

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

**PERFIL FARMACOLOGICO DEL DEXKETOPROFENO EN DOLOR AGUDO
EXPERIMENTAL VISCERAL**

Carlos Schneider Yáñez

TRABAJO DE INVESTIGACION
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO
DE CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Hugo Miranda G.

TUTOR ASOCIADO
Prof. Dr. Gianni Pinardi T.

Santiago – Chile
2006

**Dedicada a Mercedes y Rocio
por todo...**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que participaron en este trabajo de investigación:

A mi tutor principal Prof. Dr. Hugo Miranda G por su valiosa ayuda y guía para lograr este trabajo de investigación. Al Prof. Dr. Gianni Pinardi T por sus correcciones y sugerencias.

A Jose y Macaya por participar activamente en la realización de esta investigación, gracias por su paciencia.

Quiero agradecer también a los buenos compañeros de universidad por todas esas veladas de estudio y a mis grandes amigos Leonel, Geancarlo y Pancho por acompañarme durante la carrera y estos últimos años.

También quiero agradecer al Prof. Dr. Jorge Cabargas M por su apoyo y comprensión.

INDICE

INTRODUCCION	1
MARCO TEORICO	2
HIPÓTESIS.....	20
OBJETIVOS	21
MATERIAL Y MÉTODO	22
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES	34
SUGERENCIAS.....	35
RESUMEN.....	36
REFERENCIAS	37

INTRODUCCION

El dolor es uno de los síntomas más importantes en el proceso de enfermedad. Es considerado como una experiencia sensorial que vive el individuo de forma única. El ser humano siempre ha tratado de evitarlo, manejarlo y lograr finalmente suprimirlo, buscando diversas alternativas para controlar este medio adaptativo y de preservación del individuo que es el dolor.

El Odontólogo se ve enfrentado de forma diaria al fenómeno doloroso, debiendo ser capaz de diagnosticar y tratar a los pacientes frente a esta experiencia sensorial, es por esto que su conocimiento frente al dolor debe ser integral, logrando manejar de forma correcta los estímulos dolorosos.

Existe una gran cantidad de recursos para el tratamiento del dolor, dentro de esta gama de posibilidades el profesional de la salud debe ser capaz de tener una visión amplia e integradora para combatir los cuadros dolorosos, de manera de evitar caer en la rutina y en la mecanización de la prescripción farmacológica.

En la actualidad existe un amplio número de posibilidades farmacológicas para el manejo del dolor, sin embargo por muchos años han sido los AINEs los fármacos de elección en el tratamiento del dolor orofacial debido a sus propiedades analgésicas y mínimos efectos colaterales. El ketoprofeno es un analgésico muy usado en estomatología en el tratamiento del dolor leve a moderado, es una mezcla racémica de los enantiómeros *S* (+) y *R* (-), los cuales

tienen diferentes actividades biológicas. El dexketoprofeno es el isómero S (+) del racemato que constituye al ketoprofeno, el cual se desarrolló con el objetivo de disminuir la dosis requerida y eliminar los efectos secundarios de la otra fracción del racemato, el isómero R (-).

MARCO TEÓRICO

El dolor ha sido definido por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (I.A.S.P) como: “Una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño” (1). Los estímulos nociceptivos son aquellos que dañan un tejido normal desencadenando el mecanismo de la nocicepción, mecanismo que transmite estos estímulos al sistema nervioso central (SNC) el cual participa en la discriminación sensorial, ubicación topográfica y determinación de la duración e intensidad de este estímulo nociceptivo. En la actualidad entendemos el dolor como un fenómeno formado por tres componentes, un componente sensitivo que obedece al impulso periférico desencadenado, un componente cognitivo relacionado a su aprendizaje cultural y un componente afectivo que se relaciona con las emociones (1).

Fisiopatología del dolor

Para percibir el dolor es necesaria una estructura periférica que actúe como receptor, una sinapsis en la médula espinal, vías de conducción desde la médula espinal hasta los centros superiores y una vía descendente desde los centros

superiores de la médula, además de un centro de integración que involucra a las áreas superiores del sistema nervioso central.

Estructuras periféricas:

Los órganos sensitivos para la percepción del dolor son terminaciones nerviosas desnudas que se encuentran en casi todos los tejidos del organismo denominadas terminaciones nerviosas libres. Los impulsos dolorosos se transmiten al SNC por dos sistemas de fibras. Las fibras A δ , grupo de fibras mielinizadas y pequeñas que transmiten el estímulo de manera rápida y las fibras C, no mielinizadas de conducción a baja velocidad. Las fibras A δ y C terminan en neuronas de segundo orden en el cuerno dorsal de la médula espinal, donde los neurotransmisores secretados por las fibras aferentes primarias para la sensación dolorosa son: la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (1).

Estructuras centrales y vías del dolor:

Cuando las fibras nociceptivas A δ y C entran a la médula espinal hacen sinapsis en su asta posterior, desde allí una segunda neurona cruza la línea media y asciende a través del tracto espinotalámico lateral. Luego realiza una nueva sinapsis en el tálamo, específicamente en el núcleo ventro-pósterolateral. Desde allí sale una tercera neurona tálamocortical que terminará en la corteza

cerebral, específicamente en el homúnculo sensitivo; esta vía es conocida como el haz neoespinotalámico, produce un dolor agudo y de localización precisa ya que llega a la corteza e indica en forma somatotópica el tejido estimulado (1).

Existe otra vía, de conducción más lenta, la paleoespinotalámica, percibe dolor de naturaleza más difusa porque no llega a la corteza cerebral, desencadenando respuestas circulatorias, respiratorias y endocrinas, al comprometer al sistema límbico y al hipotálamo. Las fibras corticoespinales y el tracto rafeespinal son vías descendentes que modifican la actividad de todos los sistemas ascendentes, sus axones amielínicos bajan por el cordón posterolateral de la médula espinal y se postula que su neurotransmisor es la serotonina, logrando analgesia profunda al liberar péptidos opioides (2). El Glutamato y la sustancia P son 2 tipos de neurotransmisores secretados por las fibras C. El glutamato es el principal neurotransmisor excitatorio del SNC. La sustancia P es un neuropéptido de liberación lenta. Se cree que la doble sensación de dolor que se percibe después de un estímulo doloroso se debe a que el glutamato produce una sensación de dolor agudo, mientras que la sustancia P transmite una sensación en un momento más tardío (2).

Modulación del dolor

La posibilidad de controlar el ingreso de estímulos nociceptivos desde las estructuras centrales es conocida hace décadas. La estimulación eléctrica de la zona periacueductal o del núcleo del rafe bulbar, rico 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 el dolor y el estrés y provocar alguna modulación a nivel medular. Es importante considerar que existen sistemas inhibidores descendentes mediados por opioides y también por otros mediadores, entre los que destacan dos sistemas: uno mediado por noradrenalina y otro por serotonina (3).

La analgesia, que es definida como ausencia de dolor en respuesta a una estimulación que normalmente habría sido dolorosa, se puede producir desde el punto de vista farmacológico en 3 niveles distintos:

1.- A nivel de la conducción del estímulo doloroso:

Anestésicos locales: Fármacos que interrumpen la transmisión del impulso nervioso en forma reversible, con un periodo de acción de 2 – 16 horas. Ej: lidocaína y procaína (1).

Alcoholes y Fenoles: Sustancias que interrumpen la transmisión del impulso nervioso en forma prolongada, su periodo de acción es de 3 o más meses (4).

2.- A nivel central:

Mediante analgésicos que actúan a nivel del neuroeje como son los opioides. Actualmente estos fármacos son los más efectivos para la inhibición del dolor, pero su gran defecto son las reacciones adversas.

