

Analgesia Preventiva en un modelo experimental de dolor visceral[†]

Javier Gómez Parra*, Alfonso E. Campos Sepúlveda**, Uriah Guevara López[§], Ramón De Lille Fuentes[§],
María E. Martínez Enríquez**

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la eficacia de la analgesia preventiva inducida por estimulación eléctrica nerviosa transcutánea (TENS) sobre la respuesta constrictora abdominal (RCA) evocada por Perezona en el ratón. **Material y Métodos:** Se emplearon 64 ratones macho de la cepa CD-1 dividido en 8 grupos (n=8 cada grupo). El grupo I recibió la perezona 5 mg/kg Intraperitoneal (IP), el grupo II recibió el vehículo de la perezona (aceite de maíz). Los grupos IV al VIII se sometieron a diferentes frecuencias de TENS (10, 20, 40, 80 y 160 Hz), durante 30 minutos, posteriormente se les administró perezona 5 mg/kg IP registrando el número de RCA en 20 minutos. **Resultados:** A los resultados obtenidos se le aplicó la prueba de Kruskal-Wallis siendo estadísticamente significativo los valores de $p < 0.05$, encontrando eficacia antinociceptiva preventiva del TENS en los grupos IV al VII con $p < 0.05$ con respecto a los grupos controles (I y II). El grupo III (vehículo) no registró capacidad para inducir RCA. **Conclusiones:** Los hallazgos señalan que las frecuencias bajas de TENS (10, 20, 40 y 80 Hz) son más eficaces para inducir un efecto antinociceptivo en este modelo experimental con relación a las frecuencias altas, (160 Hz) con $p > 0.05$. Se concluye que el TENS es un procedimiento eficaz como analgésico preventivo (*Rev Mex Anest* 1999;22:116-121).

Palabras clave: Perezona, TENS, analgesia preventiva.

ABSTRACT

Pre-emptive analgesia in an experimental model of visceral pain. **Objective:** Evaluate the importance of the pre-emptive analgesia induced by transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on the abdominal constrictive response (ACR) evoked by Perezone in the mouse. **Material and Methods:** 64 male mice of the CD-1 strain were employed assigned into 8 groups (n=8 each group). Group I received intraperitoneal (IP), Perezone (5 mg/kg), group II received the IP vehicle (oil corn); the animals in group III received placebo TENS during 30 minutes and subsequently 5 mg/kg IP Perezone. Groups IV and VIII were subjected to different frequencies of TENS (10, 20, 40, 80 and 160 Hz) respectively during 30 minutes. Subsequently these were administered 5 mg/kg IP Perezone, having registered the ACR number 20 minutes later. **Results:** Kruskal-Wallis test was applied to the results ($p < 0.05$ statistically significant), having found the preventive antinociceptive efficacy of the TENS in groups IV to VII with $p < 0.05$ and non-significant in group VIII (160 Hz) with $p > 0.05$ with respect to the control groups (I and III). In group II (vehicle) did not register capacity to induce ACR. **Conclusions:**

Findings indicate that TENS frequencies lower (10, 20, 40 and 80 Hz) are more effective to induce a preventive antinociceptive effect in this experimental model with relation to high frequencies (160 Hz); It was concluded that TENS is an effective procedure as preventive analgesic (*Rev Mex Anest* 1999;22:116-121).

Key words: Perezone, TENS, pre-emptive analgesia.

Trabajo desarrollado en la Clínica del Dolor del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán y Departamento de Farmacología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). *Alumno del Curso de la Clínica del Dolor del Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán» (INNSZ). **Departamento de Farmacología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). [§]Anestesiólogo - Algólogo INNSZ. Correspondencia: Javier Gómez Parra. Clínica del Dolor del INNSZ. Vasco de Quiróga # 15, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14000

[†]Resultados preliminares fueron publicados como trabajo libre en el XXXII Congreso Mexicano de Anestesiología que se llevó a cabo en Querétaro, Qro, del 11-14 de Noviembre de 1998 y publicados en Gómez P.J., Campos E., Guevara U., De Lille R. Analgesia preventiva en un modelo experimental de dolor visceral. *Anestesia en México* Vol:10;pag. 69-70;1998.

