

Análisis isoblográfico de la asociación paracetamol con
ibuprofeno Universidad de Chile



Facultad de Odontología

ICBM Facultad de Medicina

Laboratorio de Dolor

Depto. Farmacología

**“ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN KETOPROFENO CON TRAMADOL EN
DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL”**

Gabriela Ester Ramos Ramos

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Hugo F. Miranda G.

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dr. Fernando A. Sierralta G.

Santiago – Chile

2010



Universidad de Chile

Facultad de Odontología

ICBM Facultad de Medicina

Laboratorio de Dolor

Depto. Farmacología

**“ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN KETOPROFENO CON TRAMADOL EN
DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL”**

Gabriela Ester Ramos Ramos

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Hugo F. Miranda G.

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dr. Fernando A. Sierralta G.

Santiago – Chile

2010

*“Dedicada a Pilar Ramos Miranda, la mujer de mi
vida...”*

Mi apoyo, mi fuerza, mi inspiración, mi mamá....”

Agradecimientos

En primer lugar me gustaría agradecer al equipo de trabajo que participó en este trabajo de investigación. Al Dr. Hugo Miranda y al Dr. Fernando Sierralta por su paciencia, apoyo y dedicación para lograr el mejor trabajo posible. A los señores José López Durán y Alejandro Correa Úrzua del departamento de Farmacología del ICBM de la Facultad de Medicina, por su esfuerzo, constancia, pasión y dedicación que le aportaron a mi tesis, sin ellos simplemente no habría sido posible la completa realización de ésta, en especial de la etapa experimental. Por entregarme su amistad y buena energía en todo momento.

Ahora, me gustaría agradecer a las personas que han aportado en mi educación superior, especialmente en el campo clínico de la Facultad, los cuales han pasado de ser mis profesores a ser mis apoyos, compañeros, mentores y amigos, nombrando algunos... Dr. Patricio Doñas, Dr. Nicolás Escobar, Dra. Andrea Dezerega, Dr. Eduardo Celis, Dr. Rolando Schulz, quienes generosamente compartieron, y aún lo siguen haciendo, sus conocimientos, experiencia clínica, compañerismo, amistad, y disposición a acoger cualquier problema que salga en el camino, acogiéndome cariñosamente siempre.

Dentro de esta misma línea, me gustaría agradecer a la persona que involucra muchas más áreas. Al Prof. Dr. Milton Ramos Miranda, quien en un comienzo fue mi protector encubierto, luego mi docente y a lo largo de los años se ha convertido en un ejemplo a seguir... un ejemplo de profesional, un apoyo constante en todos los ámbitos, ya sean personales como estudiantiles, un protector, un “compinche”, mi tío, mi padrino...en otras palabras, un amigo.

También quiero agradecer a mis amigos de siempre que han participado en este proceso como actores secundarios, pero no por eso menos importantes, ya que al mismo tiempo en que me apoyaron incondicionalmente ellos hicieron una carrera igual o más brillante que la mía... a mis amigos de universidad Constanza Portus, Paula Rojas, Paula Mena, Verónica Palma, Carla Sepúlveda, María José Ramírez, Pamela Pareja, Patricio Arancibia, Erwin Rodríguez, entre muchos otros. Y a mis amigos de siempre Daniela Rojas, Valentina Gallardo, Armando Parraguez y Felipe Ruiz que con el transcurso de los años siguen a mi lado.

A mi familia, mi abuelita y especialmente a mi mamá, a quien está dedicada este trabajo de tesis. Por darme todo lo imaginable para que una persona crezca íntegra, realizada y feliz.

Por último, quisiera agradecer especialmente a la persona que está a mi lado todos los días y en cada momento en esta etapa de mi vida. A Pablo Tapia, mi novio, que desinteresadamente ha estado presente en cada etapa de este trabajo, que me ha dado su apoyo incondicional en los momentos más difíciles de este año, un año de cambios y nuevas cosas. Me ha ofrecido su trabajo, conocimiento, cariño, entusiasmo, fuerza, apoyo, contención todas las veces que los he necesitado. En otras palabras me ha dado su amor y por eso muchas gracias.

Debo agregar a todas las demás personas, que no por no ser nombradas personalmente son menos importantes. A los administrativos de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, ya sea tanto del edificio docente como de la clínica, que me han facilitado todas las cosas en este largo camino; Equipo docente de la Clínica Integral del adulto, Departamento de Prótesis, secretarias, botiquineras, personal de esterilización, aseo, mayordomos, etc.

A todos... absolutamente a todos los que se asomaron al camino e influyeron en mi formación como persona, especialmente como odontóloga de la Universidad de Chile.

¡Muchas Gracias!

Indice

1. Introducción.....	pag. 1
2. Marco Teórico.....	pag. 3
2.1. Concepto de dolor.....	pag. 3
2.2. Neurofisiología del dolor.....	pag. 6
2.3 Dolor orofacial.....	pag. 7
2.4 Control Farmacológico del dolor.....	pag.18
2.4.1 Analgésicos Opiodes.....	pag.19
2.4.2 Mecanismo de acción de los opiodes.....	pag.20
2.4.3 Tramadol.....	pag.21
2.4.4 Antiinflamatorios No Esteroidales.....	pag.23
2.4.5 Ketoprofeno.....	pag.27
2.4.6 Interacción de fármacos.....	pag.28
2.5 Modelos animales de dolor.....	pag.29
2.6 Prueba de la formalina orofacial.....	pag.30
3. Hipótesis, objetivo general y objetivos específicos.....	pag.31
4. Materiales y Método.....	pag. 32
5. Resultados.....	pag.38
6. Discusión.....	pag.46
7. Conclusiones.....	pag.48
8. Sugerencias.....	pag.49
9. Referencias Bibliográficas.....	pag.50

1. Introducción

Todos los días los odontólogos nos vemos enfrentados a pacientes que acuden al servicio privado o público, en busca de alivio para el dolor que los aqueja. Es más, el dolor representa uno de los principales motivos de consulta odontológica, tanto en Chile como en el resto del mundo, siendo incluso calificado en algunos países como un problema de salud pública; este hecho repercute además en el miedo, tan arraigado aún, de las personas hacia el dentista.

La lucha contra el dolor data desde los albores de la humanidad. Aliviar el dolor ha sido una de las mayores preocupaciones desde que los seres humanos dieron sus primeros pasos en el campo de la medicina, lo cual se ve reflejado a través del antiguo proverbio "*Sedare dolorem opus divinum est*", antigua inscripción latina atribuida tanto a Hipócrates (460-370AC), como a Galeno(131-201DC (1).

La farmacología, del griego "pharmacon" y "logo" que significan "fármaco" y "ciencia" respectivamente, es la disciplina que estudia el origen y las acciones que las sustancias químicas ejercen sobre los seres vivos (1). Los esfuerzos que se han realizado para descubrir y desarrollar medicamentos que tengan como objetivo aminorar o eliminar el síntoma del dolor han sido innumerables.

En la actualidad existen una gran variedad de sustancias, con diferentes mecanismos de acción, para el manejo del dolor, ya sea agudo o crónico, entre las cuales destacan los antiinflamatorios no esteroideos o AINEs y los analgésicos opioides (2, 3). Los AINEs actúan primariamente a través de la bioinhibición de las enzimas ciclooxigenasas o, también llamadas COXs, las cuales contribuyen a mantener la homeostasis del organismo y a la vez a la generación de la respuesta inflamatoria dolorosa (4, 5). Los AINEs son ampliamente utilizados a nivel mundial, esto debido a su eficacia y seguridad comprobada, además de su fácil acceso, ya que no requieren de receta médica para su venta. Sin embargo, presentan una

serie de reacciones adversas, que limitan su uso, y que están asociadas al mecanismo de acción de estos fármacos (4). Los fármacos opioides por su parte, son obtenidos a partir de la morfina, cuyo uso data de siglos atrás. Su mecanismo de acción difiere de los AINEs en que éstos se unen a receptores específicos del sistema nervioso central (SNC), inhibiendo así los impulsos nociceptivos provenientes del sitio injuriado (6, 7).

