



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE
ODONTOLOGIA
SECRETARIA DE ESTUDIOS**



**“MODULACIÓN SEROTONÉRGICA DE LA ANALGESIA INDUCIDA POR
MELOXICAM EN DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL”.**

Natalia Burgos Gutiérrez

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Hugo F. Miranda Guzmán

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dr. Fernando Sierralta G.

Prof. Dr. Gianni Pinardi T.

**Santiago - Chile
2008**

A mis padres con todo mi cariño...

Agradecimientos

A mis padres Eugenia y José por todo el amor, paciencia, comprensión y apoyo incondicional a lo largo de mi vida.

A mi hermana y mejor amiga, Vale...por todos los momentos de compañía durante estos años y por todos los proyectos de vida que nos han hecho seguir adelante.

A los integrantes de la cátedra de farmacología, a José López y Alejandro Correa; al Dr. Hugo Miranda, Dr. Fernando Sierralta y Dr. Gianni Pinardi con quien no pude compartir mucho, pero fue quien me motivó a realizar esta tesis en primera instancia. Gracias por la paciencia, ganas de ayudar e increíble buena disposición que tienen hasta el día de hoy, y porque hicieron de este trabajo una experiencia muy grata e inolvidable.

A las grandes amistades que hice en esta etapa de vida, con quienes espero seguir compartiendo por muchos años más...

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	6
CLASIFICACIÓN DE DOLOR	6
MECANISMO DEL DOLOR	9
VÍAS DESCENDENTES	19
SEROTONINA	21
TRATAMIENTO DEL DOLOR	24
ANALGÉSICOS ANTI-INFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES	24
MELOXICAM	31
TROISETRÓN	36
OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
HIPÓTESIS	40
MATERIAL Y MÉTODO	41
RESULTADOS	46
DISCUSIÓN	53
CONCLUSIONES	57
SUGERENCIAS	58
RESUMEN	59
BIBLIOGRAFÍA	60

INTRODUCCIÓN

El dolor corresponde a un sistema de alarma y comunicación del individuo con su entorno. Representa la primera advertencia que señala daño tisular y previene o alerta acerca de condiciones adversas en el medio ambiente por esto, es el motivo más frecuente de consulta para acudir a un servicio médico (1, 2, 3). Si este dolor no es diagnosticado y manejado en forma apropiada puede generar hostilidad e insatisfacción del paciente con el sistema y personal de salud, provocar reingresos, además de alterar a nivel sicosocial la calidad de vida del paciente. Un mal manejo del dolor agudo complica su pronóstico y tratamiento en el corto plazo, aumenta la cantidad de fármacos y/o técnicas usadas para valorarlo, aumenta los costos y también favorece la cronificación del dolor. (4)

La experiencia del dolor, y especialmente la asociada con dolor crónico, es mejor entendida desde un punto de vista biosicosocial que involucra no sólo la activación de nociceptores periféricos y la transmisión de señales nocivas a través del neuroaxis, sino que también el aspecto psicológico del dolor y el sufrimiento. Aunque el componente psicológico del dolor es importante en la experiencia dolorosa, también lo es la activación de nociceptores periféricos, y especialmente para el dolor agudo asociado

con procedimientos quirúrgicos electivos (1, 4, 5), por esto es necesario conocer la fisiopatología del dolor, entender su mecanismo, de manera de poder abordarlo correctamente.

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), ha definido el dolor como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular real o potencial, o descrito en términos de dicho daño” en esta definición el término potencial indica que si el dolor se mantiene por un tiempo prolongado, implicará que la permanencia de la noxa provocará un daño tisular (1). Zimmermann adaptó la definición de dolor de la IASP para que pudiera ser aplicada en animales. Así, el dolor en animales se define como “una experiencia sensorial aversiva causada por una lesión real o potencial que produce reacciones motoras y vegetativas progresivas, desencadena un comportamiento aprendido de evitación y puede modificar comportamientos específicos de la especie, incluyendo los sociales”. A partir de esta definición se pueden entender los modelos animales de dolor, procedimiento por el cual se valora la reacción de un animal ante un estímulo nocivo de naturaleza variada o situación patológica inducida que puede ser utilizado en circunstancias fisiológicas o patológicas. Es necesario tener una visión

crítica de los mismos, ya que en el animal valoramos fundamentalmente el comportamiento ante un estímulo nocivo mientras que no podemos valorar la dimensión afectiva inherente al dolor en el ser humano y probablemente en los animales (6).

El miedo al dolor dental es un concepto altamente relevante al estudiar el dolor en odontología (7). A pesar de que el gran abanico de anestésicos locales y analgésicos disponibles generalmente son adecuados para la mayoría de los requerimientos, ocasionalmente pueden fallar, lo cual es muy frustrante (8). Los pacientes típicamente asocian la atención dental con dolor, que como sabemos es subjetivo, individual e intransferible, traducido únicamente por la expresión dada por quien lo experimenta. El dolor dental con un mal manejo puede incitar a los pacientes a evitar o posponer el tratamiento requerido (9). Debido a esto, es que se hace cada día más importante establecer tratamientos y estrategias que nos permitan controlar y manejar el dolor de manera eficiente y segura para pacientes y así evitar que la atención dental sea sinónimo de miedo, estrés y dolor.

Una de las alternativas en el manejo del dolor es el uso de fármacos con acción analgésica. Dentro de los medicamentos utilizados encontramos a los opioides, los analgésicos antiinflamatorios no-esteroidales (AINEs) y

otros coadyuvantes, por ej., antidepresivos, antiepilépticos, anestésicos locales (18). Entre ellos, los AINEs han sido ampliamente usados y prescritos para el tratamiento de diferentes tipos de dolor, tanto agudo como crónico, en las diferentes ramas de la medicina y, en especial, en el campo odontológico (8, 9, 10).

Los AINEs comprenden un vasto grupo de moléculas con diferentes estructuras químicas, pero que tienen la particularidad de poseer un mecanismo de acción similar, por lo que los efectos adversos también son comunes (4, 13). Estos actúan primariamente por bioinhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs), a su vez inhiben la producción de prostanoïdes, los que se relacionan con la patogénesis de la inflamación y del dolor. Sin embargo, existe evidencia que demuestra que el efecto analgésico es modulado por fármacos que interactúan con otros receptores, por ej., agentes adrenérgicos, colinérgicos, serotoninérgicos, nitridérgicos (14).

Diversos estudios han demostrado que, con el uso de antagonistas no selectivos y selectivos de diversos neurotransmisores se pueden modular los efectos analgésicos de los AINEs. Así, con distintos compuestos, se puede dar origen a interacciones cuya consecuencia puede ser aditiva; también se puede obtener un resultado mayor a la

suma de los efectos de los agentes individualmente usados, llamado sinergia. O bien, un efecto menor, denominado antagonismo (13, 15).

En relación a esto, se está investigando un tipo de analgesia efectiva que produzca el mínimo de reacciones adversas, para lo cual el tratamiento del dolor se ha propuesto administrar dos o más analgésicos (analgesia multimodal), o bien, administrar agentes antagonistas selectivos o no selectivos para ciertos neurotransmisores.

En el presente trabajo se analizará la modulación de la vía serotoninérgica en la actividad antinociceptiva del meloxicam, AINE inhibidor preferencial de COX-2, utilizando el método algesiométrico de la formalina orofacial. La actividad serotoninérgica se evaluará por el efecto del tropisetron, un antagonista selectivo de los receptores del subtipo 5-HT₃.

MARCO TEÓRICO

La evaluación del dolor, dada su naturaleza multifactorial, se realiza mejor por un equipo de profesionales de la salud, que cuentan con la experiencia y conocimientos de su especialidad en relación al cuadro doloroso. Se efectúa en forma multi e interdisciplinaria, y su fin es llegar a un diagnóstico correcto junto con planificar estrategias de tratamiento. Es importante identificar las características del dolor, y éstas deben ser consignadas en la anamnesis, donde se observan características del dolor. Las principales son: localización y distribución, Inicio, duración, intensidad, irradiación, carácter y factores asociados. Una buena anamnesis permite obtener una aproximación a la etiología, diagnóstico y tratamiento para la algia. (1).

Clasificación del dolor

Una de las más utilizadas se basa en su duración: agudo y crónico. Dolor **agudo** es aquel que comprende el lapso estimado como necesario para que los tejidos sanen (1,4). El dolor dental es típicamente de naturaleza aguda y puede ser asociado con procedimientos relativamente no invasivos, propios de la profesión. Por otra parte, en contraposición, está el dolor **crónico**, que es aquel que tiene una duración de más de 3

meses, o que por las características de su origen, sobrepasa el tiempo que habitualmente podría definir un dolor agudo semejante. Además presenta poco o ningún componente neurovegetativo, pero grandes efectos psicológicos y conductuales. Podría decirse que mientras el dolor agudo es un síntoma de una enfermedad, el dolor crónico constituye una enfermedad en sí mismo (1).

Según la fisiología del dolor, se puede clasificar en dolor **nociceptivo** o **fisiológico**, el que es producido por una estimulación breve de los nociceptores somáticos o viscerales, lo que activa las vías nociceptivas, desencadenando una sensación dolorosa de pocos minutos de duración, con poca lesión tisular. Por otra parte, a partir de un estímulo más prolongado donde hay una activación permanente de las vías nociceptivas, constituye un dolor **inflamatorio**. Por último, si como resultado de una lesión hay alteración en la transmisión de la información nociceptiva a nivel del sistema nervioso central o periférico, de tal manera que el dolor ya no tiene relación con la lesión tisular, entonces se habla de un dolor **neuropático**.

De acuerdo a las características temporales del dolor, éste puede ser **continuo**, es decir, permanece estable en una cierta intensidad durante su duración; o bien, puede ser **recurrente**, experimentando períodos

completos de alivio o agregándose momentos de dolor más intensos sobre una basal dolorosa. Aquellos dolores que son recurrentes pueden presentar características de la periodicidad, es decir, el dolor recae luego de un tiempo variable de alivio.

Según la característica somatosensorial, el dolor puede ser epicrítico y protopático. El dolor **epicrítico** es superficial, de localización precisa y bien delimitado por el paciente, descrito como punzante, lacerante, quemante, opresivo o fulgurante. Por naturaleza no es referido. El dolor **protopático** es difuso, mal localizado por el paciente, y descrito como un dolor sordo. Este tipo de dolor es descrito por el paciente como en un lugar distante al sitio donde se genera (1).

En cuanto al sitio de origen o localización, el dolor ha sido descrito como periférico, visceral y central. El dolor **periférico** es producido por la activación de nociceptores de los tegumentos. Es un dolor sordo, continuo, bien localizado y que no suele acompañarse de reacciones vegetativas. El dolor **visceral o profundo** es ocasionado por la activación de nociceptores por infiltración, compresión, distensión, tracción o isquemia de vísceras pélvicas, abdominales o torácicas, y en las articulaciones. Se caracteriza por ser difuso, y es descrito a menudo como

profundo y opresivo. El dolor **central** incluye el que tiene su origen en el sistema nervioso central (12).

