

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE NEUROFARMACOLOGIA

PERFIL FARMACOLÓGICO DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA DEL MELOXICAM EN
DOLOR AGUDO EXPERIMENTAL VISCERAL

Arturo Besa Alonso

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR
AL TÍTULO DE CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Hugo Miranda G.

TUTOR ASOCIADO
Prof. Dr. Gianni Pinardi T.

SANTIAGO – CHILE
2006

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE NEUROFARMACOLOGÍA

PERFIL FARMACOLÓGICO DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA DEL MELOXICAM EN
DOLOR AGUDO EXPERIMENTAL VISCERAL

Arturo Besa Alonso

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR
AL TÍTULO DE CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Hugo Miranda G.

TUTOR ASOCIADO
Prof. Dr. Gianni Pinardi T.

SANTIAGO – CHILE
2006

INDICE	Pagina
Introducción	1
Marco Teórico	2
Hipótesis	18
Objetivo general	19
Objetivos específicos	19
Materiales y Método	19
Resultados	22
Discusión	27
Conclusiones	29
Resumen	31
Sugerencias	32
Bibliografía	33

INTRODUCCIÓN

El dolor ha sido definido por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), como: "una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño". El dolor es principalmente un mecanismo que sirve para proteger al organismo: aparece siempre que ha sido lesionado cualquier tejido y hace que el individuo reaccione eliminando o alejándose del estímulo doloroso (1). Es una experiencia no placentera que afecta seriamente la vida de millones de personas en el mundo entero. Cerca de un tercio de la población en naciones industrializadas sufre de algún grado de dolor crónico. En relación a éste, en países como EEUU, los costos son cerca de 65 billones de dólares anuales en servicios de cuidados de salud, pérdida de trabajo y decaimiento de la productividad.

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son fármacos que producen algunas de sus acciones analgésicas en el Sistema Nervioso Central. Estos tienen un efecto inhibitorio en la síntesis central de prostaglandinas que podría ser relevante también en esta analgesia central. Además puede ser necesaria una neurotransmisión serotoninérgica y catecolaminérgica intacta para la antinocicepción mediada por AINEs. Algunos estudios indican la acción de opioides centrales en la antinocicepción mediada por AINEs. De esta forma, podemos concluir que a lo menos existen tres sistemas principales involucrados en el efecto antinociceptivo central de los AINEs: sistema

serotonérgico, sistema de opioides endógenos y sistema de óxido nítrico, separados o en acción conjunta. Y también participan los sistemas adrenérgico y colinérgico (2,3).

El objeto de este estudio es evaluar la actividad analgésica y antiinflamatoria de uno de estos AINEs, el Meloxicam, junto con estudiar cuales son los mecanismos moduladores del dolor que controlan la acción de este fármaco que es frecuentemente utilizado en la práctica odontológica, de ahí el interés en su investigación.

MARCO TEORICO

SEMIOLOGIA

El objetivo de la semiología de un cuadro doloroso, es realizar un correcto diagnóstico que permita desarrollar la mejor estrategia terapéutica posible.

La evaluación, dada la naturaleza multifactorial del dolor, se realiza mejor por un equipo de profesionales de la salud, que tienen experiencia y conocimientos de su especialidad en relación al cuadro doloroso. Se realiza en forma multidisciplinaria e interdisciplinaria, y su fin es llegar a un diagnóstico correcto junto con planificar estrategias de tratamiento, mejorando la calidad de vida y capacidad funcional del paciente. Para lograr esto, se recurre a la anamnesis donde se observa:

a) Características del dolor. Las principales son:

- Localización y distribución, en relación a si se mantiene en su sitio de origen, si presenta una distribución segmentaria por el recorrido de algún nervio, o si se

establece referido a una región alejada de estructuras viscerales o somáticas profundas que producen el dolor.

- Calidad, en donde se distinguen dolores superficiales (cortante, quemante) de un dolor profundo (sordo, difuso).
- Intensidad, con diferentes escalas como la de 1 a 10 (Eva).
- Duración y periodicidad, como breve e intenso (neuralgia del trigémino), en pulsos rítmicos (migraña), etc.

b) Historia del dolor. Debemos considerar tres aspectos:

- Dolor al inicio de la enfermedad. Evaluando las características ya mencionadas.
- Evaluación del dolor desde su inicio hasta el presente. Si ha mejorado o empeorado, si su distribución y localización permanecen iguales o han cambiado, etc...
- Dolor presente. Observando sus características.

c) Evaluación psicológica.

- Idealmente debe ser realizada por un psicólogo clínico o un psiquiatra. Una evaluación adecuada debe permitir conocer la contribución de los refuerzos externos en la aparición de la conducta dolorosa, conductas de evitación, así como la presencia de depresión y ansiedad.

TIPOS DE DOLOR

El dolor se puede clasificar en:

- *Dolor Agudo.*

Es aquél que comprende el lapso estimado para que los tejidos sanen. Esto ocurre generalmente en un lapso de un mes, pero posteriormente, el Comité de las Algias de la IASP determinó como tiempo de duración límite para un dolor agudo el de tres meses.

- *Dolor Crónico.*

En contraposición al dolor agudo, es aquél que tiene una duración de más de tres meses, o que por las características de su origen, sobrepasa el tiempo que habitualmente podría definir un dolor agudo semejante. Este tipo de dolor se acompaña de un gran componente psicológico, con trastornos importantes de la conducta que pueden llevar a estados depresivos; éstos, dependiendo de la basal emocional individual, pueden ser severos. Son pacientes que al dolor se le suma un complejo componente emocional, que lleva tras de sí un largo recorrido de problemas laborales y familiares.

Finalmente, el dolor se ha clasificado según las características somatosensoriales. Según éstas, el dolor se ha descrito como epicrítico o protopático. El primero es superficial, de localización precisa y bien delimitada por el paciente, el que a su vez lo puede describir como punzante, lancinante, quemante, opresivo. Por naturaleza no es referido. Mientras que, el dolor protopático, es difuso, mal localizado por el paciente, generalmente descrito como dolor sordo. Este tipo es referido en varios cuadros clínicos, es decir, ubicado por el paciente en un lugar distante al del sitio donde se genera (1).

En relación a la etiología del cuadro doloroso, es importante para establecer un tratamiento correcto y puede ser traumática, física, infecciosa, disfunción neurológica o psicógena (1).

