

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
SECRETARÍA DE ESTUDIOS.**

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA**

**“ MODULACIÓN SEROTONERGICA DEL DEXIBUPROFENO EN DOLOR
AGUDO EXPERIMENTAL ”**

Rodrigo Hernández Quezada

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

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

**TUTORES ASOCIADOS
Prof.Dr. Gianni Pinardi.**

**Santiago – Chile
2008**

INDICE

DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTOS	3
INTRODUCCION	4
MARCO TEÓRICO	6
EL DOLOR	6
FISIOPATOLOGÌA DEL DOLOR	6
VIAS DESCENDENTES MODULADORAS	9
SEROTONINA	11
AGONISTAS Y ANTAGONISTAS	11
ANALGESICOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES	13
DEXIBUPROFENO	14
HIPOTESIS	15
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
MATERIAL Y MÉTODO	16
RESULTADOS	19
DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES	23
SUGERENCIAS	24
RESUMEN	25
BIBLIOGRAFÍA.	27

Dedicatoria

Este trabajo que significa la culminación de una gran etapa en mi vida, va dedicado con toda humildad a mis padres, pues sin su apoyo, paciencia, esfuerzo y compromiso esto jamás hubiese sido posible. Gracias, pero esto no termina aquí.

Agradecimientos

-Ante todo agradezco a Dios, por haberme dado la oportunidad y los medios para alcanzar esta tarea.

- A mis padres Malvina y Dario, a mis hermanos Felipe, Gonzalo y Esteban por su apoyo incondicional

- A mis amigos Arnoldo Hernández, Pablo Cáceres, Yahir Lopez, Oscar Barrales, Felipe Aguirre, Felipe Astorga, Diego Arredondo, Carlos Lopez, Carlos Carrasco y Gustavo Herrera, por hacer grato el agotador paso por la facultad.

- A las personas de la cátedra de farmacología que hicieron posible la realización de este estudio, en especial a los doctores Hugo Miranda y Gianni Pinardi y los señores José Lopez y Alejandro Correa, sin su guía y apoyo no hubiese sido posible concluir esta investigación.

- A los doctores y funcionarios de la escuela dental que guiaron mis pasos

- A los doctores Alberto Rodríguez, Mario Patricio Quezada y al Dr. Lemus por su constante respaldo en la cátedra de anatomía normal, no puedo dejar de mencionar al Dr. Walter Ávila quien inspiró mis primeros pasos en el largo camino a la docencia, camino que recién comienzo.

1.-INTRODUCCIÓN.

Siempre será complejo escribir algo acerca del dolor y su comportamiento en el ser humano, la cantidad de mecanismos involucrados en su elaboración y modulación proponen una atmósfera un tanto hostil para quienes se inician en comprender este fenómeno.

En el desempeño de la profesión odontológica podemos encontrar una variada mezcla de los factores que van a producir y modular el dolor, dolor que nos distancia de nuestros pacientes y que dificulta más el desarrollo ideal de nuestros tratamientos que en si requieren maniobras precisas y complejas. Aunque sin duda alguna el dolor tiene un rol fisiológico fundamental en la preservación de la integridad del individuo, es deber del profesional, conocer y manejar los métodos de control del dolor que se encuentran disponibles, y utilizarlos sobre todo en aquellas circunstancias en las que el dolor, pasa de tener una función benéfica, a convertirse en una patología que debe ser suprimida ⁽¹⁾.

El tratamiento farmacológico del dolor incluye en la actualidad : fármacos que interfieren en la conducción del estímulo nervioso, como los anestésicos locales, analgésicos de acción central preferente, como la morfina y sus derivados, y analgésicos de acción "periférica" dentro de los cuales encontramos a los analgésicos antiinflamatorios esteroidales (AIEs) y los analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) ⁽²⁾. Los fármacos de elección para el tratamiento del dolor de origen odontológico u orofacial son los AINEs ⁽³⁾ y entre ellos el ibuprofeno es uno de los más utilizados ⁽⁴⁾.

El dolor es un fenómeno condicionado por el estado psicológico de nuestros pacientes, donde el dolor físico pasa a estar modulado por el estado de dolor afectivo en una compleja red de asociación de ideas y sentimientos que se sucede

a cada momento dentro de cada persona. Un espectro creciente de pacientes actualmente padece depresión, en muchos casos está tratada, en otros no, un dato interesante a tomar en cuenta es que la mayoría de los tratamientos psiquiátricos enfocados en tratar esta enfermedad, está dirigido a restaurar el equilibrio químico de 5-HT (serotonina). Conocer el comportamiento de este neurotransmisor en relación a procesos de dolor tanto agudos como crónicos es fundamental para otorgar un adecuado control del proceso doloroso. Para obtener este conocimiento es necesario, evaluar como se va a ver afectado nuestro tratamiento farmacológico del dolor en relación al equilibrio químico de 5-HT (serotonina).

Por otro lado es interesante mencionar que en la síntesis química de los analgésicos, principalmente de los derivados del ácido propiónico, se producen AINEs quirales, es decir, coexisten estructuras que poseen dos formas isoméricas diferentes, que son imágenes especulares entre sí, que no se superponen y que tienen distintas propiedades farmacológicas. En general, los AINEs propiónicos, se expenden bajo la forma de compuestos quirales, lo que son mezclas racémicas, que contienen 50% de cada una de las formas espaciales, pero sólo una de ellas, el llamado enantiómero S(+), tendría la capacidad de producir una acción terapéutica. De acuerdo a esto, la industria farmacéutica está introduciendo al arsenal farmacológico preparados que contienen sólo el enantiómero S(+), sin embargo aún no existen suficientes indicaciones para que la mezcla racémica sea reemplazada por el enantiómero activo S(+). Por lo tanto es de especial importancia la realización de estudios que diluciden sus características y mecanismos de acción, para así lograr el entendimiento de las posibles consecuencias farmacológicas, toxicológicas y poder predecir potenciales interacciones medicamentosas e influencia en estados patológicos ^(4, 7).