3.- A nivel periférico:

Representados por los analgésicos anti-inflamatorios no esteroidales (AINEs), que corresponden a fármacos que pueden ejercer un efecto anti-inflamatorio, analgésico y/o antipirético (1). Varias drogas inducen analgesia o antinocicepción por interferencia con las vías neuronales involucradas en la recepción y la transmisión desde la periferia hasta los más altos centros en el SNC. Varios receptores pueden modular la información nociceptiva, entre ellos α -adrenoreceptores, subtipos de receptores de serotonina: 5-HT₁, 5-HT₂ y 5-HT₃, receptores muscarínicos y receptores nicotínicos, todos ellos son

expresados pre y postsinápticamente en neuronas a nivel espinal y supraespinal. (1,2).

Existe una gran variedad de agentes capaces de producir un poderoso y selectivo efecto en la inhibición de la neurotransmisión dolorosa. Entre ellos podemos mencionar los fármacos α -adrenérgicos, serotonérgicos, colinérgicos, nitridérgicos, antidepresivos, antiepilépticos, anestésicos locales, cannabinoides, anti-inflamatorios no esteroidales y opioides.(1,2,3,5).

Analgésicos- antiinflamatorios no esteroidales

Los analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) son un grupo farmacológico muy heterogéneo que tienen en común su mecanismo de acción, caracterizado por inhibir la síntesis de prostaglandinas las cuales se liberan cuando hay daño tisular, ejerciendo un efecto en la sensibilización de los nociceptores como también en la mediación de procesos de inflamación, fiebre e interferencia en los mecanismos de agregación plaquetaria (6).

Clasificación de los AINEs

Los AINEs pueden ser clasificados según estructura química, de acuerdo al siguiente esquema modificado de Warner y Mitchell (6):

- a. Derivados del ácido salicílico, Salicilatos: *Aspirina, diflunisal*.
- b. Derivados del para-aminofenol, anílicos: *Acetaminofeno (paracetamol)*
- c. Derivados pirazolónicos: *Metamizol; fenilbutazona*

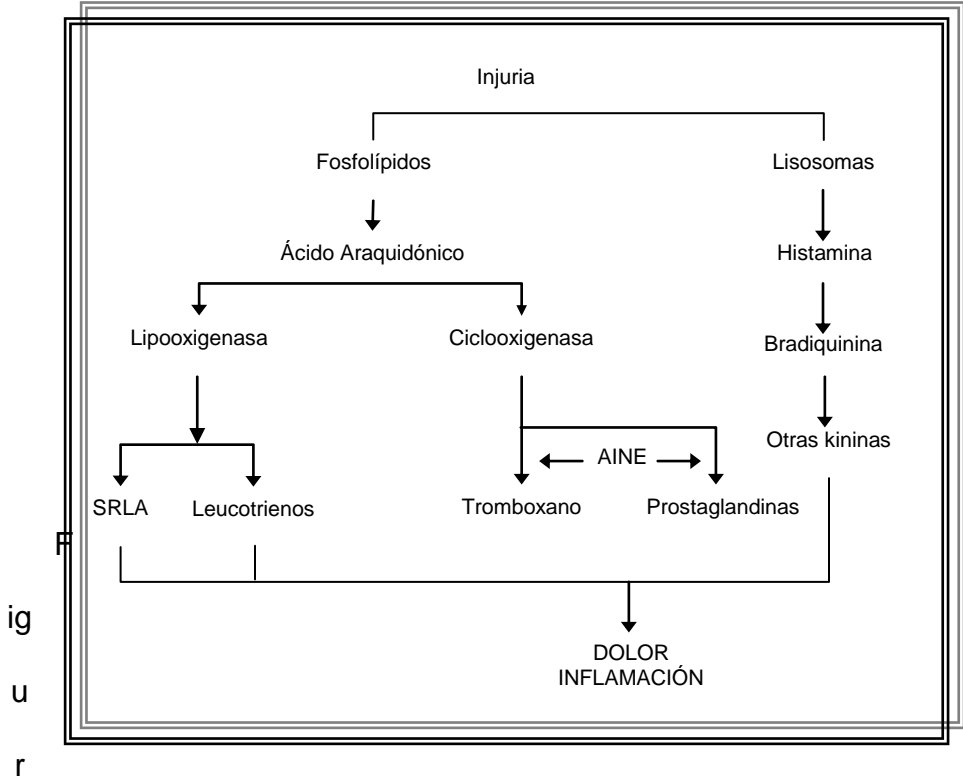
- d. Derivados del ácido acético: *Diclofenaco; ketorolaco*
- e. Derivados de ácidos antralínicos, fenamatos: *Ácido mefenámico, clonixinato de lisina*
- f. Derivados enólicos: *Piroxicam, tenoxicam, meloxicam*
- g. Metanosulfonamidas: *Nimesulida*
- h. Derivados del ácido propiónico: *Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprosina*
- i. Alcanonas: *Nabumetona*
- j. Coxib: *celecoxib, lumiracoxib*

Mecanismo de acción de los AINEs

Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs) impidiendo la síntesis de eicosanoides a partir del ácido araquidónico, el que se libera de los fosfolípidos de membrana por acción de las fosfolipasas (6).

Cuando se produce destrucción celular, la ruptura de membranas celulares libera fosfolípidos y lisosomas. Esta liberación de lisosomas determina la aparición de mediadores como histamina y bradiquinina. Por otra parte, cuando una noxa injuria un tejido se activa la enzima fosfolipasa A₂ (FLA₂) que

hidroliza el enlace éster de los fosfolípidos de membrana con la liberación de ácido araquidónico. El ácido araquidónico puede seguir dos vías; la vía de la ciclooxigenasa o la vía de la lipooxigenasa (LOX).



a 1: Mecanismo de acción de los AINEs

Las ciclooxigenasas generan importantes mediadores de la inflamación, estos son prostaglandinas y tromboxanos. En la vía de la lipooxigenasa se producen leucotrienos, sustancias hipersensibilizantes y vasoconstrictoras con efecto quimiotáctico sobre eosinófilos, neutrófilos y macrófagos (3,6). Los antiinflamatorios no esteroideos inhiben la enzima ciclooxigenasa y la producción de prostaglandinas, pero no suprimen la formación de leucotrienos (6).

La COX-1 y COX-2 son las dos isoformas de la enzima ciclooxigenasa. La COX-1 se expresa de forma constitutiva en la mayoría de los tejidos (mucosa gástrica, plaquetas y riñones) y es responsable de la síntesis de prostaglandinas (PG) con función protectora de la mucosa gástrica (citoprotectoras) regulando también la función renal y la actividad plaquetaria. La COX-2 (principal isoenzima asociada a la inflamación) se expresa en forma constitutiva en el sistema nervioso central, riñón y aparato reproductor. Esta isoforma se induce por estímulos inflamatorios, producidos por macrófagos, monocitos y células endoteliales, donde se generan prostaglandinas que median el dolor y la inflamación (6).

La actividad antiinflamatoria de los AINEs se ejerce principalmente a través de la inhibición de las ciclooxigenasas. La inhibición de la COX-1 sería la responsable de los efectos adversos de los AINEs clásicos sobre la mucosa gastrointestinal, mientras que sus beneficios terapéuticos dependerían de la

inhibición de la COX-2 (6). Los AINEs inhiben tanto la COX-1 como la COX-2, es por esto que las líneas de investigación apuntan a lograr fármacos altamente selectivos por la COX-2, y por lo tanto, con mínimo efecto sobre la COX-1 (3,6).