FISIOLOGIA Y VIAS DEL DOLOR

El dolor es un evento sensorial que produce la alteración de los sistemas nerviosos periféricos y centrales. Esto puede llegar a manifestarse en cambios funcionales de las neuronas nociceptoras llevando a la sensibilización, modificación estructural y potenciando, en un largo periodo, un estímulo que puede superar la capacidad de respuesta y adaptabilidad de estos sistemas, cambiando a un estado progresivo y patológico que trae consigo la expresión de una serie de signos y síntomas. (4)

La fisiopatología del dolor involucra interacciones muy complejas de diferentes estructuras periféricas y centrales. El componente fisiológico del dolor se denomina nocicepción, el cual consiste en el proceso de transducción, transmisión y modulación de las señales nerviosas generadas en respuesta a un estímulo nocivo externo. Este es un proceso fisiológico que resulta en una percepción consciente del dolor. En su forma más simple, el sistema puede ser considerado como una cadena de tres neuronas, con una neurona denominada de primer orden que se origina en la periferia y que se proyecta a la médula espinal, otra neurona de segundo orden que asciende desde la médula espinal, y una tercera de tercer orden que se proyecta a la corteza cerebral. En

una forma más compleja puede haber comunicación con otras neuronas sensitivas y vías neuronales descendentes inhibitorias que provienen de cerebro medio y que son capaces de modular el estímulo doloroso (1).

La neurona periférica o neurona T presenta en la periferia una arborización plexiforme carente de melina: la terminación libre. Estas son muy abundantes en la superficie del cuerpo humano, se calcula un promedio de 200 por cm^2 y general mente están agrupadas entorno a arteriolas y vénulas. En tejidos cutáneos, musculares y viscerales, la transducción de estímulos químicos, térmicos y mecánicos nocivos de alto umbral ocurre en estas terminaciones libres especiales de nervios aferentes. El mecanismo transductivo incluye la activación de canales catiónicos en éstas, producidas indirectamente por las propiedades biofísicas de los estímulos nocivos de alto umbral y directamente por los cambios químicos en el entorno, propiciados por éstos (5). Con el cambio químico que se produce en el campo receptivo de la membrana neuronal, se desencadena un ingreso de Na^+ , K^+ y/o Ca^{++} en los canales catiónicos. Los canales de sodio son activados y se propaga la despolarización a través de la membrana de la neurona nociceptiva. El flujo de Na^+ y Ca^{++} guía a la liberación de este último desde los almacenes intracelulares al espacio extracelular, incrementando la concentración de Ca^{++} en el medio. Esto lleva consigo la activación de sistemas de señales que produce una desviación hacia la izquierda (disminución) del umbral doloroso, y alteran la micro estructura de las neuronas a largo plazo. Todo esto, lleva a la sensibilización de los nervios aferentes periféricos (4). Los estímulos de alto umbral pueden producir que las membranas neuronales liberen ácidos grasos y

cationes mono y bivalentes. Los ácidos grasos libres son catalizados por la enzima fosfolipasa-A2 para producir Acido Araquidónico, y el aumento en la concentración de éste induce a la COX-2 a acelerar la formación de prostaglandinas como es el caso de la PG-E2. La prostaglandina E2 actúa en los receptores de PG-E2 en los nociceptores para incrementar la producción de adenilciclase, elevando la cantidad de adenosin monofosfato cíclico (AMPc) para comprometer a proteinkinases que aumentan la respuesta de los primeros nervios aferentes. Estas fibras son la A δ y C, que son las principales conductoras de los estímulos dolorosos nocivos y que su actividad diferenciada contribuye a dar las cualidades sensoriales del dolor, tal como si se presenta de manera rápida o lenta dependiendo de la velocidad de conducción de la fibra (1). Las fibras A δ son mielínicas y transmiten el dolor agudo, punzante y localizado a una velocidad relativamente alta de unos 20 m/s. Tienen escasa capacidad de adaptación al dolor y a mayor intensidad del estímulo mayor es el efecto. La fibra C polimodal son no mielínicas que transmiten el dolor lento, sordo, quemante y mal localizado a una velocidad de 0,5 a 3 m/s. Este tipo de nociceptores responde no solo a estímulos mecánicos intensos, sino que también a estímulos térmicos y químicos irritantes (1).

Ambas tienen su soma en el ganglio raquídeo ingresan al sistema nervioso central por el asta posterior, y ya dentro de la sustancia gris de la médula espinal, sinaptan con una segunda neurona (de segundo orden), que se puede realizar con más de una neurona periférica, lo que puede explicar el hecho de que exista el dolor referido. Las neuronas de segundo orden cuyo soma está en el asta posterior, dan origen a los

tres haces de las vías ascendentes son el haz neo-espinotalámico, paleo-espinotalámico y espino-reticulotalámico. Todos ellos sinaptan en el tálamo con una tercera neurona, neuronas de tercer orden que transmiten impulsos a la corteza cerebral, donde ocurre el procesamiento e identificación del dolor. (1).

ANTINOCICEPCION

Corresponde a la eliminación de las respuestas reflejas y conductuales evocadas por la aplicación de estímulos nocivos, lo que inhibe la respuesta dolorosa (6). Se puede producir desde el punto de vista farmacológico en 3 niveles distintos:

- A nivel central: mediante analgésicos que actúan a nivel del neuroeje, como son los opioides. Actualmente estos fármacos son los mas efectivos para la inhibición del dolor, pero su gran defecto son las reacciones adversas.

- A nivel periférico: representados por los analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs), que corresponden a fármacos que pueden ejercer un efecto ya sea antiinflamatorio, analgésico y/o antipirético.

- A nivel de la conducción del estímulo doloroso a través de: los anestésicos locales: fármacos que interrumpen la transmisión del impulso nervioso en forma reversible y los alcoholes y fenoles que interrumpen la transmisión del impulso nervioso en forma prolongada e irreversible, su período de acción es de 4 o más meses.