2- MARCO TEÓRICO.

a)El Dolor :

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 ^(1,6,8). Según la asociación internacional para el estudio del dolor (IMP 1979), el dolor puede ser definido como: una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a daño tisular presente o potencial, descrita en términos de ese daño. Constituye una "experiencia sensorial y emocional" puesto que, además del componente sensorial o neurofisiológico, en el hombre, también participa un componente emocional, que adecua la respuesta de cada individuo al estímulo doloroso. El mecanismo mediante el cuál los estímulos nocivos son transmitidos al sistema nervioso central se denomina nocicepción ^(1, 8).

b.)Fisiopatología Del Dolor:

En la transmisión de la información aferente relacionada con el dolor, participan los sistemas nerviosos periférico (SNP) y central (SNC). El SNP está representado simplificada por, una neurona primaria o nociceptor, incluida en los nervios periféricos y el SNC por una neurona secundaria ubicada en la médula espinal, una neurona terciaria o tálamo cortical y los centros nerviosos superiores ubicados en el tronco encefálico y cerebro, que se relacionan con la integración, modulación y percepción del estímulo doloroso ^(1,8).

La neurona primaria posee forma de T, con su cuerpo en el ganglio raquídeo correspondiente y dos prolongaciones axónicas, una periférica en cuyo extremo se produce una arborización, que actúa como receptor de dolor (nociceptor) y otra central que penetra en el asta posterior de la médula espinal, para establecer sinapsis con la neurona secundaria. Su fibra puede ser del tipo A δ (polimodal, mielínica, de conducción rápida), y/o del tipo C (polimodal, amielínica, de conducción más lenta).

La neurona secundaria se organiza con su cuerpo ubicado en la sustancia gris del asta posterior de la médula espinal, y su prolongación axónica se proyecta en sentido contralateral pasando a formar, junto con otras neuronas, el fascículo anterolateral o espinotalámico, que asciende hacia estructuras del tallo cerebral y tálamo, desde estas estructuras y en una compleja red de interacciones tenemos nuestra tercera neurona tálamo cortical que llevará el estímulo a ser finalmente procesado a nivel cortical, específicamente a la corteza somatosensorial primaria, corteza somatosensorial secundaria y su vecindad en el opérculo parietal, ínsula, corteza cingular anterior y corteza prefrontal. Estas áreas procesan aspectos diferentes del dolor en paralelo. ⁽¹⁾.

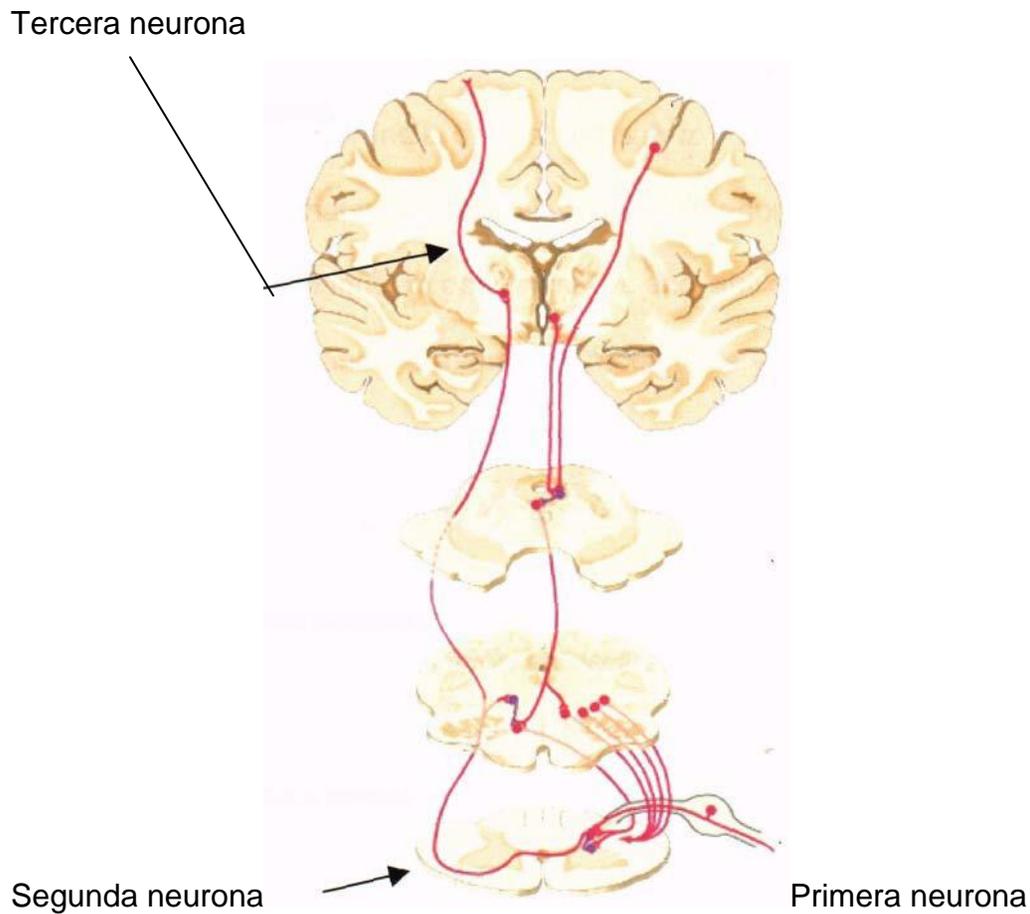


Fig.1. Esquema Básico de la vía del dolor

Las segundas neuronas propias del asta dorsal dan origen a tres haces ascendentes contralaterales: el neoespinotalámico y el paleoespinotalámico, que conforman la vía espinotalámica, el haz espinoreticular y el haz espinomesencefálico.

Se reconocen 3 poblaciones de fibras espinotalámicas ascendentes.