Existen diversos estudios experimentales que intentan diferenciar el efecto analgésico y antiinflamatorio de cada AINE en función de la dosis necesaria para conseguir cada uno de ellos. El efecto analgésico de un AINE puede ser medido por la “prueba de las contorsiones inducidas” por ácido acético en el ratón. En esta prueba se inyecta una dosis conocida de irritante (ácido acético) en el abdomen del ratón produciendo en él una serie de espasmos. La administración de diversas dosis de diferentes AINEs produce una inhibición dosis dependiente de las contorsiones abdominales. El efecto antiinflamatorio de un AINE se puede medir mediante la “prueba del edema plantar de carragenina” en la rata. Esta sustancia inyectada en la almohadilla plantar de una extremidad de la rata produce una gran inflamación medible por pletismografía (diferencial del volumen de líquido que desplaza la extremidad sumergida antes o después de inyectar la carragenina). La administración de varias dosis de AINEs inhibe este efecto inflamatorio. Con este tipo de pruebas se ha demostrado que los AINEs presentan diferente selectividad por los efectos analgésicos y antiinflamatorios (7).

Dexketoprofeno

El dexketoprofeno es el ácido S (+)-2(3-benzoilfenil) propiónico o enantiómero S (+) del ketoprofeno (8). Las líneas de investigación del ketoprofeno se enmarcan dentro de la tendencia actual hacia la sustitución de fármacos racémicos por una fórmula enantioméricamente pura, con el objetivo de reducir la dosis de fármaco necesaria para lograr un determinado efecto terapéutico mejorando la potencia y seguridad del fármaco (9).

La mayoría de las moléculas de nuestro cuerpo y muchos principios activos están formados por compuestos quirales, es decir, pueden existir en el espacio dos formas diferentes que son imágenes especulares entre sí, no superponibles. A cada una de estas estructuras espaciales que presentan una simetría especular se les denomina isómeros ópticos. Los isómeros en un comienzo fueron nombrados como “*d*” (por derecha o “dexter”) y “*l*” (por “leavo”, izquierda en griego). Esta denominación con letras está relacionada simplemente con la dirección de la rotación de la luz polarizada, denominando como rotación (+) cuando era hacia la derecha y (-) cuando la rotación era hacia la izquierda. El enantiómero en que la dirección o el orden de los radicales de mayor a menor peso atómico sigue las agujas del reloj se le asigna la letra “*R*” (de “*rectus*”, derecha) y aquel en que el orden de sus radicales es antihorario se les denominó

como “S” (por “*siniestra*”, izquierda), estos pares de isómeros opuestos son referidos como enantiómeros, del griego “*enantios*”, opuestos (9)

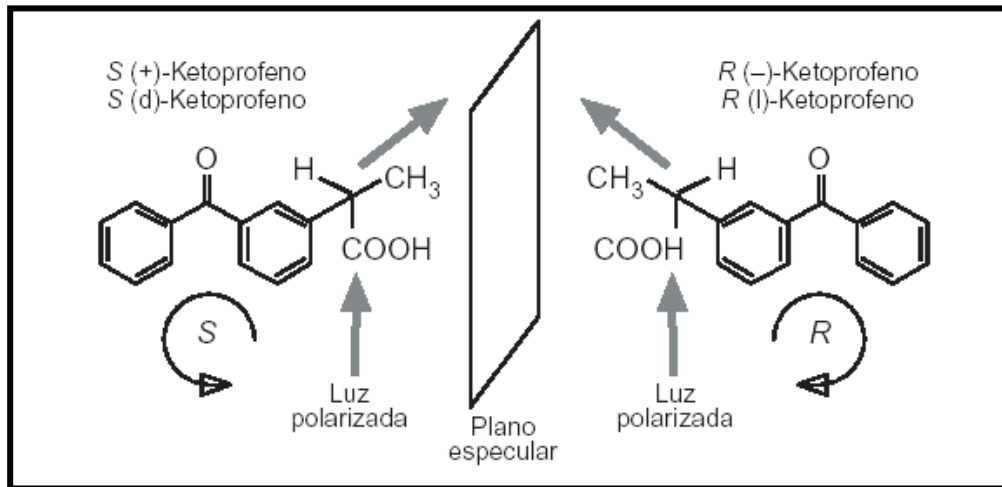


Figura 2: Nomenclatura de los enantiómeros del ketoprofen

En las síntesis química de los analgésicos se producen numerosos AINEs quirales, estos fármacos suelen utilizarse como mezclas racémicas, las cuales contienen 50% de cada enantiómero.

R (-) ketoprofen

S (+) ketoprofen

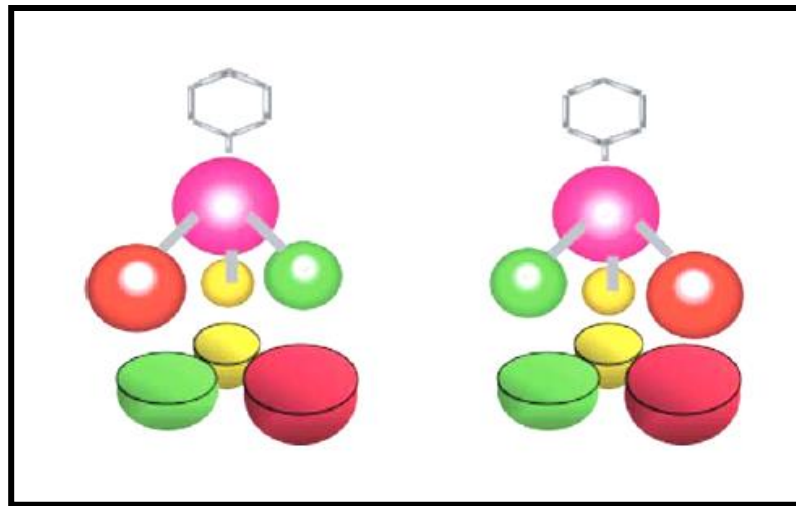


Figura 3: Unión a receptor específico. Este es el caso de los AINEs y las dos formas de la ciclooxigenasa, la cual puede ser bloqueada por solo uno de los enantiómeros, el S (+).

En el caso de los AINEs quirales, solo el enantiómero S (+) es capaz de bloquear la acción de ambas ciclooxigenasas y por tanto en él reside la actividad farmacológica del ketoprofeno (10). Por el contrario el enantiómero R

(-) carece de actividad terapéutica frente a esta enzima. Existe en la naturaleza un fenómeno llamado inversión enantomérica. Ha sido demostrado *in vivo* que estos componentes sufren una inversión quiral metabólica estereoespecífica, unidireccional desde su forma inactiva *R* (-) a su forma farmacológicamente activa *S* (+). El dexketoprofeno trometamol es una sal tanto hidrosoluble como liposoluble. Su solubilidad en agua asegura una rápida disolución en el fluido intestinal. La liposolubilidad ayuda a acelerar la absorción a través de membranas biológicas, ya que al estar las células intestinales compuestas por una doble membrana lipídica, la droga atraviesa las membranas fácilmente sin necesidad de transporte activo (2). Posee una rápida penetración en el SNC a través de la barrera hematoencefálica y posiblemente actúa a nivel de la médula espinal y del tálamo. A través de técnicas autoradiográficas se estudió la distribución de dexketoprofeno marcado con carbono 14 en ratas, después de ser administrado por vía oral. A los 20 minutos, los tejidos del SNC, incluyendo el cerebro y la médula espinal contenían cantidades de radioactividad indicativas de una concentración de la droga suficiente para inhibir la síntesis de prostaglandinas. Esto plantea la posibilidad de un efecto analgésico central, distinto a la acción analgésica periférica (9,11). El dexketoprofeno administrado por vía oral se absorbe muy rápidamente en el intestino delgado (12). La preparación como sal trometamínica posee un rango

