



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA**



**“ESTUDIO ISOBOLOGRAFICO DE LA COMBINACION DE IBUPROFENO CON
MORFINA EN DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL”**

FELIPE LOPEZ CORREA

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

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

**TUTOR ASOCIADO
Prof. Dr. Fernando A. Sierralta G.**

**Santiago - Chile
2010**

AGRADECIMIENTOS

- A mis padres: Carlos López Serrano y Bertina Correa Lacerna por ser quienes me apoyaron durante este largo proceso de manera incondicional prestándome su apoyo durante toda mi vida.
- A mi tía Adriana Lacerna por cuidarme siempre como un hijo y por velar que nunca me faltara nada en mi vida.
- A mi tutor el Dr. Hugo Miranda por entregarme su tiempo y conocimientos durante esta investigación.
- A Don Alejandro Correa y Don José López por su gran disposición y buena voluntad en todos los momentos que compartí junto a ellos.

INDICE

Resumen.....	3
Introducción.....	4
Marco teórico.....	6
1. Clasificación del dolor.....	6
1.1 Según el tiempo de evolución.....	6
1.2 Según su origen o fisiopatología.....	7
1.3 Según discriminación espacial.....	8
2. Neurofisiología del dolor.....	8
2.1 Transducción.....	8
2.2 Transmisión.....	11
2.3 Modulación e integración de la antinocicepción.....	12
2.4 Transmisión por las vías ascendentes y percepción.....	12
2.5 Control descendente por las vías encéfalo espinales.....	13
3. Neurofisiología del dolor orofacial.....	15
4. Control farmacológico del dolor.....	18
4.1 Analgésicos antiinflamatorios no esteroidales.....	19
4.2 Reacciones adversas de los AINEs.....	21
4.2.1 Ibuprofeno.....	22
4.3 Opioides.....	25
4.4 Reacciones adversas a los opioides.....	26
4.4.1 Morfina.....	26
4.5 Interacción de fármacos.....	30
Hipótesis y objetivos.....	31
1. Hipótesis.....	31
2. Objetivos.....	31
2.1 Objetivo general.....	31
2.2 Objetivos específicos.....	31
Material y método.....	32
1. Animales.....	32
2. Test de la formalina.....	33

3. Evaluación de la analgesia.....	36
4. Análisis estadístico.....	39
Resultados.....	40
1. Grupo control.....	40
2. Grupo tratado con ibuprofeno.....	40
3. Grupo tratado con morfina.....	41
4. Análisis isoblográfico de la interacción de ambos medicamentos.....	43
Discusión.....	45
Conclusiones.....	47
Sugerencias.....	48
Bibliografía.....	49

RESUMEN

Para nadie es desconocido que nuestro organismo frente a las alteraciones en su funcionamiento normal reacciona, en el caso de un daño no es la excepción y una de las primeras manifestaciones de éste es el dolor.

En el tratamiento del dolor los fármacos más utilizados corresponden a dos familias, los antiinflamatorios no- esteroidales y los opioides. Con el fin de disminuir las dosis a administrar y la cantidad de reacciones adversas a los medicamentos las tendencias actuales sugieren la asociación de medicamentos en el tratamiento del dolor. En el presente trabajo se utilizaron 2 fármacos: el ibuprofeno y la morfina, para apreciar la actividad antinociceptiva y su tipo de interacción en el ensayo algésimétrico de la formalina orofacial. Se utilizaron ratones machos ("*Mus musculus*"), los cuales fueron inyectados por vía subcutánea con 20µL, de una solución de formalina al 2% en el labio superior derecho, lo cual produce un comportamiento bifásico: fase I (algesia aguda) y fase II (algesia inflamatoria).

Los resultados confirman que la administración de ibuprofeno o morfina o sus mezclas, tienen un efecto analgésico dosis-dependiente en ambas fases, siendo la morfina la de mayor potencia en ambas fases. La administración simultánea, en proporción de 1:1 de sus DE₅₀, produjo un efecto sinérgico en ambas fases del ensayo. La sinergia obtenida está relacionada con la capacidad analgésica demostrada por los fármacos usados y confirma los beneficios en la asociación de fármacos (analgesia multimodal). Los hallazgos obtenidos en este estudio serían de gran utilidad para la realización de futuros estudios clínicos, dentro del campo de la farmacología del dolor tanto agudo como crónico.

INTRODUCCIÓN

La vida diaria se acompaña de muchas situaciones y sensaciones diferentes, muchas veces no todas son agradables, el dolor es un evento de gran relevancia dentro de la vida del ser humano, por ende es clave su estudio para entenderlo y tratarlo de una forma adecuada, para que así podamos llevar a cabo nuestra vida con una mejor calidad en todos sus aspectos.

Como profesionales de la salud a diario nos enfrentaremos al dolor. Es uno de los principales motivos de consulta en los centros donde se presta atención dental. Muchas veces por motivos culturales se asocia la atención dental con sensaciones de dolor, sin embargo, una de nuestras mayores motivaciones vocacionales es darle atajo y alivio a éste. Muchas veces la ausencia del dolor es calidad de vida aunque muchas veces no lo percibamos como tal. *“El placer es el bien primero, es el comienzo de toda preferencia y de toda aversión, es la ausencia del dolor en el cuerpo y de la inquietud en el alma”* (Epicuro).

El dolor es definido por la Asociación Mundial para el estudio del dolor, IASP, de su sigla en inglés, como una *“experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada con un daño tisular real o potencial, descrito en términos de ese daño”*, este síntoma muchas veces difícil de precisar es muy útil para evaluar el tipo de patología y sus posibilidades de tratamiento. El dolor se genera cuando diversas áreas corticales del sistema nervioso central (SNC) reciben estímulos, a través de sistemas aferentes normalmente inactivos, no sólo generando sensaciones de tipo reflejas, sino también sensaciones desagradables con un gran porcentaje de respuestas emocionales que poseen un componente sensorial discriminativo, cognitivo-evaluativo y afectivo-sensorial ⁽¹⁾.

Es nuestro deber como profesionales de la salud preocuparnos de todos los aspectos dentro del tratamiento de una anormalidad, en este caso el dolor, muchas veces las personas combinan fármacos y se automedican. Generalmente no obteniendo los resultados que ellos esperan debido a la falta de conocimiento al llevar a cabo estas acciones.

Debido a esto se han enfocado muchos estudios farmacológicos con el apoyo de la industria en cuestión, para establecer asociaciones experimentales entre

diversos fármacos para lograr atenuar de forma significativa el dolor y a su vez generar la menor cantidad de alteraciones y/o daños en la fisiología y calidad de vida del paciente.

Para nadie es desconocido que dentro de los fármacos más utilizados para el alivio del dolor están los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), estos actúan alterando el curso normal de la respuesta inflamatoria, suprimiendo las vías que generan dolor más allá del tiempo necesario. Su mecanismo de acción es mediante la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas, las cuales son responsables de la formación de elementos proinflamatorios a nivel periférico y central ⁽²⁾.

Los opioides son el otro gran grupo de fármacos utilizados para el manejo del dolor, el principal representante de éstos es la morfina. Su mecanismo de acción se resume en la unión a receptores específicos del sistema nervioso central (SNC), inhibiendo así los impulsos nociceptivos provenientes del sitio dañado ⁽³⁾.

Por todo lo anteriormente descrito es en nuestro campo en específico una prioridad el alivio del dolor, ante lo cual surge este trabajo que evaluó la actividad antinociceptiva del ibuprofeno y la morfina, además de analizar la conducta de su combinación en el test algesiométrico de la formalina orofacial.

MARCO TEÓRICO

A lo largo de los tiempos el dolor siempre ha sido visto desde distintos puntos de vista, a veces un tanto subjetivos. De alguna forma es un concepto bastante complicado de interpretar y que trae muchas dificultades para definirlo como un concepto particular y único, por ello se han establecido diferentes clasificaciones a lo largo de la humanidad para facilitar su estudio.

A continuación algunas de las más relevantes:

1. Clasificación del dolor:

1.1 Según el tiempo de evolución:

-Dolor agudo: se genera debido a una noxa tisular de grado apreciable y su duración varía dependiendo de cuánto tiempo los tejidos tardan en reparar dicha injuria. El comité de Taxonomía de la IASP, llegó a la conclusión que el tiempo límite del dolor agudo era de 3 meses. En sí este tipo de dolor constituye un importantísimo mecanismo de alarma para limitar el daño e iniciar los mecanismos de reparación. Su proceso es diferente dependiendo el lugar donde se originó la lesión. A su vez el dolor agudo puede dividirse en continuo o recurrente. El primero permanece estable con una cierta intensidad, mientras que el recurrente presenta fluctuaciones ya sea en su periodicidad e intensidad ⁽¹⁾.

-Dolor crónico: en este tipo de dolor se aprecia la persistencia de éste a pesar de la reparación existente en el tejido en el cual se produjo la injuria. Esto se debe a la mantención en la estimulación de los nociceptores en áreas donde se ha producido daño tisular en ausencia del estímulo desencadenante. En este tipo de dolor no se observan propiedades biológicas reparadoras. En contraparte con el dolor agudo, el dolor de tipo crónico tiene un tiempo estimado superior a 3 meses, o que según las características que reúna no sea compatible con un dolor de tipo agudo. Este tipo de dolor es más complejo debido al compromiso psicológico que podría generar en los individuos que lo padecen, además cabe destacar que tiene escaso o nulo componente neurovegetativo ⁽¹⁾.

1.2 Según su origen o fisiopatología:

- Dolor somático: aparece cuando un estímulo potencialmente dañino para la integridad física del individuo excita a los receptores nociceptivos. De forma rigurosa, debiese incluir a todos los dolores no pertenecientes al SNC, sin embargo, se habla de dolor somático propiamente tal cuando los receptores están en los músculos, piel o articulaciones. Este dolor por lo general es bien localizado y el individuo no tiene grandes complicaciones en localizarlo y describirlo ⁽¹⁾.

- Dolor neuropático: este dolor se genera como consecuencia de lesiones o alteraciones crónicas en vías nerviosas periféricas o centrales. Este tipo de dolor tiene la particularidad de que puede desarrollarse y persistir en ausencia de un estímulo nocivo evidente. Al ser una experiencia poco clara para la mayoría de los individuos, éstos últimos tienen muchas dificultades para describirlo. Los síntomas percibidos pueden ser localizados o más bien difusos (no hay certeza en la descripción). La característica de este síntoma se manifiesta como una sensación basal dolorosa o percepción de un estímulo cualquiera como doloroso (alodinia) ⁽⁴⁾.

- Dolor psicogénico: este dolor tiene gran afectación en el aspecto psicológico, el individuo muchas veces refiere problemas tales como ansiedad o depresión para dar una descripción acerca del daño tisular, ya sea de forma verbal o a través de hechos conductuales poco normales. El problema central es la amplificación y distorsión de los impulsos periféricos por el estado psicológico, puesto que en muchos casos la injuria no está presente en forma clara ⁽¹⁾.

- Dolor visceral: este se genera debido a la estimulación de nociceptores que inervan estructuras viscerales tales como intestinos u otros órganos internos. También este tipo de dolor es definido por el paciente de forma poco clara, puesto que éste último no puede establecer bien su localización y su intensidad, además de otros aspectos importantes ⁽¹⁾.

1.3 Según discriminación espacial o característica somatosensorial:

-Dolor protopático: este es un dolor de tipo difuso y mal localizado. La mayoría de los pacientes lo describen como un dolor sordo. Este es un dolor referido, lo cual quiere decir que el paciente describe o localiza este dolor distante al sitio de origen ⁽⁵⁾.