Con el fin de contrarrestar y disminuir al mínimo las reacciones adversas en los analgésicos en general, se han realizado múltiples estudios, gracias a los cuales se han desarrollado o mejorados ciertos fármacos y se han planteado métodos; por ejemplo, evaluar combinaciones de fármacos buscando un aumento en los efectos analgésicos, lo que nos permite disminuir las dosis administradas de cada uno (8).

El presente trabajo tiene por objetivo general comparar la actividad analgésica del AINE ketoprofeno, el cual es un derivado del ácido propiónico y el analgésico opioide tramadol, ya sea siendo utilizados en administración separada o combinada. Como método algiesiométrico en este trabajo se usará el de la formalina orofacial (9).

2. Marco Teórico

2.1 Concepto Dolor

Uno de los problemas a resolver más frecuentes en el quehacer odontológico, es el dolor. Siendo una experiencia que abarca dimensiones emocionales, cognitivas, sensoriales y motivacionales en el individuo que lo padece (10).

El dolor como concepto ha estado constantemente evolucionando. En el año 1979 fue definido por la Asociación Internacional de Estudio para el dolor (IASP) como: “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño”. En circunstancias fisiológicas, una de las funciones más importantes que destaca del dolor es la función protectora, en otros términos la preservación de la integridad, siendo esta una estrategia adaptativa del individuo que le permite protegerse de las agresiones nocivas del medio externo e interno, produciendo una reacción del sujeto para eliminar de manera oportuna el estímulo doloroso (10). Sin embargo, existen patologías en que el dolor deja de ser un signo de alerta y se convierte en el síntoma principal de la enfermedad (11, 12).

El mecanismo mediante el cual los estímulos nocivos del medio son transmitidos al sistema nervioso central se denomina *nocicepción*, el cual participa en la capacidad de analizar la naturaleza, localización, intensidad y duración de la estimulación dolorosa (10). Sin embargo, es importante recalcar que dolor y nocicepción no son sinónimos, pues puede ocurrir dolor sin que exista nocicepción (13).

Este mecanismo defensivo consta de tres partes (10):

- Un **componente sensitivo**, que hace referencia al impulso desencadenado desde los receptores periféricos de dolor.
- Un **componente cognitivo**, que se relaciona con el aprendizaje cultural, entorno social y experiencias previas respecto al dolor.
- Un **componente emotivo- afectivo**, que hace referencia a las emociones frente a un impulso doloroso y la manera en que éstas puedan influir en la interpretación del mismo.

Clasificación de dolor

Existen diversas clasificaciones de dolor. A lo largo de los años, se han definido 3 tipos de clasificaciones, cada una con sus subdivisiones correspondientes. Éstas son:

I. Según tiempo de Evolución: Se basa en el tiempo de duración del dolor, y puede ser:

I.I Dolor Crónico (9, 14): Por lo general, es provocado por una lesión, pero puede ser perpetuado por factores que están a la vez patogénica y físicamente muy alejados de la causa original en el tiempo, y representa bajos niveles de patología subyacente que no explica la presencia y/o grado de dolor. Debido a que es un dolor persistente, es probable que eventualmente exista una interacción entre factores ambientales y afectivos con el daño tisular, contribuyendo a la persistencia del dolor y comportamiento patológico.

I.I.I Dolor Agudo (13, 14): Este tipo de dolor es provocado por una lesión de los tejidos y la consecuente activación de la transducción nociceptiva en el sitio del daño tisular local. La injuria local altera la respuesta característica de los

nociceptores y tal vez también afecta a las conexiones centrales y del sistema nervioso autónomo de la región.

Por lo general, los estados de dolor agudo duran un tiempo relativamente corto, remitiendo al resolverse la patología que lo causa, normalmente en el lapso de un mes, según lo descrito por Bonica en 1953; sin embargo, el Comité de Taxonomía de las Algas de la International Association for the Study of Pain (IASP), determinó que el tiempo máximo de 3 meses para dolor agudo.

II. Según características somatosensoriales o discriminación espacial (14):

II.I Dolor Epicrítico (14): Dolor de tipo superficial, de localización precisa y bien delimitado. Este tipo de dolor puede ser descrito por parte del paciente, como un dolor “punzante, lacerante, opresivo, lancinante, quemante, fulgurante o en ramalazo”. No es de tipo referido.

II.II Dolor Protopático (14): Dolor de tipo difuso, y mal localizado. Se describe como un dolor “sordo” por parte del paciente. Este dolor es referido; esto quiere decir que el paciente localiza o describe este dolor en un lugar distante al sitio donde se genera.

III. Según etiología (14):

III.I Dolor Nociceptivo: Se produce como consecuencia de una lesión somática o visceral, y es la reacción normal frente a dicha lesión.

- ***Dolor Somático:*** Su origen se encuentra a nivel de piel, músculos, ligamentos, articulaciones o huesos. Es bien localizado, circunscrito a la zona dañada, y no suele acompañarse de reacciones vegetativas.

- **Dolor Visceral:** Su característica es ser difuso, extendiéndose a otros territorios alejados del órgano lesionado; por lo tanto, es referido y se acompaña frecuentemente de reacciones vegetativas.

III.II Dolor Neuropático (12, 15): Es producido por anomalías funcionales o estructurales en el sistema nervioso periférico (SNP) o central (SNC), lo que ocasiona descargas espontáneas y paroxísticas que son interpretadas como dolor. Se presenta como una sensación basal dolorosa o quemante, con hiperalgesia y alodinia (dolor producido por un estímulo que normalmente no lo produce).

IV. Dolor Psicógeno (14): Es un dolor que puede ser atribuido a factores psicológicos, pues no tiene causal somática claramente identificable.

2.2 Neurofisiología del dolor

Para que el organismo genere una respuesta se necesita la participación e interacción sincronizada de innumerables redes de vías neuronales, neurotransmisores y de centros de integración de información y generación de la respuesta dolorosa (12):

Este complejo proceso, se puede dividir esquemáticamente y de manera más clara en 4 pasos:

- i) **Transducción:** proceso por el que los estímulos nocivos son convertidos en un potencial de acción a nivel de los receptores.
- ii) **Transmisión:** proceso por el que el potencial de acción se propaga de manera centrípeta y ascendente a través de las vías del sistema nervioso periférico (SNP) y el sistema nervioso central (SNC).
- iii) **Modulación o antinocicepción:** proceso por el que la transducción es atenuada en distintos niveles.

- iv) **Percepción:** es el proceso final por el que la transducción, la transmisión y la modulación interactúan con la psicología del paciente para crear la experiencia emocional y, como tal, subjetiva que se percibe como dolor.

La transmisión nociceptiva experimenta una compleja modulación desde el nacimiento del impulso nervioso a nivel periférico hasta su percepción como sensación dolorosa. De todos los últimos conocimientos acumulados en el campo del dolor, los mecanismos íntimos de la neurotransmisión y/o neuromodulación de la sensación dolorosa son los más importantes en este proceso (16).

