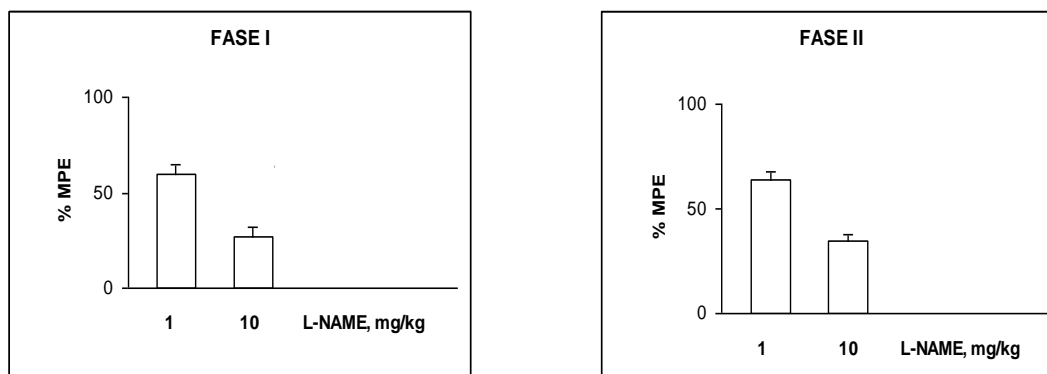


Figura 11. Histograma del efecto de L-NAME (mg/kg) en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial. En fase I y fase II.

### 5.- Grupo tratado con meloxicam y L-NAME

El pretratamiento de los animales con 1 mg/kg i.p. de L-NAME (n=28) no modificó los valores de la DE50 del meloxicam, tanto de la Fase I como de la Fase II, como se muestra en la Tabla II, figura 12 y figura 13. Sin embargo, cuando se pretrataron los animales con 10 mg/kg i.p. de L-NAME (n=28), se obtuvo un efecto sinérgico en la respuesta del AINE, ya que los valores de la DE50, de la Fase I y de la Fase II disminuyeron significativamente (ver Tabla II). Esta disminución se observa por el desplazamiento de la curva dosis-respuesta de meloxicam hacia la derecha, como se observa en la figura 12 y 13.



**Tabla II.**

Valores de la DE50 de meloxicam, en fase I y en fase II, por efecto del pretratamiento con L-NAME.

<b>Fase</b>	<b>Condición experimental</b>	<b>DE50 ± EEM</b>
I	Control meloxicam	14.74± 2.88
I	Meloxicam+L-NAME 1 mg/kg	13.91 ± 0.72
I	Meloxicam + L-NAME 10 mg/kg	3.94 ± 1.30*
II	Control meloxicam	6.60 ± 1.13
II	Meloxicam + L-NAME 1 mg/kg	4.51 ±0.98
II	Meloxicam + L-NAME 10 mg/kg	0.49 ± 0.17*

\*  $p < 0.05$ , según test t de Student, con respecto al control de meloxicam. Cada valor es el promedio ± EEM de a lo menos 24 animales.

