

**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA**

**“MODULACION COLINERGICA DE LA ANTINOCICEPCIÓN  
DE DEXKETOPROFENO EN DOLOR OROFACIAL”**

**Ingeborg Carla Manríquez Olcay**

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

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

**TUTORES ASOCIADOS  
Prof. Dr. Gianni Pinardi T  
Dr. Fernando Sierralta G**

**Santiago - Chile  
2007**

## INDICE

<b>Introducción</b>	1
<b>Aspectos Teóricos</b>	4
Clasificación del dolor	5
Fisiopatología del dolor	7
Nivel periférico	8
Vía trigeminal	12
Vías descendentes	15
Aspectos terapéuticos del dolor	15
Modulación de la percepción dolorosa	17
Modulación colinérgica	18
Acetilcolina y su rol central	19
Anticolinérgicos	21
Atropina	21
Drogas anticolinesterásicas	22
Neostigmina	23
Tratamiento farmacológico del dolor: AINEs	23
Reacciones adversas de los AINEs	27
Ketoprofeno	29
Dexketoprofeno	31
Características farmacocinéticas	32
Indicación y eficacia analgésicas	33
Interacción de fármacos	34
<b>Hipótesis</b>	36
<b>Objetivos</b>	37

<b>Material y Método</b>	38
Test de la formalina orofacial	38
Evaluación de la analgesia	41
Estudio de la modulación colinérgica	42
<b>Resultados</b>	44
Grupo control	44
Efecto antinociceptivo de atropina	44
Efecto antinociceptivo de neostigmina	44
Efecto antinociceptivo de dexketoprofeno	46
Modulación del efecto antinociceptivo del dexketoprofeno por agentes colinérgicos	46
<b>Discusión</b>	52
<b>Sugerencias</b>	57
<b>Conclusiones</b>	56
<b>Resumen</b>	58
<b>Referencias Bibliográficas</b>	59

## **DEDICATORIA**

A mi familia, que me apoyo en este largo camino  
no puedo dejar de mencionar la enorme paciencia  
y el enorme cariño que me entregaron durante estos años  
Agradecer a mis hijos, por todo el tiempo que me  
regalaron para dedicarlo a estudiar,  
A mi madre, sin ella esto no hubiera sido posible

## **AGRADECIMIENTOS**

- Quiero en primer lugar agradecer el enorme apoyo que recibí en la realización de este trabajo al Dr. Hugo F. Miranda, por su eterna paciencia , y su fundamental guía, para terminar este proceso
- Mil gracias al Dr. Gianni Pinardi por su apoyo, orientación y ayuda.
- A Don José y Don Alejandro, por su ayuda y cariño en el trabajo de laboratorio.
- A mis compañeros que hicieron de estos años una experiencia única e inolvidable.
- A mi eterna e inseparable compañera y amiga Andrea, con la que sufrimos y reímos durante estos 6 años.
- A los profesores y funcionarios de nuestra querida escuela a los que sin duda nunca podré olvidar.

## INTRODUCCIÓN

El dolor no aliviado es una razón frecuente para abandonar un tratamiento odontológico o motivar el cambio de profesional, de manera que no debemos ignorar su importancia, siendo una de nuestras principales tareas preservar y restaurar la salud, y aliviar el sufrimiento, es imprescindible comprender el dolor para conseguir estas metas. El dolor en la actualidad es un campo de estudio en pleno desarrollo, que busca la integración de conceptos teóricos, clínicos y psicológicos; dentro del campo teórico y clínico la analgesia o eliminación del dolor es eminentemente propiedad de la farmacología y los odontólogos históricamente ligados con el dolor, han recurrido a ella para subsanar las situaciones dolorosas que se presentan en su desarrollo clínico.

El dolor es la manifestación que origina la mayoría de las consultas odontológicas, y los analgésicos no opiodes y AINEs son dos de los grupos de fármacos mas empleados, siendo estos últimos los más utilizados y prescritos por los odontólogos; esto nos da una aproximación de la importancia, desde un punto de vista social del dolor como problema clínico.

Los AINEs producen sus efectos primariamente por bioinhibición de las enzimas ciclooxigenasas, estas isoenzimas contribuyen a mantener la

homeostasis del organismo y permiten producir unas sustancias llamadas prostaglandinas que intervienen en la respuesta inflamatoria; las prostaglandinas están directamente relacionadas con la patogénesis de la inflamación y del dolor, sin embargo, esta inhibición no es suficiente para explicar totalmente la eficacia de estos agentes en varios modelos del dolor. Existen evidencias que en el sistema nervioso central existen una variedad de mecanismos moduladores del dolor, y que éstos sistemas pueden ser modificados farmacológicamente. Otras vías y neurotransmisores pueden estar involucrados, como por ejemplo agentes adrenérgicos, colinérgicos, serotoninérgicos, nitridérgicos, entre otros. Así se ha demostrado que con el uso de antagonistas de diversos neurotransmisores se puede modificar los efectos analgésicos de los AINEs, ya sea aumentándolos o bien disminuyéndolos, por que alteran los factores que intervienen en el proceso nociceptivo. Independientemente de su eficacia clínica comprobada como analgésicos, antiinflamatorios, antipiréticos o antiplaquetarios, presentan una serie de reacciones adversas que limitan su uso, o en algunos casos, simplemente lo contraindican. Es importante considerar la evidencia acerca de la modulación de la antinocicepción, para así, desarrollar una posible asociación

farmacológica de estos AINEs y agentes moduladores que podría llevar a implicaciones clínicas importantes, para que sean utilizados considerando sus interacciones, disminuyendo su dosis y así sus reacciones adversas. Se ha demostrado la interacción de agentes anticolinérgicos y algunos AINEs, sin embargo, los resultados no son concluyentes y varían en los diferentes test algosiométricos y entre los distintos AINEs

En este estudio se evaluará la posible modulación colinérgica del efecto analgésico del dexketoprofeno.

## ASPECTOS TEÓRICOS

El dolor es una entidad compleja multisensorial y desagradable para el organismo, lo que se traduce en el deterioro de la calidad de vida. Se ha definido como “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociado a un daño tisular existente o potencial, descrito en términos de ese daño” (Asociación Internacional para el estudio del dolor), resultado de la estimulación anormalmente intensa de cualquier órgano sensorial, así, todo dolor es real, aunque no exista causa aparente, y será diferente según edad, sexo, estado de animo, etnia etc.

Como campos de investigación en el conocimiento actual del dolor existen distintas áreas que lo abarcan y describen como: sus orígenes, sus mecanismos, las vías que los transmiten a centros superiores, la modulación y los centros integradores de dolor. El dolor propiamente tal es difícil de definir como concepto ya que el dolor mismo es un análisis subjetivo de la actividad del sistema nervioso central (SNC). La nocicepción y el dolor son conceptos diferentes. Nocicepción es la excitación de los nociceptores, la que puede o no conducir a la percepción dolorosa. El dolor es una percepción producto de la abstracción del cerebro, que involucra al sistema límbico, que aporta el componente afectivo al dolor <sup>(1)</sup>.

Diversos estudios comparativos anatomofisiológicos y conductuales realizados en seres humanos y animales han revelado muchas más similitudes que diferencias en el mecanismo neurológico del dolor, por lo tanto se considera como una experiencia que involucra una sensación fisiológica y emocional o, como en el caso de los animales, reacciones conductuales, las cuales producen reacciones motoras protectoras, que resultan en evasiones aprendidas <sup>(2)</sup>. Actualmente se ha comprobado que son muchas las estructuras nerviosas a nivel periférico, medular, subcortical y cortical que intervienen en la percepción del dolor, con lo que esta percepción afecta a nuestros pensamientos, memoria, actitudes, emociones, movimientos y conducta, y a la vez esta percepción se ve afectada por cada uno de esos procesos. Si bien se sabe que la nocicepción comienza en receptores periféricos, no podemos hablar de dolor hasta que llega al encéfalo <sup>(1,3)</sup>.

### **Clasificación del dolor**

El dolor puede ser, según su duración o evolución, agudo y crónico, donde el agudo es aquel dolor reciente y producido por una patología detectable, mientras que el crónico es el de larga duración con causa conocida y sin solución o bien de causa desconocida.

En función de los mecanismos neurofisiológicos que originan el dolor, se definen tres tipos distintos, el dolor somático, dolor neuropático y dolor psicogénico. El dolor somático es provocado por la activación de los nociceptores debido a injuria de tejidos que rodean las terminaciones nerviosas y usualmente con presencia de inflamación, donde el dolor es bien localizado y específico. El dolor neuropático se debe a una injuria directa a las terminaciones nerviosas periféricas o en el SNC, presenta una gran variedad de síntomas aislados o asociados, entre los que destacan sensaciones anormalmente desagradables (disestesias), el aumento de la sensibilidad dolorosa espontánea o provocada (hiperalgesia), la sensación de dolor a estímulos que normalmente no producen dolor (alodinia), sensación desagradable expresadas como hormigueo o cosquilleo (parestesia), aumento de la sensibilidad táctil y térmica (hiperestesia), y en algunos pacientes incluso disminución de la sensibilidad superficial (hipoestesia). El dolor psicogénico es el que se origina en la psiquis del paciente sin causa somática aparente, con semiología dolorosa atípica, examen clínico normal y exploraciones secundarias negativas, pero que se localiza en algún lugar del cuerpo <sup>(4)</sup>.

Según sus características somatosensoriales el dolor puede ser epicrítico o protopático. El dolor epicrítico es superficial, de localización precisa, que el paciente suele describir como punzante, lacerante, quemante, opresivo, fulgurante o en ramalazo, por naturaleza no es referido. El dolor protopático es difuso, mal localizado por el paciente, generalmente descrito como dolor sordo, es referido por el paciente en un lugar distante al sitio donde se genera.

Según su sitio de origen el dolor puede ser periférico, profundo o central. El periférico se refiere al que se origina en tegumentos; el profundo o visceral es el que inicia en vísceras, cavidades serosas y articulaciones; y el central tiene su origen en el SNC.

Según su etiología puede ser clasificado según si su causa es traumática, infecciosa, disfunción neurológica o psicógena <sup>(4,5)</sup>.

### **Fisiopatología del dolor**

Desde el punto de vista neurofisiológico, la percepción del dolor necesita de la participación del SNC y del sistema nervioso periférico (SNP). El dolor desencadena una serie de reacciones en ambos sistemas que permite la percepción del mismo, con la finalidad de disminuir la causa y limitar las consecuencias. Los mensajes nociceptivos son transmitidos, modulados e integrados en diferentes

niveles del sistema nervioso y van desde la periferia a los centros superiores.