-Dolor epicrítico: este es un dolor de localización precisa, superficial y bien delimitado. Los pacientes pueden describir este dolor con las siguientes características; “punzante, lacerante, opresivo, lancinante, quemante, fulgurante o en ramalazo”. No es de tipo referido ⁽⁵⁾.

2. Neurofisiología del dolor

A modo de resumen se puede decir que todo el proceso que involucra una sensación dolorosa está dado por tres neuronas, donde la de primer orden va desde la periferia a la médula espinal, la de segundo orden asciende hasta los centros superiores y la de tercer orden se proyecta a la corteza cerebral. A modo de otorgar una mayor comprensión ahondaremos un poco en sus etapas ⁽¹⁾:

2.1 Transducción: activación y sensibilización de los nociceptores periféricos:

La transducción corresponde al proceso mediante el cual los nociceptores transforman en impulsos nerviosos los estímulos que reciben (térmicos, químicos y mecánicos). Dentro de este proceso existen dos tipos de transducción:

- Activación.
- Modificación en la sensibilidad.

El primero de estos genera el potencial de acción, mientras que el segundo deriva hacia una mayor o menor sensibilidad (*up-regulation* y *down-regulation*, respectivamente). Dentro de una mayor sensibilidad se ven involucrados una mayor cantidad de receptores y un menor umbral de excitación ^(6,7).

Cuando existe una noxa a nivel tisular se desencadena el proceso llamado sensibilización, que involucra cambios en el sistema nervioso responsables de la modificación de las características del umbral doloroso como la disminución de éste. Según lo anteriormente dicho el dolor aparece en presencia de estímulos dañinos de menor intensidad con hiperalgesia, pérdida de localización y selectividad frente al estímulo, y se ven afectadas otras zonas no relacionadas en sí con la lesión desencadenante del episodio doloroso. Este tipo de dolor fisiológicamente no presenta carácter protector y genera efectos adversos que influyen negativamente en la evolución del paciente en el postoperatorio ⁽⁶⁾.

Una característica que se ve en la mayoría de los nociceptores es su sensibilidad frente a los productos químicos, los cuales, en el caso del dolor agudo son producidos en el mismo sitio de la inflamación o daño, sintetizados por las diferentes estructuras comprometidas. Estos mediadores químicos son los que aumentan la cobertura de la sensibilidad, provocando que no sólo duela el territorio dañado, sino también el territorio que lo rodea y que no está inflamado, al actuar sobre terminaciones nerviosas presentes en dichos tejidos, aumentando su excitabilidad. Estos mediadores químicos generadores de dolor se denominan sustancias algogénicas ⁽⁸⁾. Los tejidos dañados liberan mediadores inflamatorios desde diferentes sitios, entre los cuales destacan: células dañadas (H^+ , K^+), plasma (bradicininas), plaquetas (serotonina), mastocitos (histamina) y macrófagos (citocinas). Cabe recordar también que el daño provocado en la membrana celular conduce a la activación de la vía del ácido araquidónico, la cual es la principal responsable de la producción de leucotrienos y prostaglandinas (PGs), principales mediadores de la hiperalgesia que acompaña a la inflamación ^(8, 9, 10). Los leucotrienos y prostaglandinas causan una sensibilización de los receptores periféricos, bajando su umbral de activación e incrementando su sensibilidad frente a los estímulos. Existe otra familia de sustancias llamadas quininas, tales como kalidina y bradicinina, las cuales poseen numerosas funciones proinflamatorias que incluyen: liberación de PGs, citocinas, radicales libres, degranulación de mastocitos y liberación de histamina, etc. Bradicininas y PGs, en particular la PGE₂, tienen la propiedad de estimular directamente las

terminaciones nerviosas, comenzando así la transmisión del impulso doloroso a lo largo de las vías nociceptivas ⁽¹⁰⁾.

A su vez, también, la estimulación de los nociceptores conduce a la activación de los terminales de nocicepción, generándose una liberación de sustancia P, un péptido relacionado con el gen de la calcitonina y adenosina trifosfato (ATP), los cuales se involucran en la respuesta inflamatoria, causando liberación de histamina desde los mastocitos, vasodilatación e incremento de la permeabilidad vascular. Acompañado de la liberación de mediadores vasoactivos desde los mastocitos, así provocan una respuesta inflamatoria, promoviendo la activación y sensibilización de los nociceptores ^(8, 9, 10). La histamina liberada, actúa directamente sobre las neuronas sensoriales produciendo dolor y picazón. Este estímulo además promueve la liberación de más neuropéptidos y PGs, fomentando el efecto inflamatorio y la hiperalgesia. Existe otra sustancia, la serotonina (5-HT), que dependiendo al receptor al cual se acople presenta diferentes funciones, a nivel de la periferia es un importante mediador inflamatorio, tomando importancia en las fases iniciales de la respuesta inflamatoria. La serotonina, liberada desde los mastocitos y plaquetas, al entrar en contacto con el nociceptor causa su activación en forma directa ⁽¹⁰⁾.

Durante la inflamación los tejidos producen sustancias tales como: peróxido de hidrogeno, superóxido y especies hidroxiladas. Estas generan una exacerbación en los efectos de las bradicininas, PGE2 y otros mediadores inflamatorios, similar al sinergismo existente entre otras sustancias algogénicas. Así, podemos apreciar que existen múltiples *feed back* positivos a nivel periférico ⁽¹⁰⁾.

La sensibilización central se refiere a la descarga inmediata, debido a la excitabilidad aumentada de la segunda neurona de la vía del dolor (que a nivel orofacial se encuentra en el núcleo espino trigeminal), producto de los elevados niveles de actividad en las aferencias nociceptivas periféricas. Al producirse liberación de sustancia P, a nivel central, esta se unirá a receptores NK1 de la segunda neurona, produciendo como respuesta de parte de ésta, extensas despolarizaciones que permitirán el desbloqueo de los receptores NMDA. Estos últimos son activados por el glutamato presente en el espacio sináptico,

provocando la generación de más impulsos nerviosos por parte de la segunda neurona de la vía, al mismo tiempo, en la segunda neurona se producirá la activación de la enzima óxido nítrico sintasa, generando óxido nítrico que difunde hacia la periferia y penetra en la terminación pre-sináptica, aumentando la liberación de glutamato por la primera neurona, generándose un *feed back* positivo. De lo anterior resulta que, estímulos que previo a la sensibilización no alcanzaban el umbral doloroso, luego de ésta, son suficientes para generar potenciales de acción en las neuronas de segundo orden, contribuyendo al incremento en la sensación de dolor ⁽⁹⁾.

2.2 Transmisión:

Para llevar la información al encéfalo, la sinapsis se lleva a cabo con la neurona de segundo orden en el asta dorsal de la médula, específicamente en zonas que histológicamente se conocen como *láminas de Rexed* ^(1, 11). Las fibras aferentes mielínicas de grueso calibre (A β), que se encuentran conectadas a mecanorreceptores cutáneos de bajo umbral, terminan en las láminas III, IV, y V (llamado núcleo propio) y en la porción dorsal de la lámina VI. Las fibras A δ también mielínicas de menor calibre (vías de transmisión del dolor epcrítico) terminan fundamentalmente en las láminas I (zona marginal) y V, mientras que las fibras de tipo C amielínicas (vías de transmisión de dolor protopático) terminan casi exclusivamente en la lámina II ipsilateral (núcleo de la sustancia gelatinosa de Rolando), aunque una pocas poseen terminaciones en la zona ventral de la lámina I y en la zona dorsal de la lámina III ⁽¹¹⁾.

Las sustancias involucradas en transmitir el impulso nervioso hacia el SNC, son neurotransmisores liberados por neuronas sensoriales de primer orden, interneuronas y fibras descendentes del sistema supraespinal y estos pueden ser de tres tipos principalmente:

- neuropéptidos
- aminoácidos excitatorios
- ATP ^(1, 11).

2.3 Modulación e integración de la antinocicepción:

La información nociceptiva que llega a la médula espinal sufre un primer procesamiento por sistemas de control segmentarios y supra segmentarios. Los primeros corresponden a la neuromodulación en un determinado nivel medular, y que por ello tendría un alcance más localizado. A modo de ejemplo tendríamos el alivio del dolor producido por una caricia en una zona cercana a la injuria o la aplicación de estímulos cutáneos mediante estimulación nerviosa transcutánea (TENS). Los segundos, en tanto, tienen su origen en estructuras nerviosas que se encuentran por arriba de la médula:

- región bulbar ventro-medial (RBVM).
- tronco del encéfalo ⁽¹⁾.

A nivel segmentario participan las interneuronas encefalinérgicas, que inhiben el impulso nervioso hacia los centros superiores al bloquear pre o postsinápticamente a las neuronas nociceptivas, o bien actuar a través del mecanismo conocido como “*teoría de la compuerta*”, en el cual estas interneuronas, que pueden ser superficiales o profundas, tienen ramas colaterales que llegan a distintas zonas de la *lámina de Rexed* y hacen sinapsis con el cuerpo de las neuronas de la sustancia gelatinosa de Rolando, donde se llevara a cabo la inhibición de la nocicepción.

2.4 Transmisión por las vías ascendentes(espino-encefálicas) y percepción:

Una vez que está procesada la información nociceptiva a nivel espinal, ingresa a centros superiores donde ponen en marcha respuestas vegetativas, motoras y emocionales, además de hacerse consciente. Para ello las neuronas de primer orden que llegan a la médula espinal hacen sinapsis en tres tipos de neuronas:

- con proyección supraespinal (información a centros superiores)
- propioespinales
- interneuronas (mecanismos de control o reflejos espinales) ⁽¹⁾.

Las vías ascendentes están constituidas por tres haces que llegan al tálamo, donde éstas son proyectadas a distintas zonas del cerebro. Uno de ellos, el haz neoespinalámico, que hace sinapsis en núcleos específicos del tálamo:

-N. Ventral-posterior

-N. Postero-lateral

Los núcleos anteriormente nombrados se proyectan a la corteza somestésica o parietal, en las áreas sensitivas I y II, con el objetivo de darle la ubicación topográfica al dolor. Un segundo haz, el paleoespinalámico, se proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo y luego a la corteza frontal, dándose así la evaluación cualitativa del dolor. Por último, el haz espinoreticulotalámico hace sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia, zona mesencefálica y sustancia gris periacueductal. Y de allí, en forma bilateral, hacia los núcleos inespecíficos del tálamo. La formación reticular tiene relación con los estados de sueño y vigilia, funciones que se ven alteradas significativamente en los cuadros dolorosos. El haz espinoreticulotalámico, por sus importantes conexiones asociativas, es el que aporta el componente emocional y afectivo al dolor, siendo este factor el responsable de las grandes variaciones en la experiencia dolorosa ante un estímulo de igual naturaleza entre los distintos individuos. Es mediante este haz que se puede lograr el control voluntario de un estímulo doloroso a través de ejercicios de concentración, meditación, respiración, etc ⁽¹¹⁾.

2.5 Control descendente por las vías encéfalo-espinales:

Este sistema fue observado por primera vez luego de descubrir que la estimulación eléctrica de la sustancia gris periacueductal mesencefálica, produce analgesia profunda. Este efecto se explica por la activación de proyecciones descendentes dentro del asta dorsal de la médula espinal, que están sinápticamente interrumpidas en un complejo, la RBVM, que consta del núcleo del rafe magno (NRM) y la formación reticular medial adyacente. El núcleo del rafe magno contiene numerosas neuronas serotoninérgicas y se ha demostrado que sus

células se proyectan masivamente al asta dorsal superficial, es decir, la región donde las vías nociceptivas aferentes primarias contactan las células de origen de varios sistemas ascendentes relacionados al dolor ⁽¹²⁾.