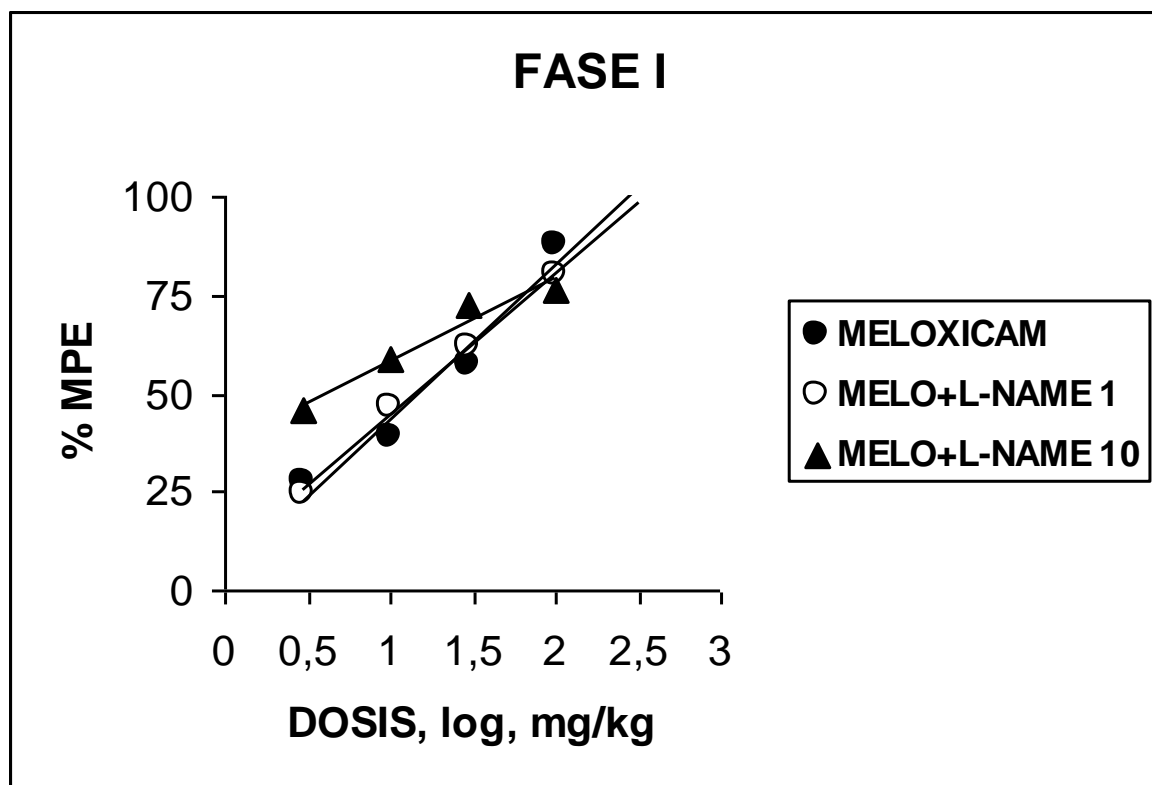


Figura 12. Desplazamiento de las curvas dosis-respuesta de meloxicam en la fase I del ensayo orofacial de la formalina al 2 % en ausencia de L-NAME (●) y presencia de L-NAME 1 mg/kg (○) o de L-NAME 10 mg/kg (▲). Por claridad de la figura no se han representado los correspondientes EEM.