Los cambios bioquímicos que tienen lugar en la transmisión y/o modulación del dolor, se pueden agrupar en tres niveles; el primero es el nivel periférico que es el mecanismo por el cual una serie de estímulos son capaces de activar a los receptores; el segundo nivel sería el medular que corresponden a los mecanismos de transmisión y modulación en el asta posterior de la medula, o en el caso del trigémino a los núcleos espinales; y por último el nivel central donde se ubican los neurotransmisores y los otros mecanismos implicados en la percepción cerebral y medular del dolor, y los mecanismos inhibidores de dicha sensación.

### **Nivel periférico**

Para que seamos capaces de percibir el dolor, es necesario que la información recibida desde la periferia viaje al SNC a través de las distintas vías ascendentes, sin embargo, el inicio de todo se centra en la estimulación de receptores, que son elementos que tienen la capacidad de transformar un estímulo mecánico, físico o químico en un potencial de acción. Los nociceptores o terminaciones nerviosas libres son el receptor más simple, tienen un umbral de excitación elevado, y

su distribución nos permite la ubicación relativamente precisa del sitio estimulado; son receptores de adaptación lenta, esto quiere decir, que envían señales eléctricas mientras persiste el estímulo. Ellos pueden responder en forma directa, a estímulos dañinos, indirecta, al responder a sustancias liberadas por el tejido lesionado (histamina o bradiquinina), o a alteraciones metabólicas, como baja de pH y aumento de concentración de ciertos iones, es por esto que los nociceptores pueden ser considerados quimioceptores. Los nociceptores pueden responder a estímulos mecánicos, térmicos y químicos; también existen los receptores polimodales, que responden a una combinación de estos. A diferencia de otros receptores, otras estructuras pueden modular las propiedades receptoras de los nociceptores. Tras el proceso de activación de los nociceptores periféricos; es en la médula donde se modulan las respuestas nociceptivas a través de las fibras A $\delta$  y C que terminan a nivel superficial del asta dorsal de la médula. Estas fibras A $\delta$  y C no son grupos homogéneos, sino que se forman de fibras que varían en el tipo de estímulo transmitido, su umbral de activación o la velocidad de transmisión <sup>(1)</sup>. Las A $\delta$  son fibras delgadas, mielínicas, tienen un diámetro de 1 - 6  $\mu$ m, su velocidad de conducción es de 30 m/seg.,

dan información de tipo mecánica y térmica, localizada con precisión, y no evocan componente afectivo de la experiencia sensorial, son las encargadas de transmitir el dolor agudo, de aparición rápida y corta duración, llamado primer dolor, secretan glutamato, el cual actúa en la segunda neurona en receptores tipo AMPA. Las fibras C son amielínicas, de mayor umbral de excitación de diámetro 0,2 - 1,5 mm. conducen a una velocidad de 0,5 m/seg., son polimodales, transmiten sensaciones mal localizadas, y están relacionadas con el dolor de aparición lenta pero de larga duración, que comienza luego del dolor agudo, o segundo dolor (Fig. 1), evocan el componente afectivo de la experiencia dolorosa. El principal neurotransmisor es el glutamato, libera también sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) <sup>(1,3)</sup>.

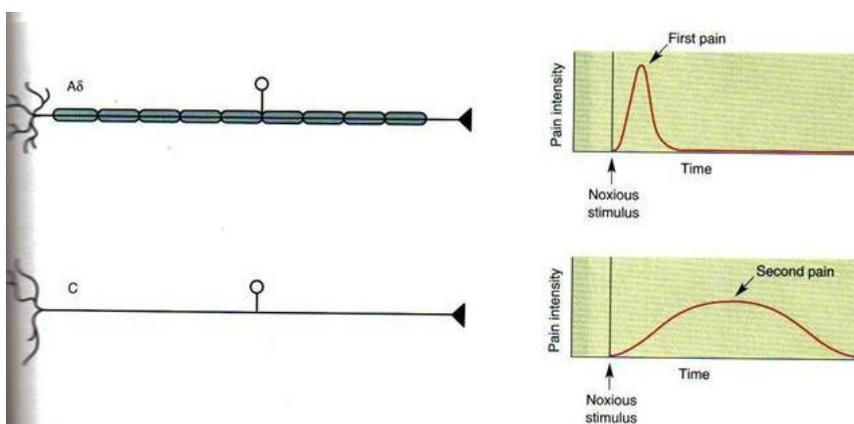


Figura 1: Esquema activación de fibras Aδ y C, que provocan el primer y segundo dolor

Las aferencias primarias utilizan diversos neurotransmisores y neuromoduladores, que en algunas ocasiones se liberan en forma conjunta para la primera sinapsis. Entre los neurotransmisores más estudiados destacan la sustancia P, somatostatina, colecistocinina, CGRP, vasopresina, aminoácidos, monoaminas, acetilcolina y el ácido gamma aminobutírico, entre otros. Las uniones sinápticas del asta posterior en la médula espinal son sitios de plasticidad considerables, permite el nivel integrador, por esta razón ha sido llamada la “compuerta”, donde los impulsos dolorosos pueden ser modificados por acción de interneuronas espinales, proyecciones de fibras centrípetas de grueso calibre y las descendentes desde niveles superiores encefálicos como es la sustancia gris periacueductal y el bulbo ventromedial; dirige la información a través de las vías ascendentes y permite la elaboración de respuestas reflejas, tanto vegetativas como motoras.

El soma de la primera neurona de la vía del dolor está en el asta posterior de la médula, en el ganglio de la raíz dorsal medular, los axones de estas neuronas forman el haz espino-talámico lateral, el que se dirige al núcleo ventral postero lateral del tálamo, donde una tercera neurona llevará la información a la circunvalación parietal

ascendente o pos Rolándica, donde se distribuirá en el homúnculo sensitivo.

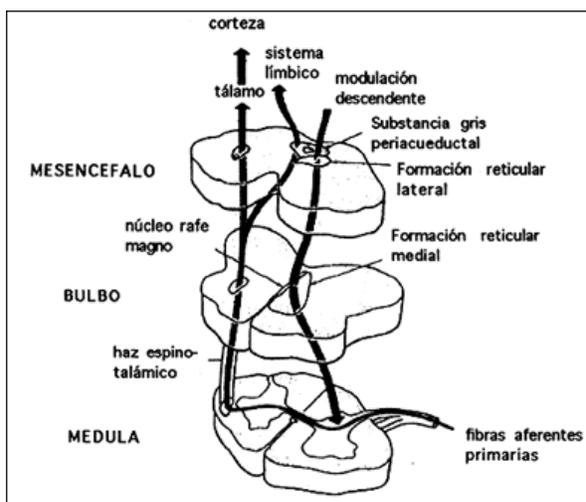


Figura 2: Vías ascendentes, vías descendentes y modulación del dolor.

Modificada de Phillips y Cousins.

### Vía trigeminal

Los tejidos orofaciales, como los dientes, la piel facial, articulaciones temporomandibulares y la musculatura adyacente son principalmente inervados por ramas nerviosas del trigémino y en menor medida, por los pares nerviosos del facial, glossofaríngeo y vago. El nervio trigémino aferente, contiene fibras nerviosas primarias que responden a la estimulación periférica de los nociceptores. Los cuerpos celulares de la primera neurona, se sitúan en el caso de las regiones cefálicas, en los ganglios de los nervios de los pares craneales <sup>(3)</sup>. El soma de la primera neurona de la vía del dolor

trigeminal está en el ganglio de Gasser, con una prolongación periférica que es una terminación libre y una prolongación central que se dirige al núcleo espinal trigeminal ipsilateral, llevando la información nociceptiva orofacial al encéfalo a través de fibras A $\delta$  y C hacia la segunda neurona, de los respectivos núcleo sensoriales. Estos núcleos también reciben proyecciones de otros centros superiores, que modulan estas vías. Tanto las fibras A $\delta$  y C, descienden al llegar a la protuberancia, formando el tracto espinal del trigémino, al que se unen las fibras aferentes somáticas del resto de los pares craneales, que aportan información nociceptiva. Las fibras nociceptivas llegan al subnúcleo caudal, que recibe también fibras de los segmentos cervicales superiores <sup>(1,3,6)</sup>. Cada rama del trigémino ha sido ordenada en un campo terminal específico, tanto en el núcleo sensitivo trigeminal (NST), como en el núcleo espinal, el que se subdivide en: subnúcleo oral, subnúcleo interpolar y subnúcleo caudal (Fig. 3).

Los axones de la segunda neurona, ubicada en el núcleo espinal, se cruzan y ascienden, enviando colaterales a la formación reticular, terminando en los núcleos de tálamo ventral posteromedial (VPM), e intralaminares. Desde aquí, la información viaja a la región facial del área sensitiva primaria de la corteza, área 1, 2, 3 de Brodman, y a otras

estructuras corticales y subcorticales, como son la corteza insular, que procesa información del estado interno del organismo, integrando el aspecto sensorial, cognitivo y afectivo, modulando así el umbral del dolor; y la circunvolución cingular, parte del Sistema Límbico, relacionada con el procesamiento afectivo y emocional del dolor <sup>(3)</sup>.

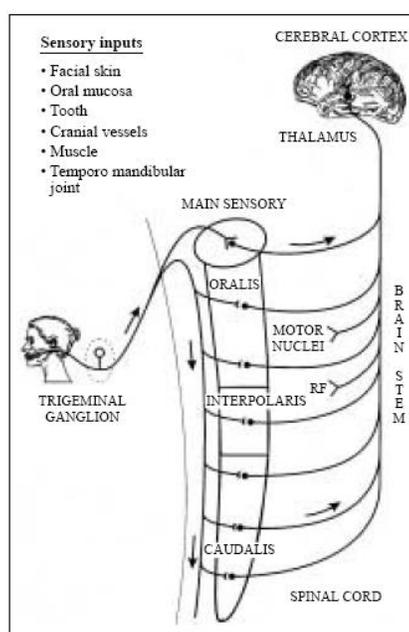


Figura 3: Vía somatosensorial principal de cara y boca (Sessle).

En los distintos núcleos diana se pueden caracterizar dos sistemas de procesamiento nociceptivo: **medial y lateral**. El **sistema medial** sería el responsable del componente afectivo del dolor, o aspecto emocional del dolor, relevante en el dolor crónico. En él participan la sustancia gris periacueductal del mesencéfalo y los núcleos talámicos mediales e

intralaminares, que se proyectan hacia la circunvolución del cíngulo, estructuras límbicas, y corteza prefrontal <sup>(6)</sup>. El **sistema lateral** da la percepción conciente, localización exacta, calidad, intensidad y duración del estímulo doloroso y están involucrados los núcleos talámicos VPM, que procesa la información orofacial y el núcleo ventral posterolateral, que recibe la información del resto del cuerpo, los que se proyectan hacia el córtex parietal <sup>(3,6)</sup>.