Mecanismo del dolor

Para entender el mecanismo del dolor se deben conocer las estructuras periféricas, centrales y las sustancias moduladoras involucradas. Así, para percibir dolor es necesario: 1. una estructura periférica que actúe como receptor; 2. una sinapsis en la médula espinal; 3. vías de conducción desde la médula espinal hasta los centros superiores como bulbo, diencefalo y corteza; y 4. vías descendentes desde los centros superiores: corteza, tálamo y núcleos reticulares a la médula (1). Este sistema puede ser graficado como una cadena de tres neuronas, con una neurona de primer orden que se origina en la periferia y que se proyecta a la médula espinal, una neurona de segundo orden que asciende desde la médula espinal, y una neurona de tercer orden que se proyecta a la corteza cerebral (12, 13).

Entre el sitio activo del tejido dañado y la percepción de dicho daño se produce una serie de eventos neurofisiológicos que colectivamente se denominan nocicepción. Durante años se pensó que el proceso del dolor ocurría en terminaciones sensoriales específicas (corpúsculos de Ruffini, Meissner y otros), estructuras encapsuladas que están en contacto con

fibras $A\beta$, que transmiten estímulos mecánicos de pequeña intensidad. Hoy se sabe que ocurre en las terminaciones nerviosas libres, ramificaciones distales de fibras C amielínicas y de fibras $A\delta$, y se caracterizan porque normalmente presentan un alto umbral de activación (1,4,9). Las fibras nerviosas nociceptivas son de dos tipos, $A\delta$ y C, las que se clasifican según su estructura, diámetro y velocidad de conducción. Las fibras tipo C son amielínicas, diámetro de 0,4 a 1,2 micrones y tiene una velocidad de conducción lenta, entre 0,5-2,0 m/s. Estas neuronas presentan carácter polimodal, es decir, responden a múltiples estímulos (térmico, mecánico, químico). Las fibras $A\delta$ poseen una delgada cubierta de mielina, diámetro de 2 a 6 micrones y una velocidad de conducción rápida, entre 12-30 m/s (13).

Algunos receptores sólo responden a estímulos mecánicos intensos, otros a estímulos nocivos mecánicos y térmicos y otros tienen respuestas polimodales ante estímulos mecánicos, térmicos y químicos. Las fibras $A\delta$ y C se encuentran distribuidas en todo el organismo: piel y subcutáneo, músculos, articulaciones y vísceras. El dolor entonces, comienza cuando los nociceptores se activan por sustancias químicas denominadas algogénicas, por ej., iones H^+ y K^+ , serotonina, noradrenalina, histamina, prostaglandinas, leucotrienos, bradicinina, óxido nítrico y sustancia P. A

nivel periférico, son los estímulos nociceptivos los que van a activar las fibras sensoriales A δ y C. Las terminaciones centrales de dichas fibras, liberan transmisores excitatorios (sustancia P, glutamato y otros), que ejercen su acción sobre receptores específicos y provocan la depolarización de neuronas de segundo orden (1, 16, 17). A su paso, por las distintas estructuras nerviosas, los impulsos nociceptivos (transmisión excitatoria) sufren una modulación inhibitoria a varios niveles: periférico, espinal y supraespinal. Los sistemas moduladores de la nocicepción están formados por transmisores y receptores capaces de disminuir la liberación de transmisores excitatorios y la excitabilidad neuronal (1, 5).

Estas fibras, parten de una neurona en T o bipolar o periférica, tienen su soma en el ganglio espinal y penetran a la médula por el asta posterior. Las fibras de las astas anteriores, que se pensaba eran sólo eferentes y motoras, transmiten también los impulsos sensoriales en más de un 15%. Respecto a las estructuras centrales, las fibras A δ y C, luego de entrar por el asta posterior sinaptan con una segunda neurona, que puede ser específica para estímulos nociceptivos o una neurona no específica o de amplio rango dinámico. Esta segunda neurona puede formar sinapsis con más de una primera neurona, proveniente de la piel o de una víscera, y esta sinapsis se produce siempre en la sustancia gelatinosa de Rolando,

cualquiera sea la distribución del soma en el asta posterior (1, 4). La sinapsis entre la neurona en T y la segunda neurona, es modulada por interneuronas de la sustancia gelatinosa, que pueden ser inhibitorias o excitatorias (fundamentales en la teoría de la compuerta) (1, 4). Posterior a la sinapsis, a partir de las segundas neuronas se originan 3 haces ascendentes contralaterales, que constituyen las vías ascendentes del dolor en el hombre: el neoespinotalámico y el paleoespinotalámico, que forman la vía espinotalámica, y el haz espinoreticulotalámico (figura 1).

El **haz neoespinotalámico** sinapta en los núcleos específicos del tálamo: ventral posterior y posterolateral. Estos núcleos se proyectan a la corteza somestésica o parietal, en las áreas SI y SII, región encargada de darle la ubicación topográfica al dolor (16).

El **haz paleoespinotalámico**, se proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo, y luego a la corteza frontal, lo que contribuye a la evaluación cualitativa del dolor (16) .

El **haz espinoreticulotalámico** hace sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia, zona mesencefálica y sustancia gris periacueductal y de allí en forma bilateral hacia los núcleos inespecíficos del tálamo. La formación reticular, se relaciona con el estado de sueño y vigilia, función que se perturba en forma importante en los

cuadros dolorosos. Este haz por sus importantes conexiones asociativas, es el que aporta el componente emocional y afectivo al dolor (16).

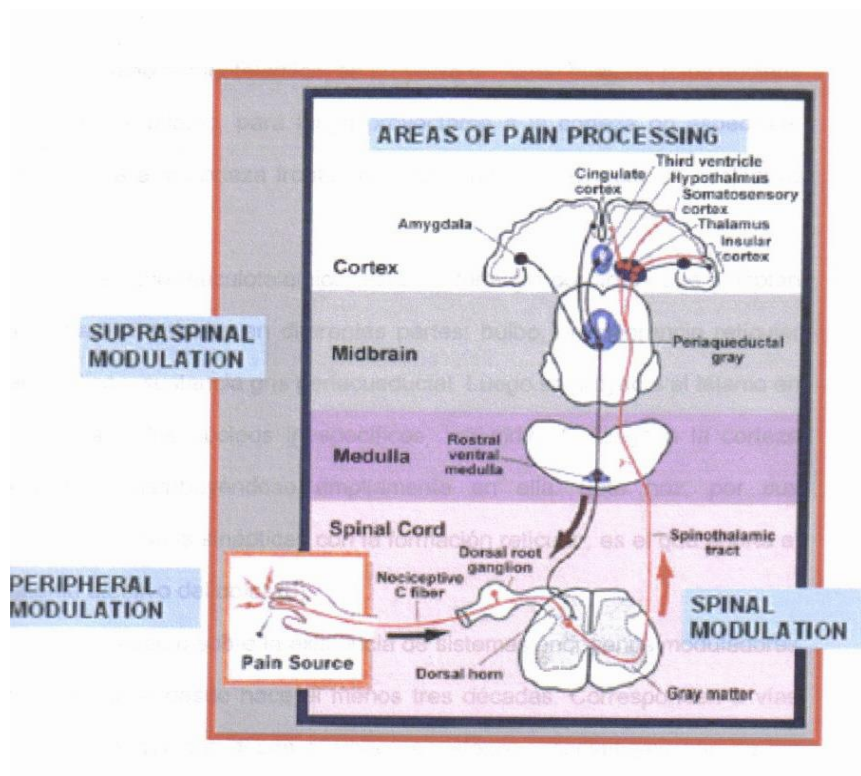


Figura 1. Las fibras entran por el asta dorsal de la médula donde existe modulación a este nivel. La vía espinotalámica envía información a los centros moduladores suprasegmentarios. Las vías moduladoras descendentes, principalmente noradrenérgicas y serotoninérgicas (17).

En el asta dorsal de la médula espinal se constituye el primer lugar de integración sináptica de información nociceptiva proveniente de la periferia, así como el primer sitio de control de esa información en el Sistema Nervios Central (SNC). Por ello, la identificación de las moléculas envueltas en la transmisión y/o control espinal selectivo del dolor es un tema de investigación sobre dolor agudo y crónico.

El conocimiento sobre la existencia de sistemas endógenos moduladores del dolor, proviene desde hace al menos 3 décadas. 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 (23). Actualmente, se sabe que la analgesia inducida por este sistema, depende de una gran cantidad y variedad de receptores y neurotransmisores (1, 16, 17).

La cavidad oral constituye una de las regiones del organismo humano más ricamente inervadas y con mayor representación y diversificación de receptores. Esta cavidad oral, que representa una gran fuente de información sensorial, ejerce una importante influencia funcional en cualquier etapa de la vida (24). El sistema trigeminal compuesto por el

nervio trigémino o V par craneal, con sus núcleos de origen y vías nerviosas, constituye la base estructural más importante de la transmisión tanto sensitiva como motora del territorio encefálico inherente a los diferentes mecanismos neuromusculares (18).

Entre los diversos receptores ubicados en las estructuras que componen el sistema estomatognático, se puede mencionar la existencia de 3 grupos:

- Propioceptores: entregan información relativa a los movimientos y posiciones del cuerpo en el espacio.
- Visceroceptores: relacionados con actividades viscerales como digestión, respiración, etc.
- Exteroceptores: ubicados en la piel, tejido conectivo y subcutáneo.

También, en mucosas ectodérmicas que tapizan cavidades y anexos (uñas y dientes), adaptados para recibir estímulos del exterior. Se pueden mencionar:

1. receptores de tacto y presión
2. termorreceptores (calor y frío)
3. receptores dentarios (intradentarios y periodontales)
4. receptores del dolor o nociceptores.

Estos últimos, son los de mayor relevancia para el presente trabajo. Las vías involucradas en la transmisión de impulsos dolorosos comienzan en los nociceptores que transmiten la información a través de las fibras nerviosas mencionadas (A δ y C). Estas fibras tienen su soma en el ganglio de Gasser, aquí cabe mencionar que 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 2 raíces : una motora y una sensitiva. La raíz sensitiva resume la percepción general de la piel y membranas mucosas del territorio cefálico. Nace del borde posterior del ganglio de Gasser. Desde el borde anterior del ganglio nacen las 3 ramas terminales del trigémino: nervios oftálmico, maxilar y mandibular. El ganglio de Gasser, es semejante a un ganglio raquídeo. Está compuesto por los somas o cuerpos celulares de neuronas unipolares con axones en T (receptoras del dolor). Los axones periféricos se distribuyen por las 3 ramas terminales del V par. El conjunto de axones centrales o profundos constituyen la raíz sensitiva trigeminal, ésta penetra en la protuberancia y conecta con los núcleos sensitivos del V par, ubicados en el tronco encefálico (18, 19).

La información sensorial, exteroceptiva y propioceptiva, de boca y cara se transmite a través de fibras nerviosas periféricas hacia el SNC, como

se mencionó. Se proyectan en un complejo nuclear trigeminal ubicado en el tronco del encéfalo. Se extiende desde el mesencéfalo hasta los primeros segmentos medulares. Esta gran columna de sustancia gris se divide en 3 núcleos en sentido rostrocaudal: núcleos mesencefálico, sensitivo principal y espinal que representan los centros segmentarios somatosensitivos del V par.