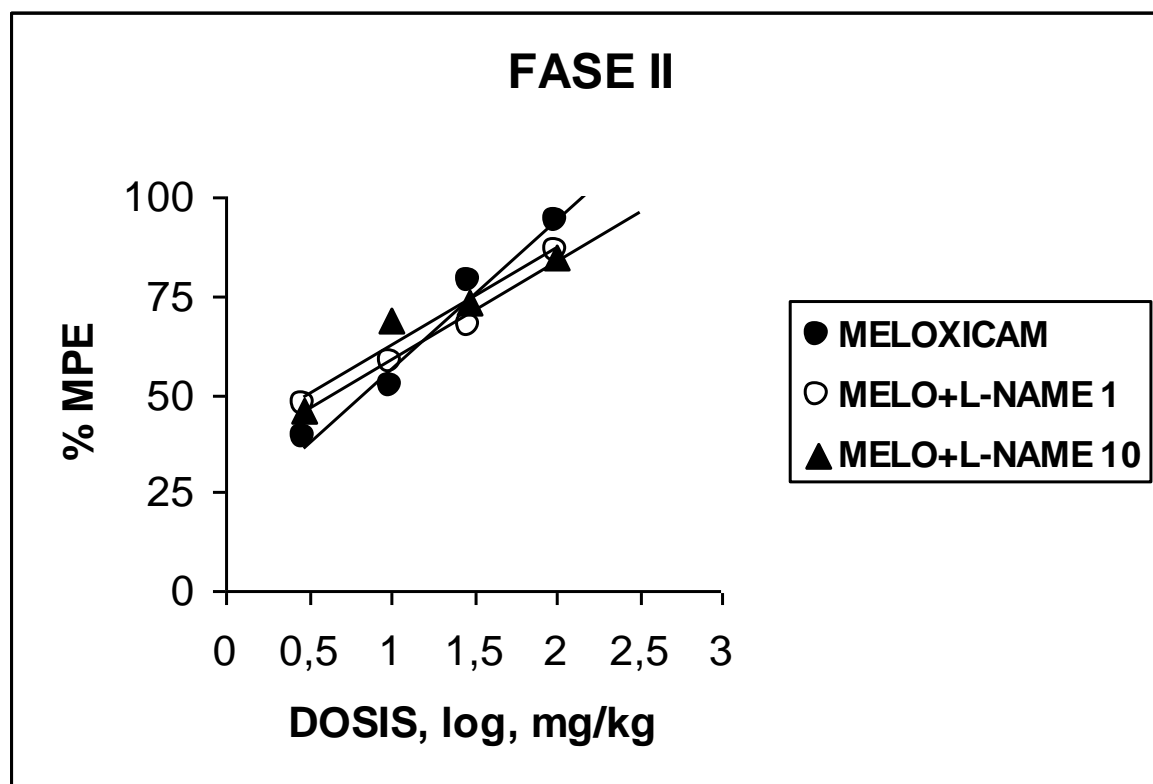


Figura 13. Desplazamiento de las curvas dosis-respuesta de meloxicam en la fase II del ensayo orofacial de la formalina al 2 % en ausencia de L-NAME (●) y presencia de L-NAME 1 mg/kg (○) o de L-NAME 10 mg/kg (▲). Por claridad de la figura no se han representado los correspondientes EEM.

## DISCUSIÓN

La administración subcutánea de formalina en el labio superior derecho de los ratones indujo una conducta reproducible, en la que se describe el curso temporal del efecto nociceptivo de la inyección subcutánea de formalina en la región orofacial de roedores. Este resultado es consistente con los de estudios previos (29, 31,32, 33).

El efecto analgésico inducido por meloxicam administrado por vía intraperitoneal, tanto en fase I como en fase II, en el ensayo algiesiométrico de la formalina orofacial al 2% en ratones, constituye la primera demostración que un AINE, inhibidor preferencial de COX-2, produce analgesia, tanto en la fase de dolor agudo como en la fase de dolor asociado con inflamación, en este ensayo en ratones. Este hallazgo es concordante con lo demostrado por Chichorro y cols. (32) quienes usando otro AINE, celecoxib, inhibidor selectivo de COX-2, obtuvieron una disminución en el tiempo de frotamiento en otra entidad de roedores : ratas y en ambas fases frente a la inyección de formalina (de 0.63 a 5 %) en el labio superior del animal. Por otra parte y usando el mismo modelo en rata, se ha demostrado que el inhibidor selectivo de COX-1, SC-560 y también el selectivo de COX-2, NS-398, son capaces de producir una

significativa disminución del tiempo de frotamiento, en ambas fases, del labio inyectado con formalina al 5 % (33).

La explicación de la disminución significativa del tiempo de frotamiento del área inyectada con formalina, como expresión de efecto analgésico, puede radicar en la capacidad inhibitoria que posee el meloxicam sobre la actividad de la COX-2, responsable de la síntesis de sustancias algógenas que son inducidas como consecuencia de la administración de formalina, entre las cuales se han citado: bradiquinina,  $TNF\alpha$ , interleukinas  $1\beta$ , 6, 8, aminas simpáticas y prostanglandinas (3, 32, 33).

La administración de L-NAME indujo un efecto analgésico en ambas dosis, 1 o 10 mg/kg, en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial al 2%, siendo mayor el efecto en la dosis mas alta. Esto se podría explicar por la inhibición no selectiva que ejerce L-NAME sobre las NOS evitando la formación de NO y con ello inhibiendo su función moduladora en la nocicepción, ya que se ha demostrado que su ausencia genera un aumento de la analgesia (12).

Sin embargo al pretratar los animales con 1 mg/kg de L-NAME no se obtuvo un efecto significativo sobre la antinocicepción inducida por meloxicam en ambas fases del ensayo de la formalina al 2 %, ya que las DE50 del meloxicam en ambas fases no presentaron cambios significativos. Por el contrario el pretratamiento de los ratones con L-NAME 10mg/kg produjo una

actividad antinociceptiva de tipo sinérgico con meloxicam, en el mismo ensayo y en ambas fases con la consiguiente disminución de las DE50 del meloxicam con respecto a sus valores controles. Esta diferencia de acción de L-NAME está directamente relacionada con la farmacodinamia del inhibidor de NOS, ya que en concentraciones bajas (1 mg/kg) no alcanza niveles efectivos en la biofase para aumentar el efecto del meloxicam, ya sea por efecto farmacocinética sobre el mismo L-NAME o bien sobre el meloxicam, en la síntesis de moduladores nociceptivos. Sin embargo, cuando se alcanzan concentraciones mayores en la biofase de L-NAME (10 mg/kg) se ponen en juego los mecanismos necesarios para inhibir en conjunto con meloxicam los agentes pronociceptivos, demostrando un efecto sinérgico en la actividad del AINE. Este efecto dual de la acción del NO en la vía nociceptiva, tanto como pro como anti nociceptivo, ha sido descrito en otros estudios (4,12,13).