### **Vías descendentes**

La estimulación eléctrica de la zona periacueductal o del núcleo del rafe bulbar, ricos en receptores morfínicos, provoca analgesia sin alteración motora, probablemente a través de una vía inhibitoria descendente, el fascículo dorsolateral. Experimentalmente se puede obtener analgesia con microinyecciones de morfina en estas zonas. Estas vías inhibitorias descendentes también pueden ser estimuladas por dolor y estrés, y provocar alguna modulación a nivel medular. Además existen sistemas inhibidores descendentes mediados por opioides y otros mediadores <sup>(7)</sup>.

### **Aspectos terapéuticos del dolor**

Farmacológicamente podemos modificar la información nociceptiva a cuatro niveles distintos, en el procesamiento de la información

nociceptiva, estos son: la transducción, conducción, modulación y percepción. La **transducción** es el proceso que ocurre en los nociceptores, esta se puede interrumpir con el uso de anestésicos locales (AL) y AINEs que inhiben la síntesis de mediadores inflamatorios. La **conducción** es la propagación de estos potenciales de acción hacia el SNC y SNP; y también puede ser abolida por AL, los que bloquean los canales iónicos de  $K^+$ ,  $Na^+$ , modifican la capacidad de descarga y conducción de los nociceptores, impidiendo la propagación del impulso nervioso. La **modulación** es a la modificación cuantitativa y cualitativa de la información nociceptiva, tanto en el SNC como SNP. Farmacológicamente se puede intervenir utilizando AINEs, se puede potenciar la acción supresora endógena mediante el uso de opioides, agonistas del adrenoceptor  $\alpha_2$ , anticolinérgicos y antidepresivos. La **percepción** implica la integración de las vías medial y lateral. Esta integración produce la experiencia emocional, subjetiva y consciente del dolor y permite determinar localización, magnitud y naturaleza del estímulo, acompañándose tanto de angustia como de necesidad de alivio. Se modula farmacológicamente con AL, AINEs, opioides, fármacos adrenérgicos y antidepresivos entre otros <sup>(8,9)</sup>.

### **Modulación de la percepción dolorosa.**

Existen varios circuitos neuronales que modulan la percepción dolorosa, y están presentes tanto a nivel central como periférico. Estos procesos implican mecanismos de regulación presinápticos o postsinápticos, así como una gran variedad de sustancias endógenas y neuroquímicos <sup>(4)</sup>.

Las aferencias sensoriales orofaciales son moduladas de diferentes maneras, por interneuronas dentro del núcleo sensitivo trigeminal (NST) por conexiones recíprocas entre el NST y la médula rostral ventromedial y por la corteza cerebral <sup>(1)</sup>. Fibras eferentes de la sustancia gris periacueductal liberan opiopéptidos endógenos; del núcleo magno del raphe y núcleo paragiganto celularis liberan serotonina y del núcleo Locus coeruleus libera noradrenalina, generando una modulación inhibitoria descendente de la percepción dolorosa <sup>(4,8)</sup>. La gran cantidad de estímulos, las diferentes interacciones de estos y la intensidad de los mismos, determina que en la regulación del dolor participen e interactúen una variedad de mecanismos, que dependen, aparte de la infinidad de estímulos, de otras condiciones asociadas a la enfermedad de base causante del dolor <sup>(1, 3, 8)</sup>.

### **Modulación colinérgica**

La antinocicepción colinérgica resulta de la activación de los mecanismos muscarínicos o nicotínicos y depende del sitio en el SNC en el cual actúen estos agonistas colinérgicos.

El asta dorsal constituye el primer lugar de integración sináptica de la información nociceptiva proveniente de la periferia, así como el primer sitio de control de esa información en el sistema nervioso central. Por estas razones la identificación de las moléculas que están envueltas selectivamente en la transmisión y/o control espinal del dolor ha sido uno de los focos principales de atención en numerosas investigaciones sobre la fisiofarmacología del dolor agudo. Más recientemente sin embargo, la atención se ha concentrado en los cambios que sobrellevan las neuronas del asta dorsal, a nivel molecular, estructural y funcional, durante episodios de dolor crónico. Un elemento clave para la comprensión de los mecanismos de procesamiento y modulación espinal del dolor, ha sido la apreciación que la respuesta de las neuronas del asta dorsal frente a la estimulación nociceptiva no es fija o estática, sino que dinámica cambiante, de acuerdo a los diversos tipos de fibras nociceptivas activadas desde los tejidos sanos o dañados. Los cambios a escala molecular y celular que ocurren en el

asta dorsal son responsables, en gran medida, de las modificaciones funcionales que ocurren en la respuesta de las neuronas del asta dorsal frente al dolor persistente, modificaciones que en el largo plazo llevan a cambios estructurales en la conectividad sináptica espinal <sup>(10,11)</sup>

### **Acetilcolina (ACh) y su rol central**

Muchas de las señales que se transmiten de neurona a neurona implican la síntesis y liberación de sustancias por unas vesículas especializadas situadas en la zona presináptica del axón, las llamadas vesículas sinápticas. La llegada de un potencial de acción produce la exocitosis de las vesículas sinápticas vertiendo su contenido en la sinapsis. Las moléculas de neurotransmisor difunden a través de la sinapsis, fijándose a receptores específicos situados en la zona post-sináptica. Se conocen numerosas sustancias neurotransmisoras, en su mayoría aminoácidos o derivados de aminoácidos. Los neurotransmisores se pueden clasificar en tres grandes grupos:

- Aminoácidos (ácido glutámico, glicina, GABA, etc.)
- Monoaminas (ACh, catecolaminas, serotonina, etc)
- Polipéptidos (encefalinas, somatostatina, sustancia P)

Por consiguiente, cualquier fármaco que modifique el metabolismo o la fijación de los neurotransmisores a sus receptores, ocasionará un

efecto fisiológico in vivo predecible siempre que el fármaco sea transportado al lugar donde el neurotransmisor tiene su acción.

De entre los muchos neurotransmisores conocidos, el mejor caracterizado es la acetilcolina que funciona en las sinapsis neurona-neurona y neurona-célula muscular a través de los receptores colinérgicos. Los receptores colinérgicos se clasifican en función de su especificidad frente a determinadas sustancias químicas que se conocen como agonistas. Así, en algunos receptores colinérgicos denominados receptores nicotínicos (ACh-N), la nicotina los activa con una duración de un milisegundo y los receptores muscarínicos (ACh-M) se activan por la muscarina. Una clasificación de los distintos receptores activados por ACh <sup>(12)</sup> se muestra en la Tablas 1 y 2.

<b>M</b>	<b>Localización anatómica</b>
M1	Sistema Nervioso Central: corteza cerebral, hipocampo, glándulas, ganglios simpáticos.
M2	Corazón, mesencéfalo, músculo liso (ciliar, detrusor, digestivo)
M3	Músculo liso (ciliar, detrusor, digestivo), glándulas, cerebro
M4	Sistema Nervioso Central: ganglios basales, núcleo estriado
M5	Sistema Nervioso Central: sustancia negra

Tabla 1: Tipos de receptores colinérgicos muscarínicos (M)

N	Localización anatómica
Nm	Unión neuromuscular.
Nn/Ng	Neuronas del SNC, ganglios autónomos, médula suprarrenal

Tabla 2: Tipos de receptores colinérgicos nicotínicos (N)

### **Anticolinérgicos**

Las drogas anticolinérgicas actúan como antagonistas competitivos en los receptores colinérgicos muscarínicos, previniendo el acceso de la ACh. Esta interacción no produce los normales cambios en la membrana celular que son vistos con la ACh. Los efectos de las drogas anticolinérgicas pueden ser superados por el aumento de la concentración local de ACh en el receptor muscarínico. Hay diferencias entre la potencia de las drogas anticolinérgicas (atropina, escopolamina, etc.), que pueden ser explicadas por las subclases de receptores muscarínicos colinérgicos.

### **Atropina**

La atropina es un fármaco bloqueador muscarínico que ejerce un efecto selectivo sobre los receptores muscarínicos, bloqueando los efectos de la ACh y de los agonistas relacionados, en forma competitiva. La atropina puede producir analgesia en forma dosis dependiente, hiperalgesia o ningún efecto, su sitio de analgesia está

en el SNC, revierte los efectos analgésicos de los agonistas colinérgicos y produce bloqueo de los receptores muscarínicos <sup>(12)</sup>.

La atropina es una droga anticolinérgica natural compuesta por ácido trópico y tropina, una base orgánica compleja con un enlace éster; es una amina terciaria lípido soluble capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y ejercer algunos efectos sobre el SNC. Parecida a la ACh, las drogas anticolinérgicas se combinan con los receptores muscarínicos por medio de un lugar catiónico; se contraindica en las siguientes situaciones clínicas: glaucoma, adhesiones (sinequias) entre iris y lente, estenosis pilórica, e hipersensibilidad a la atropina.

### **Drogas anticolinesterásicas**

Estas sustancias inhiben las colinesterasas, enzimas responsables de la hidrólisis de la ACh, degradándola a colina y acetato. Los anticolinoesterásicos tienen efectos muscarínicos, nicotínicos y de excitación central y muscular, por acúmulo de ACh liberada a nivel de las terminaciones nerviosas y no destruida por las colinoesterasas <sup>(5)</sup>. Los inhibidores de la acetilcolinoesterasa, han inducido antinocicepción en animales y humanos a través de la acción muscarínica, este efecto puede ser de origen supraespinal, pero también es posible encontrar un sitio de acción a nivel espinal <sup>(13)</sup>.

### **Neostigmina**

La neostigmina es un fármaco colinérgico de acción indirecta reversible capaz de inhibir la acetilcolinoesterasa, provoca una antinocicepción dosis dependiente por la activación de receptores muscarínicos, tanto a nivel central como periférico <sup>(13)</sup>. Al mismo tiempo posee entre sus reacciones adversas náuseas, efecto que puede limitar su uso clínico como fármaco único o combinado con AINEs, administrada por vía intratecal es agonista específico M-1.