El núcleo espinal se divide en 3 subnúcleos; el oral, interpolar y caudal. El subnúcleo interpolar y el caudal (o unidad caudal del núcleo espinal) resume la sensibilidad térmica y dolorosa del territorio cefálico.

La neurona en T (nociceptor), distribuida en la región cefálica por las 3 ramas terminales del nervio trigémino, tiene su soma en el ganglio de Gasser. Su axón 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 (figura 2). Las neuronas de proyección llegan específicamente al núcleo ventro pósterolateral del tálamo. Desde aquí las neuronas talámicas se proyectan a la porción basal o inferior del área cortical somatosensitiva (área 1-2-3). Estas conexiones trigémino-tálamo-corticales explican, en parte, el origen

de las sensopercepciones de la región orofacial. Es decir, a la apreciación y asignación de significación de los estímulos que impresionan al sistema estomatognático (18, 19).

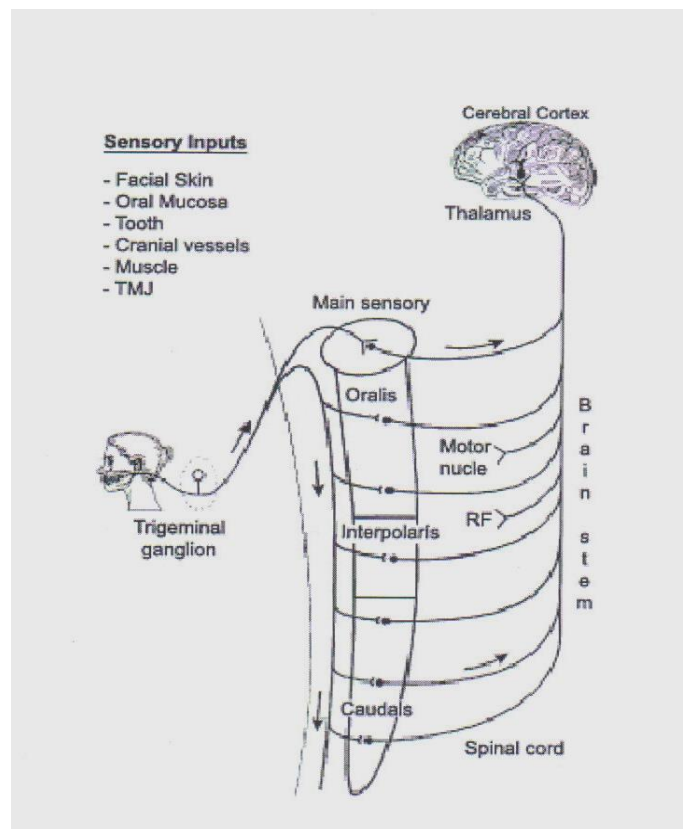


Figura 2. vía somatosensorial trigeminales primarias con sus cuerpos celulares en el ganglio trigeminal, sus proyecciones sinaptan con neuronas de segundo orden en el complejo nuclear trigeminal. Estas neuronas se proyectan a centros superiores como el tálamo o pueden dirigirse a otras regiones como la formación reticular (20).

VÍAS DESCENDENTES

Las vías descendentes constituyen uno de los principales sistemas que modulan la transmisión nociceptiva, y va desde los centros cerebrales al tronco encefálico, donde ejercen una marcada acción inhibitoria sobre la transmisión del subnúcleo caudal.

Dentro de los sistemas modulatorios están los controles segmentarios. Aquí se producen efectos inhibitorios generados por fibras de las neuronas serotoninérgicas y noradrenérgicas. Estas vías descienden desde el tallo cerebral y terminan a nivel de los núcleos trigeminales, contribuyendo así a la modulación del dolor (19).

Los controles segmentarios están constituidos por vías que provienen desde la sustancia gris periacueductal, núcleo del rafe magno, corteza cerebral y otros centros cerebrales. Dichos procesos modulatorios pueden involucrar mecanismos de regulación pre y post sinápticos y mecanismos receptoriales. Algunos de ellos tienen una influencia facilitatoria en la transmisión nociceptiva, como por ejemplo sustancia P y NMDA. En cambio otros ejercen primariamente una influencia inhibitoria, como es el caso de las encefalinas, el GABA y la 5-HT (19, 20).

La principal fuente de la inervación serotoninérgica sobre el subnúcleo caudal del trigémino ocurre en el cerebro medio, en el núcleo del rafe magno al interior del tronco encefálico (19) (figura 3).

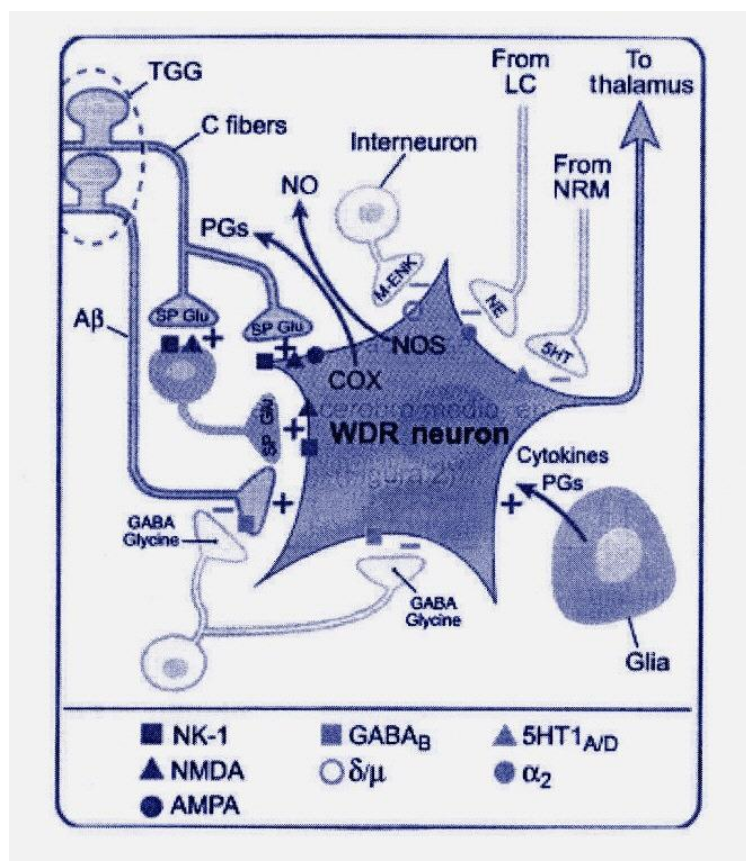


Figura 3. Procesos neuroquímicos relacionados con la transmisión nociceptiva en el subnúcleo caudal del trigémino. Terminales descendentes provenientes de regiones como el núcleo del rafe magno (NRM) pueden relacionarse con 5-HT(20).

SEROTONINA

La existencia de una sustancia vasoconstrictora en la sangre, es conocida desde hace más de 135 años. Esta sustancia fue llamada serotonina, y finalmente identificada como 5-HT en 1949. Su presencia en el cerebro fue reportada en 1954 por Gaddum, quien además demostró que su acción era antagonizada por el potente alucinógeno ácido dietilamida lisérgico o LSD. Actualmente, existe un amplio conocimiento sobre su mecanismo de acción, su síntesis y acciones a nivel cerebral de la 5-HT. También se han descrito los mecanismos por los cuales muchas drogas usadas para el tratamiento de enfermedades psiquiátricas, alteran la actividad funcional de la 5-HT, particularmente aquellas usadas en el tratamiento de la depresión. El mayor reto que se presenta en la actualidad, es obtener la información necesaria para desarrollar tratamientos en base a drogas que presenten, ya sea una mayor potencia a una mayor afinidad específica por los diferentes receptores 5-HT (21).

La serotonina es liberada después de una lesión tisular, activando directamente o sensibilizando los nociceptores, posiblemente por activación de subtipos de receptores serotoninérgicos. De éstos se conocen 7 grupos (5-HT₁₋₇) con un total de al menos 14 subtipos. Dentro de ellos, el receptor 5-HT₃ es un canal ionotrópico que es activado por iones y se

encuentra en neuronas periféricas y centrales (22-23). Un esquema de los diferentes receptores serotoninérgicos se muestra en la figura 4.

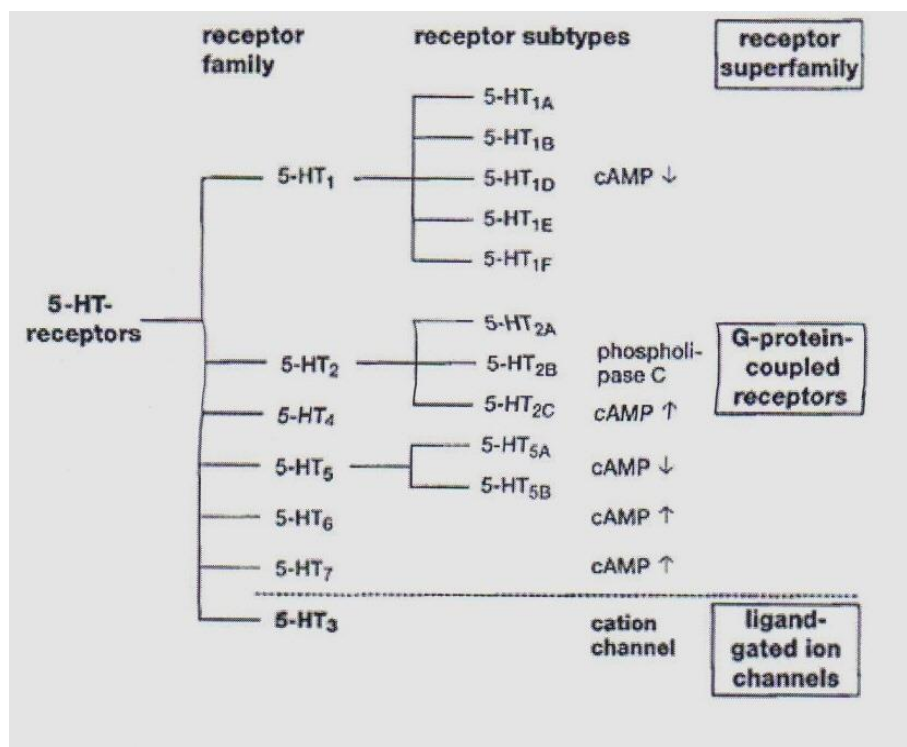


Figura 4. Esquema de los siete grupos de receptores 5-HT con sus distintos subtipos. El receptor 5-HT₃ ocupa un lugar especial como receptor ionotrópico (23).

En la periferia los receptores 5-HT₃ se encuentran en neuronas pre y post ganglionares y en neuronas del sistema entérico. Existe una gran cantidad de receptores en el SNC, distribuidos en el núcleo solitario,

núcleo dorsal del nervio vago, núcleo caudal, amígdala, hipocampo, asta dorsal (22). Dichos receptores están involucrados en el reflejo del vómito y el procesamiento del dolor (22, 23).

Los antagonistas selectivos del receptor 5-HT₃ (5-HT₃-RA) pueden reducir el dolor agudo provocado por la inyección periférica de serotonina (22). En modelos animales de tejidos dañados se evidencia la activación de los receptores 5-HT₃ en neuronas periféricas aferentes que inician un proceso de nocicepción agudo y persistente, además de efectos inflamatorios que pueden ser bloqueados por 5-HT₃-RA (24).