- El tracto neoespinotalámico: Con colaterales a la sustancia gris periacueductal, las fibras de este tracto terminan en los núcleos específicos del tálamo (ventral posterior y ventroposterolateral), desde donde parte una neurona terciaria o tálamo cortical, proyectándose a la corteza somestésica en las áreas SI y SII que finalmente informan acerca de la ubicación topográfica del dolor .

- El tracto paleoespinotalámico: Sus axones envían ramas a la formación reticular (haz espinoreticulotalámico, que dá el componente emocional y afectivo del dolor) y terminan bilateral mente en los núcleos intralaminares inespecíficos del tálamo, lo que contribuye a la evaluación cualitativa del dolor. Luego de esto una tercera neurona tálamo cortical envía esta información a la corteza inespecífica, especialmente a la corteza frontal ⁽¹⁾.

. El tracto espinoretículo talámico: Corresponde a la comunicación más directa entre la médula espinal y la formación reticular. La formación reticular desempeña un papel importante en los mecanismos nociceptivos, siendo sus principales funciones: desencadenar los mecanismos de alerta, contribuir a la actividad neuronal de los aspectos motivacionales y afectivos del dolor y participar en reflejos somáticos y autonómicos motores. Hace sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, puente y zona mesencefálica, tiene que ver con las respuestas autonómicas reflejas y el componente afectivo-motivacional de la respuesta dolorosa.

Adicional a estas poblaciones de fibras espino talámicas tenemos al haz espino mesencefálico:

El haz espino mesencefálico asciende contralateralmente en un 60 a un 75% de sus fibras, junto a los tractos anteriores, para conectarse con el mesencefalo mediante la sustancia gris periacueductal, núcleos cuneiformes y parabraquiales, por esto los impulsos que ascienden por esta vía podrían desencadenar impulsos inhibitorios descendentes que resulten en analgesia. Dado que del mesencéfalo se proyectan fibras al tálamo medial, ventrobasal y al sistema límbico, es posible que algunas neuronas de este tracto estén relacionadas con el componente discriminativo del dolor y otras que provoquen reflejos autonómicos y respuestas afectivo-motivacionales.

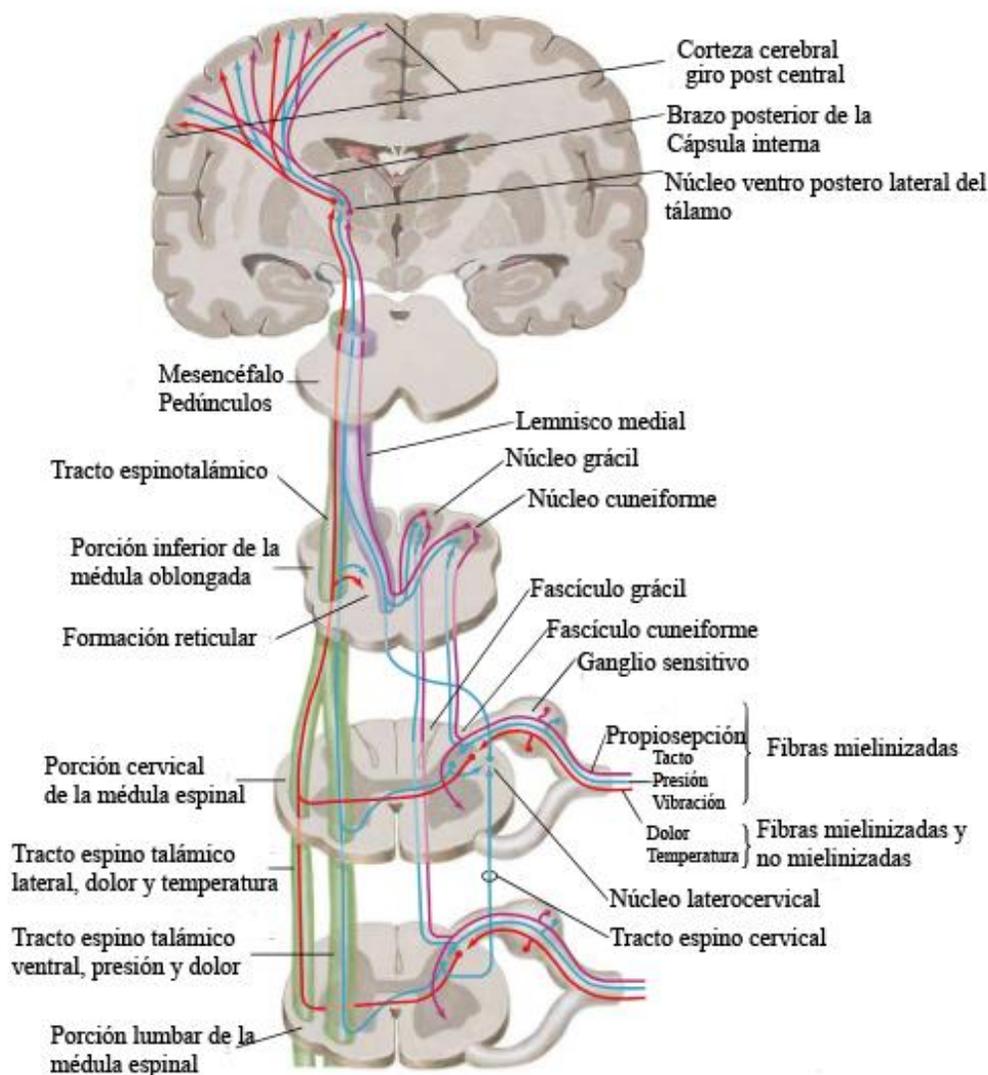


Fig 2. Tractos espino talámicos en verde, Lemnisco medial en púrpura.

Sin embargo el concepto de un relevo simple de tres neuronas no es exacto, debido a la existencia de interneuronas que actúan sobre las neuronas secundarias y terciarias de la vía, además de la presencia de fibras descendentes originadas en la corteza y tallo cerebral, que modulan la transmisión de los tractos sensitivos ascendentes, especialmente, a nivel de la llamada sustancia gelatinosa del asta posterior de la médula espinal ⁽⁹⁾.

c.) Vías descendentes moduladoras.