de absorción más alto que su forma ácida libre y que el racemato. Una dosis de 25 mg alcanza la máxima concentración plasmática en 0.25-0.75 h (t_{max}), mientras que el ketoprofeno original con una dosis mayor, de 50 mg, demora entre 0.5-3 h en alcanzar su (t_{max}) (24). Su concentración plasmática máxima (C_{max}) es de 3.1 mg/l. Se une en alto porcentaje a proteínas plasmáticas (99%). Es metabolizado en el hígado, utilizando la enzimas del citocromo P450. La droga tiene un alto número de metabolitos, principalmente derivados hidroxilos, los cuales se eliminan de forma rápida y completa. En humanos la principal vía de excreción es renal (aproximadamente 70-80 % en 12 horas). No se encuentra su presencia en la orina como forma original. El dexketoprofeno es usado ampliamente para el tratamiento del dolor leve a moderado en odontalgia, dolor post-operatorio en cirugía bucal, afecciones musculoesqueléticas dolorosas como osteoartritis. Su principal ventaja es su velocidad analgésica y potente actividad antiinflamatoria. En diversos estudios clínicos ha demostrado tener mayor efecto analgésico que ibuprofeno a altas dosis y efecto analgésico similar a tramadol (12,13). Dexketoprofeno ha demostrado tener un perfil de seguridad similar o mejor que tramadol y diclofenaco. Su rápida absorción ofrece alguna protección frente a complicaciones gastrointestinales provocadas por irritación directa de la mucosa gástrica independiente de la inhibición de la COX-1 (14).

Oxido Nítrico

El óxido nítrico (NO) es un gas considerado funcionalmente como un radical libre con efecto en la relajación vascular y como inhibidor de la agregación plaquetaria y adhesión de los neutrófilos. Proveniente del nitrógeno terminal de la L-arginina, su síntesis es catalizada por las enzimas óxido nítrico sintasas (NOS). Se han caracterizado tres diferentes isoformas de esta enzima de acuerdo al origen celular y características bioquímicas. Dos enzimas constitutivas (cNOS), una de origen neuronal (nNOS) o tipo 1 y otra endotelial (eNOS) o tipo 3 y una tercera inducible (iNOS) o tipo 2 (15). La actividad de las dos enzimas constitutivas produce NO en pequeñas cantidades y por corto tiempo. La NOS tipo 2 no se encuentra expresada; para hacerlo necesita un estímulo inmunológico/inflamatorio, esta enzima es independiente de calcio y produce NO en cantidades mayores por períodos prolongados (15). El NO difunde fácilmente a los tejidos vecinos, donde se une a la guanilato ciclasa soluble para activarla y catalizar la transformación de GTP en GMPc (15).

El NO en el SNC participa en la coordinación de la actividad neuronal, el débito sanguíneo y la modulación del dolor. Trabajos experimentales establecieron que la acetilcolina, sustancia que estimula la liberación de NO constitutivo, antagoniza la hiperalgesia inducida en ratas por PGE₂, así como en

las contorsiones inducidas por ácido acético (16). Estos efectos son bloqueados por un inhibidor de GMPc, lo que sugiere que el efecto antinociceptivo del NO es mediado a través de la estimulación de GMPc, además durante la inflamación experimental inducida por carreginina, la administración local de L-arginina (precursor de NO) produce antinocicepción (16,17). Otros estudios recientes dirigidos a estudiar la vía NO-GMPc en pacientes con dolor asociado a diferentes enfermedades, obtuvieron resultados que demuestran una absoluta inconsistencia, ya que se encuentran aumentadas las cantidades de NO en pacientes con enfermedades lumbodegenerativas y con osteoartritis témporomandibular (18). Estas inconsistencias podrían deberse a la complejidad de los procesos envueltos en la regulación del dolor. Distintos resultados clínicos y experimentales sugieren que el NO no tiene una participación importante como mediador del dolor bajo condiciones fisiológicas por producción de las NOS constitutivas. La sobreproducción de NO pasa a tener un papel importante en la hiperalgesia inducida por la propia lesión tisular así como por estímulos químicos. Es en esta última en que los inhibidores de la síntesis de NO suprimen la hiperalgesia resultante. Se ha demostrado que las concentraciones de la NOS aumentan notablemente en diferentes modelos animales de dolor (19,20)

L-NAME

La inhibición de la óxido nítrico sintasa (NOS) puede realizarse mediante sustancias análogas a la L-Arginina como son N^G-metil-L-arginina (L-NMMA), N^G-nitro-L-arginina (L-NNA) y N^G-nitro-L-arginina-metilester (L-NAME) que inhiben a las tres isoenzimas con diferente intensidad.

Se ha reportado que el NO juega un rol nociceptivo y antinociceptivo en los tejidos periféricos en donde se encuentra esta vía. Inhibidores de la NOS han demostrado ejercer un efecto antinociceptivo y nociceptivo en modelos animales. Así, se ha demostrado que el tratamiento intratecal con inhibidores de la NOS como el L-NAME en concentraciones que bloquean por completo la producción de NO antagonizan significativamente el dolor en animales (15).

Antagonistas opioides

Los analgésicos opioides actúan activando receptores de tres tipos: MOR , KOR y DOR, que corresponden a los que se denominaban μ , κ y δ , los cuales se encuentran distribuidos en el sistema nervioso central y periférico, especialmente en zonas relacionadas con la transmisión del dolor (21).

Naltrexona (NTX)

Es un antagonista no selectivo de los receptores opioides, derivado directo de la morfina, tiene mayor afinidad por el receptor MOR, por lo tanto, revierte todos los efectos producidos por los fármacos opioides debido a la activación de receptores de subtipo μ . Se usa principalmente en el tratamiento por intoxicación inducida por los opioides y el alcohol. Su mayor eficacia se encuentra a nivel oral. Algunos estudios *in vitro* y en animales sugieren que la administración de bajas dosis de antagonistas opioides, como naltrexona asociada a opioides, mejora el efecto analgésico de estos, lo que se debería a que la naltrexona sería capaz de bloquear los receptores con carácter excitatorio, permitiendo una mejor respuesta analgésica al opioide y reduciendo los efectos secundarios (21,22).

Naltrindol (NTI)

Fue identificado en los años ochenta como el primer componente no peptídico que mostró un antagonismo preferencial por los receptores DOR-opioide, ejerciendo un efecto similar al de la naltrexona, pero con mayor

selectividad. Por esta razón se ha encontrado que este fármaco posee efectos moduladores antinociceptivos (21,23).

Nor-BNI

Nor-binaltorphimine (Nor-BNI) es un antagonista opioide a nivel de los receptores KOR, que se caracteriza por ser altamente selectivo, se ha utilizado para demostrar que los receptores kappa –opioide ubicados en la médula espinal son más importantes que los ubicados supraespinal, para la analgesia mediada por receptores KOR y agentes farmacológicos relacionados (21,23,24).

Risperidona

En las pasadas tres décadas los antidepresivos heterocíclicos han asumido un importante rol en el tratamiento de los pacientes con un gran variedad de dolorosas enfermedades. Aunque los efectos antinociceptivos de los neurolépticos en modelos de dolor animal (debido a una propiedad relajante muscular) han sido descritos, su uso clínico es limitado debido a que es frecuentemente complicado por los efectos colaterales extrapiramidales. La risperidona es un derivado benzisoxazole, la primera de una nueva clase de drogas desarrolladas para el tratamiento de la esquizofrenia, llamados

neurolépticos atípicos. La risperidona tiene potente actividad bloqueadora dopaminérgica D_2 y $5-HT_2$, así como una moderada afinidad por receptores adrenérgicos α_1 y α_2 y receptores histamina (25). Este perfil farmacológico único que combina antagonismo D_2 y $5-HT_2$, es la razón para los moderados efectos secundarios. Se ha encontrado que risperidona posee un potente efecto antinociceptivo, que está modulada por receptores opioides, así nor-BNI revierte completamente el efecto antinociceptivo de risperidona y de forma parcial lo hace naltrindol, de esta manera risperidona además jugaría un importante rol en el manejo del dolor y en la desintoxicación por opioides (25).