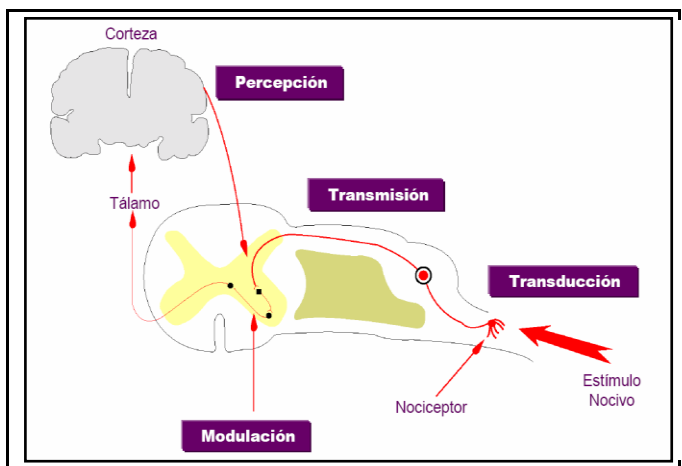


Figura 1: Representación esquemática de los eventos del proceso nociceptivo. Modificada de Curso de Neurología, IASP. Perú. 2006.

2.3 Dolor orofacial

Los impulsos nerviosos que codifican el dolor de la región cabeza y cuello, se originan principalmente en la distribución periférica sensorial de cuatro nervios craneales. El nervio trigémino (V par) en mayor porcentaje, en menor porcentaje el nervio facial (VII par), glossofaríngeo (IX par) y vago (Xpar) y en mucho menor grado, pero también influyente, la terminación de los tres nervios cervicales superiores. El nervio trigémino emerge en la superficie medio lateral de la

protuberancia del troncoencefalo, con una gran raíz sensitiva y una pequeña raíz motora. Se divide en tres ramas: Oftálmica (V1) que emerge por la cisura orbitaria superior, Maxilar (V2) emergiendo por el agujero redondo y por último, la Mandibular (V3) que emerge por el agujero oval (13).

Los impulsos nociceptivos activan las neuronas de los núcleos trigeminales del tronco encefálico y de las astas dorsales cervicales. Las señales se retransmiten a otros sitios del SNC, incluyendo núcleos reticulares del tronco encefálico, núcleo solitario, tálamo y corteza cerebral. En muchos aspectos, la anatomía, fisiología y bioquímica de la nocicepción y vías del dolor son homólogas a aquellas que participan en la transmisión de las señales dolorosas originadas en el cuerpo, bajo la cabeza (17).

En este trabajo, se mezclarán conceptos de dolor generales con específicos del dolor orofacial, reafirmando la idea de un complejo proceso interconectado del individuo.

- Estructura periférica: receptor de información.

El receptor sensitivo es la estructura anatómica capaz de responder a determinados estímulo, convirtiendo la energía de éstos en potenciales de acción, que se propagan por una vía periférica hasta los niveles centrales del sistema nervioso. Este proceso de respuesta de los receptores específicos de dolor y transmisión del impulso nervioso, se denomina transducción (13, 18, 19, 20).

Los receptores se pueden clasificar en función de la respuesta que presenta ante el estímulo; así encontramos (19):

- **Receptores de adaptación rápida:** éstos responden a un estímulo continuo y duradero. Solo envía señales eléctricas al momento de empezar

o terminar el estímulo. Si el estímulo es constante deja de responder (adaptación). Corresponde principalmente a receptores del tacto.

- **Receptores de adaptación lenta:** envía señales solo cuando el estímulo persiste. Son receptores involucrados en la nocicepción y en la sensación de posición corporal.

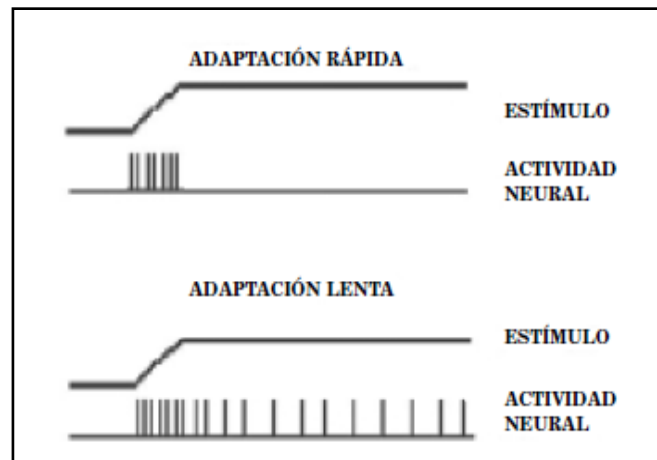


Figura 2: Tipos de receptores según el tipo de respuesta ante el estímulo (18).

La propagación de la sensación dolorosa ocurre con la activación de los nociceptores, los cuales son: receptores de adaptación lenta, que pueden responder de dos formas ante los estímulos lesivos, ya sean:

- **Respuesta Directa:** Respuesta por sí mismo ante el estímulo lesivo.
- **Respuesta Indirecta:** Respuesta mediante algunas sustancias liberadas por parte del tejido lesionado (como por ejemplo, histamina o bradiquinina); o frente a alteraciones metabólicas que se producen en caso de una lesión (disminución del pH y aumento de concentración iónica) (18).

Los nociceptores se pueden dividir en tres grupos, lo cual depende del estímulo al cual responden: nociceptores de tipo mecánico, nociceptores de tipo térmico y nociceptores polimodales, que son principalmente los encargados de la respuesta dolorosa, ya que son capaces de descargar en proporción con la intensidad del estímulo. Estos tres grupos están ampliamente distribuidos por la piel y tejidos profundos. También se puede mencionar la existencia de nociceptores silentes o dormidos, ubicados principalmente en paredes viscerales y en estructuras articulares y responden a estímulos mecánicos como distensión y estiramiento, o a la liberación de diversas sustancias involucradas en el proceso inflamatorio (19, 20).

Así mismo, la gran mayoría de los nociceptores se pueden considerar quimiorreceptores, los cuales son especialmente sensibles a los cambios de concentración de determinadas sustancias, y corresponden a terminaciones nerviosas libres, las que representan la parte más distal de una neurona aferente de primer orden, en el caso del dolor orofacial sería la neurona bipolar o en T, cuyo cuerpo neuronal se encuentra en el Ganglio de Gasser (ganglio sensitivo del trigémino), siendo este el lugar donde las tres ramas del Trigémino, confluyen. (13, 18).

Las fibras aferentes de primer orden se clasifican en términos de su estructura, diámetro y velocidad de conducción:

- **Fibras tipo C:** amielínicas, variando en diámetro desde los 0,4 a 1,2 μm , y poseen una velocidad de 0,5 – 2,0 m/s. Transmite dolores protopáticos: más persistente, debido a su lenta capacidad de transmisión del impulso, pues antes de que éste llegue al sistema nervioso central, ya se ha generado un nuevo impulso.
- **Fibras tipo A δ :** escasamente mielinizadas, poseen un diámetro que varía entre 2,0 a 6,0 μm y tienen una velocidad de 12-30 m/s. Transmite dolor

epicrítico, de respuesta rápida y corta duración, debido a su rápida velocidad de conducción.

- **Fibras tipo A β** : son de tipo mielínicas, de mayor diámetro (>10 μm) y velocidad de conducción que las fibras A δ . No propagan potenciales nocivos en situaciones normales, sin embargo, participan en los mecanismos de supresión segmental (20).