Las neuronas que conforman las vías descendentes se comunican y ejercen su rol modulador sobre otras neuronas a través de la secreción de múltiples neurotransmisores y neuromoduladores. Los receptores para cada una de estas sustancias están presentes en el asta dorsal ya sea en terminales aferentes primarios, en interneuronas y/o neuronas de proyección supramedular ⁽⁹⁾.

Las vías descendentes monoaminérgicas inhibitorias (noradrenalina, serotonina, dopamina) pueden reducir directamente la liberación de neurotransmisores propioceptivos mediante inhibición presináptica, pero también indirectamente mediante la activación de interneuronas inhibitorias o inhibición de interneuronas excitadoras del asta dorsal. Los receptores noradrenérgicos involucrados son los del subtipo α_1 , positivamente acoplados por proteína G a fosfolipasa, y los receptores dopaminérgicos del subtipo D2A y D2C acoplados negativamente a adenilato ciclasa. Los receptores serotoninérgicos implicados son los de los subtipos 5-HT1A, 5-HT1D y 5-HT1F, acoplados negativamente a adenilato ciclasa, los 5-HT2A y 5-HT2C positivamente acoplados a fosfolipasa, los receptores ionotrópicos 5HT3 y 5HT7 positivamente acoplados a adenilato ciclasa. Finalmente, los receptores dopaminérgicos D2 y D4 están negativamente acoplados a adenilato ciclasa y probablemente juegan un rol importante en la

inhibición descendente, mientras que los receptores D1 y D5, acoplados positivamente a adenilato ciclasa, ejercen un rol estimulador ^(1, 9).

Los opioides endógenos (β -endorfinas, encefalinas y dinorfinas) ejercen sus efectos inhibitorios principalmente a través de los receptores MOR (μ), DOR (δ), KOR (κ), respectivamente. Estos receptores pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteína G, con siete dominios transmembranosos que al ser activados producen una apertura del canal de K^+ , y este aumento de la conductancia de K^+ provoca hiperpolarización de la membrana e inhibe la apertura del canal de Ca^{+2} , lo que disminuye la entrada del ión Ca^{+2} e inhibe a la adenilato ciclasa, reduce el AMP e intracelular y disminuye la liberación de neurotransmisores pronociceptivos por parte de la neurona que contiene estos receptores ^(10,11).

Como se señalara anteriormente, las vías descendentes de origen supraespinal pueden también ejercer acciones facilitadoras sobre la información nociceptiva aferente a nivel del asta dorsal. El estudio de los diferentes neurotransmisores o neuromoduladores que median la facilitación descendente está recién comenzando. Hay evidencias de que el óxido nítrico (NO) juega un rol en este sentido ^(9, 12), sin embargo existen otros estudios que le otorgan también un rol antinociceptivo o sea mediando la inhibición ⁽¹³⁾. El NO es un gas, extremadamente lábil y ligeramente soluble en diversos solventes, que difunde con relativa facilidad a través de las membranas biológicas. Se sintetiza a partir de el aminoácido L- Arginina en un reacción catalizada por las enzimas nítrosintasas (nNOS, eNOS e iNOS) que se activan por el complejo calcio calmodulina después que se produce un incremento en los niveles intracelulares de Ca^{+2} provocado por la acción de aminoácidos exitatorios como el glutamato. El NO no se almacena, su liberación se lleva a cabo por difusión simple hacia la neurona que ocasionó su liberación (presináptica) o hacia otras células vecinas para interactuar con la enzima guanilato ciclasa produciendo GMPc. Finalmente la vía NO GMPc es la que ejerce la modulación de la nocicepción. (no siendo la única como se puede deducir) ^(12,13,14).

Serotonina (5HT).

La serotonina es un neurotransmisor monoaminérgico que es sintetizado a partir del triptófano, en las neuronas serotoninérgicas del sistema nervioso central y en las células enterocromafines en el tracto gastrointestinal de animales incluyendo al hombre, la serotonina también es encontrada en muchos hongos plantas incluyendo frutas y vegetales .Juega un importante rol como neurotransmisor, en la modulación de conductas humanas y además es un mediador periférico. La serotonina es encontrada extensamente en el tracto gastrointestinal humano y su mayor lugar de reserva son las plaquetas en el torrente sanguíneo. ⁽¹⁷⁾ Sin embargo lo importante es la información acerca del rol de la serotonina (5-HT) en varios modelos animales de la sicopatología, tales como la ansiedad, el stress y el comportamiento depresivo. ⁽¹⁷⁾

Los receptores 5HT están localizados en la membrana de las células nerviosas y otros tipos de células. Con excepción del receptor 5HT3, un receptor canal iónico, todos los otros (alrededor de 17) tipos de receptores 5HT están acoplados a una proteína G que activa un segundo mensajero intracelular. Sin embargo, lo importante de este conocimiento vendrá con la disponibilidad de drogas selectivas para cada receptor. Lo que es desmoralizador quizás es nuestra inhabilidad para usar toda la nueva información en el tratamiento de enfermedades siquiátricas , particularmente la depresión de manera más efectiva. ⁽¹⁷⁾

Estudios farmacológicos y fisiológicos han contribuido a la definición de muchos subtipos de receptores para serotonina, lo que hace importante el hecho de conocer la farmacología clínica en cuanto a su interacción con un neurotransmisor tan importante como la serotonina (5-HT), como se ve afectado el equilibrio de esta al aplicar nuestras terapias farmacológicas.