En este complejo las células serotoninérgicas y no serotoninérgicas influyen en la transmisión nociceptiva de una forma bidireccional a través de un efecto directo en las vías aferentes primarias, así también, mediante un efecto indirecto mediado por interneuronas locales. Las mismas neuronas serotoninérgicas pueden verse involucradas en la vasoconstricción cutánea en respuesta a estímulos dolorosos. Las células noradrenérgicas ubicadas en el grupo celular catecolaminérgico del romboencéfalo: A5, A6 Y A7, también se proyectan hacia el asta dorsal superficial y contribuyen al sistema inhibitorio del dolor descendente. Los grupos celulares antes nombrados se encuentran en la recepción de proyecciones aferentes (fuertes) de la sustancia gris periacueductal, el bulbo raquídeo ventromedial rostral y las láminas superficiales del asta dorsal medular. De este modo, los opioides ejercen su influencia en la transmisión nociceptiva tanto a nivel de la sustancia gris periacueductal, como en la terminación de las vías aferentes primarias ⁽¹²⁾.

Probablemente, los centros por sobre el nivel mesencefálico también forman parte del sistema de control del dolor descendente. A su vez la sustancia gris periacueductal tiene abundantes conexiones recíprocas con el hipotálamo, y recibe también aferencias de las áreas corticales prefrontal, singular e insular. A través de los sistemas descendentes que se acaban de describir, las sensaciones de dolor se encuentran bajo el control de los niveles más altos del cerebro ⁽¹²⁾.

(Ver figura N°1)

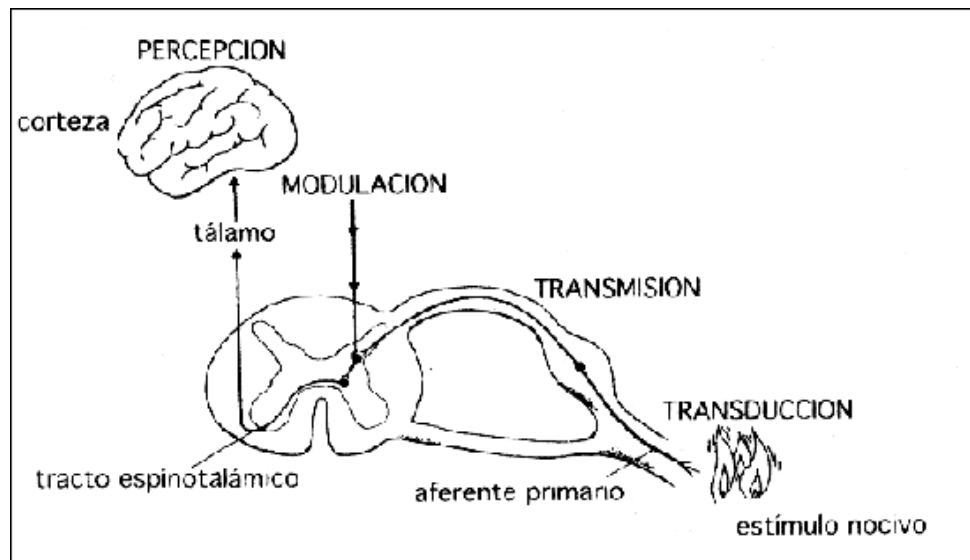


Figura N°1: Representación esquemática del proceso nociceptivo: transducción, transmisión, percepción y modulación (Modificada de Ferrante FM. Anesth Analg 1993; 76: S102-S103)

3. Neurofisiología del dolor orofacial:

Dentro de la máquina del cuerpo la región orofacial es una de las más significativas y sensibles, puesto que está muy ricamente inervada y con muchos y variados receptores. Es nuestro deber como odontólogos conocer todos los mecanismos dolorosos involucrados en esta zona, ya que un gran porcentaje de los pacientes manifiestan sensación dolorosa de diversa etiología al momento de consultarnos.

Los impulsos nerviosos que codifican el dolor en la cabeza, incluida la cavidad oral, se generan principalmente en la distribución periférica sensorial de cuatro nervios craneales. El nervio trigémino (V par) y en una menor medida de los nervios facial (VII par), glossofaríngeo (IX) y vago (X par). El nervio trigémino realiza su emergencia a nivel de la superficie mediolateral de la protuberancia, con una raíz sensitiva grande y una raíz motora pequeña. Se divide en tres ramas:

- R.oftálmica
- R.maxilar
- R.mandibular

Las ramas anteriormente nombradas emergen del cráneo a través de la cisura orbitaria superior, el agujero redondo y el agujero oval respectivamente ⁽¹⁾.

Cuando se percibe un estímulo dañino, se activan los nociceptores de algunas de las fibras A δ y C, las cuales se encargan de llevar la información dolorosa al sistema nervioso central. Los somas de estas fibras se encuentran en el ganglio de Gasser. Así cada una de estas posee un axón que va desde el ganglio a la periferia y otro que se proyecta ipsilateralmente hacia el tronco cerebral, para hacer sinápsis con neuronas de segundo orden del complejo nuclear sensorial trigeminal. Este complejo está formado por los núcleos sensitivo principal, mesencefálico y el espinal trigeminal (dividido en núcleo oral, interpolar y caudal). Luego, estas fibras ascienden por el tracto trigeminotalámico anterior, para hacer sinapsis con la neurona de tercer orden, cuyo soma se ubica en el núcleo ventral posteromedial del tálamo (relacionado con la discriminación y localización del dolor), para terminar en el tercio inferior de la circunvolución post-central, en la corteza cerebral ipsilateral. El componente afectivo del dolor estaría relacionado con neuronas nociceptivas presentes en los núcleos más mediales del tálamo ^(7, 13).

Cabe destacar que los mecanismos neuroquímicos involucrados son variados, y se encuentran una gran gama de sustancias relacionadas tales como neuropéptidos (sustancia P), neuroquímicos endógenos (somastatina, CGRP, ATP, péptidos opioides, factores de crecimiento, etc.). Las vías inhibitorias descendentes juegan el mismo papel que en el resto del cuerpo ⁽¹⁾. (Ver figura N°2)

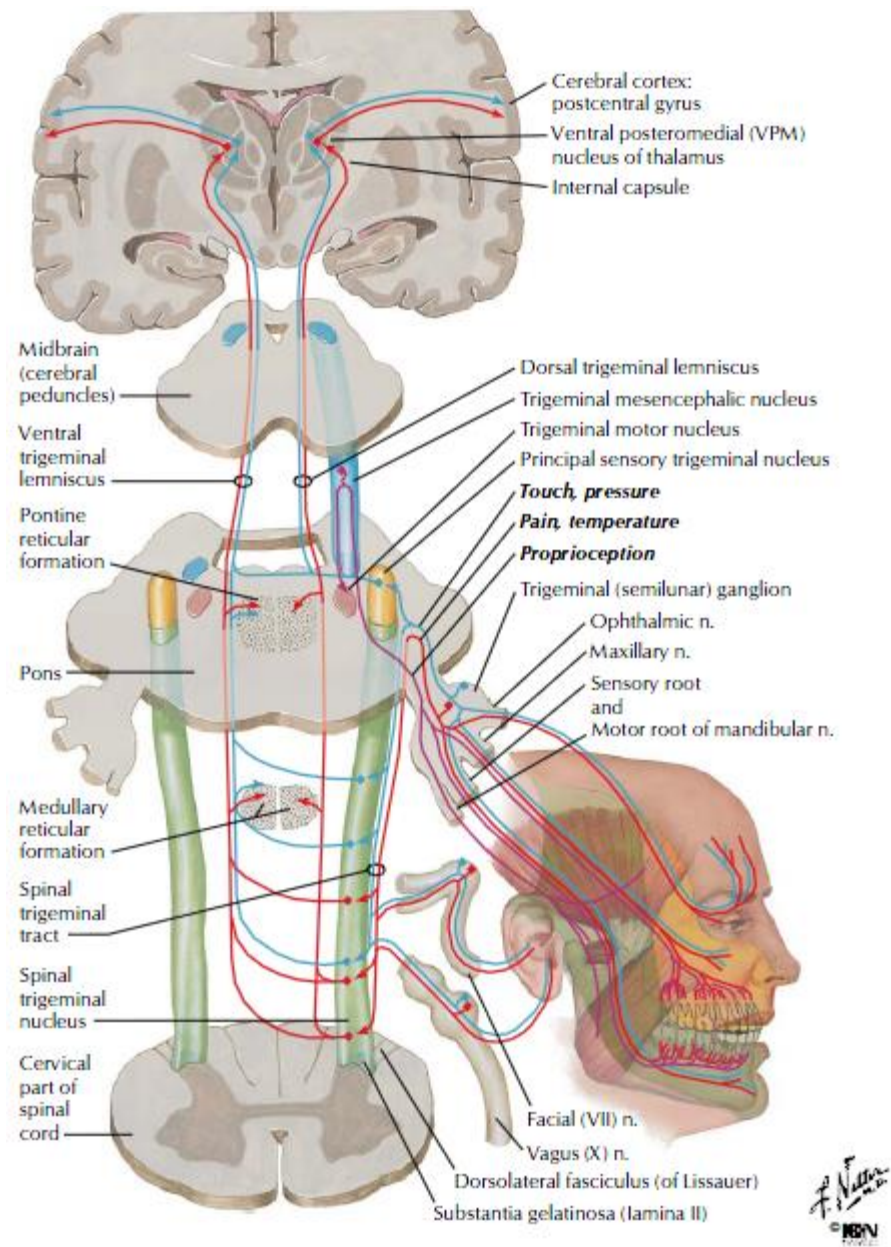


Figura N°2: Vías de nocicepción trigeminal. Extraída de atlas de Neurofisiología de F. Netter

4. Control farmacológico del dolor:

Para el tratamiento del dolor hay dos grandes métodos o medios para combatirlo en la actualidad:

-el farmacológico

-el no farmacológico

El uso de alguno de ellos o la combinación de ambos depende estrechamente de la cultura y las creencias de los individuos en particular. Los medicamentos que contamos en la actualidad son casi innumerables y difieren ya sea en su mecanismo de acción, composición química, presentación comercial, vía de administración, etc. De forma general dependiendo el sitio de acción estos pueden actuar en 3 niveles:

- a) Alterando la conducción de los estímulos dolorosos (Ej: anestésicos locales)
- b) A nivel central (Ej: analgésicos opioides)
- c) A nivel periférico (Ej: antiinflamatorios esteroidales o corticoides y también los AINEs) actuando directamente en la generación de la noxa.

Es importante decir que existen otros fármacos, llamados coanalgésicos, entre los cuales destacan los: alfa-adrenérgicos, colinérgicos, nitridérgicos, serotoninérgicos, antidepresivos tricíclicos, cannabinoides y anticonvulsionantes, entre muchos otros, que pueden ejercer sus funciones en receptores que son expresados pre y postsinápticamente en neuronas a nivel espinal y supraespinal (α -adrenérgicos, serotoninérgicos y muscarínicos), antes ya mencionados ^(14, 15).

4.1 Antiinflamatorios no esteroidales (AINEs):

Estos medicamentos son los de mayor uso en la actualidad en el tratamiento del dolor y otras condiciones debilitantes en los seres vivos. Son un grupo múltiple y variado. Su mecanismo de acción a grandes rasgos es disminuir el dolor, la inflamación y/o la fiebre. La acción de cada uno de ellos difiere en cuanto a la intensidad en el combate de las condiciones antes descritas.