Los efectos antiinflamatorios en modelos de tejidos con daños pueden ser atribuidos a la secreción neuronal inducida de serotonina y de varios péptidos, como sustancia P y el factor relacionado con el gen de calcitonina (CGPR). Estos ejercen una potente acción sobre macrófagos y mastocitos con la consecuente liberación de un extenso rango de citoquinas pro-inflamatorias y prostaglandinas. Los antagonistas de receptores 5-HT₃ impiden la activación y sensibilización de los nociceptores en el tejido inflamado. Los receptores 5-HT₃ además están implicados en el procesamiento central del estímulo nociceptivo (23, 24).

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 generales
- Anestésicos locales
- Analgésicos opioides
- Analgésicos anti-inflamatorios no esteroidales (AINEs)

ANALGÉSICOS ANTI-INFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES (AINEs)

Los AINEs están constituidos por moléculas, de estructuras químicas diferentes y que poseen, entre sus principales acciones farmacológicas en común :efectos analgésicos, antipiréticos y anti-inflamatorios. Para cada efecto, su eficacia relativa puede variar; por ej., un fármaco puede mostrar mayor actividad analgésica y menor efecto anti-inflamatorio, y viceversa. Por ello, sus indicaciones terapéuticas dependerán de la eficacia que presenten y de su toxicidad (25).

Clasificación de los AINEs

De acuerdo a su grupo químico, se clasifican en los siguientes grupos químicos:

Clase Estructural	No selectivo para COX-1	Selectivo para COX-2
Alcanoles	nabumetona	
Ácidos antranílicos	ácido meclofenámico, ácido mefenámico	amidas y ésteres meclofenamatos
Ácidos arilpropiónicos	ibuprofeno, flubiprofeno, ketoprofeno, naproxeno, SC560	
Diarylheterociclos		celecoxib, etoricoxib, parecoxib, rofecoxib, valdecoxib.
Di-tert-butil fenoles		darbufelona
Ácidos enólicos	piroxicam, tenoxicam, fenilbutazona.	Meloxicam
Ácidos heteroarilacéticos	diclofenaco, ketorolaco, tolmetin.	lumiracoxib
Ácidos indolacéticos	indometacin, sulindac	etodolac, indometacina amidas (y ésteres)
Derivados del para-aminofenol	paracetamol	
Derivados del ácido salicílico	aspirina, diflunisal, sulfasalazina.	APHS
Sulfonamidas		nimesulida, flosulida

Tabla 1. Clasificación de los AINEs según su estructura química (26)

Mecanismo de acción

Los AINEs interactúan con un grupo de sustancias derivadas del metabolismo del ácido araquidónico, un fosfolípido que forman las membranas celulares. Luego de un estímulo nocivo, se produce la activación de la enzima fosfolipasa A2, la que, a su vez, actúa sobre el

ácido araquidónico y desencadena un conjunto de procesos bioquímicos que terminarán con la síntesis de un elevado número de metabolitos. Éstos procesos se realizan, principalmente a través de 2 enzimas: la ciclooxigenasa (COX) y la lipooxigenasa (LOX). Las primeras (COX) son responsables de la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano; y la lipooxigenasa (LOX) es responsable de la síntesis de leucotrienos(2,11,24).

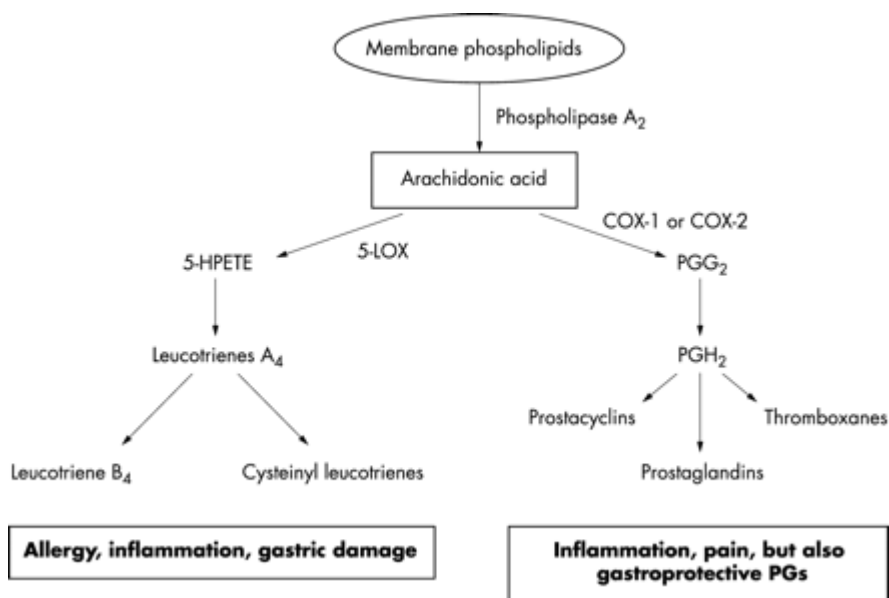


Figura 5. Mecanismo de acción de los AINEs, modificado de Warner y Mitchell (29).

Existen 3 isoformas de COXs (COX-1, COX-2 y COX-3). La COX-1, es constitutiva, se encuentra en el estómago, intestino, riñón y plaquetas. La COX-2 es inducida durante la inflamación, facilita la respuesta

inflamatoria; se encuentra en células inflamatorias, riñón y tejido óseo. La COX-3, de reciente descubrimiento, es una variante de COX-1. Los AINEs de mayor uso inhiben no selectivamente las isoformas COX-1 y COX-2 (figura 6). La inhibición de COX-2 es responsable de las acciones anti-inflamatorias, analgésicas y antipiréticas de los AINEs ; la inhibición de COX-1, además produce irritación gastrointestinal y disminución de la actividad plaquetaria y, la de COX-3 podría ser un mecanismo central primario de disminución del dolor y posiblemente, de la fiebre (26,29,41).

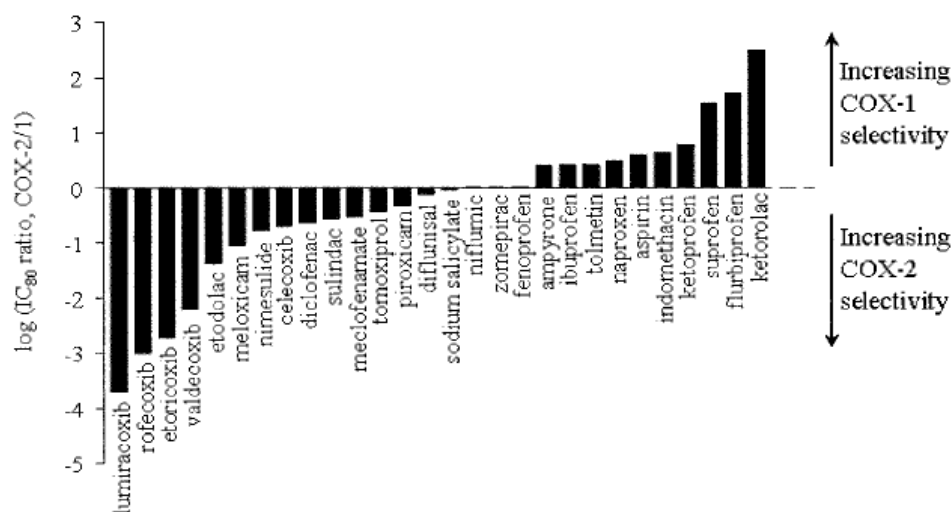


Figura 6. La selectividad relativa de los AINEs sobre las COX-1 y COX-2.

Proporciones expresadas en logaritmo. El nivel cero (0) representa una actividad igual para COX-1 y COX-2. Los componentes que están sobre la línea son COX-1 selectivos y bajo ella son COX-2 selectivos (26).

Efectos terapéuticos de los AINEs

Los AINEs poseen una acción antipirética, por inhibición de la síntesis de PGE₂ (25). Por inhibición de las COXs se detiene la producción de prostaglandinas y tromboxano, lo que se traduce en un efecto antiinflamatorio terapéutico (25). El bloqueo de la vía ciclooxigenasa impide la liberación de prostaglandinas y, por lo tanto, se controla el dolor, obteniendo una acción analgésica. Además, por bloqueo de tromboxano se produce un efecto antiagregante plaquetario (25). También se ha descrito una acción antitumorígena, que se manifiesta en la prevención del cáncer colorectal (28).

Por otra parte, se ha descrito que los AINEs reducen el riesgo de desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, debido a la acción antiplaquetaria, por reducción de la isquemia al bloquear los capilares cerebrales (25).

Efectos adversos de los AINEs

Los efectos terapéuticos de los AINEs dependen de la inhibición de las ciclooxigenasas. Ellas catalizan la formación de prostaglandinas citoprotectoras en el endotelio vascular, la mucosa estomacal, riñones, páncreas, islotes de Langerhans, vesículas seminales y cerebro. Debido a esto, la terapia con inhibidores de las COXs se asocia a un número de

eventos adversos, los que incluyen erosiones gastrointestinales, insuficiencia renal e insuficiencia hepática. Estos efectos ocurren principalmente, por la inhibición de la COX-1 (29). A nivel gastrointestinal se presentan alteraciones duodenales, erosiones intramucosas, úlceras y hemorragias, cuando el consumo de AINEs es durante un tiempo prolongado (25, 28). Otros efectos, asociados a la inhibición de COX-1, son las reacciones de hipersensibilidad provocadas por el uso de AINEs, manifestados como urticaria y ataques de asma. Una alternativa, es el uso de inhibidores selectivos para COX-2 (Coxibs) (30).

Además, se han descrito efectos no deseados a nivel renal, por inhibición de las COXs, donde se ha reportado disminución del índice de filtración glomerular, retención de sodio y potasio, acompañado de una reducción del fluido sanguíneo renal, debido a una reducción en la excreción de estos iones (26).

A nivel hepático, son conocidos los efectos adversos, principalmente por uso de paracetamol y aspirina (24, 26).

Otro efecto de relevancia, es a nivel de la agregación plaquetaria, donde los AINEs pueden prolongar el tiempo de sangrado alrededor de un 30%, aumentando el riesgo de hemorragias (23). A nivel gineco-obstétrico, los AINEs pueden prolongar el embarazo, por disminución de

las contracciones, al bloquear COX-1. También, la administración prolongada durante el tercer trimestre podría cerrar el ductus arteriosus e inducir hipertensión pulmonar persistente en el recién nacido, por el mismo bloqueo (11, 33).

En relación a los efectos adversos de los inhibidores de COX-2, el más importante y por el cual su uso se ha limitado es el relacionado con las alteraciones cardiovasculares (26).

Interacciones farmacológicas

Al estudiar las interacciones entre fármacos se podría obtener un incremento de la eficacia de sus efectos con disminución de las dosis y reduciendo a niveles mínimos, sus posibles efectos indeseables.

La interacción farmacológica entre drogas se puede considerar desde un punto de vista farmacocinético o farmacodinámico, por esto cuando dos drogas se administran en forma conjunta, los efectos que se obtienen con la combinación pueden ser:

- **Aditivos:** es cuando el efecto resultante corresponde a la suma de los efectos que, en forma separada, produce cada uno de los agentes que se combinan.