Agonistas y antagonistas de 5-HT

El efecto que los neurotransmisores y/o neuromoduladores desencadenan al acoplarse a sus receptores y por lo tanto sobre las neuronas que los contienen, puede ser recreado mediante el uso de sus agonistas, o anulado mediante la utilización de sus antagonistas. El uso de antagonistas para obtener el efecto nulo de los ligandos sobre los receptores correspondientes, es una herramienta muy eficaz para poder dilucidar el mecanismo de acción en ensayos farmacológicos. Para este estudio se utilizarán fármacos agonistas y antagonistas de mayor y menor selectividad por los receptores para serotonina :

Risperidona

Fármaco utilizado como antipsicótico. Respecto de su mecanismo de acción, se sabe que actúa a través del bloqueo de los receptores noradrenérgicos (α_1, α_2), serotoninérgicos (5HT₂) y dopaminérgico (D₂), por lo tanto puede ser utilizado como antagonista no selectivo de estos neurotransmisores

Tropisetron

Fármaco utilizado como potente antiemético, es antagonista selectivo de los receptores 5HT₃, entre sus indicaciones se tiene su efecto antiemético en quimio y radioterapia, otras acciones incluyen reducción de la secreción intestinal de serotonina, limitada actividad antiarrítmica y reducción del dolor inducido experimentalmente.

Clomipramina

Es un fármaco tricíclico con propiedades antidepresivas y antiobsesivas. Como otros tricíclicos la clomipramina inhibe la recaptación de noradrenalina y serotonina en los terminales nerviosos centrales, posiblemente bloqueando las bombas en la membranas de las neuronas, con lo cual aumenta la concentración del neurotransmisor en los sitios receptores. Se presume que la clomipramina influye en la depresión y el comportamiento compulsivo a través de sus efectos

sobre la neurotransmisión de serotonina, el mecanismo exacto de cómo lo hace es actualmente desconocido, pero se piensa que la capacidad de la clomipramina para inhibir la recaptación de serotonina es importante. La clomipramina parece tener un leve efecto sedativo que puede ser útil para aliviar el componente de ansiedad que acompaña usualmente a la depresión. ⁽¹⁷⁾

Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroidales (AINEs).

Comprenden una numerosa familia de medicamentos de estructura química diferente pero que comparten actividades terapéuticas y efectos adversos a distintos niveles (gastrointestinal, renal, cardiovascular, encefálico, hematológico, respiratorio, dermatológico, SNC). En general, corresponden a ácidos orgánicos débiles que muestran uno o más de los siguientes efectos: analgésico, antiinflamatorio, antipirético, antiagregante plaquetario; antineoplásico colónico, antialzeimer, etc. y su mecanismo de acción se produce mediante la inhibición de la síntesis de prostaglandinas actuando sobre las enzimas ciclooxigenasas (COXs) ⁽²⁰⁾.

Mecanismo de acción de los AINEs

Los prostanoideos (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos) son formados por muchas células y actúan como mediadores lipídicos autocrinos y paracrinos de procesos fisiológicos y patológicos. Se sintetizan a partir del ácido araquidónico removido de las membranas celulares por acción de fosfolipasas (PLA₂) cuando las células son activadas por trauma mecánico, citoquinas y factores de crecimiento. Una vez libre el ácido araquidónico, sometido a la acción de la COX, pasa a formar prostaglandina G₂ (PGG₂) y luego PGH₂, la que a vez se transforma en todo el resto de subtipos de PGs además de tromboxano A₂ (TXA₂) por acción de sintetasas específicas. Los AINEs son capaces de detener esta cascada de eventos inhibiendo a las COXs ^(2,5,19). La identificación de dos isoformas de COXs en los 90s proponía la simple y atractiva hipótesis de que existían dos tipos de enzimas

ciclooxigenasas, denominadas COX-1 forma constitutiva, expresada fisiológicamente en estomago y riñón; y COX-2, forma inducible, expresada principalmente en cuadros de dolor e inflamación, pero la evidencia científica demostró que ambos tipos de enzimas juegan un rol tanto en procesos fisiológicos como patológicos ⁽⁶⁾.

Puesto que las COX-1 y 2 se expresan "periféricamente" o sea donde la noxa produce inflamación, se ha mal denominado a los AINEs como analgésicos de acción periférica. Sin embargo, pareciera existir un rol de los AINEs en el control del dolor a nivel central pues estas enzimas, también se expresan en elementos neuronales y no neuronales a nivel espinal y supraespinal, además los AINEs serían responsables inhibir la sensibilización central especialmente a nivel del asta dorsal de la médula espinal ^(6, 21), lo que explicaría el rol de los AINEs en el control del dolor agudo donde no existe inflamación ⁽²²⁾.

Se ha sugerido también la existencia de otra isoenzima, variante de la COX-1, llamada COX-3. La COX-3 se expresa principalmente en el corazón, cerebro, pulmón, tracto digestivo y que puede ser inhibida selectivamente mediante el uso de analgésicos antipiréticos que no muestran actividad antiinflamatoria como es el caso del paracetamol o la dipirona. La inhibición de esta enzima podría representar el principal mecanismo por el cual los AINEs disminuyen el dolor y la fiebre, sin embargo su importancia en la especie humana no está demostrada.

Dexibuprofeno

AINE no selectivo de la COX-1, perteneciente a la familia de los derivados del ácido propiónico, corresponde a preparados de ibuprofeno que contienen sólo el enantiómero S(+). Posee principalmente propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias, se puede indicar para el tratamiento del dolor agudo leve/moderado, se absorbe en forma completa por vía oral, los alimentos reducen su velocidad de absorción pero no la cantidad absorbida, se une a la albúmina en un 99%, presenta metabolismo hepático y excreción renal.

2. Hipótesis:

La administración sistémica de dexibuprofeno induce antinocicepción que es modulada por el sistema serotoninérgico

3. Objetivo general:

Evaluar la actividad antinociceptiva de dexibuprofeno en el ensayo experimental de dolor agudo tónico visceral denominado test de las contorsiones abdominales y su interacción con de agentes serotoninérgicos.

4. Objetivos específicos:

- 4.1.- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal (i.p.) de dexibuprofeno en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por la administración i.p. de ácido acético al 0.6 % en ratones.
- 4.2.- Caracterizar la potencia analgésica de dexibuprofeno en el mismo ensayo.
- 4.3.- Estudiar la interacción del pretratamiento con tropisetron, risperidona, clomipramina en la naturaleza de la modulación de la actividad analgésica del dexibuprofeno.