Serotonina

La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) es una importante amina de origen biológico que cumple un doble rol de neurotransmisor y neuromodulador. Se encuentra en altas concentraciones en plaquetas, células enterocromafines y en ciertas regiones del cerebro (27). Los receptores de serotonina comprenden 7 grupos ($5-HT_{1-7}$) y 14 subgrupos, entre ellos el receptor $5-HT_3$ ocupa un lugar especial. Los receptores $5-HT_3$ se encuentran exclusivamente en neuronas, centrales y periféricas. En la periferia estos receptores se encuentran en neuronas autónomas pre y post ganglionares y en neuronas del

sistema nervioso entérico. A nivel central se ha encontrado una alta densidad de estos receptores en el área postrema, el núcleo del tracto solitario, núcleo dorsal del nervio vago, núcleo caudado, amígdala, hipocampo, etc. Por lo tanto, se encuentran localizados en regiones que involucran entre otras cosas, el reflejo del vómito y los procesos de dolor (28).

Tropisetron

Tropisetron es un antagonista de receptores 5-HT₃, se ha utilizado ampliamente para caracterizar la actividad de estos receptores, es considerado un compuesto altamente selectivo, el que induce un bloqueo competitivo completo de los receptores centrales y periféricos 5-HT. Se ha utilizado exitosamente para la disminución del dolor y el tratamiento de síntomas relacionados a la fibromialgia (29).

HIPOTESIS

La administración de dexketoprofeno induce actividad analgésica en el ensayo algesiométrico visceral agudo que es modulada por el sistema opioide, serotoninérgico y nitridérgico.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la actividad antinociceptiva de dexketoprofeno en el ensayo algesiométrico experimental de las contorsiones abdominales y estudiar la participación del sistema opioide, serotoninérgico y de la vía NO-GMPc en dicha actividad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal (i.p) de dexketoprofeno en el test de las contorsiones.
2. Estudiar la participación del sistema opioide en la actividad de dexketoprofeno en el mismo modelo algesiométrico.
3. Evaluar en el ensayo citado el efecto modulador de la vía NO-GMP cíclico en la actividad de dexketoprofeno.
4. Estudiar la participación del sistema serotoninérgico en la antinocicepción inducida por el AINE ya mencionado.

MATERIAL Y MÉTODO

Animales y Drogas

En el estudio fueron usados 150 ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) machos y hembras con un peso de 28 a 30 gramos, los que fueron aclimatados al ambiente de laboratorio (22-24°C) dos horas antes de la experimentación y de acuerdo al protocolo aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (N°131), donde cada animal fue seleccionado de manera aleatoria, recibiendo solamente una dosis de las drogas estudiadas. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después del experimento mediante dislocación cervical.

Las drogas administradas fueron L-NAME, naltrexona, naltrindol, Nor-BNI, risperidona, tropisetron y dexketoprofeno, los que se administraron intraperitonealmente (i.p), 30 ó 60 minutos antes del ensayo algesiométrico, dependiendo de la droga, con el objetivo de lograr el efecto analgésico máximo. Los animales usados como grupo control fueron tratados con suero salino i.p. realizándose esto en dos ejemplares de cada grupo experimental. Todas las observaciones fueron realizadas de forma randomizada y ciega.

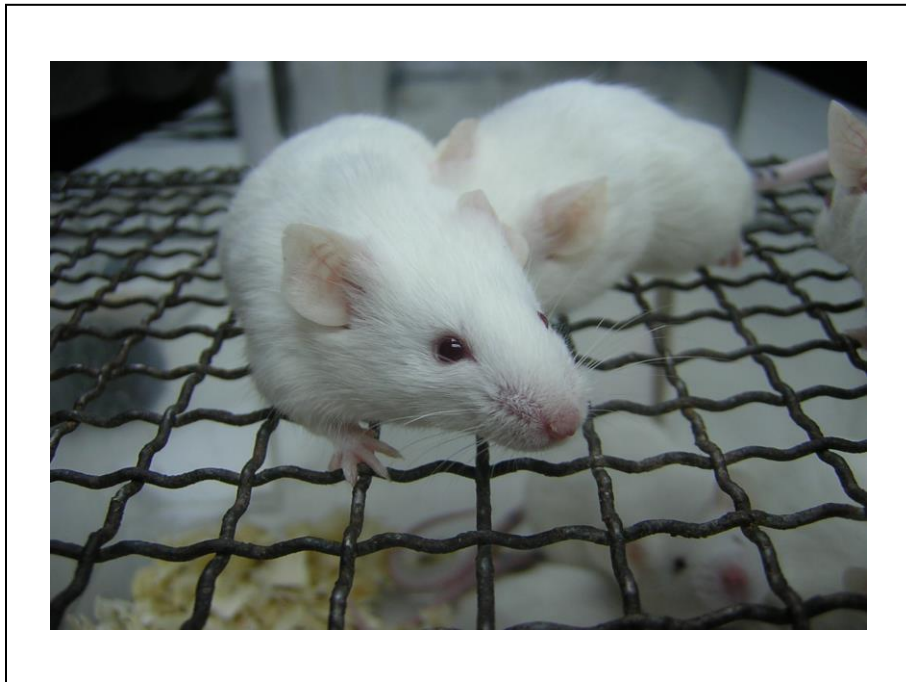


Figura 4: fotografía de los ratones de la cepa CF/1, *Mus musculus*.



Método de las contorsiones abdominales o writhing test

El método algiesiométrico realizado fue el writhing test o test de las contorsiones abdominales, en el cual se utiliza un estímulo nociceptivo de tipo químico irritativo. Este test consiste en la inyección intraperitoneal de 10 mL/ kg de solución de ácido acético al 0.6%, el que desencadena un dolor de tipo visceral. La forma de medir este test es contando el número de contorsiones que presenta el animal durante un período de 5 minutos, a partir de los 5 minutos post inyección de la solución de ácido acético. Una contorsión se define como una contracción de los músculos abdominales acompañado de la elongación del cuerpo y la extensión de una o ambas extremidades posteriores (30) Ver figura 5. Los resultados fueron expresados como porcentaje de antinocicepción (%AN) de acuerdo con la siguiente fórmula:

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

donde:

WE = número de contorsiones de los animales inyectados con droga, y

WC = número de contorsiones en los animales inyectados con salino
(controles)

Pretratamiento

El pretratamiento se realizó para observar si existe alguna modificación de la actividad antinociceptiva del dexketoprofeno asociado a L-NAME, naltrexona, naltrindol, Nor-BNI, risperidona y tropisetron.

El análisis estadístico de los datos obtenidos, expresados como promedio \pm SEM (error estándar del promedio) y la significación estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Grupo control

La administración de 10 ml/kg de solución fisiológica vía i.p., 30 minutos antes del estímulo nociceptivo (ácido acético al 0.6%), produjo $19.8 \pm 0,3$ contorsiones, (n= 40). Ver Tabla 1.

Grupos Control de antagonistas

L-NAME.

Se administrará L-NAME intraperitoneal 30 minutos antes del ácido acético, L-NAME 5mg/kg, i.p. logrando un $56,2 \pm 11,2$ % de antinocicepción, como se indica en Tabla 1.

Antagonistas opioides

Se administró naltrexona 1mg/kg, i.p. y se produjo $15,1 \pm 1,7\%$ de antinocicepción .Ver tabla 1.