- Subaditivo o antagónico: el efecto que se obtiene corresponde a un efecto menor que la suma de los efectos de cada agente por separado.
- Supraaditivo o sinérgico: es cuando el efecto obtenido es significativamente mayor que la suma de los efectos separados de cada droga.

De las diversas asociaciones de drogas, las que puedan producir sinergismo, representan una alternativa muy promisorias en el tratamiento farmacológico del dolor, sobre todo si a ello se agrega que normalmente este sinergismo va acompañado de una significativa disminución de las reacciones adversas asociadas (12, 13).

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 al piroxicam y 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 (31).

Estudios clínicos demuestran que los pacientes tratados con meloxicam experimentan mínimos efectos adversos comparados con aquellos tratados con otros AINEs (25). Esto se explica porque el meloxicam parece no afectar la COX-1, enzima que facilita la producción de prostaglandinas relacionadas con efectos colaterales gastrointestinales y renales.

Por otra parte, estudios en animales, han demostrado que el meloxicam posee una potente acción anti-inflamatoria con una menor inhibición de PGE2 a nivel estomacal y renal, comparado con otros AINEs. También ha demostrado ser más potente en la reducción del edema en tejidos inflamados de ratas en comparación con el piroxicam, diclofenaco o naproxeno. En dosis terapéuticas de 7.5 o 15 mg, no reduce la agregación plaquetaria y no aumenta el tiempo de sangrado; sin embargo, la formación de tromboxano a partir de plaquetas fue inhibida en un 35% luego de la administración de 15 mg de meloxicam, demostrando así su baja actividad sobre COX-1 in vivo (28).

Otros estudios han reportado escasos efectos adversos gastrointestinales en pacientes tratados con meloxicam versus otros

AINEs, mientras dosis de 7.5, 15 o 22.5 mg eran tan efectivos como otros AINEs usados en dosis establecidas por períodos de hasta 18 meses (28).

Características fármaco-cinéticas

Este derivado oxicano tiene una buena absorción digestiva luego a su administración oral, sin verse afectada por la ingesta conjunta de alimentos. Posee una óptima biodisponibilidad alrededor de un 89%, luego de una dosis oral única. Una de sus características más destacadas es su absorción prolongada, alcanzando una concentración máxima en sangre luego de 7 u 8 horas de su administración. Además posee una larga vida media de eliminación de veinte horas, lo que respalda su administración en dosis única diaria. Luego de su absorción digestiva, difunde fácilmente hacia la sangre y tejidos inflamados, posee alta unión a proteínas plasmáticas, que supera el 99%. Su metabolismo es hepático, detectándose cuatro metabolitos, todos inactivos. Aproximadamente el 50% de la dosis absorbida es excretada en la orina como metabolitos inactivos y trazas de fármaco, mientras el resto ha sido detectado en las heces en formas similares a las detectadas en orina (28, 31).

El meloxicam ha sido indicado en patologías inflamatorias dolorosas o degenerativas del aparato osteomioarticular, en artritis reumatoidea, osteoartritis, osteoartrosis, reumatismos extraarticulares como tendinitis,

tendosinovitis, bursitis, distensiones miotendinosas y en otros diversos procesos inflamatorios dolorosos agudos y crónicos.

Además, cabe destacar, que el meloxicam ha demostrado ser efectivo en el tratamiento de la artritis idiopática juvenil, siendo junto a etoricoxib, los únicos AINEs selectivos de COX-2, que pueden prescribirse en menores de 18 años; su uso se recomienda a partir de los 13 años en dosis única diaria recomendada de 7.5 a 15 mg. (33).

Entre las precauciones y advertencias de su administración, debe considerarse su uso en sujetos con antecedentes de enfermedades gastrointestinales o que reciban tratamiento con anticoagulantes orales. Por su capacidad de modificar el funcionamiento hepático y renal, se debe indicar con precaución en pacientes de edad avanzada, deshidratados, nefrópatas, cardíacos o cirróticos. 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 (34).

Su tolerancia es buena en la mayoría de los pacientes, sin embargo, se pueden presentar dispepsia, náuseas, vómitos, epigastralgias, constipación, flatulencia y diarrea. A nivel cutáneo puede presentarse prurito, exantema, urticaria, reacciones de hipersensibilidad. También se

ha descrito cefalea, taquicardia, edema, vértigo, tinnitus, mareos y somnolencia. Y 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 y transitorias, y han remitido sin necesidad de interrumpir el tratamiento farmacológico (34).

Se han descrito reacciones de hipersensibilidad cruzada con otros AINEs, como la aspirina. Otras interacciones que puede experimentar el meloxicam con otros fármacos incluyen a los anticoagulantes orales, triclopídina, heparina y trombolíticos, aumentando el tiempo de sangrado, entre otros (25, 29).

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. Tampoco se recomienda en casos de hipersensibilidad al fármaco, asma, angioedema, urticaria y frente a pólipos nasales relacionados con AINEs (34). 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 (29, 33).

TROPISETRÓN

Este fármaco, conocido comercialmente como Navoban ®, es un antagonista selectivo de receptores de serotonina del subtipo 5-HT₃ su estructura es un derivado de anillos de indol, junto al dolasetrón (21).

Los receptores 5-HT₃ se encuentran exclusivamente en neuronas del sistema nervioso central (SNC) y periférico (SNP). En la periferia, estos receptores han sido detectados en neuronas autónomas pre y post ganglionares y en neuronas sensoriales y del sistema entérico (mesenterio y plexo submucoso).

Se ha identificado una gran densidad de ellos en ciertas áreas del SNC: área postrema, núcleo del tracto solitario, núcleo dorsal del nervio vago, núcleo caudado, amígdala, hipocampo, corteza enteral (21).

Los receptores 5-HT₃ se encuentran concentrados en regiones involucradas con la integración del proceso de reflejo del vómito y dolor. Por ello, el tropisetron ha sido ampliamente usado para prevenir náuseas y vómitos en pacientes sometidos a quimioterapia y radioterapia(22). Esto se explica porque en estos pacientes hay un aumento en la liberación de serotonina de la mucosa intestinal, sumado a la estimulación de los receptores 5-HT₃ en aferencias vagales. Sin embargo, esta liberación de serotonina, no es suficiente para inducir el vómito, pero podría

acompañarse a la liberación neuronal local de serotonina en la región del área postrema estimulando receptores 5-HT₃ en la zona gatillo receptora.

En consecuencia, por los diferentes mecanismos de acción precedentes, se puede esperar la existencia de una acción sinérgica de aferencias centrales y vagales que gatillan el reflejo del vómito (figura 7). Por lo tanto, si ocurre bloqueo de dichos receptores centrales y periféricos, se suprimen las náuseas y el vómito(21).

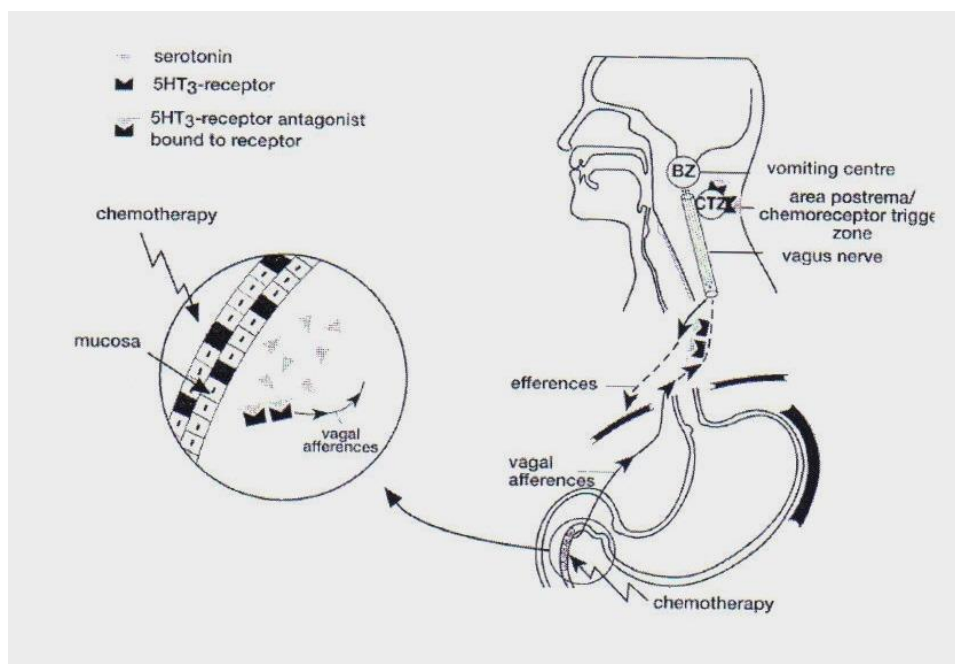


Figura 7. Estimulación de receptores 5-HT₃ en aferencias vagales y centrales (área postrema) en pacientes bajo quimioterapia. La acción sinérgica de aferencias centrales y vagales desencadena el reflejo emético (23).

Los antagonistas selectivos de receptores 5-HT₃ pueden disminuir el dolor agudo por administración de serotonina. El tropisetron fue uno de los primeros fármacos (antagonista selectivo de receptores 5-HT₃), usados en reumatología, resultando efectivo en la reducción del dolor en pacientes con fibromialgia, al ser comparado con un placebo (22). Se ha reportado que más del 50% de los pacientes con fibromialgia tratados con tropisetron responden con disminución al dolor. También se han obtenido resultados significativos en el tratamiento con tropisetron de otros trastornos: del sueño, fatiga y rigidez matinal, los que frecuentemente presentan los pacientes con fibromialgia (24).

Estos antagonistas de receptores 5-HT₃ son, en general, bien tolerados. Y, en algunos casos, se pueden presentar reacciones adversas que incluyen: jaquecas, constipación, vértigo, fatiga y alteraciones gastrointestinales como dolor y diarrea (22).

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la actividad antinociceptiva del meloxicam, en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial en ratones.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración i.p. de meloxicam en el test orofacial.

- 2.- Estudiar el efecto modulador de tropisetron en la analgesia inducida por meloxicam.

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 serotoninérgico.

MATERIAL Y MÉTODO

Animales

Se usaron ratones (*Mus Musculus*) machos de la cepa CF/1 de 28 a 30 g y se habituaron al ambiente del laboratorio al menos 2 horas antes de la experimentación. Los ensayos se realizaron de acuerdo al protocolo N° 238 FMUCH, aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Basándose en este protocolo a cada animal le fue administrada sólo una dosis de las drogas. Las observaciones durante el experimento se efectuaron en forma ciega, aleatoria y controladas con solución salina. El número de animales utilizados fue un mínimo de 6 para cada tratamiento, los que se sacrificaron inmediatamente después de realizado el experimento mediante dislocación cervical por personal capacitado para ello(Imagen1).