SE HAN DESARROLLADO diversos modelos experimentales para inducir el dolor y para evaluar el efecto analgésico en animales de laboratorio¹. Tales modelos han sido de utilidad para el cernimiento de nue-

vos fármacos y para valorar las propiedades analgésicas de otros procedimientos no farmacológicos. La inducción del dolor se basa en la aplicación de estímulos nociceptivos mecánicos como el pinzamiento de la cola²⁻⁴, estímulos térmicos, como la plancha caliente o el calor radiantes⁵ o estímulos químicos, como la respuesta constrictora abdominal (RCA) inducida por la aplicación intraperitoneal (IP) de acetilcolina⁶.

Independientemente del modelo, la presencia del dolor se infiere por el tipo de respuesta que se presenta a la aplicación del estímulo nociceptivo, que puede ser identificada por la actividad motora (sacudidas musculares, actividad locomotora, escape), autónoma (taquicardia, taquipnea, salivación, midriasis, micción y defecación), o conductuales (agresividad, vocalización y escape). En el caso de la RCA, denominada en inglés "Writhing" se desencadena por la aplicación IP de acetilcolina y otras sustancias como la fenilquinona⁷, serotonina⁸, ácido acético⁹, oxitocina¹⁰ y perezona. La Perezona es una quinona de estructura sesquiterpénica, producto natural aislado de las raíces de *Perezia adnata*, planta perteneciente a la familia de las compuestas; es una molécula cristalina, de color amarillo, con peso molecular de 248.3 y un punto de fusión de 103.4 °C y cuya estructura química ha sido plenamente caracterizada¹¹⁻¹³. La administración IP de esta sustancia en el ratón y la rata, disuelta en aceite de maíz, induce una respuesta que se caracteriza por presentar una serie de contracciones y elongaciones, pasando caudalmente a lo largo de la pared abdominal, acompañada con extensión del tren posterior. Este efecto denominado RCA, tiene las características del estímulo nociceptivo abdominal provocado por los fármacos antes mencionados y otras sustancias (figura 1). Dicha RCA es prevenida por la administración de analgésicos opioides como la morfina y en menor grado por los analgésicos no esteroideos. Lo anterior fundamenta la utilidad de esta molécula como modelo experimental para inducir una respuesta conductual especial al dolor y para evaluar el efecto analgésico en los animales de experimentación.

Por otro lado, existe suficiente evidencia que señala que la Estimulación Nerviosa Eléctrica Transcutánea (TENS), constituye un método eficaz para inducir un estado analgésico que ha sido de utilidad en el control del dolor que se presenta en diversos estados fisiopatológicos¹⁴⁻¹⁹. El mecanismo de acción por el cual el TENS induce el efecto analgésico se atribuye a la estimulación preferen-

cial de las fibras somatosensoriales periféricas, que conducen con mayor velocidad que las fibras nociceptivas. Lo anterior da lugar a la estimulación de las interneuronas inhibitorias en la segunda y tercera laminas de las astas posteriores (sustancia gelatinosa) lo que bloquea eficazmente la nocicepción a nivel de la médula espinal, planteamiento acorde a la teoría de la compuerta propuesta por Melzack y Wall²⁰. Por otra parte, también se ha demostrado que el TENS induce la liberación de péptidos opioides, además de que el efecto analgésico es prevenido por la administración de la naloxona²¹⁻²².

Con fundamento en los antecedentes descritos, el propósito del presente trabajo fue investigar la eficacia del TENS como un procedimiento analgésico preventivo sobre el modelo de dolor visceral inducido por la administración IP de perezona en el ratón.