FARMACOS ANALGESICOS ANTI INFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES: INHIBIDORES SINTÉTICOS DE LAS CICLOOXIGENASAS

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son un grupo de fármacos que han sido de elección para combatir cuadros dolorosos, por sus capacidades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas, desde que la aspirina salió al mercado en 1898. Se clasifican dentro de un mismo nombre porque tienen una característica común, la cual es que todos ellos actúan como inhibidores del sitio activo de las isozimas ciclooxigenasas (COXs), presentando entre ellos distinta predilección por alguna forma de estas enzimas (3,7). De esta manera, al inhibir la función de las COX, se detiene la formación de prostaglandinas a partir de ácido araquidónico, y en forma especial de PGE2 y PGI2, que son las encargadas de desencadenar la respuesta dolorosa.

Existen dos formas de COX que son las principales que se han estudiado: La COX-1 y la COX-2, que son codificadas por genes que están presente en cromosomas distintos. El hallazgo de inhibidores selectivos de la COX-2 ha sido un paso importante en la industria farmacéutica ya que se evitan los problemas que causa la inhibición de la COX-1. La diferencia más importante entre ambas es que la COX-1 se expresa constitucionalmente, en casi todos los tejidos, pero muy especialmente en el tracto gastrointestinal y en el riñón. Su actividad tiene que ver con el control de funciones fisiológicas en relación a la participación de las prostaglandinas y los tromboxanos; de esta manera, protege el epitelio gástrico, la función renal y la agregación plaquetaria. Por otra parte, la COX-2, se expresa en algunas células bajo el efecto inductor de determinados estímulos como algunos mediadores químicos de la inflamación; por lo tanto, mantiene los mecanismos inflamatorios y amplifica las señales dolorosas que surgen en las áreas de inflamación (7). La toxicidad asociada con la terapéutica con

AINEs se debe, principalmente, a la inhibición de la COX-1, mientras que los efectos terapéuticos beneficiosos derivan de la inhibición de la enzima inducible COX-2. Los que inhiben de manera selectiva a la COX-2 son analgésicos y anti-inflamatorios, y presentan menor toxicidad gástrica y renal que normalmente se asocian al uso de los AINEs. Existe considerable evidencia respecto a que los inhibidores selectivos COX-2 causan significativamente menos complicaciones gastrointestinales que los AINEs no selectivos (7). Por esto, lo que se busca es lograr la obtención de fármacos que inhiban selectivamente la COX-2, al ser ésta la que resulta inducida en circunstancias patológicas, para lograr el efecto antiinflamatorio deseado evitando la aparición de reacciones adversas en relación a la inhibición de la COX-1, en manera muy particular de los efectos gastrointestinales, la función renal y la formación de coágulos sanguíneos.

MELOXICAM

La inmensa mayoría de los AINEs actualmente disponibles inhiben, de manera no selectiva la actividad enzimática de ambas isoformas (COX-1 y COX-2). Pero existen algunos AINEs que inhiben de manera más selectiva la COX-2 sobre la COX-1, este es el caso del meloxicam (7). El meloxicam es un AINE con potente efecto analgésico y antiinflamatorio, junto a una función antipirética y desarrollado en forma especial para el tratamiento de la artritis reumatoidea y la osteoartritis. Posee una acción más preponderante, in vitro e in vivo, sobre la COX-2 que está involucrada en la respuesta inflamatoria, en relación a la forma constitutiva de la enzima: la COX-1. La dosis efectiva del meloxicam causa una disminución significativa de la concentración de PGE2 en

cuadros inflamatorios, y no así en la presencia de la PGE2 gástrica. Esto explica de alguna manera la preferencia del fármaco sobre la COX-2. Tiene un efecto antiinflamatorio similar o mejor que otros AINEs comprobado en experimentos con animales, y un mejor radio terapéutico. En individuos sanos, el meloxicam en una dosis de 7.5 o 15 mg causa menos daño de la mucosa gastrointestinal que otros fármacos similares, como el piroxicam en una dosis de 20 mg. En estudios clínicos comparativos, el meloxicam fue tan efectivo como el naproxeno y piroxicam en el tratamiento de la artritis reumatoidea, y también de la osteoartritis. Presenta una excelente tolerancia por parte del organismo, y altera de menor manera la mucosa gastrointestinal en relación a otros AINEs como diclofenaco o naproxeno (8). La preparación tópica de meloxicam puede ser un efectivo agente antiinflamatorio, en presentación de gel y se asocia a un menor efecto sistémico en relación a otros AINEs como el piroxicam y el diclofenaco (9). En común con otros fármacos relacionados, el meloxicam no tiene influencias sobre la temperatura corporal en animales normotérmicos, pero si reduce de manera significativa la fiebre inducida en ratas de una forma dosis dependiente (10).

REACCIONES ADVERSAS MEDICAMENTOSAS DE LOS AINEs.

Los AINEs poseen varios efectos adversos colaterales, como reacciones tóxicas que se expresan de manera diferente dependiendo del fármaco en cuestión (11). Estas Ram son: úlceras gastrointestinales que es la más común pero que no es igual para todos los AINEs, inhibición de la motilidad uterina por la inhibición de prostaglandinas como la PGF2, neuropatía como la necrosis papilar o nefritis crónica,

bloqueo de la agregación plaquetaria por la disminución de la producción de tromboxano A₂, reacciones de hipersensibilidad y discrasias sanguíneas como la anemia aplásica, hemolítica, trombocitopenia y agranulocitosis (7).

MODULACION DEL EFECTO ANALGESICO

Existen distintas vías que modulan la respuesta dolorosa, con presencia de variados neurotransmisores que participan en la nocicepción a nivel de la médula espinal. Entre ellos se ha descrito las siguientes vías moduladoras:

VIA OXIDO NITRICO

El óxido nítrico (NO) es un gas simple que funcionalmente actúa como un radical libre. Su síntesis es catalizada por las enzima óxido nítrico sintasa (NOS). Tres isoformas distintas de NOS han sido caracterizadas: eNOS y nNOS que son Ca⁺⁺/calmodulina dependientes o también llamadas constitutivas. Y, la tercera es la iNOS que es Ca⁺⁺/calmodulina independiente y que es inducible (12). La actividad de las primeras dos enzimas constitutivas es dependiente de calcio, producen NO en poca cantidad y por un lapso de tiempo corto. Por otra parte, la iNOS normalmente no se encuentra expresada y para poder hacerlo necesita un estímulo (que puede ser de tipo inmunológico y/o inflamatorio) con la presencia de lipopolisacáridos (LPS) o de citoquinas inflamatorias. La iNOS es independiente de calcio y produce NO en cantidades mayores por un lapso de tiempo más prolongado. Una vez sintetizado el NO difunde a los tejidos vecinos donde se une a la guanilato ciclasa soluble para activarla y catalizar la transformación de GTP en GMPc (12). De este modo, el NO, en el sistema nervioso central, participa en la modulación del dolor tanto en analgesia

periférica como en la central. Se ha demostrado que existe un complejo mecanismo de interacción y retroalimentación entre la producción de prostaglandinas y la síntesis de NO. Este último se ha visto que estimula a las enzimas COX a producir PGE2 y, por su parte, la prostaglandina activa a la NOS. Así también, la inhibición de la actividad de las COX reduce la expresión de iNOS demostrando la activación de las NOS por parte de las PGs. Es por esto, que se está buscando un método para inhibir a la iNOS y COX-2 para ver si obtenemos un potente efecto antiinflamatorio (12). Sin embargo, diferentes resultados en estudios clínicos y experimentales sugieren que el NO tiene un rol dual como mediador del dolor ya que en ciertas ocasiones y bajo algunas condiciones específicas, puede actuar tanto como agente antinociceptivo como pronociceptivo (13).

Existen agentes que modifican el efecto del NO, entre ellos debe mencionarse al L-NAME que es una sustancia que fue descubierta como una de las primeras en evitar la producción de NO. Este compuesto inhibe en forma no selectiva a las diferentes isoformas de la NOS por un reemplazo de guanidina por L-arginina en la enzima, y es por esto que detiene la función de síntesis de NO (13).

VIA OPIOIDE.

El opio y sus derivados alcaloides se conocen como inhibidores del dolor desde hace mucho tiempo en la historia. Compuestos naturales y sintéticos de origen opioide, solos o en combinación con otros fármacos, son usados como analgésicos en dolor crónico y agudo en numerosos pacientes (14). El sistema neurotransmisor más importante en la nocicepción está compuesto, primeramente, por péptidos endógenos

opioides y, en segundo lugar, por sus receptores correspondientes. La existencia de tres distintos receptores opioides fue deducida originalmente por la administración de distintas sustancias opioides agonistas y antagonistas que producían diversas respuestas fisiológicas en el organismo. Así se identificaron los receptores mu (μ), delta (δ) y kappa (κ), ahora denominados como MOR, DOR y KOR, respectivamente, y se encuentran distribuidos en el sistema nervioso central y periférico, especialmente en zonas relacionadas con la transmisión del dolor. La activación de los tres receptores lleva a disminuir la liberación de neurotransmisores y la propagación del impulso nervioso doloroso (15).

Aunque todos los analgésicos agonistas opioides que actúan en estos receptores, son reconocidos por más de un receptor con distintos grados de afinidad, el resultado es distinto dependiendo de la dosis y de las propiedades del agente farmacológico en cuestión. Los agonistas de MOR son responsables de la analgesia en sitios espinales y supraespinales, así como de dependencia, tolerancia, miosis, sedación, euforia y depresión respiratoria. Los agonistas de DOR son asociados a la analgesia y a la euforia, mientras que los KOR producen analgesia, miosis, sedación y disforia en contraste con los demás (15). También existen subtipos de receptores para cada tipo de receptor opioide. Dos subtipos para el MOR (μ -1 y μ -2), y existe evidencia de subtipos para el DOR y KOR (15). Los antagonistas opioides son moléculas que bloquean o revierten los efectos farmacológicos de los agonistas opioides por la competencia de los sitios receptores.

La interacción que existe entre el sistema dopaminérgico con la vía opioide en la modulación del dolor no es simple, pero lo que si está claro es que ambos sistemas interactúan entre ellos en más de una forma. Estudios recientes muestran una inclusión del sistema dopaminérgico en la antinocicepción y que los agonistas de receptores de dopamina facilitan la respuesta analgésica (16). La naltrexona es un antagonista no selectivo de los receptores opioides, que tiene una afinidad mayor por el MOR, y que se utiliza en algunos experimentos para identificar o comprobar la vía de analgesia que utilizan algunos fármacos como por ejemplo del amisulpiride: agente antipsicótico, bloqueador selectivo de receptores dopaminérgicos D2 y D3 (17) en donde la interacción entre ellos permitió pesquisar que la dosis de naltrexona inhibe los efectos antinociceptivos del amisulpiride. Algo similar ocurre con la risperidona, que también es un potente neuroléptico que se utiliza en los cuadros psicóticos como la esquizofrenia y que también inhibe la experiencia dolorosa. Frente al uso de naltrexona, se inhibe su efecto analgésico al competir por el sitio activo bloqueador de ésta el cuál es el receptor dopaminérgico D2 y el 5-HT2 (18). El naltrindol es otro fármaco antagonista de receptores opioides pero específicamente del DOR, lo que produce que bloquee sólo en forma parcial los efectos de la risperidona por ejemplo (15). Mientras que la norbinaltorfimina (NOR-BNI) es un antagonista selectivo de los receptores KOR. Algunos estudios in vitro y en animales sugieren que la administración de bajas dosis de antagonistas opioides, como naltrexona asociado al fármaco opioide mejora el efecto analgésico de éste, 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 (15). De esta forma, podemos comprobar que interactúan estos sistemas moduladores dolorosos de manera evidente, pudiendo entender así sus mecanismos de acción.

VIA SEROTONERGICA

El sistema serotoninérgico ha sido reconocido como uno de los más significativos en el complejo esquema doloroso. Del gran grupo de receptores de serotonina expresados en el sistema nervioso central y periférico, el interés en el receptor de serotonina 3 (5-HT₃) ha crecido tanto por su participación en la percepción y procesamiento del dolor, como en la inflamación. Éste es, filogenéticamente hablando, el más antiguo de los receptores serotoninérgicos y numerosos estudios demuestran que antagonistas selectivos de 5-HT₃ pueden reducir el dolor agudo provocado por la inyección periférica de serotonina (19). Los efectos inflamatorios producidos por la estimulación de receptores de serotonina se deben a liberación de varios péptidos, como sustancia P y calcitonina, que a su vez actúan como potentes mediadores sobre macrófagos y células mastoides con la consecuente liberación de citoquinas proinflamatorias y prostaglandinas. Con el bloqueo de estos receptores se inhibe la cadena inflamatoria evitando el desarrollo de la respuesta dolorosa (19).