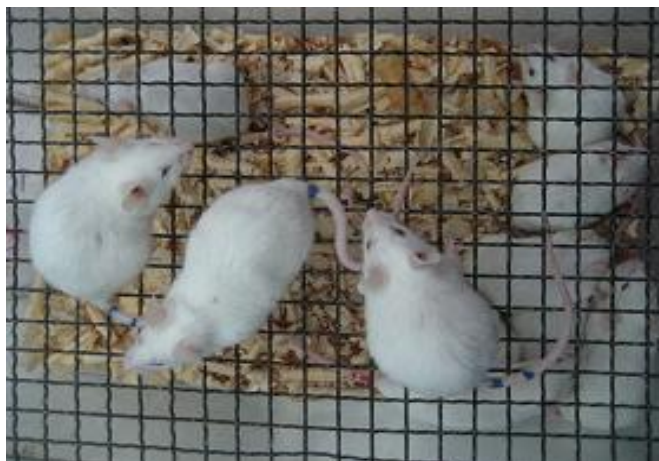


Imagen 1. Ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1.

Test de la formalina

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó utilizando el test algesiométrico orofacial de la formalina, que permite medir el dolor originado de la estimulación de ramas del nervio trigémino. El estímulo nociceptivo se produce por la inyección subcutánea de 20 μL de solución de formalina al 5 % en el labio superior del animal (Imagen 2). Esto induce un sostenido frotamiento de la zona inyectada y del área perinasal.

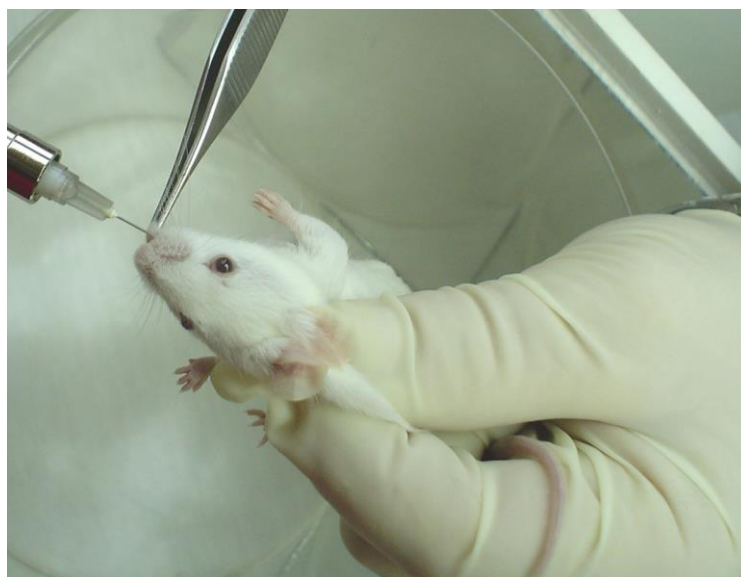


Imagen 2. Inyección de 20 μL de solución de formalina al 5%.

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 perinasa durante los 5 minutos inmediatos a la inyección y que corresponde a la fase algésica aguda (fase I). Luego de un período de no registro de 20 minutos, se midió por 10 minutos, hasta el minuto 30, el tiempo total durante el cual los animales se frota el labio comprometido y que corresponde a la fase inflamatoria (fase II) (Imagen 3). El período entre la fase I y la II, no fue registrado, debido a que el ratón se encuentra en una etapa de quietud. Los fármacos fueron administrados i.p., en un volumen constante de 10 mL/kg. El ensayo de la formalina se realizó a los 30 minutos después de la inyección de las drogas, tiempo de máximo efecto determinado previamente.



Imagen 3. Frotamiento de la zona perinasa.

Evaluación de la analgesia

Se confeccionó una curva dosis-respuesta para meloxicam (1-30 mg/kg) destinada a evaluar la actividad antinociceptiva, del AINE administrado por vía i.p. con un mínimo de 6 animales por cada ensayo, de al menos 4 dosis logarítmicas diferentes y crecientes. A partir de ella se determinó la dosis que produce un 50% del efecto máximo (DE_{50}), mediante regresión lineal por cuadrados mínimos de la curva logarítmica dosis-respuesta. Los animales controles fueron inyectados con solución salina al 0,9%, en número de 1 a 3 por cada grupo experimental. El estudio de la actividad antinociceptiva fue idéntica a la de los animales tratados.

Estudio de la modulación serotoninérgica

Para estudiar el rol del sistema serotoninérgico se pretrataron los animales con 0.01 mg/kg o con 0.1 mg/kg de tropisetron y se repitió la evaluación de la actividad antinociceptiva de 1, 3, 10 y 30 mg/kg de meloxicam. Para la expresión de estos resultados se confeccionaron los correspondientes histogramas.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como promedio con sus correspondientes errores estándar (E.E.M.). El análisis de los datos obtenidos fue realizado computacionalmente, en base a los antecedentes publicados por Tallarida (15). La significación estadística fue determinada por “análisis de varianza” y pruebas de *t Student* y fue considerada a un nivel de 5% ($p < 0,05$).

El análisis de varianza es una prueba estadística que sirve para analizar si más de 2 grupos experimentales difieren significativamente entre sí en cuanto a sus promedios y sus varianzas (promedio aritmético del cuadrado de las desviaciones respecto al promedio). En cambio, la prueba de *t Student* permite evaluar si dos grupos experimentales difieren entre sí de manera significativa (44).

RESULTADOS

Grupo control

Al administrarse por vía i.p. 10 mg/Kg solución salina al 0,9%, 30 minutos antes de la administración de formalina, se obtuvo un tiempo de frotamiento de la zona labial y perinasal de 133.71 ± 4.68 seg para la Fase I (n=14) y de 163.20 ± 4.36 seg para la Fase II (n=14), como se observa en los histogramas de la actividad antinociceptiva del meloxicam en las figuras 1 y 2. Es de notar que la administración i.p. de la solución salina, usada como solvente del meloxicam, así mismo como el pretratamiento de los animales con tropisetron, no produjeron alteraciones motoras o de comportamiento de ningún tipo en los animales de experimentación

Grupo tratado con meloxicam

La administración i.p. de meloxicam, en el mismo ensayo de la formalina orofacial, produjo una actividad antinociceptiva, dosis-dependiente, tanto en la fase I como en la II, como se observa en los histogramas de las figura 1. Las curvas dosis-respuestas generadas por la administración de meloxicam por vía i.p. se muestran en la figura 2. A partir de estas curvas dosis-respuesta, usando la regresión lineal por cuadrados mínimos, se calcularon las DE_{50} que resultaron ser de $2,36 \pm 0.39$ mg/kg para la fase I y de 5.53 ± 0.98 mg/kg para la fase II.

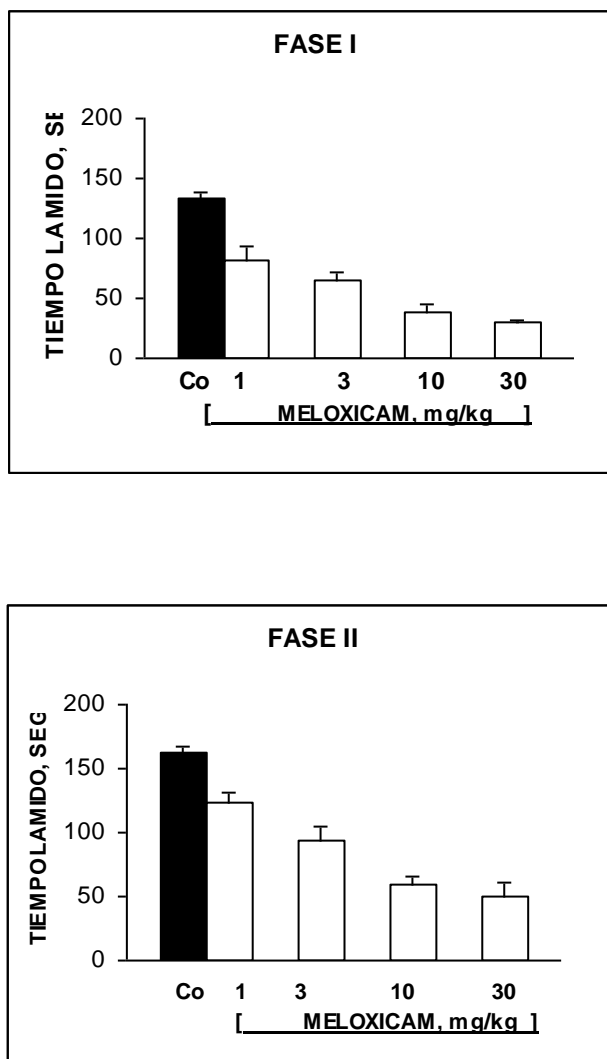


Figura 1. Histogramas de la actividad antinociceptiva del meloxicam en la fase I y en la fase II del ensayo de la formalina orofacial. Cada barra representa el promedio \pm E.E.M. de al menos 6 animales. Barra negra = control. Todos los valores son significativos con respecto al control ($P < 0.05$)

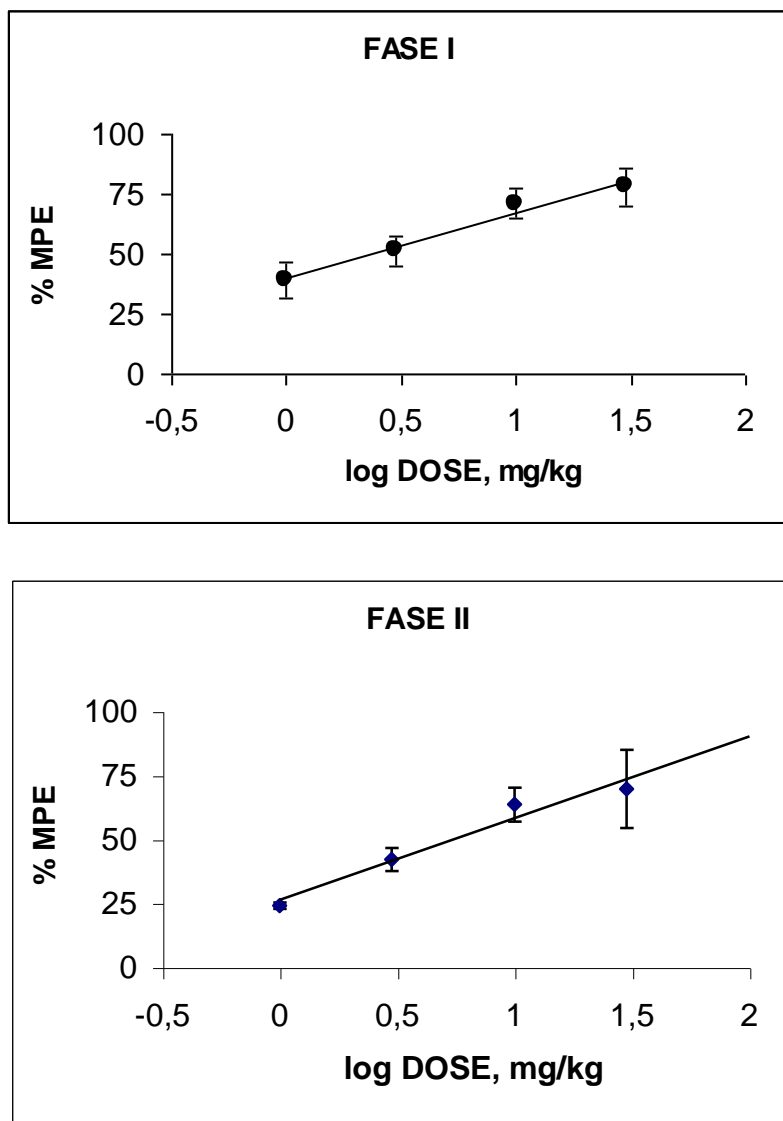


FIGURA 2. Curvas dosis respuesta de meloxicam por via i.p. para la fase I y II, en el test de la formalina orofacial. Cada punto de la abscisa, es el promedio \pm E.E.M., de al menos 6 animales. La ordenada, es el porcentaje del máximo efecto posible (MPE). Todos los puntos son estadísticamente significativos ($P < 0.05$).