Material y Método

Se emplearon ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*), machos de 25 a 30 gramos de peso, los que fueron aclimatados al ambiente del laboratorio por lo menos dos horas antes de realizar el experimento. (Fig 3)



Fig 3. Ratones cepa CF/1 (*Mus musculus*).

Este experimento fue realizado de acuerdo al protocolo aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina (Protocolo 131), cada animal recibió una dosis de las drogas a estudiar, las observaciones se efectuaron en forma randomizada, ciega y controladas con suero salino. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después del experimento mediante dislocación cervical. El número de animales fue el mínimo necesario para obtener datos estadísticos reproducibles.

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó por el método de contorsiones abdominales o writhing test que utiliza un estímulo químico irritativo. En este método se utiliza como estímulo nociceptivo, la inyección intraperitoneal

(i.p) de 10ml/kg de una solución de ácido acético al 0.6%. El dolor producido se mide contando el número de contorsiones que presentan los animales después de 5 minutos de la inyección durante 5 minutos.

Se entiende por contorsión, la contracción de la musculatura abdominal junto con un estiramiento de los miembros inferiores. El ensayo algésimétrico se realizó al momento del efecto máximo de cada droga, el cual fue determinado previamente.

Las drogas se administraron por vía intraperitoneal disueltas en solución salina en un volumen constante de 10ml/kg, 30 minutos antes del test algésimétrico (Fig 4 y 5)



Fig 4 y 5.- Administración i.p de las drogas

Las drogas utilizadas, administradas en un volumen constante de 10ml/kg fueron: dexibuprofeno (0.1-10mg/kg), risperidona (0.001- 0.03mg/kg), tropisetron (0.1- 3.0 mg/kg) y clomipramina (0.01-1 mg/kg.). Risperidona, tropisetron y

clomipranina fueron administrados i.p 30 minutos antes de la administración de dexibuprofeno. Para cada droga se calculó la dosis que produce un 50% del efecto máximo (DE_{50}) mediante análisis de regresión lineal de la curva dosis-respuesta, con un mínimo de 6 animales por cada una de al menos 4 dosis de cada fármaco. La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó antes y después del pretratamiento con risperidona, tropisetron y clomipramina.

Los resultados se expresaron como porcentaje de antinocicepción (%AN) de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\%AN=100 - [WE/WC] \times 100$$

Dónde:

WE= Número de contorsiones de los animales inyectados con droga.

WC= Número de contorsiones en los animales inyectados con suero salino.

Los parámetros estadísticos necesarios, se expresaron como promedio \pm SEM de los diferentes grupos experimentales. La significación estadística fue determinada por análisis de varianza y pruebas t de Student y fue considerada al 5% ($p<0.05$).

Resultados

Grupo control del writhing test:

La administración de una solución fisiológica salina al 0.9% (10ml/Kg) por vía i.p., 30 minutos antes del estímulo nociceptivo (ácido acético al 0.6%), produjo 19.77 ± 0.28 contorsiones (n=28).

Grupo tratado con dexibuprofeno:

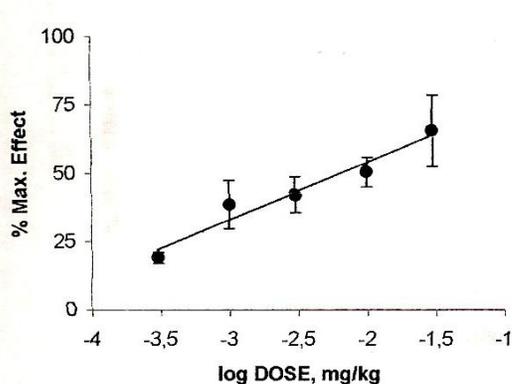
La administración de 0.1-10 mg/kg de dexibuprofeno i.p en el ensayo algiesométrico de las contorsiones abdominales, produjo una actividad antinociceptiva dosis dependiente con una DE_{50} que resultó ser $3,95 \pm 0.48$ mg/kg, que corresponden a un promedio 9.33 ± 0.42 contorsiones.

Antagonistas 5-HT

Grupo tratado con Risperidona:

La administración de 0.001-0.03 mg/kg de risperidona i.p en el ensayo algiesométrico de las contorsiones abdominales, produjo una actividad antinociceptiva dosis dependiente cuya curva se muestra en la figura 8, la DE_{50} para este fármaco resultó ser $0,007 \pm 0.001$ mg/kg.

Fig 8.

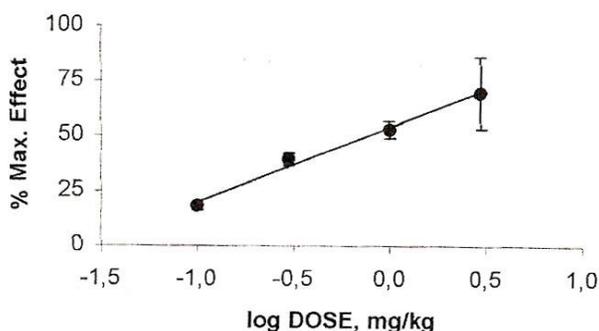


$DE_{50} = 0,007$ mg/kg

Grupo tratado con Clomipramina:

La administración de 0.1- 3.0 mg/kg de clomipramina i.p en el ensayo algiesiométrico de las contorsiones abdominales, produjo una actividad antinociceptiva dosis dependiente cuya curva se muestra en la figura 9, la DE_{50} para este fármaco resultó ser: 0.80 ± 0.07 mg/kg

Fig.9

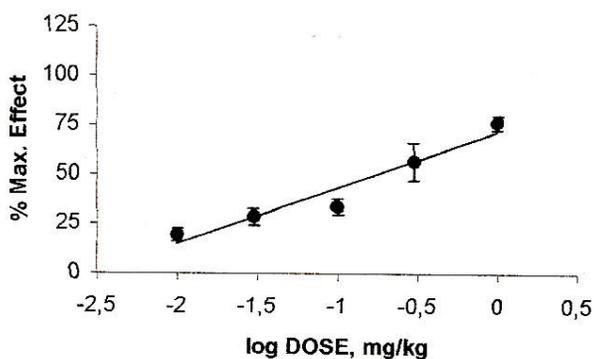


$DE_{50} = 0,80$ mg/kg

Grupo tratado con Tropisetron:

La administración de 0.01 -1 mg/kg de tropisetron i.p en el ensayo algiesiométrico de las contorsiones abdominales, produjo una actividad antinociceptiva dosis dependiente cuya curva se muestra en la figura 10, la DE_{50} para este fármaco resultó ser $0,175 \pm 0.045$ mg/kg.