MATERIAL Y METODOS

En la primera serie de experimentos que aquí se describen se emplearon ratones machos adultos, de la cepa CD-1 de 25 - 30g de peso corporal obtenidos del bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM. Los animales fueron mantenidos en las mismas condiciones ambientales en cuanto a iluminación (12 X 12 luz: oscuridad) y temperatura (23 ± 2 °C) y con acceso libre al agua y alimento. Con el propósito de establecer la dosis óptimas de perezona para inducir la RCA en la primera serie de experimentos se realizó una curva dosis-respuesta (CDR) al efecto nociceptivo provocado por la administración IP de perezona a tres niveles de dosis (1.25, 2.5 y 5mg/kg), el grupo control recibió solamente el vehículo (aceite de maíz) por la misma vía. Inmediatamente después de la administración del fármaco o vehículo, los animales se colocaron en un cilindro de acrílico transparente (20 X 18 cm) y se registró mediante un contador manual el número de RCA presentadas cada 5 minutos, durante 20 minutos.

En la segunda serie de experimentos se empleó un lote de 64 ratones y se dividieron en ocho grupos de ocho ratones cada uno. A los animales del grupo I se les administró perezona, 5 mg/kg IP. Los ratones del grupo II recibieron el vehículo de perezona (aceite de maíz). Inmediatamente después del vehículo o de la perezona, se registró la RCA en las condiciones descritas en la primer serie de experimentos.

Al grupo III se le colocaron los electrodos del TENS sin estimulación durante 30 minutos y,

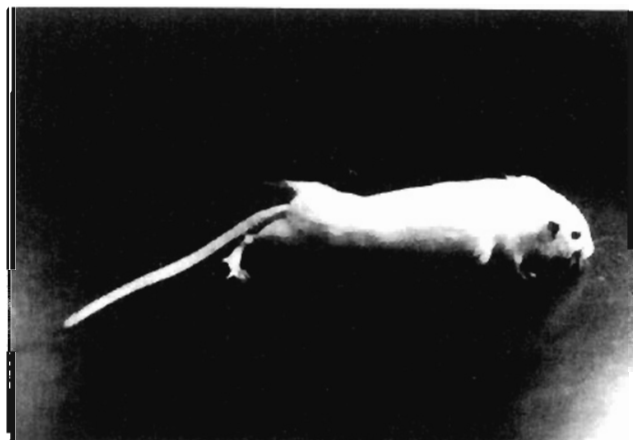


Figura 1. Respuesta nociceptiva a la administración intraperitoneal (IP) de Perezona 5mg/kg, a lo cual se le ha llamado respuesta constrictora abdominal (RCA).

posteriormente se administró perezona IP. Los grupos IV al VIII fueron sometidos a diferentes frecuencias: (10, 20, 40, 80 y 160 Hz respectivamente para los grupos, IV, V, VI, VII y VIII) de TENS durante 30 minutos, a través de 2 electrodos colocados en la pared abdominal del ratón y sujetos con un cinturón de Velcro, lo que permitió mantenerlos en libre movimiento. En todos los casos, un día antes del procedimiento experimental, a los animales se les rasuró la pared abdominal, con el propósito de mantener un mejor contacto con los electrodos para la estimulación transcutánea. Inmediatamente después del periodo de estimulación, los animales de los diferentes grupos, recibieron perezona 5 mg/kg IP y se registró el número de RCA en las mismas condiciones señaladas en la primera serie de experimentos.

Se utilizó un estimulador (Acupoint 2000), figura 2, con parámetros fijos para todos los grupos (excepto la frecuencia de estimulación), la amplitud de pulso fue de 150 μ seg, el patrón de relajación de 1.8 seg, y el patrón de contracción de 4 seg. Los resultados obtenidos se sometieron a la prueba de Kruskal-Wallis y se consideraron estadísticamente significativos los valores de $p \leq 0.05$.