La administración de naltrindol 1mg/kg, i.p. indujo un $31,2 \pm 3\%$ de actividad antinociceptiva, como se muestra en la Tabla 1.

También se administró Nor-BNI 0,5 mg/kg, i.p., obteniéndose un $57,0 \pm 7,3\%$ de antinocicepción, como se observa en la Tabla 1.

Risperidona.

En este grupo se administró 0.01 mg/kg i.p., dosis que produjo un 29.1 ± 1.38 % de antinocicepción. Ver Tabla 1.

Tropisetron.

Se administró 0,1mg/Kg de tropisetron generando un porcentaje de antinocicepción de $51,1 \pm 6,5\%$. Ver Tabla 1.

Tabla 1.-

Efecto antinociceptivo de diferentes antagonistas en el test de las contorsiones

Tratamiento	Dosis	% Antinocicepción
L-NAME	5 mg/kg	56.2 ± 11.2
NALTREXONA	1 mg/kg	15.1 ± 1.7
NALTRINDOL	1 mg/kg	31.2 ± 3.0
NOR-BNI	0.5 mg/kg	57.0 ± 7.3
RISPERIDONA	0.01 mg/kg	29.1 ± 1.38
TROPISETRON	0.1 mg/kg	51.1 ± 6.5

Los valores representan el promedio de al menos 6 animales con sus respectivos SEM

Grupo tratado con Dexketoprofeno.

La administración de 3, 10, 30 y 100 mg /Kg de dexketoprofeno i.p., en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales, produjo una actividad analgésica dosis-dependiente, como se observa en la figura 6.

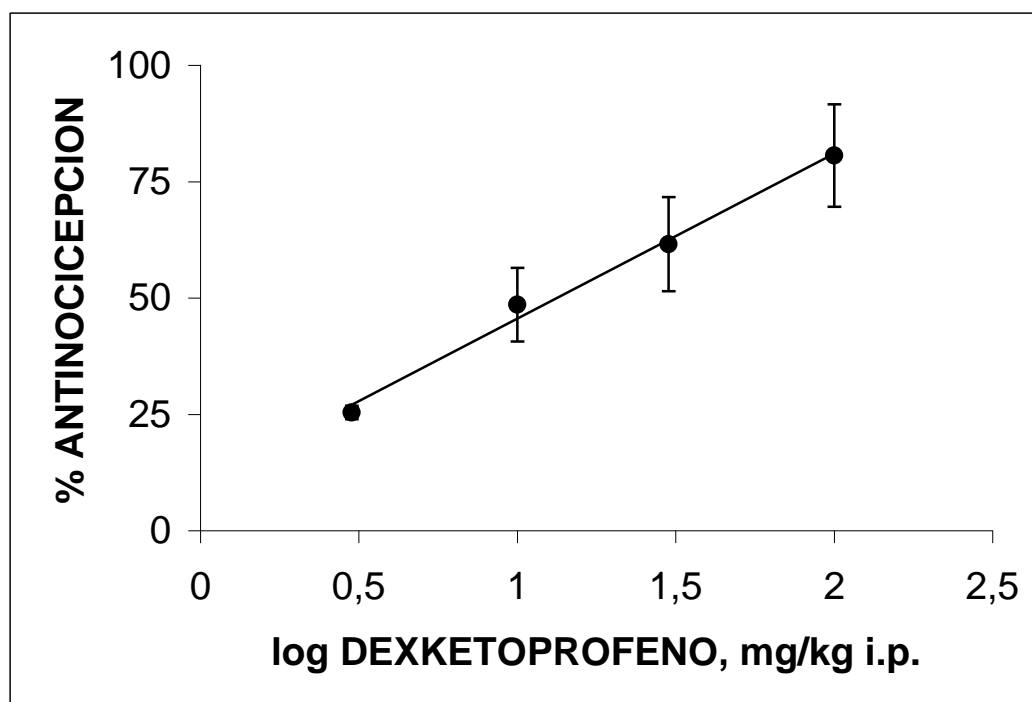


Figura 6. Curva dosis-respuesta a dexketoprofeno en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético.

De esta curva, construida por análisis de regresión lineal de los puntos experimentales, se determinó la DE50 del dexketoprofeno que resultó ser $13.3 \pm$

1.4 mg/kg., correspondiente a 8.83 ± 0.4 contorsiones y un $55.3 \pm 2,5$ % de analgesia.

Dexketoprofeno con L-NAME 5

Al administrar 5 mg/kg i.p. de L-NAME, 30 minutos antes de la administración de la DE50 de dexketoprofeno, se generan $3,0 \pm 0,73$ contorsiones abdominales, que corresponden a $84,8 \pm 20,6$ % de antinocicepción. Resultado que es estadísticamente significativo en comparación al la DE50 de dexketoprofeno ($p < 0.05$). Estos resultados se grafica en la figura 8.

Dexketoprofeno con naltrexona.

Se administró naltrexona 1mg/kg 30 minutos antes de la administración i.p. de dexketoprofeno 13,3 mg/Kg, logrando $1,83 \pm 0,7$ contorsiones abdominales, lo que representa un porcentaje de antinocicepción de $90,7 \pm 34,7\%$, que es significativamente mayor que la actividad de la DE50 de dexketoprofeno ($p < 0.05$). Ver figura 7.

Dexketoprofeno con naltrindol.

Se administró naltrindol 1mg/kg, 30 minutos antes de la administración intraperitoneal de dexketoprofeno 13,3 mg/kg, logrando $6,00 \pm 1,39$ contorsiones abdominales, logrando una antinocicepción de $69,6 \pm 16\%$. Figura 7.

Dexketoprofeno con Nor-BNI.

Se administró Nor-BNI 0,5mg/kg, 60 minutos antes de la administración i.p. de dexketoprofeno 13,3 mg/Kg, logrando $8,8 \pm 0,8$ contorsiones abdominales, que corresponde a un porcentaje de antinocicepción de $55,5 \pm 5 \%$, que no es significativamente diferente al efecto de la DE50 de dexketoprofeno ($p > 0,05$).
Figura 7.

Dexketoprofeno con tropisetron.

Se administró tropisetron 0,1mg/Kg 30 minutos antes de la administración i.p. de dexketoprofeno 13,3 mg/Kg, logrando $6,5 \pm 1,31$ contorsiones abdominales, esto es un porcentaje de antinocicepción de $67,1 \pm 13,5\%$, que al compararse con la DE50 de dexketoprofeno solo no es significativo ($p > 0,05$).
Figura 8.

Dexketoprofeno con risperidona.

Se administró risperidona 0,01mg/Kg 30 minutos antes de la administración i.p. de dexketoprofeno 13,3 mg/Kg, logrando $7,2 \pm 1,07$ contorsiones abdominales, esto significa un porcentaje de antinocicepción de $63,6 \pm 9,4\%$ que tiene un $p > 0,05$ comparado con la actividad de la DE50 de dexketoprofeno. Ver Figura 8.