Fig 10.



$DE_{50} = 0,175$ mg/kg

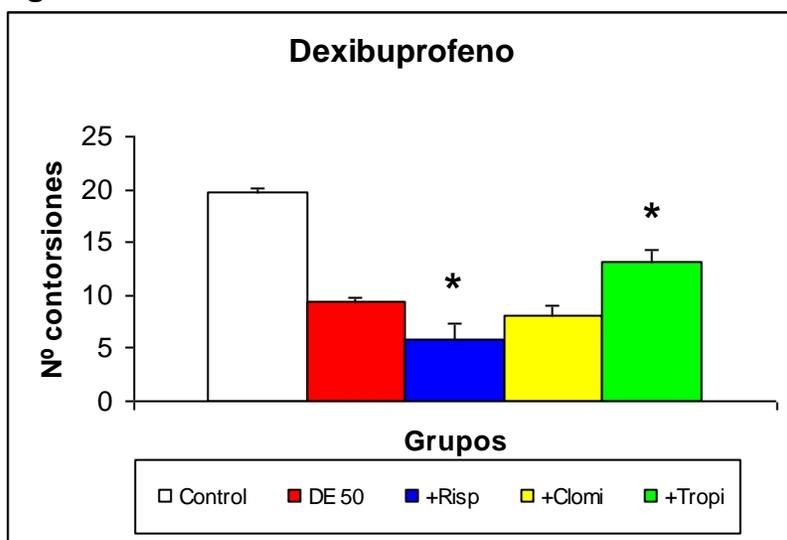
Interacción de agentes 5 HT con dexibuprofeno

Con clomipramina: El pretratamiento con 0.80 mg/kg de clomipramina no produjo cambios en la acción analgésica de la DE₅₀ de dexibuprofeno, como se observa en la Fig. 11

Con risperidona: La preadministración de 0.007 mg/kg de risperidona i.p. aumentó significativamente el efecto antinociceptivo de la DE₅₀ de dexibuprofeno. Las contorsiones inducidas por DE₅₀ del dexibuprofeno cambiaron de 9.33 ± 0.42 a 5.83 ± 1.49 contorsiones ($P < 0.05$). Ver Fig. 11

Con tropisetron: El efecto antinociceptivo de la DE₅₀ de dexibuprofeno disminuye con el pretratamiento con 0.175 mg/kg de tropisetron i.p, ya que el número de contorsiones varió de 9.33 ± 0.42 a 13.20 ± 1.07 , valores que son significativamente diferente ($P < 0.05$), Ver Fig. 11.

Fig 11.



Discusión

El presente estudio demuestra que la administración de dexibuprofeno por vía intraperitoneal produce actividad antinociceptiva dosis dependiente en el test de las contorsiones abdominales o writhing test, de igual forma esto sucedió para los fármacos risperidona, clomipranina y tropisetron, estos resultados concuerdan con los encontrados en otros estudios previos. (16,20,22,24)

El hecho que en el presente estudio el pretratamiento con risperidona produjese un incremento significativo de la actividad antinociceptiva en la actividad analgésica del dexibuprofeno, podría radicar en que risperidona es un fármaco bloqueador de receptores de 5-HT del subtipo 5HT₂ que contrasta con el antagonismo inducido por tropisetron a nivel del subtipo 5-HT₃. Es de notar que el rol del subtipo 5HT₂ en la nocicepción no ha sido claramente establecido como el del subtipo 5HT₃, lo que podría justificar la diferencia en sus efectos. Por otra parte, risperidona posee además de su acción bloqueadora sobre los receptores 5HT₂ sobre los receptores α_1 , α_2 y D₂ que al ser bloqueados ponen en juego el sistema proanalgésico, que desempeña la serotonina (17).

El antagonismo inducido por tropisetron en la actividad analgésica del dexibuprofeno en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por una solución de ácido acético, podría ser explicado por que tropisetron que bloquea selectivamente los receptores 5HT₃, los cuales se concentran en especial en el intestino y en el encéfalo. Por lo tanto, el efecto analgésico del dexibuprofeno que sería mediado por receptores serotoninérgicos del subtipo 5-HT₃, se encontrarían bloqueados, en consecuencia la estimulación de los receptores nociceptivos del peritoneo por el ácido acético se encontraría aumentada y la respuesta antinociceptiva se encontraría disminuída.

Frente al hecho de que con el pretratamiento con clomipramina no se modificó la potencia antinociceptiva del dexibuprofeno se puede argumentar que el incremento de la concentración de 5HT a nivel de la biofase no es un factor

determinante de la nocicepción inducida por este modelo algesiométrico, que induce una noxa de tipo irritativo a nivel peritoneal, en la cual es posible que 5HT juegue un rol menor. Este hallazgo está en concordancia con resultados de otros experimentos en animales, y con los resultados del presente estudio⁽¹⁷⁾

La extrapolación de los hallazgos del presente trabajo como datos útiles para la especie humana, permite argumentar que dada la complejidad de las interacciones de 5HT en el sistema nervioso central humano, no es posible concluir que el comportamiento de la antinocicepción sea igual frente a la combinación de AINEs y antagonistas de 5HT en nuestra especie, la implicancia farmacológica de tal interacción podría tener validez en el campo de la psiquiatría y la valoración afectiva que hace una persona frente al dolor, por lo que no se puede descartar un rol más activo y complejo en el hombre frente a estímulos dolorosos que el que se da en animales cuyo sistema nervioso central posee una organización más simple.