RESULTADOS

La perezona indujo RCA de manera dosis dependiente (figura 3), evidenciadas por respuestas conductuales y autonómicas (defecación, micción y taquicardia). Sobre la base de los resultados obtenidos en la Curva Dosis Respuesta (CDR) a la perezona, se seleccionó la dosis de 5 mg/kg para eva-



Figura 2. Estimulador Acupoint 2000; en el extremo inferior se muestran los electrodos en un cinturón de Velcro conectados a través de caimanes al estimulador.

luar la capacidad del TENS como procedimiento analgésico preventivo.

El promedio del RCA durante el periodo de observación en los animales que recibieron perezona y que no se sometieron a TENS fue de 6.75, mientras que el grupo de animales que solamente recibieron el vehículo presentaron cero RCA. El grupo III al que sólo se le colocaron los electrodos sin estimulación y que recibieron la perezona el promedio de RCA fue de 7.0. En los animales del grupo IV, V y VI que se sometieron al TENS 30 minutos antes de la aplicación de perezona con frecuencias de 10, 20, 40 y 80 Hz, presentaron inhibición significativa de la RCA ($p < 0.05$) en 83, 87, 92 y 74 % respectiva-

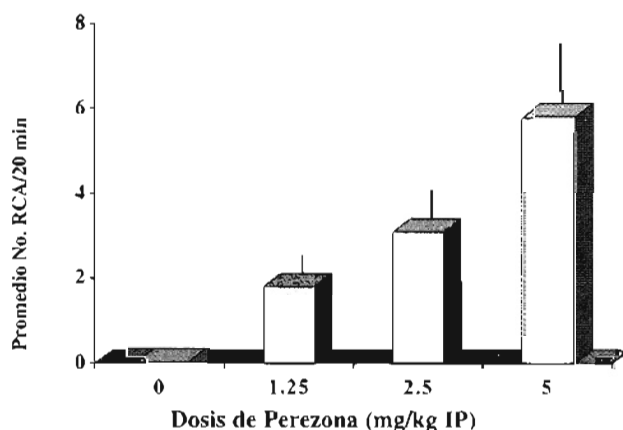


Figura 3. Curva dosis respuesta al efecto nociceptivo abdominal (RCA) inducido por la Perezona administrada por vía intraperitoneal (IP) en el ratón. Los resultados se expresan como el valor promedio más menos el error estándar (N de seis animales por dosis).

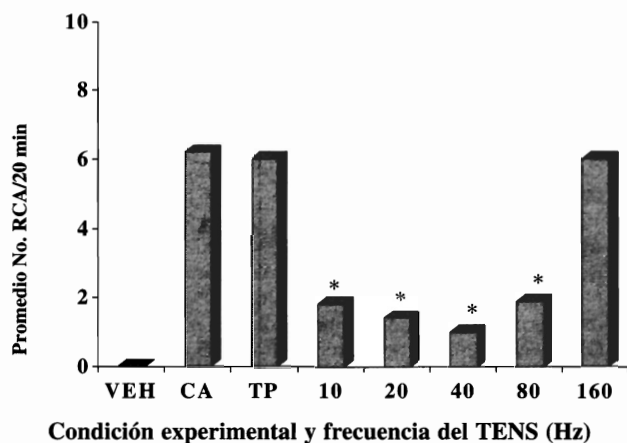


Figura 4. Influencia de la estimulación eléctrica nerviosa transcutánea (TENS) sobre la respuesta constrictora abdominal (RCA) inducida por la administración de perezona (5 mg/kg) intraperitoneal (IP) en el ratón. VEH= vehículo de perezona, CA= control absoluto, TP= TENS-Placebo; N=8 * $p < 0.01$ (Kruskal-Wallis).

mente. Cuando los animales se sometieron al TENS de 160 Hz, el efecto nociceptivo fue inhibido solamente en 20 % ($p > 0.05$) figura 4.