### **Tratamiento farmacológico del dolor: AINEs**

Los fármacos más usados en el tratamiento farmacológico del dolor son principalmente los opioides y AINEs. Además existen agentes coadyuvantes como los antidepresivos, los antiepilépticos, los cannabinoides, los anestésicos locales, el alcohol, etc. <sup>(14,15)</sup>. De los fármacos antes citados, los AINEs son de los más usados en los diferentes tipos de dolor, tanto agudo como crónico, y por lo tanto los más estudiados en varias especialidades médicas y en especial, en el campo odontológico, tanto en el preoperatorio como postoperatorio, de diversos cuadros clínicos odontológicos álgidos o inflamatorios.

Los AINEs producen sus efectos primariamente por bioinhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs). Las enzimas son sustancias de

naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas que ocurren en el organismo siempre que sean termodinámicamente posible. Entre ellas se encuentran las COXs, de las cuales existen 3 isoenzimas: COX-1; COX-2 y COX-3. COX-1 es una enzima constitutiva que se expresa en casi todos los tejidos, incluyendo el sistema nervioso central; y por tanto posee múltiples funciones, entre las cuales se pueden destacar que protege la integridad de la mucosa del tracto gastrointestinal y mantiene la función renal a nivel normal. La COX-2 es una enzima inducible, pero es constitutiva en el sistema nervioso central, se induce por varias citoquinas, hormonas y mitógenos en el curso de la inflamación. La isoenzima COX-3, se encuentra en el sistema nervioso central, corazón, aorta y tracto gastrointestinal, está relacionada con el dolor, la fiebre y la inflamación <sup>(16,17)</sup>. En resumen estas 3 isoenzimas COXs contribuyen a mantener la homeostasis del organismo y permiten producir sustancias llamadas prostaglandinas, a partir del ácido araquidónico <sup>(17)</sup>. Las prostaglandinas son un conjunto de sustancias que pertenecen a los ácidos grasos (eicosanoides), y constituyen una familia de mediadores celulares, con efectos diversos. Intervienen en la respuesta inflamatoria con producción de vasodilatación, aumento de la permeabilidad de los tejidos permitiendo

el paso de los leucocitos; son antiagregantes plaquetarios, estimulan las terminaciones nerviosas nociceptivas, contraen la musculatura lisa, importante en el útero de la mujer, intervienen en la regulación de la temperatura corporal, etc. <sup>(18,19,20)</sup>. La inhibición de la COX-1 por parte de los AINEs no es solamente eficaz contra el dolor, fiebre e inflamación, sino que también induce efectos colaterales no deseados debido a que bloquea las funciones fisiológicas en las cuales participa la enzima. El descubrimiento de la COX-2, que aumenta considerablemente durante la inflamación, permitió el desarrollo de un nuevo grupo de fármacos con una acción inhibitoria selectiva para COX-2 que tendrían una eficacia clínica similar pero menos efectos adversos <sup>(21)</sup>. Sin embargo se sabe que COX-2 es también constitutiva en algunos tejidos y COX-1 puede estar sobre-expresada durante la inflamación <sup>(22)</sup>. Esto implica que la inhibición de ambas isoenzimas debiese ser necesaria para conseguir una fuerte reducción del dolor, y por otro lado, la inhibición de cualquiera de las dos isoenzimas induciría algún efecto no deseado <sup>(23)</sup>. Se han realizado varios estudios respecto a la acción analgésica de inhibidores selectivos de COX-2 y no se han encontrado ventajas sobre los inhibidores convencionales de COX-1, en el tratamiento del dolor dental o en el uso terapéutico de estas

drogas en tratamientos similares <sup>(21, 24)</sup>. La potencia relativa y efectividad de los AINEs con diferente selectividad por las isoenzimas de COX no está todavía clara <sup>(25)</sup>. Aunque las prostaglandinas están directamente relacionadas con la patogénesis de la inflamación y del dolor, sin embargo, existen evidencias que el efecto analgésico es modulado por fármacos que interactúan con otros receptores, como por ejemplo agentes adrenérgicos, colinérgicos, serotoninérgicos, nitridérgicos. Así se ha demostrado que con el uso de antagonistas no selectivos y selectivos de diversos neurotransmisores (prazosin, yohimbina, atropina, neostigmina, tropisetron, L-nitroarginina, etc.), se puede modificar los efectos analgésicos de los AINEs, ya sea aumentándolos o bien disminuyéndolos, por que alteran los factores que intervienen en el proceso nociceptivo, tanto a nivel de los receptores involucrados en él, o por modificación de la conductancia de ciertos iones: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup> o por interferir con la señal intracelular emergente de los mediadores celulares o bien por modificar el sistema de control del dolor inhibitorio descendente o por influir en la liberación de péptidos endógenos analgésicos o en la liberación de sustancias algógenas <sup>(5,26,27,28)</sup>.

### **Reacciones adversas de los AINEs**

Independientemente de su eficacia clínica comprobada como analgésicos, antiinflamatorios, antipiréticos o antiplaquetarios, presentan una serie de reacciones adversas que limitan su uso, o en algunos casos, simplemente lo contraindican, entre las cuales se pueden mencionar: úlcera gástrica o duodenal; dispepsia, náuseas, vómitos, epigastrálgias, constipación, flatulencia, diarrea, asma o antecedentes de haber sufrido angioedema, broncospasmo, insuficiencia renal moderada a severa, insuficiencia hepática grave, trastornos de la coagulación de la sangre y pacientes bajo tratamiento con anticoagulantes. Pueden modificar el funcionamiento hepático y renal, deberá ponerse una atención especial en pacientes añosos, deshidratados, nefrópatas, cardíacos, cirróticos. Los antihipertensivos (diuréticos, antagonistas de calcio, IECA, beta bloqueantes), pueden disminuir sus efectos por inhibición de las prostaglandinas vasodilatadoras; se ha informado que los antiinflamatorios pueden disminuir la eficacia de los dispositivos intrauterinos además su uso está contraindicado en el tercer trimestre del embarazo por inducir el cierre prematuro del conducto arterioso <sup>(5, 20)</sup>. La reacción adversa más frecuente de los AINEs es la propensión de estos a inducir úlceras

gástricas o intestinales, que a veces se acompañan de anemia por la pérdida hemática resultante. El daño gástrico que generan dichos fármacos, se produce por que la irritación local de las sustancias ingeridas permite la difusión retrograda de ácido al interior de la mucosa gástrica y la inducción de daño tisular, pero la administración parenteral también puede ocasionar daño y hemorragia, por lo que este daño en el estómago también se relaciona con la inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas que actúan como agentes citoprotectores de la mucosa inhibiendo la secreción ácida, intensificando la corriente sanguínea por la mucosa y estimulando la producción de mucus, por lo tanto, al suprimirse su síntesis el estómago, se torna mas sensible a sufrir daño. Además, se ha informado de algunas otras reacciones adversas tales como cefaleas, palpitaciones, edema, vértigo, acúfenos, mareos, cefaleas, somnolencia. A nivel cutáneo prurito, exantema, urticaria, reacciones de hipersensibilidad. En raras oportunidades anemias, leucopenia, alteración transitoria de las enzimas hepáticas y de los parámetros renales, y elevar los niveles plasmáticos de nitrógeno ureico y de creatinina, y ocasionar nefritis glomerular e intersticial, necrosis papilar renal, síndrome nefrótico e insuficiencia renal aguda. Se han descrito

reacciones de hipersensibilidad cruzada con otros antiinflamatorios no esteroides, como la aspirina y producción de crisis asmáticas.

### **Ketoprofeno**

El ketoprofeno es un AINE pertenece al grupo de los propiónicos que son ácidos que se introdujeron a finales de los años setenta, con una excelente actividad analgésica y su ventaja de poder ser administrada por vía parenteral en procesos dolorosos agudos de moderados a severos <sup>(9,18)</sup>. Son eficaces anti-inflamatorios y antipiréticos, modifican la función plaquetaria y el tiempo de sangrado. El ketoprofeno al igual que otros AINEs induce analgesia en animales y humanos con acciones a nivel periférico y central, es una mezcla racémica, compuesta por iguales cantidades de dos enantiómeros, R (-) y S (+), siendo su forma dextrorrotatoria (+) la molécula activa <sup>(29)</sup>, es uno de los inhibidores mas potentes de prostaglandinas *in Vitro*; este efecto es debido al enantiómero S (+) dexketoprofeno, mientras el enantiómero R (-) carece de esta actividad <sup>(30)</sup>. Los enantiómeros son moléculas que presentan una estructura espacial particular, denominada quiralidad. Esta es una característica de algunas moléculas, debida a la presencia de un átomo de carbono asimétrico, presentando la misma composición química pero diferente configuración tridimensional. Así,

pueden existir en el espacio en dos formas diferentes que son imágenes especulares entre sí y no superponibles, asimetría estereoquímica (Fig. 4). El enantiómero en que la dirección sigue las agujas del reloj se le asigna la letra R (*rectus*, derecha) y a aquel en que el orden es antihorario la letra S (*siniestra*, izquierda). Sabemos que la acción de los AINEs está dada por el bloqueo de las COXs, mediante una disposición espacial complementaria entre ellos. Esta unión provoca un cambio estructural en la enzima, inactivándola. Así, en los AINEs quirales, las COX sólo reaccionan con los enantiómeros que les son complementarios, los S (+), pues su forma R (-) es desprovista de tal actividad sobre su receptor específico <sup>(5, 31)</sup>.

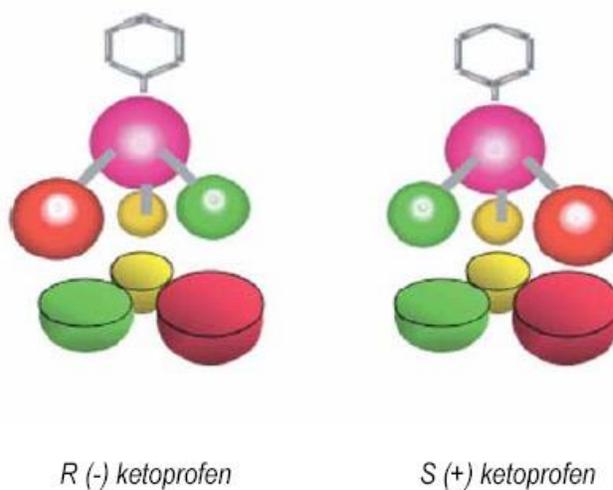


Figura 4: La imagen muestra la asimetría estereoquímica; formas diferentes que son imágenes especulares entre si y no superponibles.