El mecanismo de acción de este grupo de medicamentos es la inhibición reversible de las ciclooxigenasas (COXs), las cuales son enzimas específicas encargadas de transformar el ácido araquidónico en prostanoïdes: tromboxano (vasoconstrictor, potente agente hipertensivo y facilitador de la agregación plaquetaria) y prostaglandinas (proinflamatorias) ⁽¹⁶⁾.

Las ciclooxigenasas descritas hasta el momento son; COX-1, COX-2 y COX-3 respectivamente.

La COX-1 se encuentra normalmente en los tejidos y responde frente a la estimulación hormonal aumentando dos a cuatro veces en promedio su actividad. Esta secreta prostanoïdes que influyen fuertemente en muchas funciones de homeostasia tales como: la citoprotección gástrica (mediante la producción de una capa de mucus), mecanismo de regulación del tono vascular, del tono bronquial, de la contracción uterina, de agregación plaquetaria, etc.

La COX-2 normalmente no se encuentra en los tejidos sino que se da por resultado de una respuesta rápida de expresión genómica que ocurre en células del sistema inmunológico y procesos inflamatorios. Es inducida para su producción por múltiples estímulos tales como interferón, interleucinas, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y otros mediadores presentes en lesiones tisulares. Sin embargo cabe destacar que hay algunos órganos en que la COX-2 si se expresa de forma constitutiva, tales como: cerebro, riñón, hueso y endotelio vascular ⁽¹⁷⁾.

Es muy importante decir que las dos isoenzimas anteriormente nombradas son inhibidas de forma diferente, según el tipo de fármaco, lo cual es clave al momento de la elección y prescripción.

La COX-3 se podría explicar cómo una variante de las isoenzimas anteriormente nombradas, posee origen cerebral y también un código de RNA que no se había caracterizado previamente. El grupo de Simmons la denominó COX-3⁽¹⁸⁾. (Ver figura N°3).

La acción antipirética de los AINEs se realiza mediante la inhibición de la síntesis de PGE₂; la acción antiinflamatoria, por la inhibición en la síntesis de prostaglandinas y tromboxano y su acción analgésica por el bloqueo de la vía ciclooxigenasa inhibiendo la PGE₂ por efecto periférico y central. La acción antiagregante plaquetaria por bloqueo de la formación de tromboxano⁽¹⁹⁾. La Asociación Americana de la Salud evoca el uso de terapias combinadas incluyendo a los AINEs para el tratamiento óptimo del dolor⁽²⁰⁾.

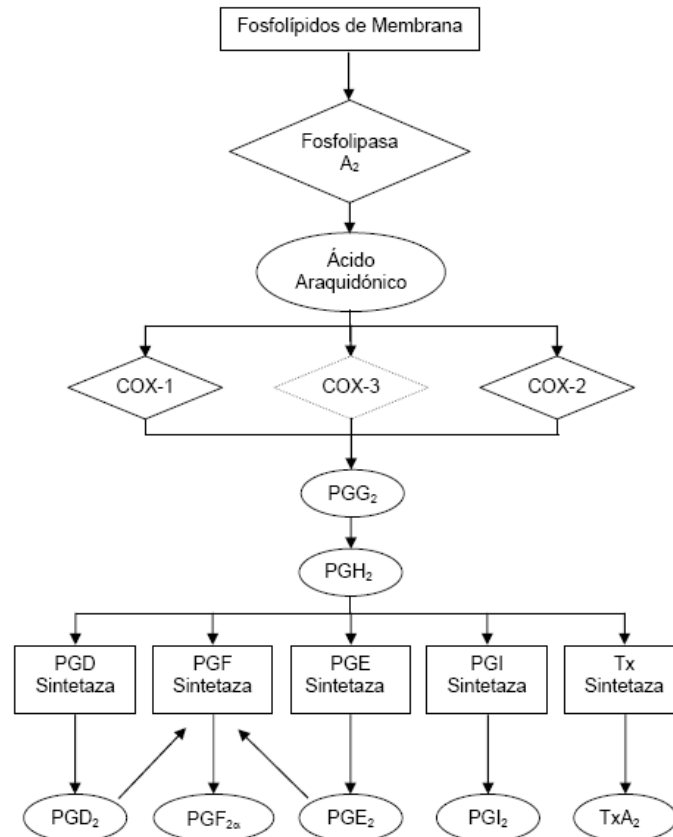


Figura N°3: Vía de formación de las prostaglandinas (Tomada de Warner y Mitchell)

4.2 Reacciones adversas de los AINEs (RAMs):

Esta importante familia de fármacos no solo presenta virtudes terapéuticas, hay que tener claro que también en ocasiones genera efectos colaterales, sus manifestaciones tóxicas están estrechamente vinculadas al medicamento particular que se use. Las principales reacciones adversas que se registran en la mayoría de los casos están a nivel:

- *Gastrointestinal:* por la inhibición de las PGs constitutivas.
- *Hematológico:* aquí se puede dar un debilitamiento de la adhesión plaquetaria lo cual genera un aumento del sangrado.
- *Renal:* podrían desencadenar hipoperfusión renal, síndrome nefrótico o nefritis intersticial. Lo cual generaría edema periférico ^(21, 22).

- *Hepático*: podrían elevar de manera transitoria las enzimas hepáticas lo cual a su vez se vincula con daño hepatocelular.
- *Cardiovascular*: se han notificado algunos casos de edema, hipertensión arterial e insuficiencia cardiaca en relación con el tratamiento con AINEs.

Cabe destacar que en algunas ocasiones, en alrededor del 1% al 2% de los pacientes bajo tratamiento con AINEs se producen algunas reacciones de hipersensibilidad. A nivel del SNC se presentan cefaleas, mareos y vértigos entre otros. Estas situaciones se dan más en pacientes de edad avanzada.

En la condición de embarazo los AINEs no alteran la fertilidad de una persona y tampoco aumentan el riesgo de malformaciones en el individuo pero se ha visto que sí pueden incidir en la tasa de abortos en alrededor de un 15% de los casos. El uso prolongado de esta familia de fármacos podría generar un cierre prematuro del ductus arterioso e inducir una hipertensión pulmonar persistente en el recién nacido, dado por el mismo bloqueo ^(23, 21).

4.2.1 Ibuprofeno:

El ibuprofeno fue descubierto por Stewart Adams en conjunto con John Nicholson, Jeff Bruce Wilson, Andrew RM Dunlop y Colin Burrows, siendo patentado en 1961. Fue el primero de los propiónicos en ser probada su efectividad y buena tolerancia en 1969 cuando se introdujo en el Reino Unido. Ya en los 70s es utilizado como primera línea de los AINEs y es mundialmente conocido ^(17, 18).

Su farmacocinética comienza con la absorción en la zona alta del tracto gastrointestinal, alcanzando valores peak en la sangre en 1-2 hr, dependiendo de la formulación farmacéutica. Se ha observado que formulaciones líquidas o geles líquidos producen analgesia más rápido que las otras, ya que presentaría una absorción más rápida ⁽¹⁷⁾.

Los citocromos P450 están involucrados en la vía del metabolismo oxidativo del ibuprofeno, que producen la oxidación de la cadena del sitio alcalino a derivados

hidroxilos y carboxilos, además se conjuga con el ácido glucurónico y taurina en el hígado, originando un metabolito de menor actividad.

La biodisponibilidad del ibuprofeno demuestra una unión a proteínas plasmáticas alta (>99%) y un bajo volumen de distribución, aunque con una capacidad de acumularse en apreciables cantidades en compartimentos inflamados que requieran de la acción analgésica o antiinflamatoria de este fármaco, como por ejemplo en el líquido sinovial. La vida media del ibuprofeno es relativamente corta, que se ve aumentada en personas con problemas hepáticos o renales, lo cual se podría relacionar con una baja incidencia de problemas gastrointestinales. Según lo anterior, ante un hígado con cirrosis o con compromiso metabólico se produce una prolongación de la vida media del fármaco, similar a lo que ocurre en personas mayores ⁽¹⁶⁾.

Mecanismo de Acción:

Actúa inhibiendo reversiblemente las enzimas COX-1 y COX-2 de tal manera que se disminuye la conversión del ácido araquidónico a prostanoïdes incluyendo las prostaglandinas y tromboxano, provocando de esta forma una disminución del dolor, inflamación y de la fiebre, como se explicó anteriormente.

El efecto antipirético que presenta se relaciona a la inhibición de la PGE₂, la cual es el mediador más importante de la fiebre, sintetizado en el hipotálamo. Además, es destacable el efecto antiinflamatorio del ibuprofeno en los leucocitos activos de los sitios inflamados, donde podría reducir la liberación de moléculas pirogénicas y de esta manera contribuir en la disminución de la piresis ⁽¹⁶⁾.

Reacciones adversas al medicamento (RAMs):

Las reacciones adversas a este medicamento están estrechamente ligadas a las de los AINEs. Son hematológicas, renales, gastrointestinales y bronquiales. En las hematológicas se debería al bloqueo de la formación de tromboxano A₂, el cual produce agregación plaquetaria por lo que podría existir mayor probabilidad de hemorragias si éste no se encuentra presente.

Dentro del riñón las COXs sintetizan prostaglandinas en la médula y corteza, las que juegan un importante rol en la regulación y mantención de la presión

sanguínea para obtener un flujo adecuado de sangre dentro de este órgano, de tal manera que es esencial su presencia para evitar la expresión de hipertensión arterial.

Pasando a un nivel gastrointestinal se señala que se producen por la inhibición de la formación de PGE₂, la que cumple una función citoprotectora contra úlceras peptídicas. A nivel broncopulmonar se podrían generar broncoespasmos porque las PGE₂ y PGI₂ relajan la musculatura lisa del bronquio, siendo esto más común en pacientes con historia previa de asma ⁽¹⁶⁾.

4.3 Opioides:

Los opioides son un grupo de fármacos que se caracteriza por presentar afinidad selectiva por los receptores opioides. Luego de unirse a estos receptores generan analgesia de elevada intensidad, acción que se ejerce principalmente en el sistema nervioso central sin embargo también poseen acciones en el sistema nervioso periférico⁽²⁴⁾.

Este grupo de fármacos también se denominan analgésicos centrales o narcóticos. Según el tipo de actividad que estos ejerzan sobre el receptor opioide pueden ser clasificados en:

- A) Agonistas puros: tienen una marcada acción sobre el receptor MOR, presentando la máxima actividad intrínseca. Dentro de éstas sustancias tenemos la petidina, metadona, fentanilo, sufentanilo y la morfina que es de especial interés en este estudio.
- B) Agonistas parciales: ellos presentan una acción sobre el receptor KOR que es marcada y una menor acción sobre el receptor MOR, cabe destacar que su acción intrínseca es menor.
- C) Antagonistas puros: dentro de estos están los que tienen actividad sobre todos los receptores opioides, pero que carecen de actividad intrínseca, sus principales exponentes son la naloxona y la naltrexona⁽²⁵⁾.

Cuando estos fármacos activan los receptores de ubicación, tienen un rol neuromodulador de la liberación de ciertos neurotransmisores tales como: acetilcolina, noradrenalina, serotonina, GABA y sustancia P.

En su mecanismo de acción para realizar su actividad analgésica están involucrados varios neurotransmisores. De esta manera esta familia de fármacos aumenta el umbral del dolor y no deterioran la conducción del impulso nervioso a lo largo del nervio periférico, pero sí podrían reducir la transmisión de los impulsos de las fibras aferentes primarias cuando entran a la médula espinal y deprimir la actividad en otras terminaciones sensoriales. Cabe mencionar que el efecto analgésico es sin pérdida de la conciencia y en algunos casos puede cursar con estados de euforia⁽²³⁾.