DISCUSION

En el presente trabajo, se encontró disminución estadísticamente significativa en la RCA inducida por la perezona con la aplicación preventiva de los TENS a frecuencias bajas (10, 20, 40 y 80 Hz). No así cuando se aplicaron frecuencias altas de hasta 160 Hz, comparados con los grupos controles (I y III), lo cual sugiere que este recurso es útil cuando se aplican frecuencias menores a 80 Hz, lo cual concuerda con el estudio realizado por Mannheimer, quien empleando frecuencias menores de 70 Hz, obtuvo efecto terapéutico antiálgico en pacientes con dolor severo por Artritis Reumatoide²³.

En nuestro estudio, la frecuencia más baja fue de 10 Hz, con buenos resultados; sin embargo, Johnson utilizó diferentes frecuencias de estimulación en un modelo de dolor inducido por frío en sujetos normales encontrado resultados similares, ya que las frecuencias entre 20 y 80 Hz ofrecieron mejor analgesia, que frecuencias por debajo de 10 Hz, y por arriba de 160 Hz²⁴, aunque su modelo es de dolor somático y el aquí presentado es de dolor visceral, ambos siguen la misma tendencia.

El mayor efecto antinociceptivo observado lo encontramos en el grupo VI al que se aplicaron 40 Hz, frecuencia que en forma evidente abatió la RCA

hasta en 92%, sólo 4 respuestas constrictoras abdominales comparados contra 54 del grupo I y 56 del grupo III (controles). Sjolud²⁵ obtuvo resultados semejantes cuando, administrando TENS preventivo, encontró que la estimulación con 80 Hz produjo la máxima supresión en la respuesta de flexión evocadas por fibras C en el ratón.

Se ha postulado que el posible efecto antiálgico del TENS se debe a diversos mecanismos, ya que a frecuencia por arriba de 10 Hz, actúa a nivel espinal a través del mecanismo de control de las compuertas²⁰. Las frecuencias altas de estimulación producen fatiga sináptica lo cual puede limitar este mecanismo y disminuir la eficacia cuando se aplican estímulos con frecuencias de 160 Hz; esto mismo fue observado en nuestro estudio como en el de Johnson²⁴.

Se ha explicado que el efecto satisfactorio del TENS a frecuencias menores a 10 Hz producen un efecto similar a la analgesia por acupuntura, por liberación de opioides endógenos^{21,23}.

Al examinar el comportamiento de los controles, se puede advertir que en el caso del grupo control al que se aplicó Perezona IP, se demostró plenamente que ésta es capaz de inducir estímulo nociceptivo a través de la RCA, mientras que el vehículo en que se disuelve (aceite de maíz), no tiene por sí mismo la capacidad de inducir ningún estímulo nocivo (cero RCA).

Al grupo al que se colocaron los electrodos sin estímulo eléctrico (Grupo III placebo) se observó el mayor número de RCA (56 en total). Con presencia inclusive de fenómenos neurovegetativos tales como (micción, defecación, taquicardia). Lo cual sugiere que el TENS en este grupo no presentó efecto placebo.

Siendo el dolor una de las sensaciones más temidas por los seres humanos y animales diferenciados filogenéticamente, resulta necesario establecer cuales son los mecanismos para evitar esta desagradable sensación, aunque no siempre resulta factible. A pesar de que en la última década se ha avanzado en forma notable, numerosos reportes tratan de explicar algunos de los mecanismos neurofisiológicos encaminados a este propósito³⁻⁶; asimismo otros investigadores han ensayado varios métodos para tratar de evitar el dolor antes de que se presente, lo que se conoce como analgesia preventiva. Aunque controvertida, nos permite entender los posibles mecanismos orientados a disminuir o evitar el dolor antes de que el estímulo nocivo genere los múltiples y complejos eventos neurofuncionales que lo caracterizan²⁶⁻³⁰. Son innumerables los re-

cursos y métodos empleados con este fin, siendo los más empleados, la administración de fármacos analgésicos por diversas vías, aplicados antes de que ocurra el estímulo doloroso, tales como AINES, opiáceos y anestésicos locales²⁶⁻²⁹. Sumándose el TENS al armamentario de la analgesia preventiva.