### **Dexketoprofeno**

El dexketoprofeno es un enantiómero del ketoprofeno, ha sido clasificado como inhibidor preferencial de la COX-1 <sup>(6,32)</sup>. Tienen las mismas propiedades físicas y químicas, con la excepción de su interacción con la luz polarizada, siendo uno dextrógiro (S) – (+) y el otro levógiro (R)- (-). El uso de una droga enantioméricamente pura es justificado si proporciona una cierta ventaja clínica sobre el uso del racemato, como es este el caso. Además, enantiómero R (-) del ketoprofeno posee un bajo índice bioinversión a S (+) en los seres humanos (menor al 15%) <sup>(14,25)</sup>. La reciente utilización del dexketoprofeno, se encuadra en la tendencia actual hacia la sustitución de fármacos racémicos por sus formas enantioméricamente puras, con el fin de reducir las dosis del fármaco necesaria para alcanzar un efecto terapéutico determinado, e incrementar la potencia y seguridad del fármaco. La acción ulcerogénica del dexketoprofeno es muy baja; en concreto el número de lesiones provocadas por este compuesto es 5 veces menor que el debido al ácido racémico, considerando que el mayor inconveniente de este tipo de fármacos son las alteraciones del tracto gastrointestinal superior <sup>(30)</sup>.

### **Características farmacocinéticas del dexketoprofeno**

El dexketoprofeno administrado por vía oral se absorbe en el intestino delgado, el cual es convertido en sal aumentando su solubilidad, mejorando su perfil cinético. Estudios farmacocinéticos en voluntarios sanos, demostraron que este fármaco posee un rango de velocidad de absorción más alto que su forma ácida libre y que el racemato, lo que le permite en un corto tiempo, alcanzar la concentración plasmática máxima del dexketoprofeno trometamol con un tiempo máximo de 0.25 –0.75 hr, comparados con dexketoprofeno ácido (Tiempo máx. 0.5- 3. hr.) y ketoprofeno racémico (Tiempo máx.: 0.25- 3. hr.); las tres formas contenían cantidades equivalentes del enantiómero S (+). Estos valores para dexketoprofeno trometamol, generan un inicio en la analgesia más rápido y confiable, comparado con las otras formulaciones, considerado potencialmente útil en casos de dolor agudo <sup>(14)</sup>. En dosis mayores a 7 mg. dexketoprofeno fue significativamente superior a placebos en dolor moderado a severo <sup>(21)</sup>. La concentración máx. del enantiómero S (+) después de la administración del dexketoprofeno trometamol fue más alta y mejor tolerada; sin embargo, la biodisponibilidad relativa, fue similar para las tres formulaciones. En la relación dosis- respuesta se vio que la diferencia entre las dosis de 12.5 mg y de 25 mg, radicaba

en una mayor duración del efecto analgésico, más que a un aumento en su peak, por lo que se propone dosis de 25 mg. Así, en el ser humano, la biodisponibilidad relativa del dexketoprofeno trometamol, sal soluble, oral en dosis de 25 mg es similar a la del ketoprofeno racémico oral de 50 mg. <sup>(30)</sup>, este no se acumula en el tejido graso significativamente cuando se administra en dosis de 25 mg. 3 veces al día. Al ser ingerido con comida se reduce la tasa de absorción. Presenta una fuerte unión a proteínas plasmáticas, especialmente la albúmina, es metabolizado en el hígado y su excreción es renal, aproximadamente en 12 horas, sin presencia de la droga original en la orina <sup>(14,21,31)</sup>, atraviesa la barrera hematoencefálica, planteando un efecto analgésico a nivel central, distinto a la acción analgésica que puede ejercer en el sitio de la injuria <sup>(25)</sup>.

### **Indicación y eficacia analgésica**

El dexketoprofeno es indicado para el tratamiento del dolor agudo de leve a moderado en odontálgias, alivio del dolor postoperatorio en cirugía bucal y en afecciones músculo-esqueletales dolorosas como osteoartritis, esto es gracias a su rápida acción analgésica, potente acción antiinflamatoria y sus reducidos efectos secundarios <sup>(25)</sup>.

Al comparar dexketoprofeno trometamol con rofecobix no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, siendo eficientes analgésicos para el tratamiento del dolor pos operatorio en cirugías de extracción de terceros molares mandibulares, además ambos fueron bien tolerados <sup>(32)</sup>. El dexketoprofeno demostró ser tan efectivo como tramadol 50 mg durante los tres primeros días del post-operatorio en cirugía ortopédica <sup>(33)</sup>, comparado con Ibuprofeno de 600 mg, en el manejo del dolor post operatorio, luego de la exodoncia de terceros molares incluidos o semiincluidos, se comprobó que el dexketoprofeno es más efectivo en la primera hora tras la intervención y su duración analgésica es de 5.30 horas, mientras que la duración analgésica del Ibuprofeno es de 6 horas tras su administración <sup>(31)</sup>.

### **Interacción de fármacos**

La interacción farmacológica entre drogas se puede considerar desde el punto de vista farmacocinético o farmacodinámico, es por esto que, cuando dos drogas se administran en forma conjunta sus efectos pueden ser aditivos, sinérgicos o antagónicos. La interacción será sinérgica si el efecto es mayor que la suma de los efectos por separado de cada droga; es aditivo si el efecto es la suma de los efectos por

separado de cada droga; es antagónico si el efecto es menor que la suma de los efectos por separado de cada droga.

## **HIPÓTESIS**

La administración intraperitoneal de dexketoprofeno, produce actividad antinociceptiva, en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, que es modulado por el sistema colinérgico.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

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

### **Objetivos específicos**

Estudiar la antinocicepción inducida por la administración i.p. de dexketoprofeno en el test orofacial.

Estudiar el efecto modulador de los agentes colinérgicos: atropina y de neostigmina en la analgesia inducida por dexketoprofeno

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1 de 28 a 30 gr. de peso (Fig. 5), y habituados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación, la cual fue realizada de acuerdo al protocolo N° 238 FMUCH aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina (cada animal recibe solamente una dosis de las drogas, las observaciones fueron efectuadas en forma ciega, aleatoria y controladas con solución salina). Se deja constancia que, basándose en las normas éticas internacionales que rigen este tipo de experimentación, el número de animales utilizados será el mínimo estrictamente necesario, para un correcto análisis estadístico. Los animales se sacrificaron después del experimento mediante dislocación cervical, por personal experimentado.

### **Test de la formalina oro facial**

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva se utilizó el test algiesiométrico orofacial de la formalina <sup>(34,35)</sup> que permite medir dolor originado en la estimulación del nervio trigémino, uno de los nervios de mayor inervación del territorio máxilofacial. La respuesta es similar a la que se observa después de la inyección de formalina en la pata, es decir un comportamiento bifásico, con una primera fase algésica aguda

(fase I) luego un período quietud, seguido por una segunda fase tardía de dolor crónico (fase II). Se realizó una inyección subcutánea de 20  $\mu$ L de una solución de formalina al 5 % en el labio superior derecho del animal (Fig. 6), en la zona lateral a la nariz. Tras la aplicación de formalina aparecen respuestas conductuales, dirigidas hacia la zona de la injuria, produciendo un acicalamiento de la zona facial, manifestado como el rascado del área perinasal, un sostenido frotamiento de la zona inyectada, tanto con la pata delantera y trasera ipsilateral, como con las dos patas delanteras <sup>(34,35)</sup>. Luego, los ratones se colocan en un cilindro diseñado para la observación (Fig. 7) y se registró por medio de un cronómetro digital el tiempo total que se frotan el área perinasal durante los 5 minutos inmediatos a la inyección y que corresponde a la fase I debido a la activación de nociceptores que sigue a la injuria corrosiva que produce la formalina, luego un período quietud, seguido por la fase II a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30 minutos, el tiempo total durante el cual los animales se frotan el labio comprometido, debida a la organización de un foco inflamatorio en el sitio de la injuria y la sensibilización central y periférica que ello conlleva (Fig. 8). No se contabilizó el tiempo entre la fase algésica y la

inflamatoria, debido a que el ratón se encuentra en un período de quietud.



Figura 5: Ratones de la cepa C/F1



Figura 6: Inyección subcutánea de formalina.



Figura 7: Módulo de observación



Figura 8: Ratón con área inflamatoria perinasal después de la inyección subcutánea de formalina

Los resultados se expresaron como porcentaje de analgesia (% AN) en relación al máximo posible efecto (% MPE) de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\% \text{ AN} = 100 - [\text{TE} / \text{TC} \times 100]$$

**TE** = tiempo de rascado de los animales inyectados con droga.

**TC**= tiempo de rascado de los animales con solución salina fisiológica.

### **Evaluación de la analgesia**

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva, se construyeron curvas dosis-respuesta del AINE administrado por vía

i.p. disuelto en solución salina, con un mínimo de 6 animales por cada uno, de al menos 4 dosis logarítmicas diferentes y crecientes (3, 10, 30, y 100 mg/Kg.), en un volumen constante de 10 mL /Kg., 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, tiempo en que se alcanza el efecto analgésico máximo determinado por experimentos pilotos previos. Los animales controles, en número de 1 a 2 animales por cada grupo experimental, fueron inyectados con solución salina al 0.9%.

#### **Estudio de la modulación colinérgica**

A partir de la curva dosis-respuesta de dexketoprofeno, se calculó, por regresión lineal, la dosis que produjo un 50 % del MPE ( $DE_{50}$ ), la cual se utilizó para el estudio de la modulación colinérgica. Con este fin se pretrataron los animales con 0.1 y 1 mg/kg. de atropina o con 0.1 y 0.01 mg/kg. de neostigmina y se repitió las curvas dosis-respuesta a dexketoprofeno. Las dosis de atropina y de neostigmina utilizadas corresponden a las dosis históricas del Laboratorio de Neurofarmacología del Dolor de la Facultad de Medicina, donde se realizó este trabajo.

En el caso que la interacción moduladora es de naturaleza sinérgica, la curva dosis-respuesta del dexketoprofeno se desplazó hacia la

izquierda, con una consecuente disminución significativa del valor de  $DE_{50}$ . En el caso contrario, en una interacción antagónica, el desplazamiento es hacia la derecha, y existe un incremento significativo del valor de  $DE_{50}$ . Por último, no hay desplazamiento de la curva si no existe cambio significativo de  $DE_{50}$ , si la modulación es simplemente aditiva. Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  error estándar del promedio (SEM).

El análisis estadístico de los datos obtenidos y su valor significativo se determinó por análisis de varianza (ANOVA) y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

### 1.-Grupo control

Los animales inyectados con suero fisiológico por vía i.p. presentaron un comportamiento normal y un promedio de tiempo de frotamiento de  $133.7 \pm 4.7$  segundos (n=15) en la fase I y de  $163.2 \pm 4.4$  segundos (n=16) en la fase II. Ver figuras 9 y 10.