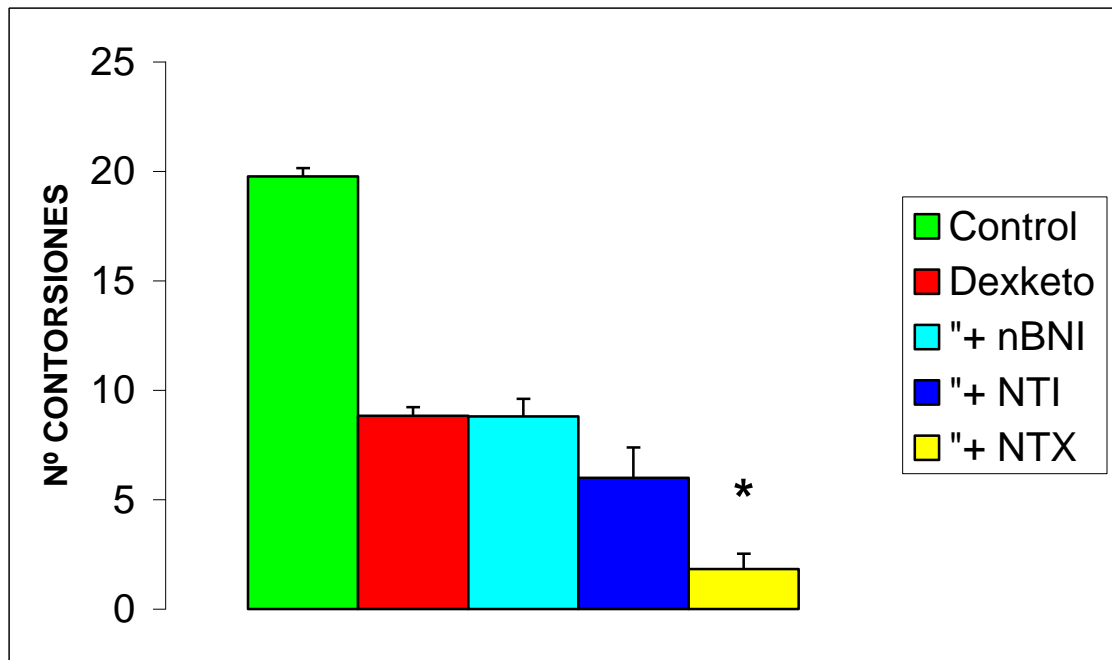


Fig. 7. Histograma del efecto antinociceptivo de Dexketoprofeno en el test de las contorsiones, Dexketoprofeno, Dexketo +NorBNI, (nBNI), desketo + naltrindol (NTI), desketo + naltrexona (NTX).

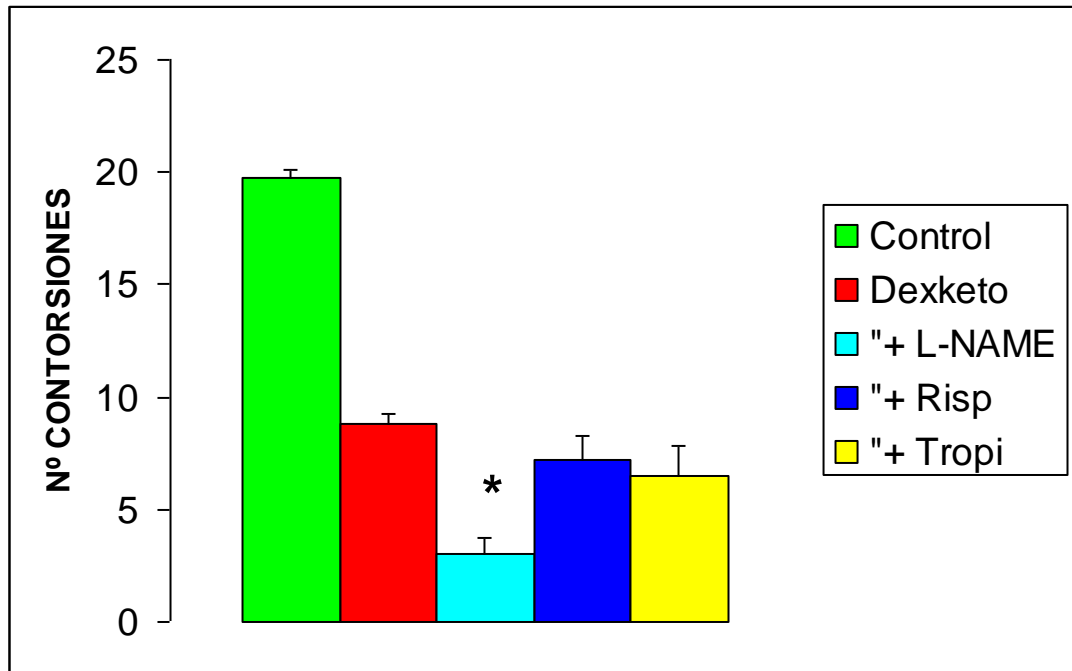


Fig. 8. Histograma del efecto antinociceptivo de Dexketoprofeno en el test de las contorsiones. Dexketoprofeno, Dexketo + L-NAME, dexketo + risperidona, dexketo + tropisetron.

DISCUSION

En este trabajo se demuestra que la administración i.p. de dexketoprofeno produce una actividad antinociceptiva dosis dependiente en el test de las contorsiones abdominales inducidas por la administración de una solución de ácido acético al 0.6 %, ensayo conocido también como writhing test. La potencia relativa del dexketoprofeno resultó ser 2.3 veces mayor que la reportada para el ketoprofeno en el mismo ensayo (30). Este resultado es concordante con la hipótesis que propone que la actividad de los AINEs quirales radica principalmente en el enantiómero S(+) (9).

El incremento de la actividad antinociceptiva del dexketoprofeno por efecto del pretratamiento con L-NAME, concuerda con resultados previos que sugieren que el NO posee un rol pronociceptivo (15,16,31), lo que podría deberse a que la inhibición de las enzimas NOS, al disminuir el nivel de NO, ejercerían su acción analgésica (31). Hay que mencionar que la literatura muestra resultados contradictorios respecto del rol que ejerce la vía NO-GMP_c en la nocicepción, las diferencias podrían radicar en los protocolos experimentales, las vías de administración y la especie utilizada (15,19, 20).

Por otra parte, el significativo aumento de la actividad analgésica del dexketoprofeno, inducido por el pretratamiento con naltrexona, un antagonista

no selectivo de los receptores opioides, podría explicarse por el antecedente de que en ciertas condiciones de concentración los antagonistas opioides como la naltrexona, pueden actuar bloqueando a nivel presináptico la autoinhibición de la liberación de opioides endógenos, con lo cual se produce en el canal sináptico una acumulación de ellos y por consiguiente una liberación exagerada que produce un incremento en la actividad antinociceptiva del dexketoprofeno (22).

El efecto incrementador de la analgesia del dexketoprofeno por acción de L-NAME y naltrexona, podría tal vez explicarse como un nuevo modelo de sinergismo farmacológico, ya que los fármacos cumplen con la condición de producir analgesia por distintos mecanismos.

En relación a la falta de efecto de naltrindol, Nor-BNI, tropisetron y risperidona en la actividad antinociceptiva del dexketoprofeno, son difíciles de explicar, sin embargo hay que tener presente que en la modulación de los efectos nociceptivos intervienen la vía opioide (21-24), participa la vía serotoninérgica (27-29) y vías mixtas opioide-serotoninérgica-dopaminérgica-histaminérgica- adrenérgica (25-26). Por ello, a pesar de que individualmente naltrindol, Nor-BNI, tropisetron y risperidona, produzcan marcados efectos antinociceptivos, su modulación sobre la actividad de dexketoprofeno no alcanza a ser cooperativa, por lo que no se origina un efecto de tipo "sinérgico".

En conclusión, el presente trabajo demuestra que la actividad antinociceptiva del dexketoprofeno tiene una modulación diferencial a cargo de la vía opioide y la vía nitridérgica.

CONCLUSIONES

- El dexketoprofeno produce antonicepción dosis-dependiente al ser administrado por vía i.p. en el test de las contorsiones.
- La potencia relativa de dexketoprofeno es superior a la del ketoprofeno.
- El pretratamiento con L-NAME o con naltrexona incrementa en forma significativa la efectividad de la DE50 de dexketoprofeno.
- La administración de naltrindol, Nor-BNI, risperidona, o tropisetron, no modifican el efecto analgésico de la DE50 de dexketoprofeno.
- Los resultados de este estudio sugieren una modulación opioide y nitridérgica diferencial en la actividad de este isómero del ketoprofeno.