El tropisetron es un antagonista selectivo del receptor 5-HT₃, y ha sido demostrado que su uso es efectivo en la reducción del dolor, con buena tolerancia por parte del organismo. Mientras que, la risperidona, es un antagonista selectivo de receptor 5-HT₂, junto con otros tipos de receptores, y que también participa en la modulación de la experiencia dolorosa, disminuyendo su expresión (20).

VIA ADRENÉRGICA

El sistema adrenérgico participa como un mecanismo modulador de la respuesta dolorosa. Al incrementarse la expresión de receptores α -adrenérgicos en neuronas primarias aferentes y estimulándolos a través de neurotransmisores como adrenalina o noradrenalina circulante, se desencadena la vía del dolor. La estimulación adrenérgica por estímulos nocivos provoca dolor y en estudios se comprueba que al aumentar estos adrenerreceptores por un daño nervioso provocado en fibras aferentes primarias, éstos actúan como nociceptores. La excitación neuronal aferente ocurriría por noradrenalina o adrenalina localmente liberada de distintas partes del organismo. Estas sustancias adrenérgicas se traducen en señales que llegan a los nociceptores y producen la experiencia dolorosa (21).

El prazosin es un fármaco que tiene la propiedad de ser un antagonista selectivo de receptores de adrenalina del sub α_1 . Al aplicarlo vía sistémica, posee la habilidad de revertir los efectos nociceptivos que provoca la liberación de los neurotransmisores adrenérgicos mediante el bloqueo de los receptores de estos agentes (22).

VIA COLINÉRGICA

El rol del sistema colinérgico en la nocicepción ha sido descrito y se sabe que la acetilcolina es un compuesto endógeno antinociceptivo que actúa mediante vías monoaminérgicas (23). Los agentes colinérgicos son capaces de producir analgesia, porque actúan como agonistas de los receptores muscarínicos de acetilcolina o porque inhiben a la enzima acetilcolinesterasa, aumentando el umbral excitatorio doloroso. El mecanismo de la actividad antinociceptiva colinérgica en la médula espinal no se

conoce del todo, pero interneuronas muscarínicas en la vía de transmisión dolorosa y los efectos de la desensibilización de los receptores muscarínicos en los nociceptores periféricos han sido postulados como los responsables de la interacción con otros neurotransmisores (23). En el sistema nervioso central, la antinocicepción colinérgica parece estar mediada por activación de receptores muscarínicos postsinápticos del tipo ACh-M₁, aunque también los autorreceptores muscarínicos ACh-M₂ pueden regular el dolor a través de la modulación de liberación de acetilcolina vía feedback negativo. El aumento de la concentración de acetilcolina endógena produce antinocicepción, en la cual se sabe que existen también otros sistemas involucrados, como es el caso de la activación de la vía nitridérgica (24). La atropina es un agente anticolinérgico que modula el dolor a través del bloqueo de receptores muscarínicos de acetilcolina, evitando el correcto funcionamiento de ésta en la reducción de la experiencia dolorosa (24).

HIPOTESIS

La administración de meloxicam produce actividad analgésica y antiinflamatoria en un ensayo algesiométrico visceral agudo que es modulada por los sistemas adrenérgico, opioide, nitridérgico, serotoninérgico y colinérgico.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antinociceptiva de meloxicam en el ensayo algiesiométrico experimental de las contorsiones abdominales y estudiar la participación de los sistemas comprometidos en la modulación nociceptiva.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal (i.p.) de meloxicam en el test de las contorsiones.
2. Caracterizar la potencia analgésica de meloxicam.
3. Estudiar la participación, en la analgesia inducida por meloxicam, por los siguientes moduladores de la nocicepción: sistemas adrenérgico, opioide, nitridérgico, serotoninérgico y colinérgico.

MATERIALES Y METODO

Se usaron ratones machos de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) tanto machos como hembras, de 25 a 30 gramos de peso, los que fueron aclimatados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación. La cual se realizó de acuerdo a un protocolo aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (Protocolo 131). Cada animal recibió solamente una dosis de las drogas, las observaciones durante el experimento fueron efectuadas en forma randomizada, ciega y controladas con salino. Un mínimo de 6 animales fueron usados

para cada tratamiento. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después del experimento mediante dislocación cervical.

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó por el método algesiométrico agudo del writhing test o test de las contorsiones, en el que se usa un estímulo químico irritativo: El estímulo nociceptivo, es la inyección i.p. de 10 ml/kg de una solución de ácido acético al 0.6 %. El dolor producido se mide contando el número de contorsiones que presenta el animal después de 5 minutos de la inyección y durante 5 minutos. Se entiende por contorsión la contracción de la musculatura abdominal junto con la elongación de las extremidades posteriores. Los resultados se expresan como porcentaje de antinocicepción (% AN) de acuerdo con la siguiente expresión:

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

donde:

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

WC = es el número de contorsiones en los animales inyectados con salino.

Los fármacos se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) en un volumen de 10 ml/kg y el ensayo algesiométrico fue realizado cuando se produjo el efecto máximo de cada droga.

Las drogas usadas fueron: meloxicam, L-NAME un inhibidor no selectivo de las NOS; naltrexona que es un antagonista opioide no selectivo, naltrindol, antagonista selectivo de receptores DOR, y nor-binaltorfimina, antagonista selectivo de KOR; atropina bloqueador colinérgico; tropisetron, antagonista selectivo de 5-HT₃, prazosin, antagonista selectivo α_{1A} y risperidona antagonista de 5-HT₂, D₂; H₁; α_1 y α_2 .

Para la evaluación de la actividad nociceptiva, se construyeron curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados por vía sistémica (i.p.) con un mínimo de 6 animales para cada una de al menos 4 dosis. La dosis que produce un 50% del efecto máximo (DE_{50}), se calculó mediante análisis de regresión lineal por cuadrados mínimos.