En nuestro estudio utilizamos el TENS como procedimiento analgésico preventivo para valorar la RCA en respuesta a la Perezona IP, bajo el concepto de analgesia preventiva cuyo objetivo, es disminuir la sensibilidad central explicada por cambios en los campos receptivos de neuronas espinales lo cual conduce a un aumento en la excitabilidad producida por impulsos nociceptivos periféricos conduciendo a hipersensibilidad a estímulos subsecuentes²⁶.

Existen en la literatura reportes coincidentes con nuestros resultados en los que se emplea el TENS como procedimiento analgésico preventivo ante un estímulo nocivo; destacan los empleados por Lander³¹, el cual utilizó este método para evitar el dolor por venopunción en niños; Morgan³², los empleó en procedimientos tendientes a efectuar distensión por artrografía de hombro en pacientes con capsulitis adhesiva, procedimiento notablemente doloroso, encontrando resultados satisfactorios con este método; en otras comunicaciones, se establece la utilidad de los TENS en diversas entidades patológicas como dolor de miembro fantasma²⁷, analgesia post-toracotomía^{28,29} y otras entidades en que se ha encontrado un papel fundamental de la memoria al dolor en el pasado y entre la intensidad del dolor actual³⁰.

Sin duda, este recurso terapéutico tiene la posibilidad de emplearse en forma preventiva, representando un recurso no farmacológico que puede utilizarse en pacientes con dificultades para recibir analgésicos antiinflamatorios no esteroideos u opiáceos de diferente tipo. De igual forma consideramos que este método asociado a dosis bajas de analgésicos no opiáceos, opiáceos y anestésicos locales puede representar una alternativa conveniente en aquellas circunstancias en las que se requiera prevenir el dolor con bajo gasto de fármacos de diferente naturaleza, lo cual sin duda traerá para el paciente notables beneficios orientados a aliviar el dolor sin causar mas daño.

REFERENCIAS

1. Flecknell PA. The relief of pain in laboratory animals. *Laboratory Animals* 1984;18:147-160
2. Beilin B, Nemirovsky AY, Zeidel A, Maibord E, Zelman V, Katz