Estas neuronas presentan un carácter polimodal, es decir, son capaces de reaccionar frente a una diversa gama de estímulos (térmicos, mecánicos, químicos), y contienen una cantidad importante de neuropéptidos, gran parte de los cuales son liberados a nivel periférico y/o central luego de una estimulación nociceptiva. De esta forma, la actividad de los nociceptores polimodales puede modificarse una vez que las sustancias algógenas sean liberadas a partir de la lesión tisular. Así, el mensaje inicialmente generado por los nociceptores periféricos será amplificado por las sustancias liberadas en el foco inflamatorio (18, 21).

- Sensibilización periférica:

El efecto de muchos de los mediadores químicos liberados en la respuesta inflamatoria es aumentar la excitabilidad de los nociceptores, siendo este aumento de la excitabilidad un hecho común ante tejidos dañados o inflamaciones, siendo este proceso denominado como la sensibilización periférica o de nociceptores (22).

Cuando los nociceptores son activados por estímulos intensos, que generan leve daño tisular, provocan dolor de tipo transitorio, que sirve de alerta fisiológica, sin embargo, cuando se produce daño tisular o infección, estímulos que generalmente serían percibidos como una leve molestia, serán percibidos notablemente más dolorosos, en el área afectada y su entorno, fenómeno conocido como hiperalgesia. Además de lo anterior, se pierden la selectividad

frente a los estímulos que lo desencadenan (fenómeno conocido como alodinia), la capacidad de localización y comienza a afectar regiones corporales no relacionadas directamente con la lesión tisular, pudiendo incluso llegar a auto perpetuarse en el tiempo. Este tipo de dolor ya no posee un carácter protector, sino que produce efectos adversos, que influyen negativamente en la evolución postoperatoria del paciente. Todo lo anterior se produce debido al proceso llamado sensibilización, que a grandes rasgos, es responsable de la disminución del umbral doloroso y de la modificación de las características del dolor, por mediadores inflamatorios (15, 21, 23).

- Proceso de transmisión

La proyección axonal proximal de la neurona en T, que parte en el ganglio sensitivo trigeminal (ganglio de Gasser), transcurre por la fosa craneal media, hasta penetrar al sistema nervioso central a través de la protuberancia anular. Una vez al interior de la protuberancia, las fibras sensitivas del trigémino se dirigen hacia los núcleos sensitivos de este nervio, ubicados en el tronco encefálico, formando una gran columna de sustancia gris, que puede ser dividida en tres núcleos en sentido rostro-caudal:

- **Núcleo mesencefálico;** que posee los somas de las neuronas propioceptivas.
- **Núcleo sensitivo principal;** en el que llegan aferencias de las fibras de gran diámetro para el tacto discriminativo y ligero. También recibe algunas ramas del núcleo mesencefálico.
- **Núcleo espinal;** que representan los centros segmentarios somato-sensitivos del trigémino (22).

Este último núcleo, el espinal, se divide en tres subnúcleos: el oral, interpolar y caudal. Los subnúcleos interpolar y caudal resumen la sensibilidad térmica y dolorosa del territorio orofacial (23). La porción caudal, que recibe fibras

para el dolor y temperatura, se extiende desde el nivel de la decusación piramidal hasta los primeros 3 segmentos cervicales, relacionándose con las láminas I-IV (láminas de rexed) del cuerno gris dorsal de la médula espinal, que permitirían así el control por la teoría de la compuerta (18). Esta teoría se basa en la existencia de interneuronas que actúan sobre las neuronas nociceptivas de la vía, que modulan la transmisión de los tractos sensitivos ascendentes, especialmente, a nivel de la llamada sustancia gelatinosa del asta posterior de la médula espinal (24). En estos tres subnúcleos en los cuales está subdividido el núcleo sensitivo trigeminal está representada la sensibilidad de labios, dientes y mucosas de la cavidad oral.

Desde el núcleo espinal parte la segunda neurona de la vía del dolor que puede ser de dos tipos:

1. **Neuronas nociceptivas específicas:** Solo reciben aferencias de fibras A δ y C (neuronas nociceptivas propiamente tales).
2. **Neuronas de amplio rango dinámico (WDR):** Reciben aferencias de fibras A δ y C, y además reciben aferencias que tienen que ver con la percepción táctil (A β) mediante colaterales que emiten estas neuronas táctiles.

En el 90% de los casos el axón de la segunda neurona decusa la línea media (el 10% sube por el lado ipsilateral), llegando al tálamo, específicamente al núcleo ventro-postero-medial (NVPM). Aquí parte la tercera gran neurona, que puede proyectar a distintas partes: corteza somato sensitiva, sistema límbico, sistema autónomo, etc; dando como resultado las diferentes características de la experiencia dolorosa. Poniendo en marcha todas las respuestas vegetativas, motoras y emocionales, además de hacerse consciente.

La neurona de segundo orden presenta un cuerpo ubicado en el asta posterior de la médula espinal, y una prolongación axónica que da origen a tres

haces contralaterales que ascienden hacia estructuras del tallo cerebral y tálamo (12):

- **Haz neospinotalámico:** hace sinapsis con los núcleos ventral posterior y pósterolateral del tálamo y de allí con la corteza parietal otorgando información de la ubicación topográfica del dolor.
- **Haz paleospinotalámico:** se proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo y luego a zonas frontales de la corteza, adquiriendo importancia en la evaluación cualitativa del dolor. Junto con el haz neospinotalámico forman la vía espinotalámica.
- **Haz espinoreticulotalámico:** está conformado por fibras que hacen sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia, zona reticular mesencefálica y sustancia gris periacueductal. De allí se dirige en forma bilateral hacia los núcleos inespecíficos del tálamo, terminando en la corteza inespecífica. Nos entrega el componente afectivo del dolor.

En el caso del nervio trigémino, la proyección central de la neurona en bipolar que parte del ganglio de Gasser se proyecta ipsilateralmente hacia el tronco cerebral, para hacer sinapsis con neuronas de segundo orden del complejo nuclear sensorial trigeminal. Luego, estas fibras ascienden por el tracto trigeminotalámico anterior, para hacer sinapsis en el tálamo y posteriormente a la corteza cerebral. Existe evidencia de que los principales neurotransmisores que participan en esta vía, son los aminoácidos excitatorios (glutamato, aspartato), los péptidos como la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP)(25).

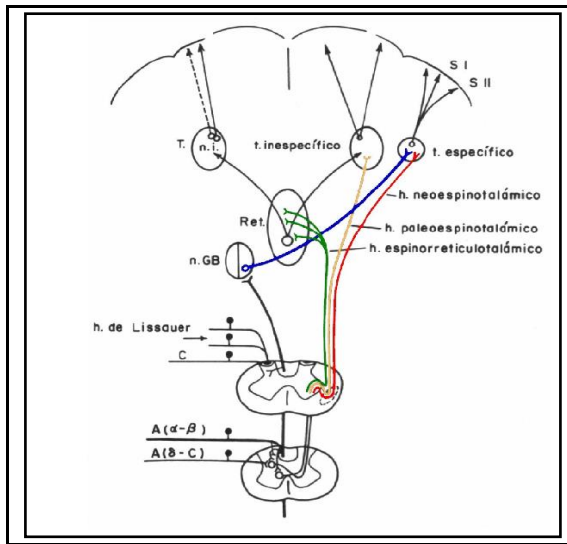


Figura 3: Representación esquemática de las vías ascendentes del dolor. Modificada de Bonica, 1990 (12).