Los animales controles fueron inyectados i.p. con solución salina al 0.9% y la evaluación fue idéntica a la de los animales tratados. Estos se inyectaron, por vía i.p. con meloxicam (1- 30 mg/kg) 30 minutos antes de la administración del ácido acético. Para estudiar la participación del sistema opioide se administró naltrexona (1mg/Kg), naltrindol (1mg/Kg) vía i.p. 15 min. antes de la inyección de meloxicam y 0.5 mg/kg de norbinaltorfimina, antagonista selectivo de KOR, 1 hora antes de el AINE en estudio. Para evaluar la del sistema serotoninérgico, se administró por la misma vía, 30 minutos antes de la inyección de meloxicam, risperidona (0,01mg/Kg) y tropisetron (1mg/kg). Para conocer la del sistema nitridérgico se utilizó dosis de 1 mg/Kg i.p. de L-NAME 15 min. antes de la aplicación de meloxicam. Prazosin (0,1mg/Kg, i.p.) 30 min. antes de la inyección del AINE en estudio, fue usado para la evaluación de la participación adrenérgica. Se evaluó el compromiso colinérgico utilizando atropina (1mg/Kg i.p.) 15 min. antes del meloxicam.

Los parámetros estadísticos relativos a este estudio, se calcularon con un programa computacional del Laboratorio y la significación estadística fue determinada por análisis de varianza y pruebas t de Student. La significación fue considerada a un nivel de 5%.

RESULTADOS

1. Grupo Control:

La administración de solución fisiológica salina vía i.p. 30 min. antes de la inyección de ácido acético al 0,6% que corresponde al estímulo doloroso, produjo un promedio de contorsiones de $18,67 \pm 1.15$ en este ensayo algesiométrico (n=20).

2. Grupo tratado con meloxicam:

Meloxicam: La administración de meloxicam vía i.p. en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, cuya curva se muestra en la fig. 1. De ésta se dedujo que la DE_{50} de $6,5 \pm 0.54$ mg/kg i.p., con un promedio de contorsiones de $8,00 \pm 0,68$ con n=8.

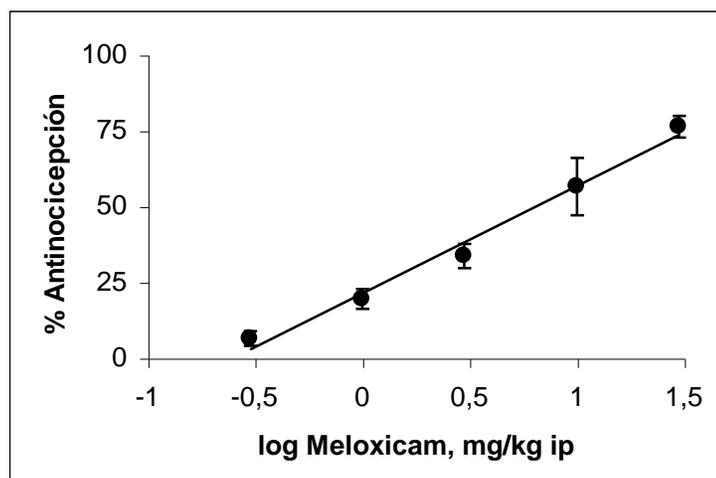


Figura 1. Curva dosis-respuesta a meloxicam en el test de las contorsiones abdominales.

3. Grupos tratados con antagonistas:

3.1.- Pretratamiento con atropina: la administración i.p. de atropina (1mg/kg) 15 min. antes de la inyección de la DE₅₀ de meloxicam vía i.p. produjo un promedio de contorsiones de 7 ± 0.95 con n=5. El análisis comparativo con la DE₅₀ de meloxicam resultó no ser estadísticamente significativo ($p>0.05$). Ver fig. 2

3.2.- Pretratamiento con naltrexona: al pretratar los animales con 1mg/kg, i.p. de naltrexona 15 min. antes de la inyección de la DE₅₀ de meloxicam vía i.p. produjo un promedio de contorsiones de $9,2 \pm 1,46$ con n=5, resultado que no es estadísticamente significativo en relación a la DE₅₀ de meloxicam ($p>0,05$). Ver fig. 2

3.3.- Pretratamiento con risperidona: la administración previa de risperidona 0,01mg/kg, i.p. 30 min. antes de la inyección de la DE₅₀ de meloxicam vía i.p. produjo un promedio de contorsiones de $11,00 \pm 2,43$ con n=5. El análisis estadístico de estos resultados demostró que ellos no eran estadísticamente significativos ($p>0,05$). Estos resultados se muestran en la fig. 2

3.4.- Pretratamiento con L-NAME: el pretratamiento de los animales con 1mg/kg, i.p. de L-NAME 15 min. antes de la inyección de la DE₅₀ de meloxicam vía i.p. produjo un promedio de contorsiones de $9,40 \pm 1,63$ con n=5. La comparación de los

resultados obtenidos, demuestra que ellos no son estadísticamente significativos ($p > 0,05$), como se puede apreciar en la fig. 2

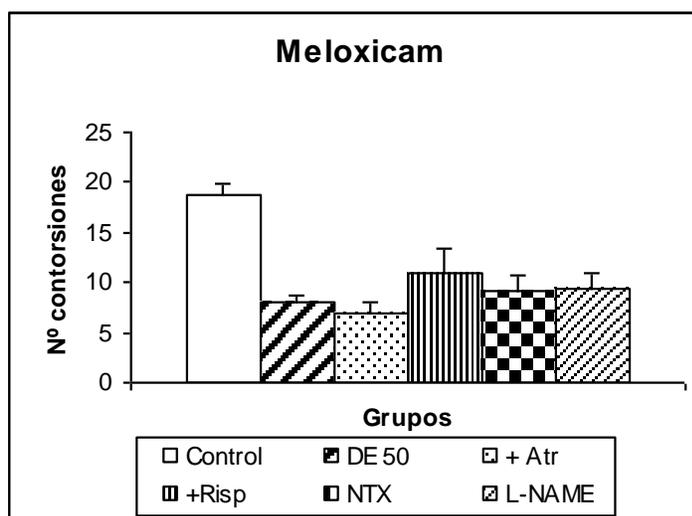


Fig. 2 Histograma del efecto de antagonistas sobre la DE_{50} de meloxicam en el test algiesométrico de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético en ratones.