- RL. Systemic physostigmine increases the antinociceptive effect of spinal morphine. *Pain* 1997;70:217-221.
3. Lutfy K, Xiong SC, Woodward RM, Weber E. Antinociceptive effects of NMDA and non-NMDA receptor antagonists in the tail flick test in mice. *Pain* 1997;70:31-40
4. Zhang Y, Tang J, Yuan B, Jia H. Inhibitory effects of electrically evoked activation of ventrolateral orbital cortex on the tail-flick reflex are mediated by periaqueductal gray in rats. *Pain* 1997;72:127-135
5. Mogil JS, Richards SP, O' Toole LA, Helms ML, Mitchell SR, Belknap JK. Genetic sensitivity of hot-plate nociception in DBA / 2J and C57BL/6J inbred mouse strains: possible sex-specific mediation by delta 2- opioid receptors. *Pain* 1997;70: 267-277.
6. Collier HOJ, Ammond H, Horwood-Barrett S, Schnlider C. Rapid induction by acetylcholine, bradykinin and potassium of a nociceptive response in mice and its selective antagonism by aspirin. *Nature* 1964;204:1316-1318.
7. Britain RT, Lehrer DN, Spencer PSJ. Phenilquinone writhing test: interpretation of data. *Nature* 1963;200:895-896.
8. Collier HOJ, Dinneen LC, Johnson CA, Schneider C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br J Pharmac Chemother* 1968;32:295-310.
9. Kokka N, Fairhurst AS. Naloxone enhancement of Acetic Acid-Induced writhing in rats. *Life Sci* 1977;21:975-980
10. Murray WJ, Wald HA. Oxytocin-induced 'Cramping' in the rat. *J Pharmac Exp Ther* 1960;128: 372-379.
11. Joseph-Nathan P. La química de la perezona como homenaje al doctor Leopoldo Rio de la Loza en el centenario de su fallecimiento. *Rev Soc Quim Mex* 1974;226-240.
12. Walls F, Salmon M, Padilla J, Joseph-Nathan P, Romo J. La estructura de la perezona. *Bol Inst Quim* 1965; XVII: 3-15.
13. Garcia X, Alcantara SG, Cartas HL, Gijon E. Actions of perezona on rat smooth muscle. *Gen Pharmacol* 1995;26:1741-5
14. Wang B, Tang J, White PF, Naruse R, Sloninsky A, Kariger R, Gold J, Wender RH. Effect of the intensity of transcutaneous Acupoint Electrical Stimulation on postoperative Analgesic requirement. *Anesth Analg* 1997;85:406-413.
15. Roche PA, Gijsbers K, Belch JJF, Forbes CD. Modification of Hemophilic Haemorrhage pain by Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation. *Pain* 1985;21:43-48.
16. Augustinsson LE, Bohlin P, Bundsen P, Carlsson CA, Furssman L, Sjöberg P, Tyreman NO. Pain relief during delivery by Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation. *Pain* 1977;4:59-65.
17. Bates JAV, Nathan PW. Transcutaneous electrical Nerve Stimulation for chronic pain. *Anaesthesia* 1980;35:817-822.
18. Sheather-Reid RB, Cohen ML. Psychophysical evidence for a neuropathic component of chronic neck pain. *Pain* 1998;75:341-347.
19. Smith CM, Guralnick MS, Gelfand MM, Jeans ME. The effects of Transcutaneous electrical nerve stimulation on post-cesarean pain. *Pain* 1986;27:181-193.
20. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new Theory. *Science* 1965;150: 971.
21. Facchinetti F, Sandrini G, Petralgia F, Alfonsi E, Nappi G, Genazzani AR. Concomitant increase in nociceptive flexion reflex threshold and plasma opioids following transcutaneous nerve stimulation. *Pain* 1984;19:295-303.
22. Han JS, Chen XH, Sun SL, Xu XJ, Yuan Y, Yan SC, Hao JX, Terenius L. Effect of low and high frequency TENS on met-enkephalin-arg-phe and dynorphin A immunoreactivity in human lumbar CSF. *Pain* 1991;47:295-298.
23. Mannheimer C, Carlsson CA. The analgesic effect of

- transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) in patients with rheumatoid arthritis. A comparative study of different pulse patterns. *Pain* 1979;6:329-334.
24. Johnson MI, Ashton CH, Bousfield DR, Thompson JW. Analgesic effects of different frequencies of Transcutaneous electrical Nerve Stimulation on cold induced pain in normal subjects. *Pain* 1989;39:231-236.
25. Sjolund BH. Peripheral nerve stimulation suppression of C-fiber-evoked flexion reflex in rats. *J Neurosurg* 1985;63:612-616.
26. Wooff CJ, Chong MS. Pre-emptive analgesia-treating postoperative pain by preventing the establishment of central sensitization. *Anesth Analg* 1993;77:362-379.
27. Nikolajsen L, Ilkjaer S, Kroner K, Christensen JH, Jensen TS. The influence of preamputation pain on postamputation stump and phantom pain. *Pain* 1997;72:393-405.
28. Doyle E, Bowler GMR. Pre-emptive effect of multimodal analgesia in thoracic surgery. *Br J Anaesth* 1998;80:147-151.
29. Kavanagh BP, Katz J, Sandler AN. Pain control after thoracic surgery. A review of current techniques. *Anesthesiology* 1994;81:737-759.
30. Eich E, Reeves JL, Jaeger B, Graff-Radford SB. Memory for pain: Relation between past and present pain intensity. *Pain* 1985;23:375-379.
31. Lander J, Fowler-Kerry S. TENS for children's procedural pain. *Pain* 1993;52:209-216.
32. Morgan B, Jones AR, Mulcahy KA, Finlay DB, Collett B. Transcutaneous electric nerve stimulation (TENS) during distension shoulder arthrography: A controlled trial. *Pain* 1995;64:265-267.