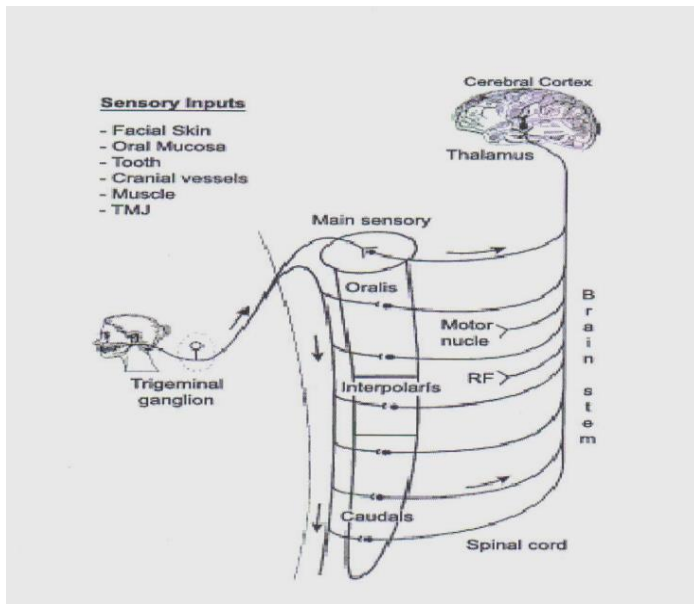


Figura 4: Principal vía somatosensorial trigeminales (22).

- Control descendente del dolor

Las vías descendentes del dolor realizan sinapsis y diversos núcleos donde se encuentran distintas poblaciones neuronales tanto a nivel del tronco cerebral como de estructuras cerebrales, teniendo un rol, ya sea facilitador de la transmisión nociceptiva o inhibitoria de la respuesta dolorosa, dependiendo al receptor al cual se acoplen.

A nivel medular los mecanismos de control descendentes están dados, básicamente, por 3 tipos de neuronas: serotoninérgicas, noradrenérgicas y con menor importancia, las dopaminérgicas (26). Estas vías descendentes monoaminérgicas pueden actuar de 3 formas:

- por medio de la inhibición presináptica a través de la reducción directa de los neurotransmisores propioceptivos desde las fibras A δ y C.
- por medio de la activación de interneuronas intrínsecas inhibitorias o inhibición de interneuronas intrínsecas excitatorias del asta dorsal.
- y por último, actuando sobre la neurona de proyección involucrada en la transmisión del dolor hacia estructuras supramedulares. Esta acción puede ser llevada a cabo directamente sobre las neuronas de proyección o en forma indirecta mediante la activación de interneuronas inhibitorias o la inhibición de interneuronas excitatorias.

Las neuronas serotoninérgicas se ubican principalmente en el núcleo rafe magnus, y sus fibras se distribuyen ampliamente, actúan tanto sobre núcleos centrales como sobre las fibras aferentes de los nociceptores mediante la estimulación de interneuronas inhibitorias locales, o bien directamente sobre el nociceptor. Los principales receptores asociados a antinocicepción son: (5-hidroxitriptamina) 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ y 5-HT₄₋₇.

Las neuronas noradrenérgicas se ubican en el locus coeruleus y en el puente (sub coeruleus). Se distribuyen ampliamente entre las neuronas de la médula espinal, especialmente en el asta posterior. La acción antinociceptiva de la Noradrenalina se basa en su acción post-sináptica (al interior del asta dorsal). Pero también se describe su acción directa sobre el nociceptor. La liberación de Sustancia P actúa en los receptores α_1 y α_2 . Así mismo, las neuronas noradrenérgicas pueden inhibir directamente la transmisión del impulso hacia la neurona de proyección actuando sobre los receptores α_2 ubicados en el nociceptor, o bien sobre el receptor α_2 ubicado en la neurona de proyección.

Otro sistema de control descendente del dolor es el eje opioide. Este sistema incluye receptores y ligandos específicos, que por medio de neuronas opiopeptidérgicas que se encuentran en el asta dorsal, inhiben las neuronas de proyección nociceptivo-específicas.

Los receptores opioides más conocidos son: DOR (delta), KOR (kappa), MOR (mu), OFQ/N y el ORL-1 (opioid receptor like) (19). Estos se encuentran acoplados a proteínas G inhibitorias que llevan a disminuir el AMP c intracelular, provocando finalmente una disminución de la excitabilidad neuronal (27, 28). Existen estudios recientes que demuestran la existencia de heterodímeros de estos receptores en las membranas neuronales, lo que podría explicar la gran variabilidad de respuesta de estos receptores, ante un mismo ligando (26). Otros estudios recientes demuestran la existencia de al menos 7 péptidos opioides endógenos que se unen a receptores opioides (19, 26). Estos péptidos también se encuentran en el tubo digestivo, la glándula suprarrenal, aparato reproductor, etc. (6). Lo que podría explicar, de cierta forma, algunas reacciones adversas a los fármacos opioides advertidas en otros sistemas del organismo. Dentro del sistema nervioso la distribución de péptidos y receptores opioides es amplia, principalmente repartidas en todas estructuras conectadas íntimamente con la transmisión del estímulo doloroso (6, 26).

2.4 Control farmacológico del dolor

En la actualidad se dispone de una amplia gama de fármacos para modificar la respuesta dolorosa de manera selectiva. Entre éstos, los más importantes son:

- Anestésicos Generales
- Anestésicos Locales
- Analgésicos Opioides
- Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroidales (AINES)
- Coanalgésicos

De estos los más usados para el tratamiento farmacológico del dolor son los analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINES) y los opioides. Además existen los coanalgésicos como los antidepresivos, los antiepilépticos, los anestésicos locales, los cannabinoides, el alcohol, etc (2,3).

Estos fármacos pueden actuar de diversas formas:

- Actuando sobre la conducción del estímulo doloroso, como lo hacen los anestésicos locales, o bien injuriando el nervio, como lo hacen alcoholes y fenoles, situación que puede llegar a ser irreversible.
- Actuando a nivel central, uniéndose a receptores específicos en los centros de control descendente del dolor, como lo hacen los fármacos opioides o los inhibidores de la recaptación de monoaminas con acción antinociceptiva central, como los antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAOs) o los inhibidores de la recaptación de serotonina o noradrenalina.

- Actuando a nivel periférico, modulando la respuesta inflamatoria local en el sitio de la injuria, lo que determina una disminución del envío de señales dolorosas hacia el sistema nervioso central. Dentro de este grupo se encuentran los antiinflamatorios, ya sean esteroidales (corticoides) o no esteroidales (AINEs) (2, 3, 8, 27, 28).

En este trabajo de investigación en particular, se analizará la acción de los dos grandes grupos de analgésicos: Opioides y AINEs.