### 2.- Efecto antinociceptivo de atropina

Los animales inyectados con 0.1 mg/kg. de atropina por vía i.p. 30 minutos antes, no presentaron un comportamiento motor anormal, pero sí una disminución significativa del tiempo de frotamiento ( $83.50 \pm 5.91$  en la fase I, n= 6 y de  $92.20 \pm 10.73$  en la fase II, n= 6).

Ver figura 9 y 10.

### 3.- Efecto antinociceptivo de neostigmina

Los animales inyectados con 0.01 mg/kg. de neostigmina por vía i.p. 30 minutos antes, no presentaron un comportamiento anormal en su actividad motora pero si una significativa disminución del tiempo de frotamiento ( $60.67 \pm 6.04$ , en la fase I, n=6 y de  $118.40 \pm 12.73$ , en la fase II, n=6). En las figuras 9 y 10 se muestran los datos anteriormente señalados.

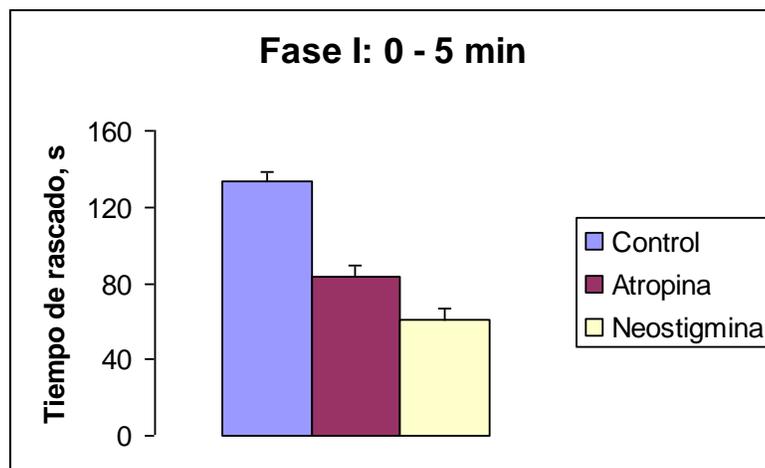


Figura 9: Histograma del tiempo total de rascado de grupo control, y de los grupos de ratones tratados con atropina, neostigmina, en el ensayo de la formalina orofacial en la fase I. Cada barra es el promedio, de al menos 6 animales, con sus respectivos SEM.

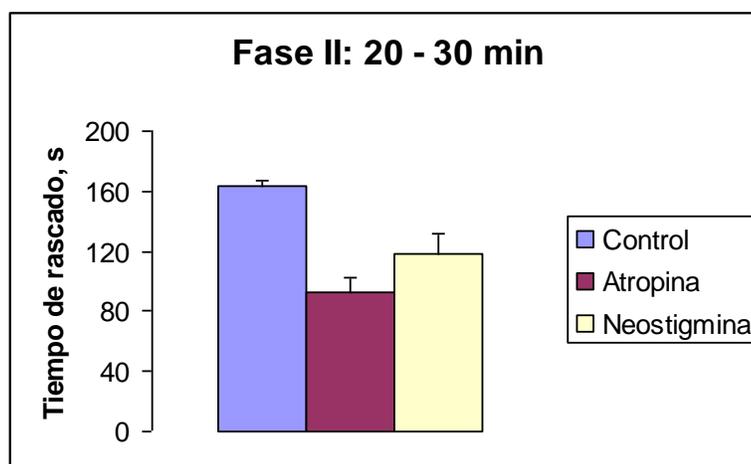


Figura 10: Histograma del tiempo total de rascado de grupo control, y de los grupos de ratones tratados con atropina, neostigmina. Cada barra es el promedio, de al menos 6 animales, con sus respectivos SEM.

#### **4.- Efecto antinociceptivo de dexketoprofeno**

Los animales inyectados con dexketoprofeno por vía i.p. 30 minutos antes presentaron una disminución del tiempo de frotamiento, de forma dosis dependiente. La ED<sub>50</sub> de dexketoprofeno por esta vía resultó ser de  $16,1 \pm 2,6$  mg/kg. en la fase I; y  $50,7 \pm 8,93$  mg/kg en la fase II. Como se muestra en las figuras 11 y 12.

#### **5.- Modulación del efecto antinociceptivo del dexketoprofeno por agentes colinérgicos**

El pretratamiento con atropina 0,1 mg/Kg. i.p., 30 minutos antes de la administración de DKP no produjo cambios significativos en el tiempo de rascado tanto en la fase I como en la fase II. La curva dosis-respuesta de dexketoprofeno obtenida después del pretratamiento con atropina, no presentó desplazamiento significativo con respecto a la curva dosis –respuesta inducida por dexketoprofeno solo. La ED<sub>50</sub> obtenida fue de  $14.07 \pm 0.7$  mg/kg. en la fase I y  $36,49 \pm 4,5$  mg/kg. en la fase II, valores que no son estadísticamente significativos con respecto al valor de la ED<sub>50</sub> dexketoprofeno control. Estos resultados se muestran en la figuras 11, 12, 13 y 14

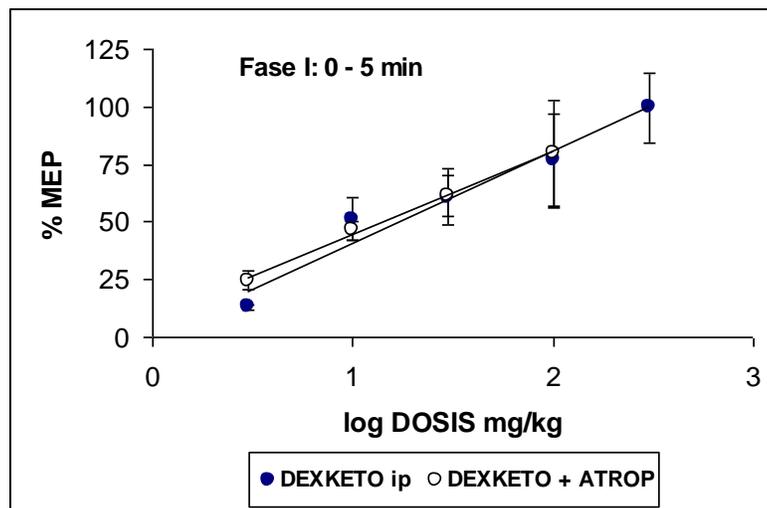


Figura 11: Curva dosis-respuesta a dexketoprofeno, en la fase I del ensayo de la formalina orofacial. (●) antes de atropina y (○) después del pretratamiento con 0,1 mg/Kg. de atropina. Cada punto representa el promedio de al menos 6 animales con sus respectivos SEM.

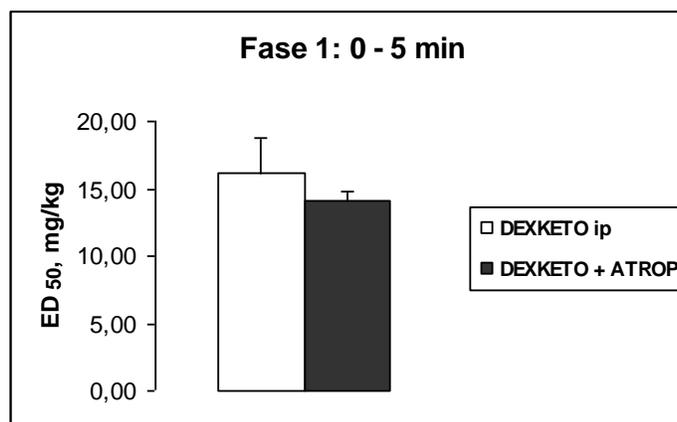


Figura 12: Histograma del efecto de atropina en la DE<sub>50</sub> (mg/kg.) del dexketoprofeno en el ensayo de la formalina orofacial en la fase I. Cada columna representa el promedio con su respectivo SEM, de al menos 6 animales.

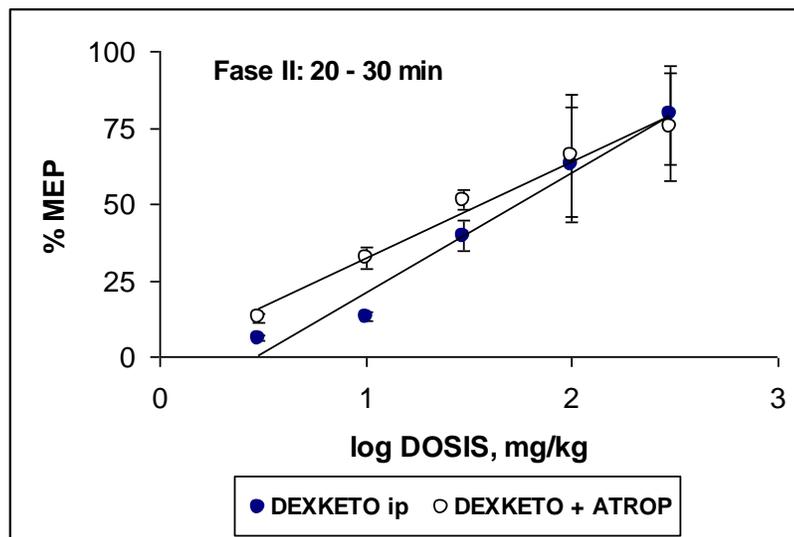


Figura 13: Curva dosis-respuesta a dexketoprofeno, en la fase II del ensayo de la formalina orofacial. (●) antes de atropina y (○) después del pretratamiento con 0,1 mg/Kg. de atropina. Cada punto representa el promedio de al menos 6 animales con sus respectivos SEM.

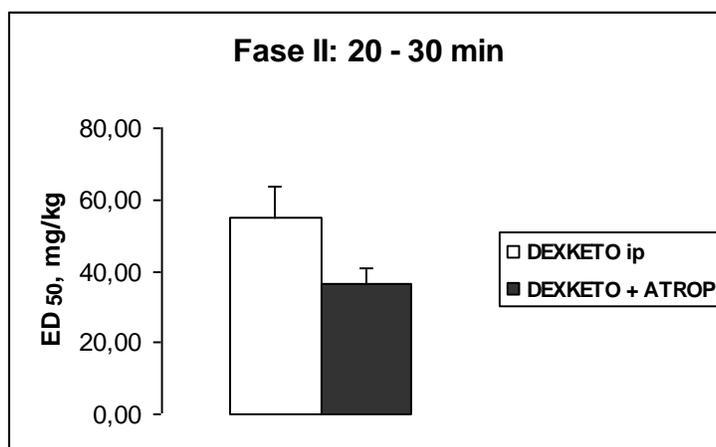


Figura 14: Histograma del efecto de 0.1 mg/kg. de atropina en la DE<sub>50</sub> (mg/kg.) del dexketoprofeno en el ensayo de la formalina orofacial en la fase II. Cada columna representa el promedio con su respectivo SEM, de al menos 6 animales

El pretratamiento con 0,01 mg/Kg. i.p. 30 minutos antes de neostigmina no produjo cambios en el tiempo de rascado en la fase I, evidenciado por una falta de desplazamiento de la curva dosis-respuesta y la ED<sub>50</sub> obtenida fue de  $21.79 \pm 2.5$  mg/kg. valor que no es estadísticamente significativo con respecto a la ED<sub>50</sub> de dexketoprofeno control ( $P < 0.05$ ). Estos resultados se muestran en las figuras 15 y 16.