Grupos tratado con tropisetron

La administración de 0.01 mg/kg, i.p., de tropisetron produjo un tiempo de frotamiento de 85.00 ± 12.90 seg en la fase I y de 122.50 ± 8.12 en la fase II, en el test usado. En cambio, tropisetron 0.1 mg/kg, i.p. indujo un tiempo de 52.67 ± 6.06 seg y de 36.67 ± 2.99 , en la fase I y II respectivamente (figura 3).

El pretratamiento con 0.01 mg/kg i.p. de tropisetron produjo una reducción significativa ($P < 0.05$) en el tiempo de frotamiento, en el ensayo de la formalina orofacial, en ambas fases y para todas las dosis de meloxicam ensayadas. Estos resultados se muestran en el histograma de la figura 4.

Sin embargo, cuando el pretratamiento de los animales se realizó con tropisetron 0.1 mg/kg, no se obtuvo diferencia significativa en el tiempo de frotamiento, inducido por las diferentes dosis de meloxicam, en la fase I como en la fase II. Ver figura 5.

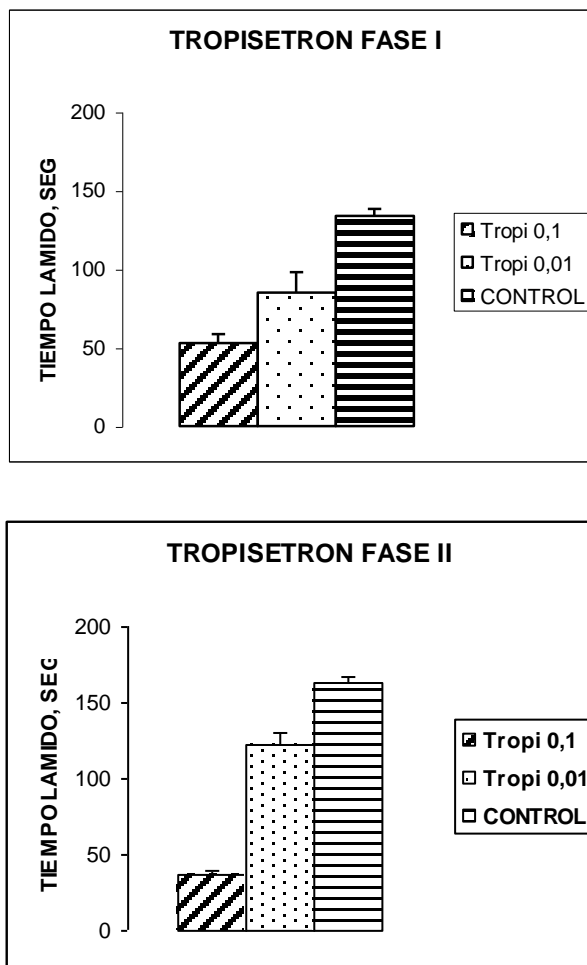


Figura 3. Histograma de la administración i.p. de tropisetron 0.1 mg/kg y 0.01 mg/kg en el ensayo orofacial de la formalina en ratones. Los valores de tropisetron 0.1 y 0.01 mg/kg son significativos con respecto al control ($P < 0.05$)

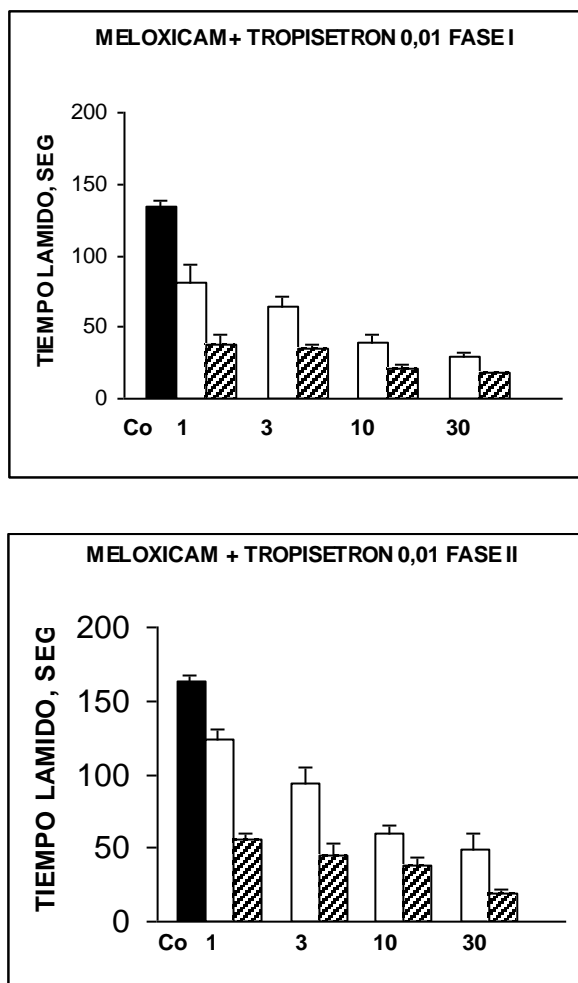


Figura 4. Histogramas de la actividad antinociceptiva del meloxicam (\square) y con tropisetron 0,01 mg/kg (\square) en la fase I y en la fase II del ensayo de la formalina orofacial. Cada barra representa el promedio \pm E.E.M. de al menos 6 animales. Todos los valores son significativos con respecto al control ($P < 0.05$).

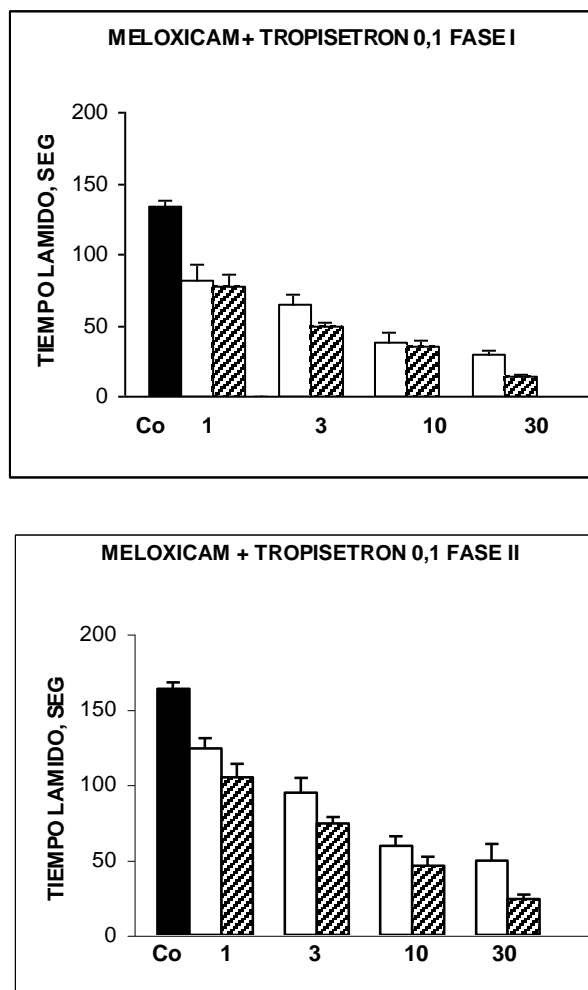


Figura 5. Histogramas de la actividad antinociceptiva del meloxicam con tropisetron 0,1 mg/kg en la fase I y en la fase II del ensayo de la formalina orofacial. Cada barra representa el promedio \pm E.E.M. de al menos 6 animales. Todos los valores son no significativos con respecto al control ($P < 0.05$).

DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo, muestran el efecto analgésico inducido por meloxicam, tanto en la fase I como en la fase II del ensayo de la formalina orofacial en ratones. Esto constituye la primera demostración que un AINE, inhibidor 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. Sin embargo, este resultado es concordante con otros hallazgos en ratas. Así, Chichorro y cols (38) demostraron que celecoxib, un AINE, inhibidor selectivo de COX-2, disminuye el tiempo de frotamiento en rata en ambas fases frente a la inyección de formalina en el labio superior del animal. Además, los mismos autores encontraron similar efecto por la administración de un inhibidor no selectivo de COX-1, como es la indometacina. 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 (39). Así también, Luccarini y cols (37), usando un fármaco opioide como es la morfina (40) y un fármaco inhibidor de COX-3, paracetamol (41) obtuvieron una disminución del tiempo de frotamiento labial, en ambas fases del ensayo de la formalina orofacial.

Se conoce que varias terminaciones nerviosas aferentes del tipo A- δ o C, responden a estímulos nociceptivos orofaciales y a un número de mediadores químicos sensibilizados por su activación, entre los cuales pueden citarse los prostanoides, por ejemplo las prostaglandinas del tipo E₂. Algunas de estas neuronas responden exclusivamente a impulsos sensoriales cutáneos que representan las señales del dolor orofacial agudo. En cambio otras reciben aferencias que representan el dolor inflamatorio del tipo crónico (20). El hallazgo de la actividad antinociceptiva del meloxicam podría explicarse, por interferencia a nivel de los receptores periféricos que representan las señales comprometidas en el dolor orofacial agudo como por aquellas implicadas en el dolor orofacial crónico. Debe tenerse presente que meloxicam es un potente inhibidor de las COX-2, que median la síntesis de prostanoides.

Se ha demostrado que la administración de serotonina (5-HT) induce nocicepción por la activación de nociceptores primarios aferentes y por acción en las vías aferentes de la información nociceptiva a nivel supraespinal. Estos efectos son bloqueados por la inhibición de las ciclooxigenasas, por el vaciamiento o agotamiento de noradrenalina desde los terminales simpáticos y por efectos de bloqueadores adrenérgicos (43). De los diversos subtipos de receptores de 5-HT, los relacionados con

5-HT₃, parecen ser los más importantes en los fenómenos relacionados con la nocicepción. Entre los bloqueadores de los receptores de 5-HT, los receptores del subtipo 5-HT₃, 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 (43).

La analgesia inducida por la administración de tropisetron, bloqueador selectivo del subtipo de receptores serotoninérgico 5HT-3, es concordante con los diferentes mecanismos de acción propuestos para 5-HT, en la nocicepción. Por otra parte, el efecto sinérgico de la asociación de meloxicam con tropisetron, en dosis bajas (0.01 mg/kg), puede explicarse además por la acción bloqueadora de la COX-2 que produce el meloxicam, la cual se sumaría a las diferentes acciones que se han sugerido para el tropisetron. Sin embargo, la carencia de efecto sinérgico de la asociación de 0.1 mg/kg tropisetron con meloxicam es de difícil explicación. Existen antecedentes que tropisetron, en humanos, alcanza un efecto máximo a los 6 días y después disminuye su actividad, lo que representaría un efecto de taquifilaxia o tolerancia aguda (23, 24). Este efecto podría ser la razón por la cual una mayor concentración de tropisetron no es capaz de sinergizar la actividad de meloxicam. Además,

por el mismo efecto, el antagonismo de tropisetron en la liberación del algógeno, Sustancia P y otros como IL-1b; TNF- α : PGE₂ , podrían verse disminuido con la consecuente alteración del efecto sinérgico con el meloxicam(23, 25).