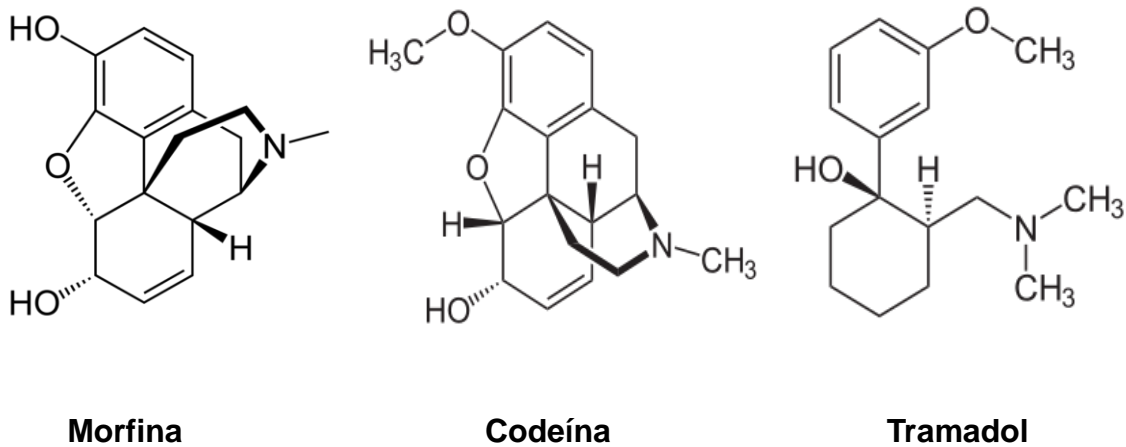
De los grupos de fármacos antes citados, los AINEs son los más usados en los distintos tipos de dolor, tanto agudo como crónico, y por ende los más estudiados en varias especialidades médicas, especialmente, en el área odontológica, donde se utilizan tanto en el preoperatorio como post-operatorio de diversos cuadros clínicos álgidos o inflamatorios. Por lo tanto se trabajará en la combinación en un modelo de dolor orofacial en ratón opioides y AINEs.

2.4.1 Analgésicos opioides

Las drogas más usadas para el tratamiento del dolor, especialmente de tipo crónico, son los opioides. En el siglo pasado se logra aislar la morfina de entre el conjunto de alcaloides que componen el opio. La morfina es un derivado fenantrénico, estructurado en un núcleo morfinano tetracíclico (6). Su estructura y disposición química ha permitido que la industria farmacéutica lograra manipular algunos grupos terminales de ciertos carbonos para así obtener semisintéticos cuyas características específicas son especialmente útiles en el campo médico.

En 1962 fue sintetizado un analgésico de acción central relacionado estructuralmente con la codeína (modificación de grupo terminal alcohólico en la morfina) y la morfina llamado tramadol.

Figura 4: fórmula química de morfina, codeína y tramadol.



En la actualidad, se han clonado 4 subtipos de receptores opioides; MOR por tramadol; KOR por ketociclazocina; DOR por haber sido identificado primeramente en el conducto deferente y NOR, por nociceptivas (6). Estos receptores pertenecen a la familia de los acoplados a la proteína Gi/Go (6, 7). Entre los agonistas MOR se encuentra el tramadol (6).

2.4.2 Mecanismo de acción de los opiodes

En relación al mecanismo de la acción de los opiodes, se relaciona con: (a) la inhibición de la adenilato ciclasa con reducción del AMPc, (b) apertura de canales de K^+ y cierre de canales de Ca^{+2} ; (c) el aumento de la conductancia del K^+ que produce hiperpolarización de membrana y (d) reducción de la duración del potencial y reducción de la capacidad de liberar neurotransmisor. Se ha comprobado este tipo de respuesta en múltiples sitios del SNC y el SNP. Por otra parte, la activación de receptores opioides en determinadas circunstancias puede producir (7):

a) Elevación del Adenosin monofosfato cíclico (AMPc) por estimulación de la Adenilciclase de tipo II que es activada por las subunidades b/g de proteínas Gi/Go (ya que la acción es inhibida por la toxina Pertussis).

b) movilización intracelular de Ca^{+2} a partir de los depósitos del retículo endoplasmático. Esta última acción está relacionada con la formación de inositoltrifosfato y, por lo tanto, con la activación de la fosfolipasa C inducida también por las subunidades b/g de las proteínas Gi/Go.

2.4.3 Tramadol

Fármaco que desde la década del 70 se encuentra disponible para el tratamiento del dolor.

El inusual y singular perfil farmacodinámico de este opioide es atribuible al tramadol siendo un fármaco racémico, es decir donde tanto sus enantiómeros, S (+)-tramadol y R(-)-tramadol, como sus metabolitos contribuyen a obtener la analgesia a través de diversos mecanismos, esto influye en la unión al receptor opioide y la inhibición de la recaptación de la serotonina y noradrenalina. Esta dualidad en su acción ha llevado a la FDA a clasificarla como un analgésico central no tradicional o atípico. El S(+)-Tramadol y el metabolito (+)-O-desetil_tramadol son agonistas del receptor MOR. Además, S(+)-Tramadol inhibe la recaptación de serotonina y de noradrenalina, mientras que el R(-)-Tramadol inhibe la recaptación de noradrenalina pero es 10 veces más potente que su S(+)-enantiómero (29, 30). Como bien se explicó anteriormente, ambas aminas se encuentran implicadas en los mecanismos de control descendente del dolor, tanto así que la administración de naloxona (antagonista de receptores opiodes) disminuye pero no elimina por completo la analgesia inducida por tramadol (31, 32, 33).

El tramadol es un fármaco que presenta varias formas farmacéuticas, tales como: ampollas para administración intravenosa, intramuscular o subcutánea; en

capsulas, tabletas solubles, gotas y en supositorios. Esta diversidad le da distintas propiedades farmacocinéticas entre sí.

En la administración oral de tramadol, la absorción es casi completa (100%) después de un tiempo de latencia que varía entre 12 y 30 minutos dependiendo si se administra en gotas o capsulas, respectivamente. Es rápidamente distribuido en el cuerpo, con una vida media de 6 minutos en la primera fase, seguida de una segunda fase de distribución lenta con una vida media de 1.7 horas.

La biodisponibilidad del fármaco disminuye a un 70 %, hecho que se atribuye al primer paso hepático. El tramadol es metabolizado en el hígado donde ocurren reacciones fase I (N-desmetilación u O-desmetilación) y fase II (Conjugación) lo que deriva en diversos metabolitos. Algunos de éstos metabolitos, los de mayor importancia son: (±)-O-desmetil-Tramadol quien es metabolizado por el complejo del citocromo P450 (CYP)_{2D6}. El metabolito (+)-O-desmetil-tramadol es el agonista con mayor afinidad del receptor MOR, mostrando tener una afinidad de 700 veces la del compuesto racémico, por lo que se le atribuye el efecto opioide del fármaco (31).

El 90% de la eliminación del Tramadol ocurre a través del sistema renal y el 10 % restante se encuentra en las heces, vías biliares y en la saliva (31).

Dentro de las Reacciones adversas a medicamento (RAM) que presenta el tramadol, se pueden destacar las náuseas y vómitos, esto se debe a la acción del tramadol sobre el receptor MOR. Se destaca que no posee efectos adversos clínicamente relevantes. Además muestra efectos positivos en el sistema inmune y tiene un bajo potencial de abuso y dependencia (31, 34).

Tramadol es administrado como analgésico base en el tratamiento del dolor agudo de intensidad moderada a severa. Su uso es habitual posterior a cirugías, en el caso odontológico. También, puede ser recomendado en el tratamiento del dolor crónico de origen no maligno (osteoartritis, dolor neuropático, etc.). Además,

es muy frecuente administrarlo asociado a AINEs con el fin de disminuir las dosis y paralelamente sus RAMs (31, 35).

2.4.4 Analgésicos Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)

Comprenden una numerosa familia de medicamentos, de estructura química diferente pero que comparten actividades terapéuticas y efectos adversos a distintos niveles (gastrointestinal, renal, cardiovascular, encefálico, hematológico, respiratorio, dermatológico, SNC, etc) (36).