4.4 Reacciones adversas a los opioides (RAMs):

- Depresión respiratoria: se debe en gran parte a un efecto directo sobre el centro respiratorio del tallo encefálico.
- Náuseas y vómitos: son producidos por efectos secundarios debido a la estimulación directa de la zona quimiorreceptora gatillo que se localiza en la zona posterior del bulbo raquídeo.
- Alteraciones vasculares: produce vasodilatación periférica e inhibición de los reflejos barorreceptores mayormente si el paciente está en posición supina. Si el paciente llegase a levantar la cabeza se produce hipotensión ortostática y desmayo.
- Tolerancia y dependencia física: se da por su uso reiterado de estas drogas muchas veces por el estado de euforia que relatan algunos pacientes al consumirlas y es la principal limitante para masificar su uso clínico ⁽²⁵⁾.

4.4.1. Morfina:

La morfina continúa siendo el fármaco prototipo de los opioides y el que más se utiliza con fines terapéuticos. Esta se caracteriza por activar con gran afinidad y potencia los receptores MOR (μ) ⁽²³⁾.

La propiedad terapéutica más importante para nosotros es la analgesia y guarda estricta relación con la dosis a emplear. Se utiliza para el alivio de dolores de gran intensidad ya sea del tipo agudo o crónico cualquiera sea su localización.

El mecanismo de acción de la morfina se debe principalmente a la acción ejercida sobre los receptores (principalmente μ) situados en distintos puntos del sistema nervioso central, tanto del sistema aferente como el eferente ⁽²³⁾.

En el sistema aferente la morfina, interactúa a nivel espinal con receptores opioides que se encuentran en terminaciones de las fibras sensitivas primarias que penetran en las astas posteriores, así como los localizados en dendritas y somas de las neuronas espinotalámicas de las láminas I y V. Por este mecanismo reduce la actividad que ha de ascender por la vía espinotalámica. En el

mesencéfalo y el diencéfalo, deprime la actividad aferente sobre la sustancia gris periacueductal y periventricular, y los núcleos intralaminares del tálamo, estructuras que forman parte de las vías espinoreticular y espinomesencefálica.

En el sistema eferente o descendente que regula la transmisión de la información nociceptiva en la médula espinal tiene su origen en localizaciones corticales, mesencefálica y bulbar. Abundan en él neuronas y terminaciones de carácter opioide en íntima conexión con otros sistemas (serotonérgicos, sustancia P, neurotensina, noradrenalina, etc.), que proyectan sus prolongaciones hacia las láminas de las astas posteriores de la médula espinal. La estimulación de los receptores opioides situados en estos niveles, particularmente en el mesencéfalo (sustancia gris periacueductal) y en el bulbo (núcleos rostroventrales), provoca la activación de un sistema neuronal inhibitor de la transmisión nociceptiva, de proyección descendente (sistema off del bulbo), al tiempo que inhibe un sistema contrapuesto también bulbar y descendente de carácter excitador (sistema on). (Ver figura N°4).

La morfina y los demás agonistas puros utilizan y potencian la función inhibitora descendente que se expresa, en último término, en las astas posteriores de la médula. Esta también actúa a nivel límbico y cortical, donde hay abundantes receptores opioides, así este medicamento no solo suprime la sensación dolorosa, sino que también atenúa o suprime la percepción del tono desagradable o angustioso del dolor, sustituyéndolo en ocasiones por una sensación de bienestar o de agrado. En algunas situaciones donde exista un componente inflamatorio crónico se sugiere que también la morfina actúa sobre receptores opioides situados en terminaciones nerviosas periféricas (nociceptores) ⁽²³⁾.

Las acciones antes descritas ejercen sin duda alguna un efecto multiplicador y potenciador y es la razón para que la morfina ejerza un efecto analgésico tan completo e intenso ⁽¹⁹⁾.

RAMs:

-Depresión respiratoria: es una acción de tipo dosis-dependiente por su acción sobre los receptores MOR y DOR ⁽²³⁾ situados en las neuronas de los núcleos bulboprotuberanciales que participan en la función del centro respiratorio. También

puede producir broncoconstricción, en parte por estimulación vagal y también por liberación de histamina

-Alteraciones centrales: hipotermia de origen hipotalámico, miosis, náuseas, vómitos e hipertonia muscular entre muchas otras.

-Alteraciones cardiovasculares: puede producir bradicardia de origen vagal, más apreciable si la administración es I.V. También provoca hipotensión por su efecto sobre el centro vasomotor, así como por vasodilatación arterial y venosa. Parte de estas alteraciones pueden deberse a la liberación de histamina⁽²³⁾.

-Alteraciones gastrointestinales y urinarias: genera un aumento del tono miógeno en el tracto gastrointestinal, incluidos los esfínteres, y una inhibición de la actividad neurógena que repercute en una depresión de la motilidad gastrointestinal.

-Desarrollo de tolerancia: se manifiesta por el acortamiento de la duración de la acción o por una disminución en la intensidad de la respuesta, lo que obliga a aumentar las dosis. La rapidez con que aparece la tolerancia es tanto mayor cuanto más intensamente actúa el opioide.

-Desarrollo de dependencia física: cuando alguien recibe de forma crónica morfina por vía sistémica, la suspensión brusca de esta o la administración de un antagonista produce síndrome de abstinencia, con intensa sintomatología central y vegetativa mayormente simpática, que demuestra la existencia de un estado de dependencia física⁽¹⁹⁾.

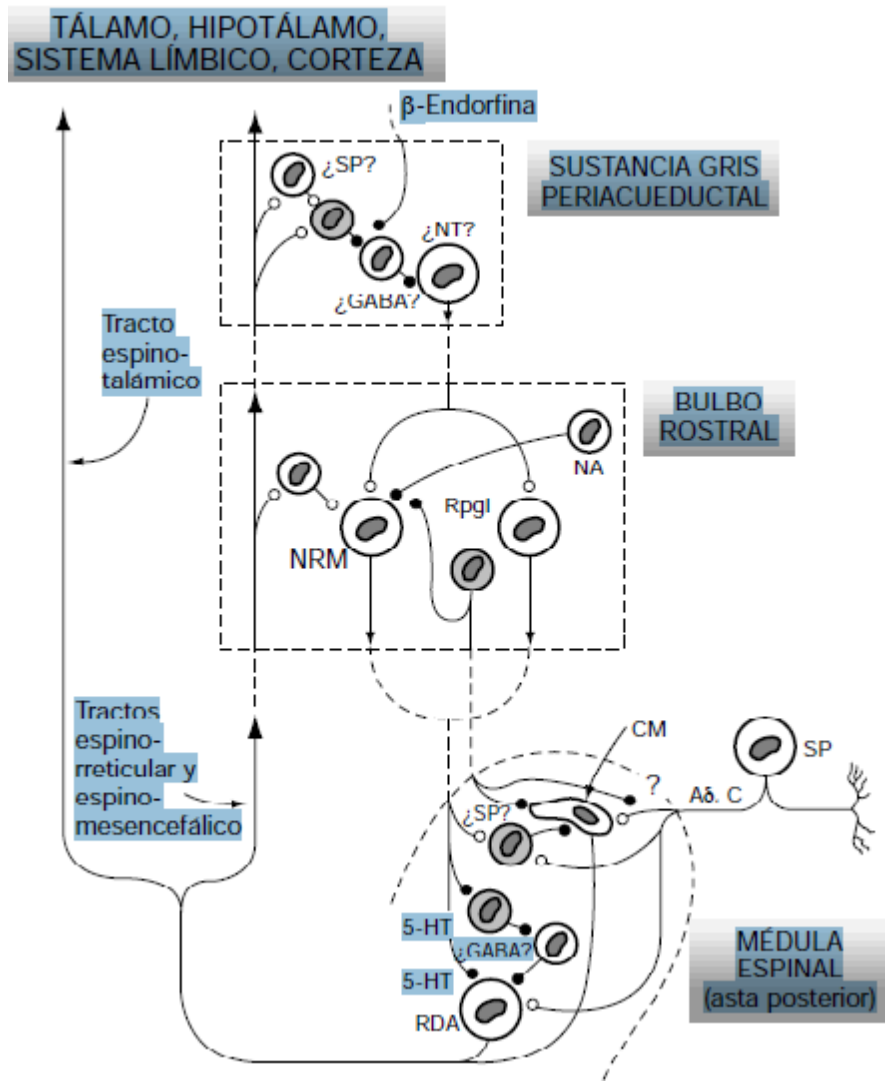


Figura N°4: Esquema de las vías aferentes de la sensibilidad dolorosa, las vías eferentes que la controlan y localización de neuronas y terminaciones de carácter opioide (neurona punteada). (Modificado de Flórez)

4.5 Interacción de fármacos:

Al momento de combinar fármacos pueden ocurrir muchas situaciones, muchas de ellas beneficiosas y otra no tanto. Nosotros al momento de establecer una asociación medicamentosa buscamos potenciar los efectos de éstos sin generar mayores perjuicios en los individuos sometidos a tratamiento.

La interacción entre medicamentos se describe como una respuesta farmacológica que no puede ser explicada por la acción de un solo agente, y que se debe, más bien a dos fármacos actuando de forma simultánea. Esto se hace evidente clínicamente en la variación de la intensidad de los efectos. Se establece la siguiente clasificación según los resultados obtenidos:

- a) *Aditividad o sumación*: esta situación se da cuando el efecto de dos fármacos dados al mismo tiempo es sólo la suma algebraica de cada uno de ellos. Objetivamente esta situación se da cuando los fármacos no interactúan entre sí.
- b) *Supraaditividad o sinergismo*: aquí se da que el efecto obtenido mediante la administración de dos fármacos de manera simultánea, son mayores que la simple suma algebraica de los efectos individuales. Esta situación es ideal que ocurra puesto que además de permitir aumentar el efecto también logra disminuir las dosis generándose menores perjuicios dentro del individuo (RAMs).
- c) *Subaditividad o antagonismo*: esta situación ocurre cuando el efecto de la asociación medicamentosa es menor que el esperado mediante la administración de los fármacos por separado.

Dentro de esta categoría existen 2 mecanismos:

- Directo: aquí se puede dar la competencia (cuando ambos fármacos actúan en un mismo sitio del mismo receptor) o la no competencia (cuando actúan sobre sitios diferentes de un mismo receptor).
- Indirecto: aquí se da que un fármaco disminuye la concentración de la forma libre del otro, y la acción conjunta tiene un efecto menor que la suma de los dos fármacos por separado ⁽²⁶⁾.

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

1. Hipótesis:

La administración intraperitoneal (i.p) de ibuprofeno en combinación con morfina produce actividad antinociceptiva sinérgica, en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial.

2. Objetivos:

2.1 Objetivo general:

Estudiar la actividad antinociceptiva de ibuprofeno, morfina y de su combinación en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial en ratones.

2.2 Objetivos específicos:

- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración i.p de ibuprofeno en el test orofacial.
- Estudiar la analgesia producida por la administración i.p de morfina en el ensayo de formalina orofacial.
- Estudiar el tipo de interacción analgésica al administrar la combinación de ibuprofeno con morfina en el mismo test.

MATERIAL Y MÉTODO

1. Animales

Fueron usados 128 ratones machos de la cepa CF/1 (*Mus musculus*)(FOTO N°1), con un peso de 27 a 30 gramos, acostumbrados a las condiciones ambientales de un laboratorio (22° a 24° C), como mínimo 2 horas antes del experimento, donde fueron mantenidos en condiciones estándar de luminosidad, temperatura y humedad, conforme al protocolo N° 84 y 131 aprobado por la comisión de ética de la Facultad de medicina de la Universidad de Chile. A cada ratón sólo se le administró una dosis de los fármacos y las observaciones fueron realizadas de forma ciega, randomizada y controlada a través de solución salina. Se utilizó la cantidad de ratones mínima requerida para la realización de un correcto y aceptable análisis estadístico, cumpliendo con las respectivas normas éticas internacionales que norman este tipo de experimentación. Los animales utilizados fueron sacrificados en los próximos minutos luego de finalizadas las observaciones, a través de la técnica de dislocación cervical, por personal altamente entrenado.