## CONCLUSIONES

1. La administración de meloxicam vía i.p. induce una acción antinociceptiva dosis-dependiente en el ensayo de la formalina orofacial, tanto en la fase algésica aguda (fase I) como en la fase algésica –inflamatoria (fase II).
2. El pretratamiento con L-NAME 1 mg/kg no altera la actividad analgésica del meloxicam.
3. El pretratamiento con L-NAME 10 mg/kg produce un efecto sinérgico en la actividad antinociceptiva del meloxicam en ambas fases.
4. Existe una participación dual de la vía NO-GMPc de tipo moduladora de la nocicepción trigeminal.
5. Los hallazgos del presente trabajo permitirían explorar una vía alternativa para el tratamiento farmacológico del dolor.

## SUGERENCIAS

A consecuencia del presente trabajo, se sugiere:

1. Estudiar en la analgesia de meloxicam, el efecto modulador de otras concentraciones de L-NAME y análogos.
2. Evaluar la actividad moduladora en la antinocicepción de meloxicam de otras vías involucradas en la modulación del dolor, tales como: fármacos adrenérgicos, colinérgicos, dopaminérgicos, entre otros.
3. Estudiar el efecto de los inhibidores de la NOS con otros AINES, estudiándolos tanto en este test como en otros ensayos algesiométricos y modificando las vías de administración.



## RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la modulación de la vía nitridérgica en la actividad antinociceptiva del meloxicam en el dolor trigeminal, utilizando el modelo de la formalina orofacial. Se estudió en ratones el rol del sistema NO-GMPc, pretratándolos por vía i.p. con 1 ó 10 mg/kg de L-NAME. El análisis de la modulación nitridérgica se efectuó evaluando el desplazamiento de la curva dosis-respuesta del meloxicam, por efecto de L-NAME y de los cambios del 50% de los valores de la dosis efectiva (DE50). De las 2 dosis utilizadas del inhibidor de la NOS solamente presentó un efecto sobre la DE50 del meloxicam la dosis mayor, es decir, L-NAME 10 mg/kg. Se concluye que existe una interacción sinérgica entre el meloxicam y L-NAME 10mg/kg en el test de la formalina orofacial. Este hallazgo podría ser de utilidad clínica por sus proyecciones en asociar analgésicos con inhibidores de NOS, lo que permitiría obtener sinergismo analgésico, con la posibilidad de disminuir los posibles efectos colaterales y ser útiles en el tratamiento farmacológico del dolor.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Bonica JJ., Anatomic and physiology basics of nociception and pain . The management of pain. 2ª ed , Lea & Febiger, Pennsylvania, 1990, pp. 28 -94.
- (2) Simmons D.L., Botting R.M., Ciclooxygenase isoenzymes:the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. Pharmacol. Rev . 56:387-437. 2004.
- (3) Florez J., Armijo J.A., Mediavilla A., Farmacología Humana. 4ª Edición, Ed. Masson. Barcelona, España, 2003; pp. 355-361, cap 20 ; p. 375-385, cap. 22.
- (4) Sousa A.M., Prado W., The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. Brain Research, 897: 9–19. 2001.
- (5) Busquets C., Ribera M., Monografies Mediques. “Unidades de dolor. Realidad hoy, reto para el futuro”. Gispert S.A. Barcelona, España. 2002. pp. 217-250, cap. 19.
- (6) Almeida T.F., Roizenblatt S., Tufik S., Afferent pain pathways: A neuroanatomical review. Brain Research, 1000:40-56, 2004.
- (7) Sessle B.J., Mechanisms of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates. J Oral Rehabil. 33:243-261.2006.
- (8) Joyce A., Basic Science of pain. J. Bone Joint Surg. Am. 88: 58-62. 2006.