Los AINEs han asumido un rol farmacológico muy importante en el tratamiento de las enfermedades inflamatorias, ya que afectan de manera directa a las situaciones que tienen en común un proceso inflamatorio producto de fagocitosis, liberación enzimática lisosomal, estímulos de quimiotaxis, activación de la coagulación, procesos fibrinolíticos, quininas, cascada de coagulación, etc (37).

La mayoría de estos fármacos son ácidos orgánicos débiles que muestran uno o más de los siguientes efectos: analgésico, antiinflamatorio, antipirético y/o antiagregante plaquetario. Estas cualidades que poseen los AINEs, resulta de su capacidad de inhibir un tipo específico de enzimas llamadas ciclooxigenasas (COXs). La degradación de los fosfolípidos estructurales de las membranas celulares por la enzima fosfolipasa A2 da origen al ácido araquidónico (AA), este compuesto es convertido en dos procesos, por dos enzimas: las lipooxigenasas (LOXs) y las ciclooxigenasas (COXs). Las COXs convierten los AA en prostaglandinas H₂ (PGH₂) las cuales posteriormente se transforman por la acción de la prostaglandina sintasa en varios productos que pertenecen al grupo de los eicosanoides, llamados prostanoides como: las prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina, las cuales juegan un importante rol en la homeostasis celular, como también en la mediación de la respuesta inflamatoria

(38, 39, 40). Interviene en la respuesta inflamatoria con producción de vasodilatación, aumento de la permeabilidad de los tejidos, permitiendo el paso de leucocitos; afecta la agregación plaquetaria; estimulan las terminaciones nerviosas nociceptivas; contraen la musculatura lisa; intervienen en la regulación de la temperatura corporal, entre otras acciones (4, 5, 41).

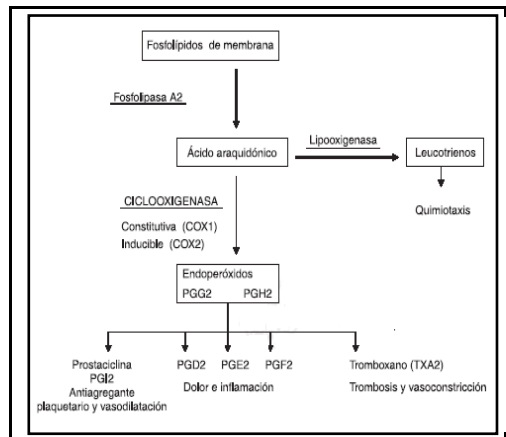


Figura 5: Secuencia de la síntesis de eicosanoides (tomada de Warner y Mitchell, 2004)

(38).

Existen tres tipos de isoformas de enzimas, COX-1, COX-2 y COX-3. La COX-1 es reconocida como una enzima “constitutiva” responsable de la síntesis de prostanoides en cantidades fisiológicas adecuadas, por lo tanto, la preservación de la regulación de los prostanoides mantienen la homeostasis del organismo. Por supuesto se encuentra expresada en casi la totalidad de las células del organismo (42). La COX-2 se encuentra expresada en forma constitutiva en varios tipos de células, pero su concentración aumenta hasta 20 veces en las células efectoras de la respuesta inflamatoria ante un estímulo nocivo, como los lipopolisacáridos y citoquinas por ella se les llaman “enzimas inducibles” (39, 43). La COX-3 (también llamada COX-1b) se encuentra casi exclusivamente en el SNC, especialmente en el encéfalo con su acción es analgésica y antipirética cuando actúa en el hipotálamo. También se han encontrado en el corazón, aorta y tracto gastrointestinal (38, 44).

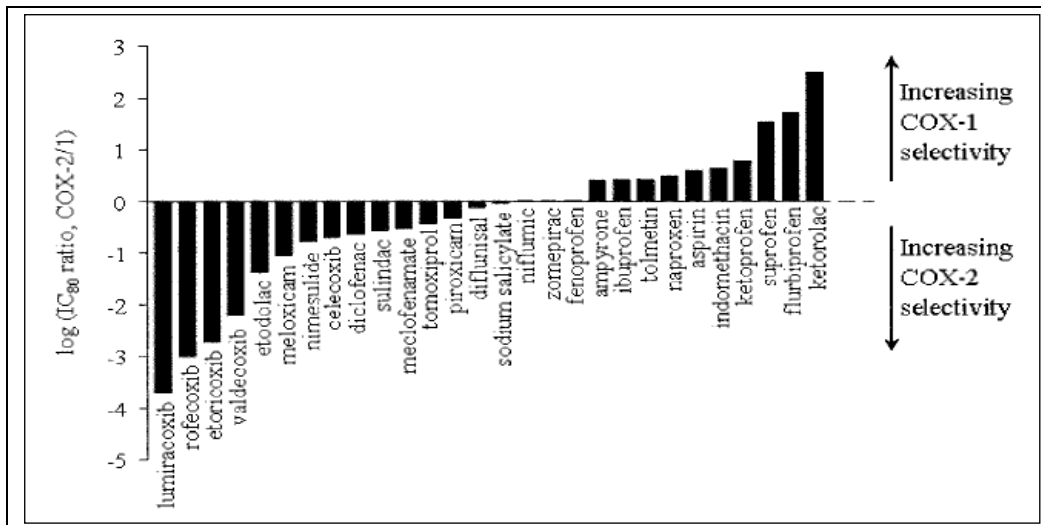


Figura 6: Esquema de selectividad de COX-1 y COX-2 por los AINEs (tomado de Warner y Mitchell, (38))

Cuando se incorporan los AINEs como terapia farmacológica, se inhibe la síntesis de prostanoïdes a la espera de obtener una modulación del dolor y del efecto antiinflamatorio y antipirético, sin embargo esta inhibición indiscriminada es una de las causas principales de una serie de graves efectos adversos, ya que se producen una serie de alteraciones de diversas funciones fisiológicas, como autoregulación de la perfusión del riñón, protección gastrointestinal, implantación del óvulo, mantenimiento del embarazo, regulación de la función plaquetaria, resistencia vascular, etc. (42). Debido a esta situación es que se ha utilizado como criterio de clasificación de los AINEs su capacidad de inhibir selectiva o no selectivamente a las COXs. Otra de las más utilizadas clasificaciones es de acuerdo a su estructura química. Ésta es la siguiente: (38)

Tabla 1: Principales grupos AINEs, de acuerdo a su estructura química. Adaptado de Warner y Mittchel (38).

Clase estructural	No selectivos COX-1	Selectivos COX-2
<i>Alcanonas</i>	<i>Nabumetona</i>	
<i>Ácidos antranílicos</i>	<i>Ac. Mefenámico, Ac. Eclofenámico</i>	
<i>Ácidos arilpropiónicos</i>	<i>Ibuprofeno, Flubiprofeno, Ketoprofeno, Naproxeno, SC560</i>	
<i>Diarilheterociclos</i>		<i>Celecoxib, Eterocoxib, Parecoxib, Rofecoxib, Valdecoxib</i>
<i>Di-ter-butyl-fenoles</i>		<i>Darbufelona</i>
<i>Ácidos enólicos</i>	<i>Peroxicam, Tenoxicam, Fenilbutazona</i>	<i>Meloxicam</i>
<i>Ácidos heteroarilacéticos</i>	<i>Diclofenaco, Ketorolaco, Tolmetin</i>	<i>Lumiracoxib</i>
<i>Ácidos idolacéticos</i>	<i>Indometacin, Sulindac</i>	<i>Etodolac, Indometacina, amidas (y ésteres)</i>
<i>Derivados del para-Aminofenol</i>	<i>Paracetamol</i>	
<i>Derivados del Acido Salicílico</i>	<i>Aspirina, Diflunisal, Sulfasalazina</i>	<i>APHS</i>
<i>Sulfonamidas</i>		<i>Nimesulida, Flosulida</i>

En general, los AINEs poseen un alto grado de afinidad por las proteínas plasmáticas, lo cual prolonga su vida media. Debido a esta misma razón, tienden a desplazar a otros fármacos desde el sitio de unión a las proteínas plasmáticas, lo cual puede ocurrir con anticoagulantes, hipoglicemiantes orales, metotrexato y fenitoína, por lo que su administración debe ser muy controlada en pacientes que consuman éstos fármacos de forma crónica (41).