SUGERENCIAS

El presente estudio demuestra que la actividad antinociceptiva del isómero (S)+ del ketoprofeno, dexketoprofeno, es modulada por los sistemas opioides y NO-GMP_c. Para complementar el estudio se sugiere:

1. Evaluar la analgesia del dexketoprofeno en otros modelos algesiométricos.
2. Estudiar la analgesia del dexketoprofeno y su modificación por distintos antagonistas de receptores que modulan la nocicepción.

RESUMEN

En este estudio, se investigó la actividad antinociceptiva del isómero S (+) del ketoprofeno, el dexketoprofeno.

Esta investigación se realizó mediante el writhing test o test de las contorsiones abdominales. Se utilizaron 150 ratones de la cepa CF-1 *Mus musculus*, que fueron inyectados intraperitonealmente con 10ml/kg de ácido acético al 0,6%, lo que genera un estímulo de tipo irritativo en el ratón desencadenando una serie de contorsiones abdominales. Para determinar la actividad analgésica del dexketoprofeno, este se inyectó 30 minutos antes de la administración i.p. del ácido acético, logrando disminuir considerablemente el número de contorsiones abdominales, es decir, logrando un efecto antinociceptivo.

Además, se evaluó la participación de los sistemas opioide, nitridérgico y serotoninérgico en la modulación de la actividad antinociceptiva del dexketoprofeno por medio de la inyección intraperitoneal de los fármacos L-NAME, naltrexona, naltrindol, Nor-BNI, risperidona y tropisetron como pretratamiento farmacológico a dexketoprofeno.

Los resultados demostraron que la modulación del dexketoprofeno por L-NAME y naltrexona aumenta considerablemente el efecto antinociceptivo de

este isómero, por lo que la modulación de la vía nitridérgica y opioide es significativa.

REFERENCIAS

1. Flores J, Armijo J, Mediavilla A. Farmacología humana. Editorial Masson, España, 1998.
2. Fürst, S. "Transmitters involved in antinocicepción in the spinal cord". Brain Res. Bull. 48: 129-141, 1999.
3. Cashman JN. The mechanism of action of NSAIDs in analgesia. Drugs 52 (suppl):13-23, 1996.
4. Guirimald F. Recent data on the physiology of pain. Nephrologie. 7:401-407, 2003.
5. Caterina MJ, Julius D. A molecular identity for nociceptors. Curr. Opin. Neurobiol. 9:525-530, 1999.
6. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. FASEB J.18: 790-804, 2004.
7. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. Pharmacol Rev. 53: 597-652, 2001.
8. Cooper SA, Reynolds DC, Hersh EV. Analgesic Efficacy and Safety of (R) - Ketoprofen in Postoperative Dental Pain. J Clin Pharmacol. 38:11s-18s, 1998.

9. Sweetman BJ. Development and use of the quick acting chiral NSAID dexketoprofen trometamol (keral). *Acute Pain*. 4:109-115, 2003.
10. McGurk M, Robinson P, Rajayogeswaran V, De Luca M, Casini A, Artigas R, Muñoz G, Mauleón D. Clinical Comparison of dexketoprofen trometamol, Ketoprofen, and placebo in postoperative dental pain. *J Clin Pharmacol*. 38: 46s-54s, 1998.
11. Carabaza A, Cabre F, García AM, Rotllan E, García ML, Mauleón D. Stereoselective inhibition of rat brain cyclooxygenase by dexketoprofeno. *Chirality*. 9: 281-285, 1997.
12. Jiménez E, Gasco C, Arrieta JJ, Gómez del Torno J, Bartolomé B. Estudio de la eficacia analgésica del Dexketoprofeno trometamol 25 mg. vs. Ibuprofeno 600 mg, tras su administración oral en pacientes sometidos a una intervención quirúrgica oral. *Med Oral*. 9: 38-148, 2004.
13. Burke D, Bannister J. Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management. *Acute Pain*. 5: 57-62, 2003.
14. Marengo J.L., Perez M, Navarro F.J. A multicentre randomised double blind study to compare dexketoprofeno trometamol versus diclofenal in the symptomatic treatment of knee osteoarthritis. *Clin. Drug Invest*. 19: 247-256, 2000.

15. Esplugues J, NO as a signaling molecule in the nervous system. *Brit J Pharmacol.* 135:1079-95.2002.
16. Duarte IDG, Ferreira SH. The molecular mechanism of central analgesia induced by morphine or carbachol and the L-arginine-Nitric oxide-cGMP pathway. *Eur J Pharmacol*; 217:225-7.1992.
17. Trudrung P, Wirth U, Mense S., Changes in the number of nitric oxide-synthesizing neuronas on both sides of a chronic transection of the rat spinal cord. *Neurosci Lett.* Jun 23; 287(2):125-8. 2000.
18. Takahashi T, Kondoh T, Otan M. Association between arthroscopic diagnosis of temporomandibular joint osteoarthritis and synovial fluid nitric oxide levels. *Oral surg oral med oral pathol oral radiol Endod*; 88: 129-36. 1999.
19. Callsen-Cencic P, Haheisel U, Kaske A. The controversy about spinal neuronal nitric oxide synthase under wich conditions is up-or downregulated?. *Cell tissue Res*; 295: 183-94. 1999.
20. Hobbs AJ, Higos A, Moncad S. Inhibition of nitric oxide synthase as a potencial therapeutic target. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*;39:191-220. 1999.
21. Waldhoer M, Bartlett SE, Whistler JL. Opioid Receptors. *Annu Rev Biochem.* 73:953-990. 2004.

22. Gourlay GK. Advances in opioid pharmacology. *Support Care Cancer* 13:153-9. 2005.
23. Portoghese PS, Nagase H, Lipkowski AW, Larson DL, Takemori AE. Binaltorphimine-related bivalent ligands and their kappa opioid receptor antagonist selectivity. *J. Med Chem.* 31(4):836-41. 1988.
24. Takemori AE, Ho BY, Naeseth JS, Portoghese PS. Nor-binaltorphimine, a highly selective kappa-opioid antagonist in analgesic and receptor binding assays. *J Pharmacol Exp Ther.* 246(1):255-8. 1988.
25. Schreiber S, Backer MM, Weizman R, Pick CG. Augmentation of opioid induced antinociception by the atypical antipsychotic drug risperidone in mice. *Neurosc Lett.* 228:25-8. 1997.
26. Weizman T, Pick CG, Backer MM, Rigai T, Bloch M, Schreiber S. The antinociceptive effect of amisulpride in mice is mediated through opioid mechanisms. *Eur J Pharmacol.* 478:155-9. 2003.
27. Haus U, Spâth M, Fârber L. spectrum of use and tolerability of 5-HT₃ receptor antagonists, *Scand J Rheumatol.*; 33:12-18. 2004.
28. Wolf H. preclinical and clinical pharmacology of the 5-HT₃ receptor antagonists. *Scand J Rheumatol.* 29 (113):37-45. 2000.
29. Riering K, Rewerts C, Zieglgânsberger W. Analgesic effects of 5-HT₃ receptor antagonists. *Scand J Rheumatol*; 33:19-23. 2004.

30. Miranda H, Puig MM, Prieto JC, Pinaridi G. Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain. *Pain*. 121: 22-28. 2006.
31. Lin Q et al. Nitric oxide-mediated spinal disinhibition contributes to sensitization of primate spinothalamic tract neurons. *J Neurophysiol*; 81: 1086- 94. 1999.