3.5.- Pretratamiento con naltrindol: el pretratamiento de los animales con 1mg/kg, i.p. de naltrindol 15 min. antes de la administración por vía i.p. de la DE_{50} de meloxicam vía i.p. produjo un promedio de contorsiones de 4.33 ± 0.99 con $n=6$. La comparación de los resultados obtenidos, demuestra que ellos son estadísticamente significativos ($p < 0,05$), como se puede apreciar en la fig. 3

3.6.- Pretratamiento con Nor-binaltorfimina (Nor-BNI): la administración de Nor-BNI (0.5 mg/kg, i.p.) 60 min. antes de la inyección de la DE_{50} de meloxicam vía i.p. produjo un promedio de contorsiones de $4,33 \pm 0,99$ con $n=6$. El análisis comparativo de la analgesia obtenida resultó que es estadísticamente significativo ($p<0,05$). Ver fig. 3.

3.7.- Pretratamiento con tropisetron: la administración previa de 1mg/kg, i.p. de tropisetron 30 min. antes de la inyección de la DE_{50} de meloxicam vía i.p. produjo un promedio de contorsiones de $1,17 \pm 0,65$ con $n=6$. El análisis comparativo de los resultados obtenidos demuestra que ellos son estadísticamente significativos ($p<0,05$), como se observa en la figura 3.

3.8.- Pretratamiento con prazosin: al administrar 0,1mg/kg, vía i.p. de prazosin 30 min. antes de la inyección de la DE_{50} de meloxicam vía i.p. se obtuvo un promedio de contorsiones de $3,00 \pm 0,82$ con $n=6$. El análisis comparativo de estos resultados demuestra que son estadísticamente significativo ($p<0,05$), como se puede apreciar en la fig. 3.

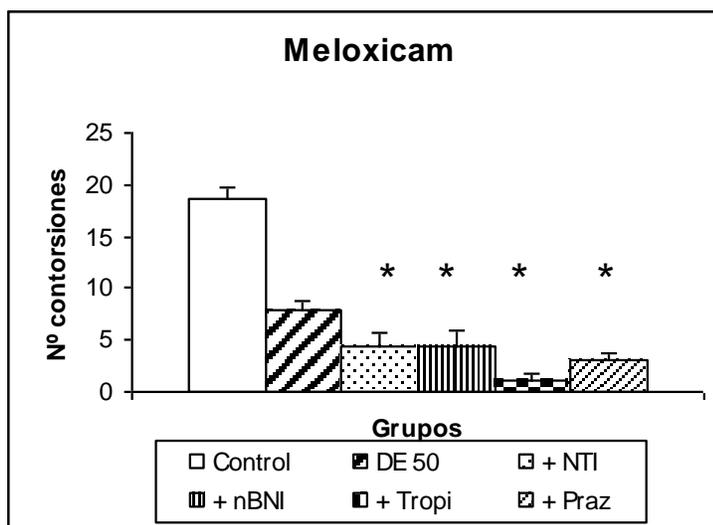


Fig. 3.- Histograma del efecto de antagonistas sobre la DE₅₀ de meloxicam en el test algesiométrico de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético en ratones.

DISCUSION

En el presente estudio se demostró que existe actividad analgésica por parte del AINE meloxicam, de naturaleza dosis-dependiente y cuya actividad es a través del bloqueo preferencial de la COX-2 (7, 11). Por otra parte, su capacidad antinociceptiva se encuentra sujeta a cambios dependiendo de la vía de modulación nociceptiva. De esta forma, se deduce que en su efecto analgésico, existe compromiso modulador de la vía serotoninérgica, ya que al bloquearla con tropisetron, antagonista selectivo del subtipo 5-HT₃ (20), se incrementa significativamente la actividad analgésica del meloxicam.

Por otra parte, la participación de los receptores adrenérgicos del subtipo α_{1A} en la modulación de la actividad antinociceptiva del meloxicam es comprobada, ya que el pretratamiento con prazosin, bloqueador selectivo de dichos receptores (21, 22), incrementa significativamente la analgesia del AINE.

Es de notar que el aumento de la antinocicepción inducida por meloxicam, puede ser debida a la participación de la vía opioide a través de sus componentes DOR y KOR (15). Este hecho es comprobado porque naltrindol, bloqueador selectivo de DOR y Nor-BNI, antagonista selectivo de KOR respectivamente (15), producen un significativo incremento de la analgesia del meloxicam. Resulta interesante destacar que la falta de efecto de la naltrexona, pudiera deberse a su capacidad inhibitoria no selectiva de los receptores opioides, suponiéndose que la actividad moduladora opioide, para este AINE, está relacionada principalmente con los receptores DOR y KOR y que los

receptores MOR, carecen prácticamente de efecto modulador en este inhibidor de COX-2.

La carencia de efecto modulador de la vía colinérgica, por medio de la atropina, de la vía nitridérgica, por medio del L-NAME y de la vía serotoninérgica relacionada con el subtipo 5-HT₂, a través de la risperidona, podría interpretarse en el sentido que bloqueo de las vías mencionadas, no parecen ser tan determinantes en la modulación de la antinocicepción del meloxicam. Explicación de este hecho no se está en condiciones de interpretar.

De esta manera, podemos concluir que el efecto antinociceptivo del meloxicam, evaluado por el método de las contorsiones abdominales (writing test), además de ser un inhibidor selectivo de la COX-2, estaría principalmente modulado por las vías adrenérgicas del tipo α_{1A} y 5-HT₃.

CONCLUSIONES

- La administración vía i.p. de meloxicam, evaluado en el test de las contorsiones abdominales, produce actividad antinociceptiva dependiente de la dosis.
- Atropina no modifica la actividad analgésica de este último, lo que sugiere que podría descartarse la participación del sistema colinérgico en la modulación de la analgesia inducida por meloxicam
- La administración de naltrexona no modifica la actividad analgésica de este AINE, lo que podemos suponer puede ser debido a la falta de selectividad de este antagonista opioide.
- Risperidona no modifica la actividad analgésica de meloxicam, lo que presupone escasa participación del receptor 5-HT₂ serotoninérgico en la modulación del efecto del AINE.
- L-NAME, no modifica la actividad analgésica de meloxicam, por lo que se podría descartar la participación moduladora del sistema NO-GMPc en el efecto del analgésico.
- Naltrindol y NOR-BNI, por sus acciones a nivel del DOR y KOR, respectivamente, presentan efectos moduladores de la actividad analgésica de meloxicam.
- Tropisetron, por su interacción a nivel de 5-HT₃ es capaz de modular el efecto de meloxicam.