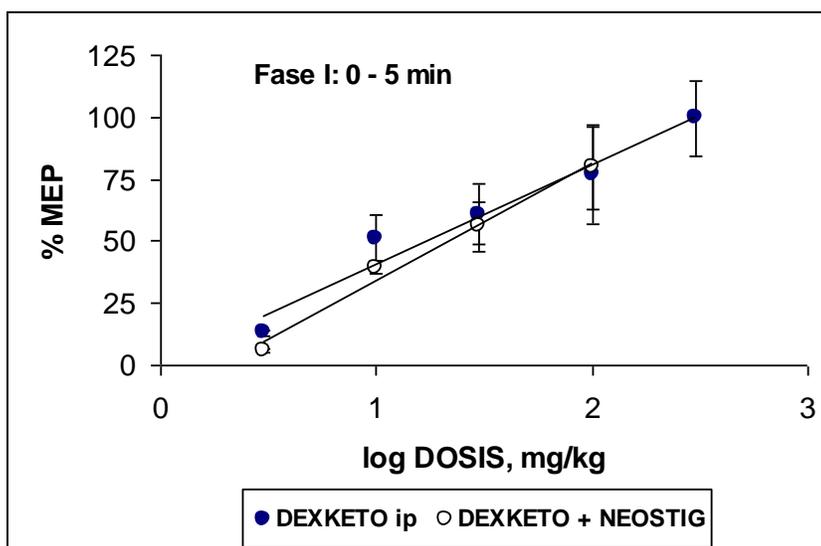


Figura 15: Curva dosis-respuesta a dexketoprofeno, en la fase I del ensayo de la formalina orofacial. (●) antes de neostigmina y (○) después del pretratamiento con 0,01 mg/Kg. de neostigmina. Cada punto representa el promedio de al menos 6 animales con sus respectivos SEM.

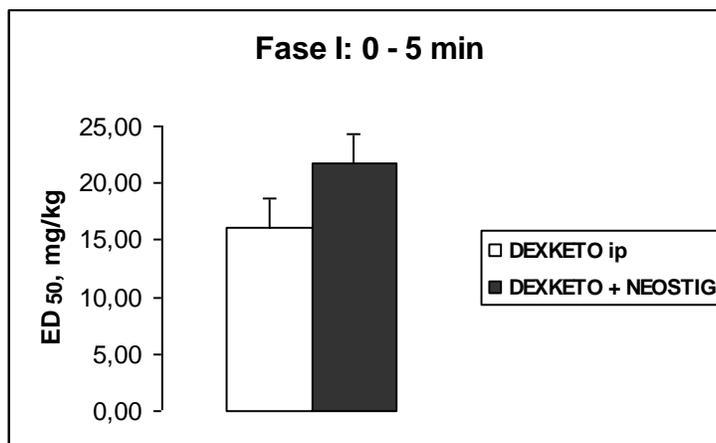


Figura 16: Histograma del efecto de 0.01 mg/kg. de neostigmina en la  $DE_{50}$  (mg/kg.) del dexketoprofeno en el ensayo de la formalina orofacial en la fase I. Cada columna representa el promedio con su respectivo SEM, de al menos 6 animales

Sin embargo, el pretratamiento con neostigmina, produjo un cambio significativo en el tiempo de rascado inducido por la administración orofacial de formalina en la fase II, ya que la curva dosis-respuesta del DXP se desplazó hacia la izquierda y se obtuvo una  $DE_{50}$  de  $10.52 \pm 2.7$  mg/kg. valor significativamente diferente con la  $ED_{50}$  de dexketoprofeno control ( $P < 0.05$ ). Estos resultados se muestran en la figuras 17 y 18.

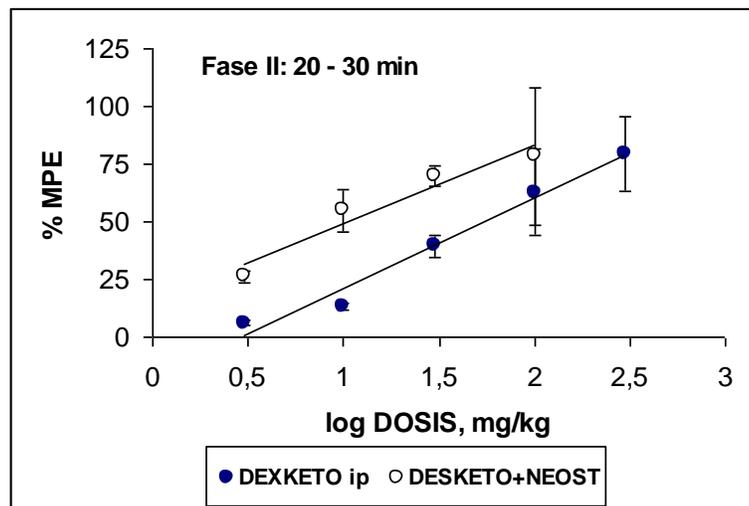


Figura 17: Curva dosis-respuesta a dexketoprofeno, en la fase II del ensayo de la formalina orofacial. (●) antes de neostigmina y (○) después del pretratamiento con 0,01 mg/Kg. de neostigmina. Cada punto representa el promedio de al menos 6 animales con sus respectivos SEM.

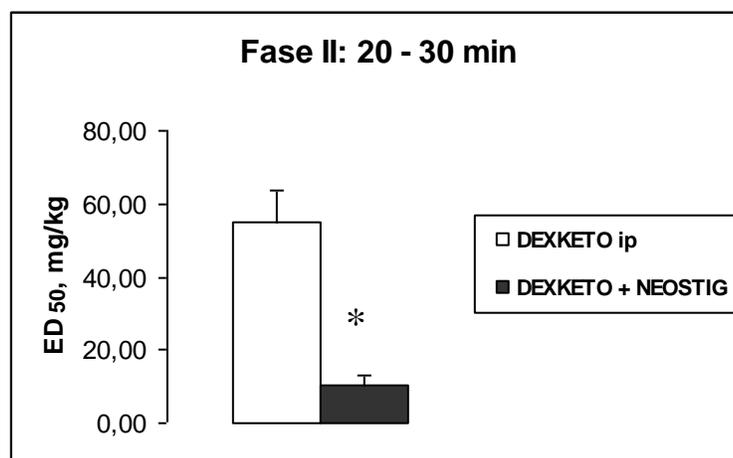


Figura 18: Histograma del efecto de 0.01 mg/kg. de neostigmina en la DE<sub>50</sub> (mg/kg.) del dexketoprofeno en el ensayo de la formalina orofacial en la fase II. Cada columna representa el promedio con su respectivo SEM, de al menos 6 animales. \* p<0.05.

## DISCUSIÓN

El estímulo químico aplicado (formalina), en este trabajo, se puede calificar como nocivo puesto que produce lesión del tejido, activa nociceptores  $A\delta$  y C así como las neuronas nociceptivas trigeminales espinales y percibido como doloroso en el hombre. La respuesta medida (frotamiento/rascado del área perinasal) es un parámetro relevante: el frotamiento prolongado de la cara es provocado por formalina pero no por la inyección con salino.

Por otro lado, en relación a los modelos de dolor animal preclínicos, el ensayo de la formalina es considerado uno de los que más se relaciona con el dolor clínico, si lo comparamos, por ejemplo, con el de la plancha caliente o el del movimiento de la cola. <sup>(28,36)</sup>. Además, la respuesta del comportamiento nociceptivo en la prueba orofacial del formalina es sensible a varios tipos de analgésicos. La prueba orofacial de formalina puede entonces ser considerada como una manera confiable de producir y de cuantificar el nocicepción en la región del trigeminal de la rata <sup>(35, 37)</sup>.

El presente trabajo que demuestra que la administración de dexketoprofeno produce actividad antinociceptiva en el test de la formalina orofacial, que concuerda con otros estudios que informan

similar actividad de los AINEs en diversos estudios algesiométricos utilizando animales de experimentación <sup>(31,26,27,38)</sup>. Este efecto analgésico podría ser debido a la actividad inhibitoria del dexketoprofeno sobre las COXs, preferentemente COX-1 <sup>(6)</sup>. Sin embargo, se ha demostrado que la actividad de los AINEs no puede ser explicada solamente por inhibición de las COXs. Existen evidencias que en el sistema nervioso central coexisten una variedad de mecanismos moduladores del dolor, y que éstos sistemas pueden ser modificados farmacológicamente <sup>(9)</sup>.

La falta de efecto de la atropina sobre la actividad del dexketoprofeno en ambas fases del ensayo, concuerda con lo descrito previamente, en que este antagonista puede producir tanto analgesia, hiperalgesia, o ningún efecto dependiendo del tipo de ensayo algesiométrico <sup>(12,13)</sup>. No obstante, el rol del sistema colinérgico ha sido descrito en los procesos nociceptivos y antinociceptivos <sup>(9)</sup>.

El rol controversial de la neostigmina sobre la acción analgésica del dexketoprofeno, es parcialmente concordante con lo reportado en la literatura <sup>(5,9,13)</sup>. La literatura asume que la actividad de la neostigmina está relacionada con el incremento de la acetilcolina en

la biofase y como ésta es mediadora en los procesos nociceptivos, la relación directa entre neostigmina y nocicepción es deducible en forma directa. Sin embargo, la falta de sinergismo en la Fase I es difícil de explicar, pero la interacción a nivel de la Fase II, es concordante con la teoría general de asociación de fármacos, ya que mientras neostigmina actúa a nivel de la vía colinérgica, dexketoprofeno tiene como mecanismo de acción principal la inhibición de COXs. Estos diferentes mecanismos cumplen con el prerrequisito de la sinergia: fármacos con diferentes mecanismos de acción <sup>(37)</sup>.