Como consecuencia de los hallazgos del presente trabajo, la asociación de tropisetron, en dosis bajas, con meloxicam, podrían establecer una nueva vía en el tratamiento farmacológico del dolor. Esta alternativa, permitiría reducir los efectos adversos del tropisetron, por usarse en dosis bajas, especialmente aquellos, tan molestos, como los relacionados con el incremento del tránsito intestinal.

CONCLUSIONES

A partir de los hallazgos del presente trabajo se puede concluir que, al asociar un antagonista del subtipo de receptores 5-HT₃, como es el tropisetron, con un AINE inhibidor selectivo de la COX-2, se obtiene un efecto sinérgico. Esta acción de incremento en la efectividad del meloxicam podría establecer una nueva vía en el tratamiento farmacológico del dolor. Al mismo tiempo, permitiría reducir los efectos adversos del tropisetron, como ser el aumento del tránsito intestinal, por usarse en dosis bajas.

SUGERENCIAS

A consecuencia del presente trabajo, se sugiere:

- 1.- Evaluar la actividad del meloxicam en otros ensayos analgésicos agudos y crónicos, por ejemplo: hot-plate; filamentos de Von Frey; capsaicina; ligadura o sección del ciático, etc.
- 2.- Estudiar en la analgesia de meloxicam, el efecto modulador de otras concentraciones de tropisetron y análogos.
- 3.- Evaluar la actividad moduladora en la antinocicepción de meloxicam, usando otros agentes farmacológicos como ser: NO, antagonistas diversos (atropina, propranolol, prazosin, etc).

RESUMEN

En este trabajo se evaluó la modulación de la vía serotoninérgica en la actividad antinociceptiva del meloxicam, AINE inhibidor preferencial de COX-2, utilizando el método algosiométrico de la formalina orofacial, donde se distingue una fase de dolor agudo (Fase I) y, una inflamatoria de dolor crónico (Fase II). La actividad serotoninérgica fue evaluada al analizar el efecto del tropisetron, un antagonista selectivo de los receptores del subtipo 5-HT₃. Para evaluar la actividad antinociceptiva del AINE, se construyeron curvas dosis-respuesta, y de ella se dedujo su ED₅₀. La modulación serotoninérgica se estudió por el pretratamiento, vía i.p., con tropisetron, construyendo los respectivos histogramas. El bloqueo de los receptores 5HT₃ produce un efecto analgésico sinérgico al asociar tropisetron, en dosis bajas, con meloxicam, en todas sus dosis. Esto ocurriría por la acción bloqueadora de la COX-2 que produce el meloxicam, que se sumaría a las acciones sugeridas para el tropisetron, al bloquear los receptores del subtipo 5HT₃ produce una modulación del sistema inhibitorio descendente serotoninérgico, sobre la acción analgésica del meloxicam. En cambio, no se obtuvo sinergismo al asociar tropisetron en una dosis más alta, junto a meloxicam, lo que podría explicarse por un efecto de tolerancia aguda o taquifilaxia para el tropisetron. .

Bibliografía

- (1) Bonica JJ. Anatomic and physiology of nociception and pain. The management of pain. 2ª Edición Pennsylvania, Lea & Febiger. 28-94. 1990.
- (2) Burian M, Geisslinger G. "COX dependent mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites". J Pharmacol & Therap. 107: 139-154. 2005.
- (3) Aguggia M. "Neurophysiology of pain". Neurol Sci. 24: 557-560. 2003.
- (4) Flórez J., Armijo A., Mediavilla A., "Farmacología Humana". 4ª Edición, Ed. Masson, 2003.
- (5) Furst S., "Transmitters involved in antinociception in the spinal cord". Brain Res Bull 48 (2) : 129-141, 1999.
- (6) Le Bars D, Gozariu M, Cadden S.W. " Animal Models of Nociception". Pharmacol Rev 53:597–652, 2001.
- (7) Van Wijk A.J., Hoogstraten J. "Experience with dental pain and fear of dental pain". J Dent Res 84 (10): 947-950, 2005.
- (8) Dahl, V., Reuer C. "Non-opioid post operative analgesia". Acta Anaesthesiol Scand. 44: 1191-1203, 2000.
- (9) Klasser GD, Epstein J. "Nonsteroidal Anti-inflammatory drugs: Confusion, controversy and dental implications". J. Can Dent Assoc 71(8):575-80. 2005.
- (10) Mehlisch, D. "The efficacy of combination analgesic therapy in relieving dental pain". JADA, 133:861-871, 2002.
- (11) Pascucci RA. "Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 (COX 2) inhibitors: Indications and complications". J Am Osteopath Assoc. 102(9):487-9, 2002.

- (12) Poveda-Roda R, Bagan JV, Jiménez-Soriano Y, Gallud-Romero L. "Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs in dental practice. A review". *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 12:E10-18, 2007.
- (13) Ito S., Okuda-Ashitaka E., Minami T. "Central and peripheral roles of prostaglandins in pain and their interactions with novel neuropeptides nociceptin and nocistatin". *Neurosci Res.* 41(4): 299-332, 2001.
- (14) Martin, T.J., Eisenach, J.C., "Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states". *J. Pharmacol. Exper. Ther.* 299: 811-817. 2001.
- (15) Tallarida, R.J., Murray, R.B. "Manual of pharmacologic calculation with computers programs Sringer-Velag". 2nd ed. New York. P.10-15. 1986.
- (16) Miranda, H.F., Puig, M.M., Prieto, J.C., Pinardi, G. "Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain". *Pain.* 121 (1-2):22-28.2006.
- (17) Joyce A. DeLeo, "Basic Science of Pain". *J. Bone Joint Surg. Am.* 88:58-62. 2006.
- (18) Sommer, C. "Serotonin in pain and analgesia: actions in the periphery". *Mol Neurobiol.* 30:117-125. 2004.
- (19) Manns, A. y Díaz, G. "Sistema Estomatognático". Ed. Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Cap 3: 95-109. 1995.
- (20) Sessle, B.J. "Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates". *Minerva Anesthesiol.* 71:117-36. 2005 *Anesthesiol* 2005;71:117-36
- (21) Takemura M., Sugijo, S., Moritami, M., Kobayashi, M., Yomehara, N. "Mechanisms of orofacial pain control in the central nervous system". *Arch Histol Cytol* 69: 79-100. 2006.

- (22) Green, R. "Neuropharmacology of 5-HT Hydroxytryptamine". *Br J Pharmacol.* 147: 145-152. 2006.
- (23) Wolf, H. "Preclinical and clinical pharmacology of the 5-HT₃ receptor antagonists". *Scand J Rheumatol . 29 Suppl* 113:37-45. 2000.
- (24) Oliveira, M., Pelegrini-Da-Silva, A., Parada, C., Tambel, C. "5-HT acts on nociceptive primary afferents through an indirect mechanism to induce hyperalgesia in the subcutaneous tissue". *Neuroscience . 145:* 708–714.2007.
- (25) Stratz, T. and Mueller, W. "The use of 5-HT₃ receptor antagonists in various rheumatic diseases - a clue to the mechanism of action of these agents in Fibromyalgia?". *Scand J Rheumatol.* 29 Suppl 113:66-71.2000.
- (26) Warner T., Mitchell J. "Ciclooxigenases: new forms, new inhibitors and lessons from the clinic". *The FASEB journal.* 18: 790-804. 2004.
- (27) Schug, S. "Update on the role of non-opioids for postoperative pain treatment". *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology.* 21.No. 1: 15-30. 2007.
- (28) Sawynok J. "Topical and Peripherally Acting Analgesics". *Pharmacol Rev.* 55:1–20, 2003.
- (29) Simmons, D., L., Botting, R.M. "Ciclooxigenase isoenzymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition". *Pharmacol. Rev.* 56: 387-437.2004.
- (30) Süleymann, H., Demircan, B., Karagöz, Y. "Anti-inflammatory and side effects of cycloxygenase inhibitors". *Pharmacological Reports.* 59:257-268.2007.
- (31) 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.

(32) Stephen L., Steven M., James L. "Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs:A review". *J Am Anim Hosp Assoc* .41:298-309.2005.

(33) Loftin, C., Trivedi, D., Langerbach, R. "Cyclooxygenase-1-selective inhibition prolongs gestation in mice without adverse effects on the ductus arteriosus". *J. Clin. Invest.* 110: 549-557. 2002.

(34) Esteves, M., Terreri, M., Len, C. "Nonsteroidal anti-inflammatory drugs:cyclooxygenase 2 inhibitors". *J Pediatr (Rio J)*. 82: 206-212. 2006.

(35) 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.

(36) Luccarini, P., Childeric, A., Gaydier, A., Voisin, D., Dallel, R. "The Orofacial Formalin Test in the Mouse: A Behavioral Model for Studying Physiology and Modulation of Trigeminal Nociception". *The Journal of Pain*.Vol 7 (12):908-914. 2006.

(37) Luccarini, P., Perrier, L., Dègoulange, C., Gaydier, M., Dallel, R. "Synergistic Antinociceptive Effect of Amitriptyline and Morphine in the Rat Orofacial Formalin Test". *Anesthesiology* .100:690–6. 2004.

(38) Chichorro, J., Lorenzetti, B., Zampronio, A. "Involvement of bradykinin, cytokines, sympathetic amines and prostaglandins in formalin-induced orofacial nociception in rats". *British Journal of Pharmacology* .141: 1175–1184. 2004.

(39) Choi, H., Lee, H.J., Junga, C.Y., Jua, J.S., Parkb S., Ahn, D. "Central cyclooxygenase-2 participates in interleukin-1b-induced hyperalgesia in the

orofacial formalin test of freely moving rats". *Neuroscience Letters* 352:187–190. 2003.

(40)Waldhoer, M., Bartlett, S., Whistler, J. "Opioid receptors". *Annu Rev Biochem.* 73:953–90. 2004.

(41)Chandrasekharan, N.V., Dai, H., Lamar, K., Roos, T., Evanson, N., Tomsik, J., Elton, T., Simmons, D. "COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression". *Proceeding National Academy of Science, USA.* 99:13926–13931.2002.

(42)Okamoto, K., Imbe, H., Tashiro, A., Kimura, A., Donishi, T., Tamai, Y., Senba, E. " The role of Peripheral 5HT2 and 5HT1 receptors on the orofacial Formalin Test in rats with persistent Temporomandibular Joint Inflammation". *Neuroscience.* 130: 465–474. 2005.

(43)Riering, Krewerts, C."Analgesic effects of 5-HT₃ receptor antagonists". *Scand J Rheumatol.* 33: 19-23. 2004.

(44)Carrera, M., Piernas, J.M. "Tratado Elemental de Estadística". Ed. Aragonés, 2000.