Foto N° 1: Ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1.

2. Test de la formalina:

Para evaluar la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria se utilizó una modificación del test algesiométrico orofacial de la formalina al 2%, que permite medir el comportamiento generado por el dolor debido a la estimulación del nervio trigémino. Este ensayo presenta una respuesta bifásica frente a la inyección de formalina subcutánea, calificada como noxa, que produce un daño en el tejido, de igual forma activa las fibras A δ y C, así como los nociceptores trigeminales que perciben la irritación química corrosiva, lo cual induce una primera fase de respuesta rápida e instantánea (fase I o algésica), seguido de un período de tranquilidad, para finalizar luego en un período prolongado tónico, el cual tiene activación tardía, donde se genera un foco inflamatorio en el sitio del daño generándose tanto sensibilización central como periférica, estado que corresponde a la inflamación crónica, observable y medible por el evidente prurito de la zona inflamada por la formalina (fase II o algésica inflamatoria). La intensidad del tipo de respuestas mostradas es dosis-dependiente, en relación a la solución de formalina administrada, como se observa en la Figura 5.^(27, 28,29)

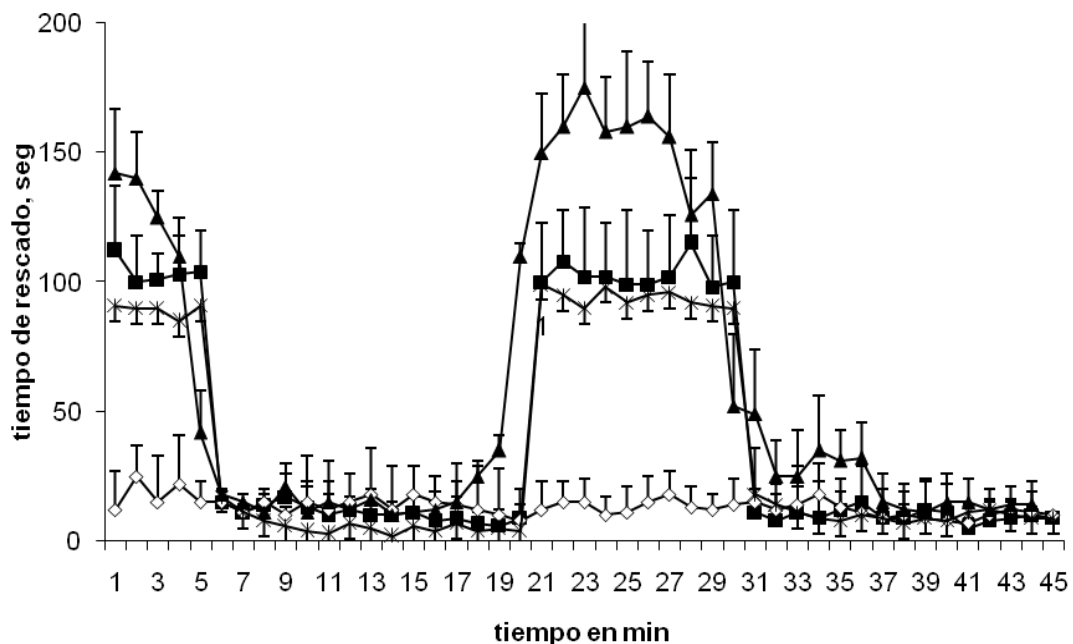


Figura N°5: Curso temporal del ensayo de la formalina orofacial en ratones.

(Control salino (◇); formalina 1% (*); formalina 2% (■) y formalina 5% (▲)).

Cada punto es el promedio \pm EEM de al menos 6 animales)

Antes del test algiesométrico (inyección de formalina subcutánea), los ratones fueron inyectados de manera intraperitoneal (i.p) 30 minutos antes con una jeringa de tuberculina de 1ml, conectada a una aguja de 27 Gauge, en dosis de 10 ml/Kg, con los fármacos disueltos en solución salina (ibuprofeno, morfina o su mezcla), se realizó de esta forma puesto que es el tiempo de latencia requerido para lograr el efecto analgésico máximo, el cual ha sido determinado previamente. (27, 28). (FOTO N° 2)

Los animales utilizados como grupo control (1 o 2 individuos por cada grupo experimental), fueron inyectados de forma i.p con suero salino al 0,9%. Todos los ejemplares utilizados en esta experimentación permanecieron en los cilindros de observación para una adecuada adaptación. Luego de 30 minutos, se realizó una inyección subcutánea, utilizando una jeringa Hamilton de 50 μ L.conectada a una aguja de 27 Gauge, con 20 μ L. de una solución de formalina al 2% en el labio superior derecho del animal. (FOTO N° 3). Esto genera un efecto mantenido que



Foto N°2: Inyección intraperitoneal de medicamentos.



Foto N° 3: Inyección de 20 μ L de solución de formalina al 2% en labio superior derecho

se expresa en un evidente frotamiento de la zona inyectada y del área perinasal, ocasionado por la estimulación directa de los nociceptores periféricos (fase I) y a la inducción de los mediadores de inflamación en la zona inyectada (fase II). Se usó una solución de formalina al 2%, en lugar de la formalina al 5 % usada por Luccarini ⁽²⁹⁾, dado que produce una buena discriminación del comportamiento nocifensivo y una menor posibilidad de daño en la piel del animal.

Los ejemplares posteriormente de ser inyectados fueron devueltos a un cilindro transparente de 20 cm de diámetro y 20 cm de altura, especialmente diseñado para la observación, y se midió el tiempo, a través de un cronómetro digital altamente preciso, durante el cual ellos se frotaron la zona inyectada, esta acción era considerada válida si ellos la realizaban con su pata anterior o posterior de la zona ipsilateral a la inyección de formalina (FOTOS N° 4 Y 5). Esto se monitoreo durante los 5 minutos posteriores a la inyección, los cuales corresponden a la fase I o algésica aguda. Luego de realizada esta acción se esperaron 20 minutos contados desde la inyección y luego se cronometraron los últimos 10 minutos hasta los 30 minutos (duración total del test), para apreciar el comportamiento de frotamiento de la zona en cuestión (zona labial derecha) y que corresponden a la fase II. Cabe destacar que no se monitoreo el período de tiempo comprendido entre la fase I y II, puesto que el ejemplar en dicho lapso se encontraba en un período de quietud. Los resultados fueron cuantificables mediante los segundos de frotamiento en cada intervalo de tiempo ^(28, 29).



Foto N°4: Frotamiento de la región perinasal con la extremidad superior.



Foto N°5: Frotamiento de la región perinasal con la extremidad inferior.

3. Evaluación de la analgesia:

Se llevó a cabo mediante la realización de curvas dosis-respuesta del AINE y el respectivo opioide en cuestión (ibuprofeno: 1-30 mg/kg y morfina: 0,1-1 mg/kg), administrados por vía intraperitoneal en 4 grupos para cada fármaco, usando para ello un mínimo de 7 animales para cada grupo, y de esta forma evaluar la actividad antinociceptiva producida por ellos. A partir de las curvas de dosis-respuesta, por análisis de regresión lineal por medio de cuadros mínimos, se

calculó la dosis que produce un 50% del efecto máximo (DE_{50}), tanto para la fase I y II. El efecto máximo posible (MEP) que corresponde a la actividad analgésica fue calculado de acuerdo a la siguiente fórmula ⁽³⁰⁾.

$$\text{MEP \%} = 100 - (\text{TIEMPO DE FROTAMIENTO EXPERIMENTAL} / \text{TIEMPO DE FROTAMIENTO CONTROL}) \times 100$$

Para evaluar la interacción producida entre los medicamentos, en ambas fases, se ocupó el método isoblográfico, descrito por Tallarida y col. ⁽³⁰⁾, modificado por el Laboratorio de Neurofarmacología del Dolor de la Escuela de Medicina de la Universidad de Chile, método que permite conocer si realmente existe interacción entre fármacos, de que tipo es y su magnitud. Esto se logra, usando el sistema de isobogramas, que es la representación gráficas de dosis isoefectivas de cada fármaco utilizado de forma individual y también combinados. Para ello, por vía intraperitoneal se administró de forma conjunta ambos medicamentos, en proporciones de 1:1 también en mezclas de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las correspondientes DE_{50} de ibuprofeno y morfina, tanto para la fase I como para la fase II. Luego, estas curvas dosis-respuesta fueron analizadas mediante regresión lineal por cuadrados mínimos para calcular las DE_{50} de las mezclas. Esta dosis se comparó estadísticamente con la DE_{50} que representa teóricamente la adición simple de efectos, que se obtiene con la siguiente fórmula:

$$DE_{50} \text{ aditividad teórica} = DE_{50} \text{ droga 1} / (p1 + R \times P2)$$

Dónde:

R: relación de potencia entre los fármacos administrados por separado.

P1: proporción de ibuprofeno en la mezcla.

P2: proporción de morfina en la mezcla.

El punto experimental resultante se grafica en un sistema de coordenadas cartesianas que contiene una línea que conecta la DE_{50} de ibuprofeno en la

ordenada con la DE_{50} de morfina en la abscisa (línea de aditividad simple o teórica). La región del gráfico donde se ubica el valor o punto experimental en relación al valor teórico determina el tipo de interacción. Si el valor que representa el valor experimental se ubica bajo la línea de aditividad y es estadísticamente diferente del valor teórico de la DE_{50} , la interacción es de tipo sinérgica o supraaditiva. En cambio, si el punto experimental se sitúa sobre la línea de aditividad y es estadísticamente distinto de la DE_{50} teórica, la interacción será de tipo subaditiva o antagónica, mientras que si se ubica cerca de la línea de aditividad y además estadísticamente no es diferente de la DE_{50} teórica, será una interacción de simple aditividad.

Por otra parte, el programa también permite ver el índice de interacción de los fármacos, a través de la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de interacción: } DE_{50} \text{ experimental} / DE_{50} \text{ teórico}$$

El cuociente obtenido permitirá identificar la interacción, valores menores a 1 indicarán una interacción sinérgica; si es igual a 1 será de tipo aditiva y si es mayor a 1 será de tipo antagónica ⁽¹⁵⁾.

4. Análisis estadístico:

En este estudio los resultados se consideran como el promedio \pm error estándar del promedio (EEM) o con su límite o intervalo de confianza correspondientes al 95% (LC 95%). A su vez el análisis estadístico se realizó con el programa computacional; Pharm Tools Pro, version 1.47, McCary Group Inc, PA, USA diseñado en base a las publicaciones de Tallarida. La significación estadística fue considerada a un nivel de 5% ($p < 0,05$) evaluado por el test de Student's o por análisis de varianza (ANOVA), seguido del test de Student-Newman-Keuls ^(15, 28, 29, 30).

RESULTADOS

1. Grupo control:

Los ratones pertenecientes al grupo control que recibieron la administración de 10mg/kg de solución salina al 0.9% vía intraperitoneal, 30 minutos antes de la administración de formalina al 2%, dieron como resultado un tiempo de frotamiento de la zona labial y perinasal derecha de $99,75 \pm 2,72$ seg. para la fase I (n=16) y de $97,65 \pm 4,28$ seg. para la fase II (n=16). Ver figura N° 1.