- Prazosin, antagonista de receptores α_{1A} modifica la actividad analgésica del AINE en estudio, lo que comprueba la participación del sistema adrenérgico en la modulación del dolor.
- Se puede concluir que existe modulación sinérgica de la antinocicepción producida por el meloxicam con los antagonistas ya individualizados. Este sinergismo, podría tener importancia clínica.

RESUMEN

En el presente trabajo, se investigó la actividad analgésica, en el ensayo de las contorsiones abdominales, del meloxicam: AINE inhibidor selectivo de la COX-2. La modulación de actividad analgésica de este AINE, se evaluó mediante la administración de antagonistas de receptores colinérgicos, serotoninérgicos, opioides, adrenérgicos y nitridérgicos. Los resultados demuestran que, naltrexona que inhibe no selectivamente los receptores opioides, atropina que en el sistema colinérgico bloquea a los receptores muscarínicos, L-NAME que bloquea la síntesis de NO mediante la inhibición de las NOS y risperidona que bloquea al receptor 5-HT₂ en el sistema serotoninérgico, no modulan la antinocicepción del meloxicam. En cambio, la participación de los sistemas opioide, por medio de sus receptores DOR y KOR; del sistema serotoninérgico, con su componente 5-HT₃ y del adrenérgico, a través de su receptor α_{1A} fue positiva en la modulación de la actividad analgésica del meloxicam.

Este hallazgo es de importancia clínica, ya que la interacción entre estas sustancias permitiría obtener fármacos de mayor potencia y efectividad en el tratamiento de cuadros dolorosos, junto con la correspondiente baja en las dosis y disminución de las reacciones adversas.

SUGERENCIAS

De los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede sugerir:

- 1) Evaluar la actividad del meloxicam en otros ensayos algesiométricos: test de la cola, formalina, ensayos neuropáticos.
- 2) Evaluar el efecto analgésico del meloxicam en los ensayos antes mencionados pero administrándolo por diferentes vías: intratecal, oral, tópica.
- 3) Estudiar usando los mismo ensayos la modulación de los agentes adrenérgicos, colinérgicos, nitridérgicos, serotoninérgicos, opioides y dopaminérgicos.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Bonica J, "Anatomic and physiologic basis of nociception and pain". En: "The management of Pain". Segunda Edición NY. Lea and Febiger, 28-94, 1990.
- (2) Bjorkman R, et al, "Central antinociceptive effects of non-steroidal antiinflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat". *Acta Anaesthesiol. Scand.* 103:1-44. 1995.
- (3) Cashman J, et al, "The Mechanisms of Action of NSAIDs in Analgesia". *Drugs*; 52; Suppl. 5:13-23.1996.
- (4) Giordano J, "The Neurobiology of Nociceptive and Antinociceptive Systems". *Pain Physician*; 8: 277-290, 2005.
- (5) McKenny DD, Neuhausser WM, Julius D. "Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation". *Nature*; 416: 52-58. 2002.
- (6) Woolf, CJ. Pain. "Moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management". *Ann. Int. Med.*; 140: 441-451. 2004.
- (7) Warner TD, Mitchell JA. "Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic". *JA. FASEB J.*; 18: 790-804. 2004.
- (8) Noble S, Balfour JA. "Meloxicam". *Drugs*. 51 (3): 424-430. 1996.
- (9) Gupta SK, Bansal P. "Comparison of analgesic and anti-inflammatory activity of meloxicam gel with diclofenac and piroxicam gels in animal models: pharmacokinetic parameters after topical application". *Pharmacol.* 15: 105-111. 2002.

- (10) Engelhardt G, Homma D. "Anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and related properties of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory agent with favourable gastrointestinal tolerance". *Inflamm. Res.* 44: 423-433. 1995.
- (11) Vane J, et al, "Aspirin and other anti-inflammatory drugs". *Thorax*; 55 (suppl 2):s3-s9, 2000.
- (12) Mollace V., Muscoli C., Masini E., Cuzzocrea S., Salvemini D. "Modulation of Prostaglandin Biosynthesis by Nitric Oxide and Nitric Oxide Donors". *Pharmacol. Rev.* 57: 217-252. 2005.
- (13) Sousa AM., Prado WA. "The dual effect of a nitric oxide donor in nociception". *Brain Research* 897: 9-19. 2001.
- (14) Gouerlay GK. "Advances in opioid pharmacology". *Support Care Cancer.* 13; 153-159. 2005.
- (15) Waldhoer M, Bartlett SE, Whistler JL. "Opioid Receptors". *Annu. Rev. Biochem.* 73: 953-90. 2004.
- (16) Michael-Titus, A., Boussemame, R., Costentin, J. " Stimulation of dopamine D2 receptors induces an analgesia involving an opioidergic but nonenkephalinergic link". *Eur. J. Pharmacol.* 187, 201-207. 1990.
- (17) Schoemaker, H., Claustre, Y. "Neurochemical characteristics of amisulpride, an atypical dopamine D2/D3 receptor antagonist with both presynaptic and limbic selectivity". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 280, 83-97. 1997.
- (18) Grant, S., and Fitton, A. "Risperidone. A review of its pharmacology and therapeutic potential in the treatment of schizophrenia". *Drugs*; 48: 253-273. 1994.

- (19) Muller W, Stratz T. "5-HT₃-receptor-antagonists in therapy of rheumatic diseases". *Z. Rheumatol.*; 62:39 – 41. 2003.
- (20) Farber L, Stratz TH, Lautenschlager J. German Fibromyalgia Study Group. "Shortterm treatment of primary fibromyalgia with the 5-HT₃-receptor antagonist tropisetron. Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial in 418 patients". *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.*; 21: 1 – 13. 2001.
- (21) Perl ER. "Causalgia, pathological pain, and adrenergic receptors". Department of Cell and Molecular Physiology, University of North Carolina. Vol. 3, 231-248. 1999.
- (22) Yaksh TL. "Pharmacology of spinal adrenergic systems which modulate spinal nociceptive processing", *J.Pharmacol.*; 109-115. 2001.
- (23) Hartvig P., Gillberg P.G., Gordh T. "Cholinergic mechanisms in pain and analgesia". *Trends Pharmacol. Sci.* 75-79. 1989.
- (24) Miranda, H.F., Sierralta, F., Pinardi, G. "Neostigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs". *Br. J. Pharmacol.*; 135, 1591-1597. 2002.