- (9) Sessle, B.J., Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlatos. *Minerva Anesthesiol*, 71:117-36.2005.
- (10) Takemura M., et al, Mechanisms of orofacial pain control in the central nervous system. *Arch Histol Cytol*, 69:79-100. 2006.
- (11) Kelly D.J., Ahmad M., Brull J.S., Preemptive analgesia I: Physiological pathways and pharmacological modalities. *Can J. Anaesth.*, 48(10):1000-1010. 2001.
- (12) Espluges J.V., NO as a signaling molecule in the nervous system. *Br J Pharmacol*, 135: 1079-1095.2002.
- (13) Mollace V., Muscoli C., Masini E., Cuzzocrea S., Salvemini D., Modulation of Prostaglandin Biosynthesis by Nitric Oxide and Nitric Oxide Donors. *Pharmacol Rev*, 57: 217-252. 2005.
- (14) Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G., Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*. 357:593-615. 2001.
- (15) Dudzinski D., Igarashi J., Greif D., and Michel T., The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase. *Annu Rev. Pharmacol: Toxicol.*, 46: 235-276.2006.
- (16) Ugar-Cankal D., Ozmeric N., A Multifaceted molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases. *Clinica Chimica Acta*, 366:90-100. 2006.

- (17) López P., Óxido nítrico y dolor. *Medunab*, 4: 1-7. 2001.
- (18) Warner T., Mitchell J., Ciclooxygenases: new forms, new inhibitors and lessons from the clinic. *The FASEB journal*, 18:790-804. 2004.
- (19) 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.
- (20) Klasser G.D., Epstein J., Nonsteroidal Anti-inflammatory drugs: confusion, controversy and dental implications. *J. Can Dent. Assoc.* 71:575-580. 2005.
- (21) Huber M.A., Terezhalmay G.T., The use of COX-2 inhibitors for acute dental pain. A second look. *J. Am. Dent. Assoc.*, 137: 480-487. 2006.
- (22) Chandrasekharan N.V., Dai H., Roos L.T., Evanson N.K., Tomsik J., Elton T.S., Simmons D.L., COX-3, a cyclooxygenase -1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression. *Proc. Natl. Acda. Sci., USA*, 99:13926-13931.2002.
- (23) Sawynok J., Topical and Peripheral Acting Analgesics. *Pharmacol. Rev.* 55: 1-20.2003.
- (24) Weberschock T., Müller S., Boehncke W., Tolerance to coxibs in patients with intolerance to non-steroidal anti-inflammatory drugs( NSAIDs): a systemic structured review of the literature. *Arch. Dermatol. Res.* 299:169-175.2007.

- (25) Turck D., Roth W., Busch U., A review of the clinical pharmacokinetics of meloxicam. *British J. Reumatol.* 35 suppl 1:13-16,1996.
- (26) Hawkey C., Kahan A., Steinbrock K., et al., Gastrointestinal tolerability of meloxicam compared with diclofenac in osteoarthritis patients. International MELISSA study group. Meloxicam large-scale international study safety assessment. *Br. J. Rheumatol.* 37:937-945. 1998.
- (27) Dequeker J., Hawkey C., Kahan A., et al., Improvement in gastrointestinal tolerability of the selective cyclooxygenase (COX-2) inhibitor meloxicam compared with piroxicam: results of the safety and efficacy large-scale evaluation of COX inhibiting therapies (SELECT) trial in osteoarthritis. *Br. J. Rheumatol.* 37: 946-951. 1998.
- (28) Tallarida R.J., Drug synergism and dose-effect data analysis. Chapman & Hall CRC. Boca Raton, Florida, USA. 2000, pp 21-189.
- (29) Luccarini P., et al., The orofacial formalin test in the mouse: a behavioral model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception. *J. Pain*, 12: 908-914. 2006.
- (30) Zelcer S., Kolesnikov Y., Kovalyshyn I., et. al., Selective potentiation of opioid analgesia by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Brain Res*, 1040: 151-156.2005.

- (31) Raboisson P., Dallel R., The orofacial formalin test. *Neurosci. Biobehav Rev*, 28: 219-226.2004.
- (32) Chichorro J., Lorenzetti B., Zampronio A., Involvement of bradykinin, cytokines, sympathetic amines and prostaglandins in formalin-induced orofacial nociception in rats. *British J. of Pharmacology*, 141:1175-1184.2004.
- (33) Choi H., Lee H.J., Junga C.Y., Jua J.S., Parkb S., Ahn D., Central cyclooxygenase-2 participates in interleukin 1b-induced hiperalgesia in the orofacial formalin test of freely moving rats. *Neuroscience Letters*, 352:187-190.2003.