Conclusiones

-El dexibuprofeno produce un efecto antinociceptivo dosis dependiente al ser administrado por via intraperitoneal en el test de las contorsiones abdominales.

-El pretratamiento de los animales con risperidona, aumenta significativamente el poder antinociceptivo del dexibuprofeno,

-El pretratamiento de los animales con tropisetron, disminuye significativamente el poder antinociceptivo del dexibuprofeno.

-El pretratamiento de los animales con clomipramina, no modifica el poder antinociceptivo del dexibuprofeno

-La administración sistémica de dexibuprofeno induce antinocicepción que es modulada parcialmente por el sistema serotoninérgico.

Sugerencias

En el presente estudio se demuestra que la actividad antinociceptiva de dexibuprofeno es modulada parcialmente por el sistema serotoninérgico. Para complementar el estudio se sugiere:

1. Evaluar la analgesia de isómeros de ibuprofeno en otros modelos algesiométricos.
2. Estudiar el efecto de distintos antagonistas de receptores que modulan la nocicepción, en la actividad analgésica de cada isómero del dexibuprofeno, como en su forma racémica, en cada modelo.

Resumen

El presente estudio se realizó con el fin de investigar la modulación serotoninérgica de la actividad antinociceptiva de dexibuprofeno, en un modelo de dolor agudo experimental, en ratones, denominado test de las contorsiones abdominales o writhing test. Los agentes serotoninérgicos; risperidona, tropisetron y clomipramina fueron administrados intraperitonealmente 30 minutos antes de la administración DE_{50} de dexibuprofeno. Los resultados de este estudio demuestran que la actividad del dexibuprofeno es modulada parcialmente por el sistema serotoninérgico, ya que el aumento de la concentración del 5HT en el canal sináptico, producida por clomipramina, no cambia la antinocicepción inducida por dexibuprofeno, en cambio risperidona, un antagonista de $5HT_2$ la incrementa y tropisetron, un bloqueador de $5HT_3$, la disminuye.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Bonica JJ. Anatomic and physiology basis of nociception and pain. The management of pain 2ed. Pennsylvania, Lea & Febiger, 28-94. (1990).
- (2) Sawynok J. Topical and peripherally acting analgesics. Pharmacol Rev; 55: 1-20.(2003)
- (3) Jimenez Martinez E. et al. Study of the analgesics efficacy of dexketoprofen trometamol 25 mg. v/s ibuprofen 600 mg. after their administration in patients subjected to oral surgery. Med Oral; 9 : 142-148. (2004).
- (4) Hao H, Wang G, Sun J. Enantioselective pharmacokinetics of ibuprofen and involved mechanisms. Drug Metab Rev; 37: 214-234. (2005).
- (5) Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. FASEB J; 18: 790- 800. (2004).
- (6) Burian M, Geisslinger G. COX dependent mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. J.Pharmacol & Ther; 107: 139-154. (2005).
- (7) Evans AM. Comparative pharmacology of S(+) ibuprofen and (RS) ibuprofen. Clin Rheumatol; 20(1): 4-14. (2001).
- (8) Aguggia M. Neurophysiology of pain. Neurol Sci; 24: 557-560. (2003).
- (9) Milan M. Descending control of pain. Progress in Neurobiology 66; 355-374. (2002).
- (10) Bodnar RJ, Klein GE. Endogenous opiates and behaviour: Peptides; 26: 2629-2711. (2005).
- (11) Waldhoer M, BartleU SE, Whistler JL. Opioid Receptors. Annu Rev Biochem 73: 953- 990. (2004).
- (12) Metcalf M, Coop A. Kappa opioid antagonists: Past Successes and future prospects. AAPS J ; 71: 704 - 722. (2005).
- (13) Green R. Neuropharmacology of 5HT. Br J Pharmacol 147: 145-152. (2006)

- (14) Oliveira MCG, Pelegrini da Silva A, Parada CA, Tambeli CH. 5-HT Acts on nociceptive primary effects afferents through an indirect mechanism to induce hyperalgesia in the subcutaneous tissue. *Neurosci* 145: 708–714 (2007)
- (15) Bonabello A, Galmozzi MR, et al., Dexibuprofen (S+)Isomer Ibuprofen Reduces gastric damage and improves analgesic and antiinflammatory effects in rodents. *Anesth Analg* 97:402–8 (2003)
- (16) Mochizucki D , Serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors in animal models of pain, *Hum Psychopharmacol Clin Exp* 19: S15–S19.(2004)
- (17) Furst S, Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. *Brain Res Bull* 48: 129-141. (1999)
- (18) Love RC, Conley RJ, Long-acting risperidone injection, *Am J Health-Syst Pharm* ; 61:1792-1800 (2004)
- (19) Knox ED, Stimmel GL. Clinical Review of a Long-Acting, injectable formulation of risperidone, *Clin Ther* 26:1994-2002 (2004)
- (20) Schreiber S, Backer MM. Augmentation of opioid induced antinociception by the atypical antipsychotic drug risperidone in mice, *Neurosci Letters* 228 : 25–28 (1997)
- (21) Weizmana T, Pick TG, Backer MM , The antinociceptive effect of amisulpride in mice is mediated through opioid mechanisms, *Eur J Pharmacol* 478 155– 159 (2003)
- (22) Riering K, Rewerts C, Zieglgaunsberger W, Analgesic effects of 5-HT₃ receptor antagonists, *Scand J Rheumatol*;33:19–23 (2004)
- (23) Haus U, Spauth M, Faurber L, Spectrum of use and tolerability of 5-HT₃ receptor antagonists, *Scand J Rheumatol*;33:12–18 (2004)
- (24) Wolf H, Preclinical and clinical pharmacology of the 5-HT₃ receptor Antagonists, *Scand J Rheumatol*; 29 Suppl 113:37-45 (2000)
- (25) Stratz T, Mueller E, 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)