El hecho que la modulación de la analgesia del dexketoprofeno por neostigmina, no se realice a nivel de ambas fases del ensayo, sugiere que la vía colinérgica no es la única que modula la nocicepción trigeminal, lo que concuerda con los antecedentes de que los efectos antinociceptivos de los AINEs son modulados además por las vías adrenérgicas, serotoninérgicas, nitridérgicas, opioidérgicas, peptidérgicas, GABAérgica, etc. <sup>(9)</sup>.

El presente trabajo, permite concluir que la exploración de interacciones farmacológicas, evaluando cuidadosamente sus efectos colaterales puede contribuir en forma significativa a mejorar

las alternativas en analgesia polimodal, para el tratamiento farmacológico del dolor agudo postoperatorio, como también para el tratamiento del dolor crónico.

## CONCLUSIONES

- 1.- Dexketoprofeno produce actividad antinociceptiva de forma dosis-dependiente, administrado por vía intra peritoneal.
- 2.- Los agentes colinérgicos neostigmina y atropina producen actividad antinociceptiva al ser administrados por vía intra peritoneal
- 3.- La coadministración de dexketoprofeno con neostigmina i.p. produjo un incremento en la actividad antinociceptiva del AINE en la fase II, es decir, tienen un efecto sinérgico
- 4.- La coadministración de dexketoprofeno con neostigmina i.p. no produjo un incremento en la actividad antinociceptiva del AINE en la fase I
- 5.- La coadministración de dexketoprofeno con atropina i.p. no produjo cambio en la actividad antinociceptiva del AINE, en ninguna de las dos fases
- 6.- En el mecanismo de acción antinociceptivo de dexketoprofeno parece existir un componente neuromodulador colinérgico a nivel supraespinal
- 7.- Los hallazgos del presente trabajo permiten explorar vías alternativas para el tratamiento farmacológico del dolor.

## **SUGERENCIAS**

Se sugiere dilucidar las posibles interacciones con neuromoduladores y/o neurotransmisores, que pudieran ser sinergistas de la acción analgésica del dexketoprofeno para así disminuir los efectos adversos que poseen estos fármacos.

## RESUMEN

Los AINEs por sus efectos terapéuticos son uno de los grupos de fármacos más utilizados para el tratamiento del dolor, por esta razón, se han buscado nuevas moléculas con acciones más selectivas, o en asociaciones para disminuir las reacciones adversas que poseen este grupo de fármacos. El presente estudio se realizó con el fin de investigar la modulación colinérgica en la acción antinociceptiva de dexketoprofeno, en el test algesiométrico orofacial de la formalina. Se utilizaron ratones que fueron pretratados con atropina o neostigmina para estudiar el efecto modulador colinérgico en la analgesia inducida por dexketoprofeno. El análisis de la modulación se efectuó evaluando el desplazamiento de la curva dosis-respuesta del dexketoprofeno, y de los cambios de los valores de las  $DE_{50}$ . Se concluye que existe sólo una interacción sinérgica entre el dexketoprofeno y neostigmina. Este hallazgo podría ser de utilidad clínica por sus proyecciones en asociar analgésicos con estos inhibidores de la acetilcolinoesterasa, lo que permitiría obtener sinergismo analgésico, y ser útiles en el tratamiento farmacológico del dolor.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Busquets C, Ribera M. "Monografies Mediques. Unidades de dolor. Realidad hoy, reto para el futuro". Gispert S.A. Barcelona, España. 2002. 426 p. p 217- 250. Cap.19.
2. Ralph L. "Problems in Defining and Periferal Mechanism of Pain" JAVMA 191; 10 1195-99. 1987.
3. Sessle BJ. "Mechanisms of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates". J. Oral Rehabil. 33(4); p. 243–261. Apr 2006.
4. Ahmad M, Goucke C. "Management strategies for treatment of neuropathic pain in the ederly". Drugs Aging. 19(12): p. 929-945. 2002
5. Flores J, Armijo J.A., Mediavilla A. "Farmacología Humana". 4<sup>a</sup> Edición Masson S.A. Barcelona, España 2003; Cap. 20, p. 355-361; Cap. 22, p. 375- 385.
6. Barbanoj MJ."Clinical Pharmacokinetics of Dexketoprofen". Clin. Pharmacokinet. 40 (4): p. 245-262. 2001
7. McHugh JM, McHugh WB. "Pain: neuroanatomy, chemical mediators, and clinical implications". AACN Clin Issues.; 11(2): p. 168-78. May 2000.

8. Arzumanian V, Stankevičius E, Laukevičienė A, Kėvelaitis E. "Mechanisms of nitric oxide synthesis and action in cells". *Medicina*. 39(6) : p. 535- 541. 2003.
9. Furst S. "Transmitters involved in antinociception in the spinal cord". *Brain Res. Bull.* 48 (2) : p 129-141. 1999
10. Eisenach J.C. "Muscarinic- mediated analgesia". *Life Sci* 64 (6-7): p.549-554. 1999.
11. Naguib M. Yaksh T.L. "Antinociceptive effects of spinal cholinesterase inhibition and isobolographic analysis of the interaction with mu and alpha 2 receptor systems". *Anesthesiology* 80 (6): p. 1338-1348. June 1994.
12. Alexander SPH, Mathie A. & Peters J.A. "Guide to receptors and channels" *Br. J. Pharmacol.* 150 (1) : p. S1-S168. Feb 2007
13. Buerkle H, Boschin M, Marcus MA, Brodner G, Wüsten R, Van Aken H. "Central and peripheral analgesia mediated by acetylcholinesterase-inhibition in the rat inflamed knee joint model" *Anesth. Analg.* 86(5): p. 1027-1032.1998.
14. Martin T J. Eisenach J.C. " Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states" *J. Pharmacol. Exper. Ther.*, 299 (3): p. 811-817. Dec 2001.

- 15.** Christie MJ, Connor M, Vaughan CW, Ingram SL, Bagley EE. "Cellular actions of opioids and other analgesics: implications for synergism in pain relief " Clin. Exper. Pharmacol. Physiol.; 27 (7): p. 520-523. Jul 2000.
- 16.** Smith WL, DeWitt DL, Garavito RM. "Cyclooxygenases: Structural, Cellular, and Molecular". Biology Annu. Rev. Biochem. 69: p.145-182. 2000.
- 17.** Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL. "COX-3 cyclooxygenase -1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs; cloning, estructure and expression". Proc. Natl. Acad. Sci.; 99 (21): p. 13926-13931. Oct 2002.
- 18.** Warner TD, Mitchell JA. "Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic". FASEB J; 18 (7): p. 790-804. May 2004.
- 19.** Botting R. Tromb. "COX-1 and COX-3 inhibitors". Thromb Res. 110(5-6): p. 269-272. Jun 2003.
- 20.** Poveda R, Bagán JV, Jiménez Y, Gallud L. "Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs in dental practice". Med Oral Patol. Oral Cir Bucal 12: p.10-18. 2007.

- 21.** Lefkowitz JB. "Cyclooxygenase-2 specificity and its clinical implications". *Am. J. Med.* 106 (5B): p. 43S – 50S. May 1999.
- 22.** Willingale HL, Gardiner NJ, McLymont N, Giblett S, Grubb BD. "Prostanoids synthesized by cyclo-oxygenase isoforms in rat spinal cord and their contribution to the development of neuronal hyperexcitability". *Br. J. Pharmacol.* 122 (8): p.1593-1604, Dec 1997.
- 23.** Wallace J.L, "Distribution and expresión of cyclooxygenase isoenzymes their phisiological roles, and the categorization of nonsteroidal antiinflammatory drugs". *Am. J. Med.* 107 (6A): p. 11S-16S, Dec 1999.
- 24.** Jeske, AH, "COX-2 inhibitors and dental pain control". *J. Gt. Houst. Dent. Soc.* 71(4): p. 39-40. Nov 1999.
- 25.** Mazario J, Gaitan G, Herrero J. "Cyclooxygenase-1 vs. Cyclooxygenase-2 inhibitors in the induction of antinociception in rodent withdrawal reflexes". *Neuropharmacology* 40 (7): p. 937-946, June 2001.
- 26.** Miranda HF, Sierralta F, Pinaridi G. "An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception". *Anesth. Anal.* 93 (2): p.430-435. Aug 2001.

- 27.** Miranda HF, Sierralta F, Pinardi G. Neostigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs. *Br. J. Pharmacol.* 135 (7): p. 1591-1597. Apr 2002.
- 28.** Vane J. "Aspirin and other anti-inflammatory drugs". *Thorax*; 55 (2): p. 3-9. 2000.
- 29.** Hutt AJ, Tan SC. "La quiralidad de los elementos y su significación clínica". *Drugs* 52 (5): p.1-12. 1996
- 30.** Jiménez E, Gasco C, Arrieta JJ, Gómez J, Bartolomé B. "Estudio de la eficacia analgésica del dexketoprofeno trometamol 25 mg. vs. ibuprofeno 600 mg." *Med. Oral.* 9: p. 138-148. Apr 2004.
- 31.** Gaitan G, Herrero JF. "Subanalgesic doses of dexketoprofen and HCT-2037 (nitrodexketoprofen) enhance fentanyl antinociception in monoarthritic rats". *Pharmacol. Biochem Behav.* 80(2): p. 327–332. Feb. 2005.
- 32.** Jackson ID, Heidemann BH, Wilson J, Power I, Brown RD. "Double-blind, randomized, placebo-controlled trial comparing rofecoxib with dexketoprofen trometamol in surgical dentistry". *Br. J. Anaesthes* 92 (5): p. 675-680. May 2004

- 33.** Takemura M, Sugiyo S, Moritani M, Kobayashi M, Yonehara N. "Mechanisms of orofacial pain control in the central nervous system". *Arch Histol Cytol.* 69 (2): p. 79-100. Jun 2006.
- 34.** Raboisson P, Dallel R. "The orofacial formalin test". *Neurosci. Biobehav. Rev.* 28 (2): p. 219-226. Apr 2004.
- 35.** Luccarini P, Childeric A, Gaydier AM, Voisin D, Dallel R. "The Orofacial Formalin Test in the Mouse: A Behavioral Model for Studying Physiology and Modulation of Trigeminal Nociception". *J. Pain* 7 (12): p. 908-914. Dec 2006.
- 36.** Esplugues JV. "NO as a signalling molecule in the nervous system". *Br J Pharmacol.* 135 (5): p.1079 -1095. Mar 2002.
- 37.** Chou T-Ch. Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies. *Pharmacol. Rev.* 58(3) p 621-681, 2006.
- 38.** Miranda HF, Puig MM, Prieto JC, Pinardi G. "Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain". *Pain* 121(1-2): p. 22-28. Mar 2006.