2. Grupo tratado con ibuprofeno:

La administración intraperitoneal de ibuprofeno, resultó en una actividad antinociceptiva dosis dependiente, tanto en la fase algésica aguda (fase I) como en la fase inflamatoria (fase II) del ensayo algésimétrico orofacial, lo que se observa en los gráficos 1 y 2 respectivamente. La DE_{50} resultó ser de $2,65 \pm 0,31$ mg/kg para la fase I, mientras en la fase II resultó ser $3,06 \pm 0,92$ mg/kg (n=28).

Ver tabla 2.

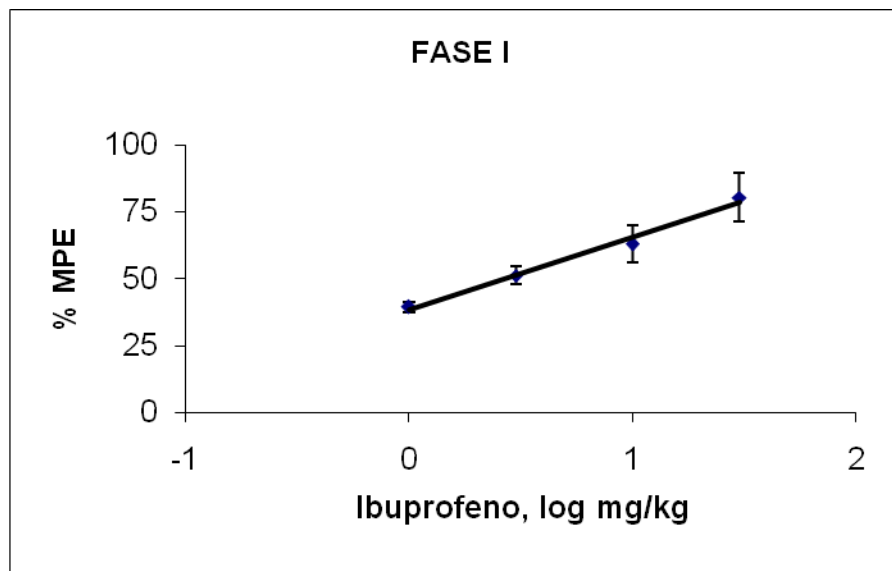


Gráfico 1: Curva dosis respuesta para la administración i.p. de ibuprofeno en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 7 animales. MPE: efecto máximo posible.

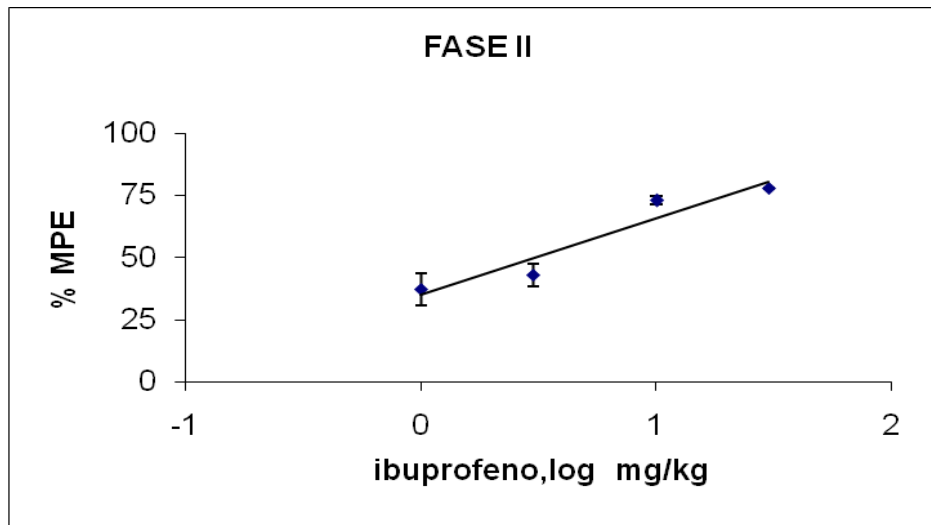


Gráfico 2: Curva dosis respuesta para la administración i.p de ibuprofeno de la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 7 animales. MPE: efecto máximo posible

3. Grupo tratado con morfina:

La administración intraperitoneal de morfina, indujo una actividad antinociceptiva de tipo dosis dependiente, tanto en la fase algésica aguda (fase I) como en la fase inflamatoria (fase II) del ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, lo que se observa en los gráficos 2 y 3 respectivamente. La DE_{50} resultó ser de $0,12 \pm 0,03$ mg/kg para la fase I, mientras en la fase II resultó ser $0,17 \pm 0,03$ mg/kg (n=28). Ver tabla 2.

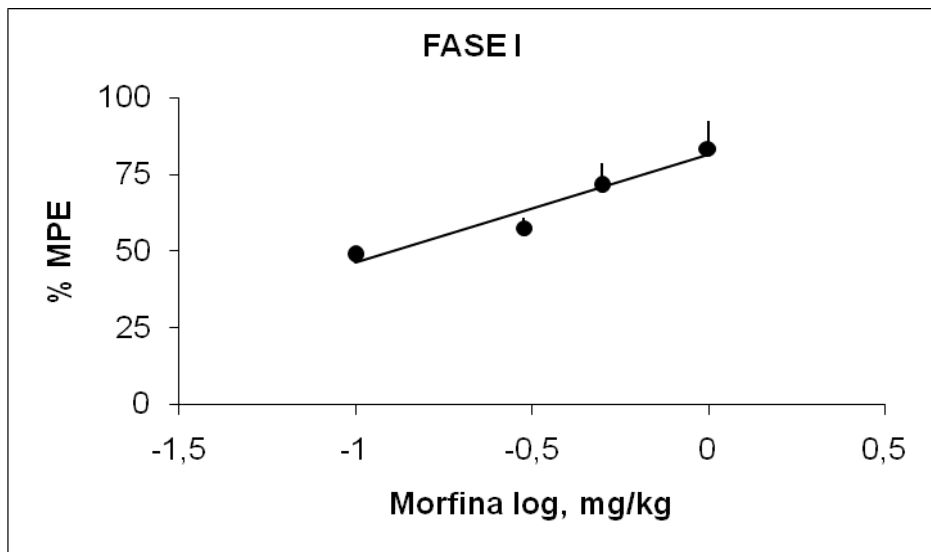


Gráfico 3: Curva dosis respuesta para la administración i.p de morfina en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 7 animales. MPE: efecto máximo posible.

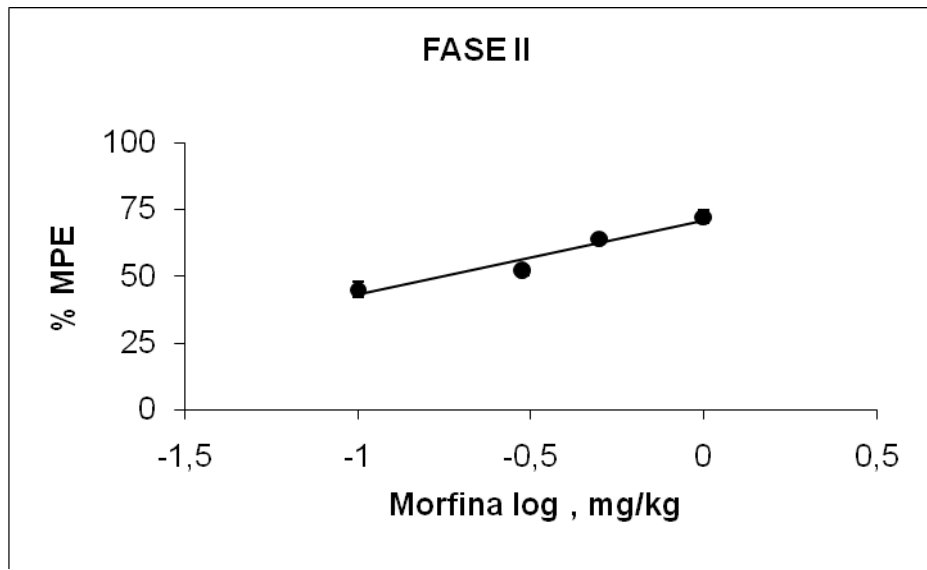


Gráfico 4: Curva dosis respuesta para la administración i.p de morfina en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 7 animales. MPE: efecto máximo posible.

4. Análisis isoblográfico de la interacción entre morfina e ibuprofeno:

Al administrar por vía intraperitoneal la combinación de morfina e ibuprofeno en proporción de 1:1 de cada una de sus respectivas DE_{50} , se obtuvo en los ratones una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, tanto en las fase I y II. A partir de ellos se obtiene la DE_{50} para la combinación de ambos fármacos, la cual es fase I= $0,27 \pm 0,04$ mg/kg y fase II= $0,38 \pm 0,03$ mg/kg. Ver tabla 2

Del análisis isoblográfico de la combinación de morfina con ibuprofeno, se obtuvo como resultado una interacción antinociceptiva de tipo supraaditiva o sinérgica, tanto para la fase I como para la fase II, esto se concluye por la ubicación del punto experimental, bajo la línea de aditividad, y se refuerza con los índices de interacción estadísticamente menores a 1 en ambas fases (fase I=0,20, fase II=0,21) (Gráficos 5 y 6)

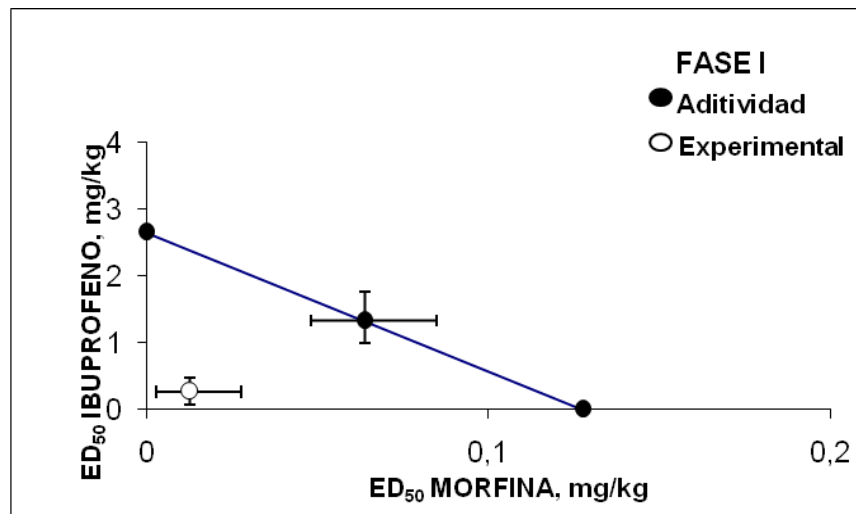


Gráfico 5: Isoblograma de interacción entre morfina e ibuprofeno, en el test de la formalina orofacial, en la fase I. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC AL 95%.

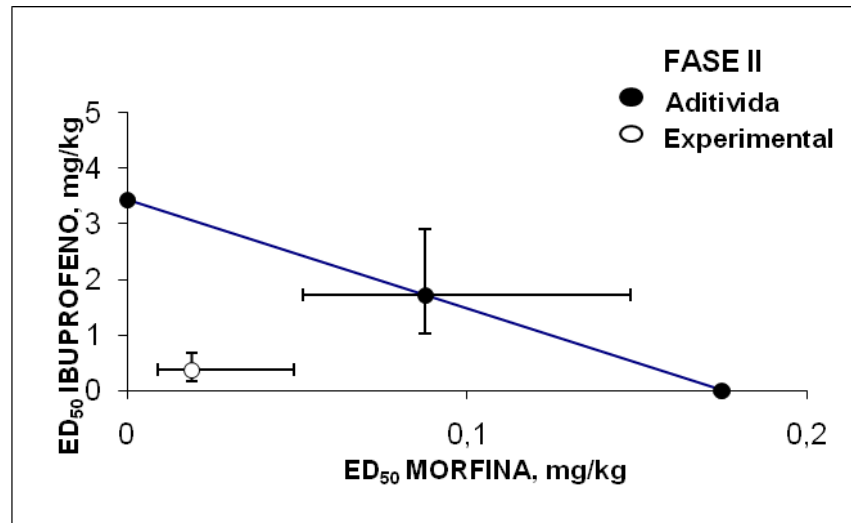


Gráfico 6: Isobograma de interacción entre morfina e ibuprofeno, en el test de la formalina orofacial, en la fase II. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

Tabla 1.

Valores de las DE₅₀ de los fármacos utilizados en esta experimentación

(DE₅₀ ± EEM (mg/kg i.p))

Fármacos	Fase I	Fase II
Ibuprofeno	2,65 ± 0,72 (28)	3,06 ± 0,92 (28)
Morfina	0,12 ± 0,03 (28)	0,17 ± 0,03 (28)
Ibuprofeno/Morfina teórico	1,39 ± 0,05 (28)	1,62 ± 0,12 (28)*
Ibuprofeno/Morfina experimental	0,27 ± 0,04 (28)	0,38 ± 0,03 (28)*

Valores DE₅₀ con sus respectivos EEM, para el efecto antinociceptivo de la administración i.p. de: ibuprofeno, morfina y de la mezcla morfina/ibuprofeno; en la fase I y II del test de la formalina orofacial al 2%. Entre paréntesis; número de ratones usados. *= comparado con fase I (p<0.05).

DISCUSIÓN

Este estudio utilizó el test algiesiométrico de la formalina orofacial al 2 %, el cual permite cuantificar el efecto antinociceptivo de fármacos en un modelo experimental con animales, siendo uno de los más indicados para estudiar el dolor en este territorio, por cuanto la respuesta dolorosa se considera similar que en humanos. La inyección de formalina, genera un comportamiento debido a la estimulación nerviosa a partir de las fibras A δ y C, en neuronas del asta dorsal y núcleos del trigémino, así como el rascado o frotamiento del animal es una respuesta directa a ésta, en la que se distinguen 2 fases, una algésica- aguda(fase I) y otra algésica-inflamatoria(fase II)⁽²⁸⁾.

Los resultados obtenidos indican que la administración intraperitoneal de los medicamentos ibuprofeno y morfina generan una respuesta antinociceptiva de tipo dosis-dependiente en ambas fases del ensayo. Estos resultados concuerdan con estudios previos que demuestran que la administración sistémica tanto de ibuprofeno como morfina genera actividad antinociceptiva en diversos modelos algiesiométricos en animales ^(15, 28).

Según los valores de la DE₅₀ de la actividad antinociceptiva, el ibuprofeno obtuvo una potencia similar en ambas fases del ensayo, de igual forma, la morfina. Los resultados de cada fármaco difieren de otros estudios en los cuales se muestra que los medicamentos tienen potencias muy desiguales en ambas fases ^{15, 28)}.

Sin embargo, la mezcla en la fase I fue significativamente diferente a la fase II ($p < 0.05$). La combinación de ibuprofeno con morfina produjo una interacción de tipo sinérgica, hecho que concuerda con los resultados obtenidos con otros fármacos en el tratamiento del dolor. Esta situación es muy favorable puesto que permite disminuir las dosis terapéuticas a utilizar de cada fármaco para obtener el beneficio deseado y así también disminuir las reacciones adversas que muchas veces complican al individuo ⁽¹⁴⁾.

Los efectos sinérgicos también podrían explicarse por interacciones funcionales resultantes de la acción de la morfina y/o el ibuprofeno en sitios anatómicos separados, ya sea a nivel pre- y/o post-sináptico, que podrían actuar de forma independiente o bien cooperativamente incrementando el proceso de inhibición de la nocicepción ⁽³¹⁾.

El efecto algógeno de las prostaglandinas es inhibido por los AINEs mediante su acción sobre las COXs. Estudios recientes indican que los fármacos opioides, en este caso la morfina, serían capaces de inhibir la liberación de prostaglandinas por un mecanismo de acción presináptico descrito para otros neurotransmisores. Como consecuencia de esta inhibición, se explicaría en parte el sinergismo entre el ibuprofeno y la morfina ^(32,33, 34, 35).

CONCLUSIONES

- La administración intraperitoneal de ibuprofeno o de morfina en el test algesiométrico de la formalina orofacial, genera un efecto antinociceptivo de tipo dosis-dependiente, presente en la fase I y en la fase II.
- Ibuprofeno posee similar potencia analgésica en ambas fases.
- Morfina posee similar potencia analgésica en ambas fases.
- Morfina posee mayor potencia analgésica que el ibuprofeno, tanto en la fase I como en la fase II.
- La combinación de ambos fármacos interactúan de forma sinérgica en el test de la formalina orofacial.
- La administración simultánea de ibuprofeno y morfina permitiría buscar nuevas alternativas farmacológicas para producir un mejor efecto analgésico con menores dosis y así también reducir los efectos secundarios.

SUGERENCIAS

- Se sugiere a futuro la realización de otras pruebas algesiométricas que registren otros tipos de estímulos en relación a la actividad antinociceptiva inducida frente a la coadministración de ibuprofeno y morfina, tales como; formalina en la pata, test de las contorsiones, test de plancha caliente, dolor neuropático e inducción de dolor músculo-esquelético por CFA.
- Evaluar posibles usos de la coadministración de estos medicamentos en dolores no generados en el territorio maxilofacial y su viabilidad.
- Comparar y evaluar al Ibuprofeno en asociación con otros opioides para ver sus interacciones y posibles RAMs.
- Asociar morfina a otros fármacos y evaluar su eficacia frente a dolores generados en el territorio orofacial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bonica J.J., Löser J.D. "*History of Pain Concepts and Therapies*". En: Löser J.D., Butler S.H., Chapman C.D. *Bonica's Management of Pain*. 3Ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001.
2. Ulrich, H.Z. "Prostanoids in nociception and pain". *Biochemical Pharm.* 2007; 73: 165-174.
3. Walter L, Way H, Fields M, Mark A, Schumacher M. *Analgesicosopioides y antagonistas*; 31, 577-595 2005.
4. Said G., Lacroix C., Lozeron P. et al. "Inflammatory vasculopathy in multifocal diabetes neuropathy". *Brain*. 2003; 126(Pt 2): 376-85.
5. Turk D.E., Okifuji A. "Pain terms and taxonomies of Pain". En: Löser J.D., Butler S.H., Chapman C.D. *Bonica's Management of Pain*. 3Ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001.
6. Ito S., Okuda-Ashitaka E., Minami T. "Central and peripheral roles of prostaglandins in pain and their interactions with novel neuropeptides nociceptin and nocistatin". *Neurosci Res*. 2001; 41(4): 299-332.
7. Sessle B.J "Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates". *Minerva Anesthesiol*. 2005; 71: 117-136.
8. Lemke K.A. "Understanding the pathophysiology of perioperative pain". *Can Vet J*. 2004; 45(5): 405- 13.
9. Purves D., Augustine G.J., Fitzpatrick D., Hall W.C., LaMantia A.S., McNamara J.O., White L.E. "*Neuroscience*", third Edition. Sinauer Associates, Inc. 209-228. 2004.
10. Kelly J.D., Ahmad M., Brull J.S. "Preemptive analgesia I : physiological pathways and pharmacological modalities". *Can J Anesth*. 2001; 48(10): 1000-10.
11. Almeida T.F., Roizenblatt S., Tufik S. "Afferent pain pathways: a neuroanatomical review". *Brain Res*. 2004; 1000: 40-56.
12. Nieuwenhuys R., Voogd J., Van Huijzen C. "*The human Central Nervous System*". Fourth edition. Springer Berlin Heidelberg. 2008; 683-714.

13. Takemura M., Sugiyo S., Moritani M., et al. "Mechanism of orofacial pain control in the central nervous system". *Arch Histol Cytol.* 2006; 69 (2): 79-100.
14. Furst S. "Transmitters involved in antinociception in the spinal cord". *Brain Res Bull.* 1999; 48(2): 129-41.
15. Miranda H.F., Sierralta F., Prieto J.C. "Synergism between NSAIDs in the orofacial formalin test in mice". *Pharmacol. Behav. Biochem.* 2009; 92: 314-318.
16. Pallapies D, Peskar BA, Brune K, Zeilhofer H. "Modulation of nitric oxide effects by flurbiprofen enantiomers and nefopam and its relation to antinociception. *Eur J Pharmacol.* 1994 Dec 27;271(2-3):335-40.
17. Pierre SC, Schmidt R, Brenneis C, Michaelis M, Geisslinger G, Scholich K. "Inhibition of cyclooxygenases by dipyrrone". *Br J Pharmacol.* 2007 Jun; 151(4):494-503.
18. K.D. Rainsford. "Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety". *Inflammopharmacology.* 2009 Dec;17(6):275-342.
19. Florez J., Armijo J.A., Mediavilla A., 2003. *Farmacología humana.* 4ª Edición, Barcelona, España; cap 22, Fármacos analgésicos antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos. Ferial M. pag. 355-388; cap. 25, Fármacos analgésicos opioides. J. Flórez. Pag. 435-452.
20. Miranda H.F., Sierralta F., Prieto J.C. "Synergism between NSAIDs in the orofacial formalin test in mice". *Pharmacol. Behav. Biochem.* 2009; 92: 314-318.
21. Vane J. "The mechanism of action of anti-inflammatory drugs". *Int J Clin Pract Suppl.* 2003; (135):2.
22. Poveda-Roda, R., Bagan, J.V, Jiménez-Soriano, et al. "Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in dental practice". A review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007; 12(1):E10-8.
23. Waldhoer M, Bartlett SE, Whistler JL: Opioid receptors. *Annu Rev Biochem.* 2004, 73, 953-990.
24. Goodman y Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica.* Cap. 13, 341-343; Cap.14, 369-379, Undécima edición.2007.

25. El dolor. De lo molecular a lo clínico. C. Paeile J, N. Bilbeny L. 3a edición 2005. Cap 3, 53-69; Cap 11, 167-183.
26. Barrera. N.P, Morales B., Torres S.M., et al. "Mechanism and modeling of synergism in celular responses". Trends Pharrmacol Sci. 2005; 26:526-32.
27. Le Bars D., Gozariu M., Cadden S.W. "Animal models of nociception". Pharmacol Rev. 2001; 53: 597-652.
28. Luccarini P., Childeric A., Gaidier A.M., et al. "Theorofacial formalin test in the mouse: a behavioral model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception. J Pain. 2006; 12:908-914.
29. Raboisson P., Dallel R. "The orofacial formalin test" .NeurosciBiobehav Rev. 2004; 28: 219-226.
30. Tallarida R.J., Murray R.B "Manual of pharmacologic calculations with computer programs". Second edition. Springer-Verlag. New York. 1986.
31. Robert E, Solomon and Gebhart. "Synergistic antinociceptive interactions among drugs administered to the spinal cord". Anesth: 78: 1164-1172, 1994
32. Harrison C, Mc Graw H. Principios básicos de medicina interna. 27:702-707, 2005.
33. Paeile J, Saavedra H: El dolor aspectos básicos y clínicos. Cap 1: 13-144, 2003.
34. Simone D, Reichert J, Daughters R. Peripheral and preemptive opioid antinociception in a mouse visceral model. Obstetrics and Gynecology: 89:221-227, 2000.
35. Stein CS. The control of pain in pheripheral tissue by opioids. Med: 332: 1685-1690, 2002.