Los AINEs son metabolizados en el hígado por el sistema citocromo P₄₅₀ y son excretados por el riñón, tanto en su forma libre como metabolizada (41).

2.4.5 Ketoprofeno

Este fármaco es un derivado del ácido propiónico que inhibe a las ciclooxigenasas no selectivamente (COX-1 > COX 2) y a la lipooxigenasa (38). Al ser un derivado del ácido propiónico se caracteriza por tener buen efecto analgésico, antiinflamatorio, antipirético y antiagregante plaquetario. Por su buen efecto antiinflamatorio, la familia de los derivados son ampliamente utilizados en reumatología. La RAM más frecuente es la irritación gástrica (44).

El Ketoprofeno, posee una efectiva y segura actividad analgésica en situaciones de dolor leve a moderado. El fármaco es racémico, es decir una mezcla entre sus enantiómeros S (+) y R (-) en cantidades equivalentes. Cada enantiómero presenta distintas actividades farmacocinéticas y farmacodinámicas (48, 49, 50).

Después de ingerido, se absorbe en forma rápida y al término de dos horas se alcanzan concentraciones máximas en plasma. El fármacos se liga ampliamente a proteínas plasmáticas (99 %) y su vida media en plasma es de unas dos horas. Este producto se conjuga con Acido glucorónico en hígado, y el producto conjugado se elimina por excreción renal en un 60- 70 % (50).

El Ketoprofeno por su buena acción analgésica y por la posibilidad de administrarlo vía parenteral (intramuscular/ intravenosa) es una buena alternativa en el tratamiento del dolor post operatorio (50). Además está indicado en el tratamiento de dolores agudos, por ejemplo cirugía de terceros molares, osteoartritis, artritis reumatoidea y afecciones musculo esqueléticas (48, 49).

2.4.6 Interacción de fármacos

La asociación de 2 o más fármacos, puede originar interacciones entre ellos, que de acuerdo al nivel de efecto pueden ser:

- **Aditiva:** corresponde a que el efecto obtenido por asociación de fármacos, es la simple suma algebraica de los efectos individuales.
- **Sinérgica, supraditiva, o superaditiva:** en este caso es el efecto obtenido por la combinación de los agentes es significativamente mayor que la suma de los efectos individuales de las drogas.
- **Subaditiva o antagónica:** situación en que el efecto resultante de la combinación de fármacos, es significativamente menor que la suma de los efectos individuales.

La interacción de tipo sinérgica es de especial importancia, ya que permite disminuir las dosis necesarias de cada fármaco para lograr el efecto buscado y con ello se logra también disminuir las RAM de cada fármaco involucrado (1, 8, 27,45).

2.5 Modelos animales de dolor

Los modelos animales de dolor han permitido que las investigaciones clínicas para conocer los mecanismos íntimos de la nocicepción hayan avanzado tanto en los últimos años.

La ausencia de comunicación verbal en los animales es definitivamente, un obstáculo para la evaluación del dolor. A raíz de esto, solo podremos estudiar sus reacciones ante estímulos nocivos de naturaleza diversa (1). Los modelos animales de dolor se definen como: procedimientos mediante los cual se valora la reacción de un animal ante un estímulo de naturaleza variada, o situación patológica inducida.

Existen pocos estudios de comportamiento de animales de laboratorio dedicados al estudio de la nocicepción en la región trigeminal. Además, con la excepción de los modelos de dolor neuropáticos del trigémino, la mayoría se basa en mediciones de umbrales o latencia relativamente breves ante estímulos nocivos específicos (térmicos, químicos, mecánicos, etc.). Si bien, proporcionan información valiosa, no son reminiscencia del dolor clínico. Dentro de la categoría de modelos de dolor nociceptivos, la prueba de la formalina es relevante (46).

2.6 Prueba de formalina orofacial

La prueba de la formalina en ratas y ratones posee dos fases bien definidas: una fase temprana debida a la activación directa de los nociceptores que sigue a la injuria corrosiva que produce el irritante (fase 1), y luego una fase tardía debida a la organización de un foco inflamatorio en el sitio de la injuria y la sensibilización central y periférica que conlleva (fase 2). Tras la aplicación de la formalina, aparecen respuestas conductuales dirigidas hacia la extremidad injuriada como: lamido-mordisqueo, sacudidas, elevación y resguardo, habiéndose descrito originalmente un método para puntuar la respuesta nociceptiva, en base a la observación conjunta de estas respuestas. La intensidad de las respuestas conductuales dependerá de la concentración de la formalina que es administrada (1, 46).

El test de la formalina ha sido adaptado para el estudio del dolor orofacial, observándose tras la aplicación del irritante un aumento en el acicalamiento facial, expresado por parte del ratón como frotamiento o rascado de la cara. Esta respuesta nociceptiva presenta un típico curso de tiempo bifásico, con un primera fase de corta duración (3-5 min), seguido, después de un periodo de reposo de 10-15 minutos, por una segunda fase tónica prolongada (20-40 minutos). En este caso, la inyección intradérmica de formalina se inyecta en el labio superior, lateral a la nariz; o bien, en el centro de la almohadilla vibril. Produciendo una respuesta nociceptiva más intensa y repetible dentro del territorio orofacial (46).

La concentración de formalina a utilizar es muy importante para el resultado de la prueba. En el estudio de Luccarini et al (9), se observó una relación lineal positiva entre concentración y amplitud de la actividad de frotamiento, tanto en la primera como segunda fase del test, con concentraciones de hasta 4%, induciendo una respuesta nociceptiva creciente, mientras que el uso de concentraciones mayores no se traduce en una mayor expresividad. Concentraciones muy altas de formalina pueden producir conductas no deseadas del animal, como: inmovilidad del animal durante largos periodos, produciendo interpretaciones erróneas de la conducta nociceptiva.

3. Hipótesis, Objetivo General y Objetivos específicos

- ***Hipótesis:***

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

- ***Objetivo General:***

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

- ***Objetivos específicos:***

1. Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal (i.p.) de ketoprofeno en test orofacial de formalina.
2. Estudiar la analgesia producida por la administración intraperitoneal de Tramadol en el test orofacial de formalina.
3. Estudiar el tipo de interacción analgésica al administrar la combinación la combinación de ketoprofeno con tramadol en el mismo Test orofacial de formalina.

4. Materiales y método

Se usaron ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1 de 28 a 30 grs de peso y habituados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes del experimento, de acuerdo al protocolo CBA N238 FMUCH aprobado por la Comisión Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (cada animal recibió solamente una dosis de las drogas, las observaciones se efectuaron en forma ciega, aleatoria y controladas con solución salina). Se dejó constancia que, basándose en las normas éticas internacionales que rigen este tipo de experimentación, el número de animales utilizados será el mínimo estrictamente necesario, para un correcto análisis estadístico. Los animales se sacrificaron después del experimento mediante dislocación cervical, por personal experimentado.

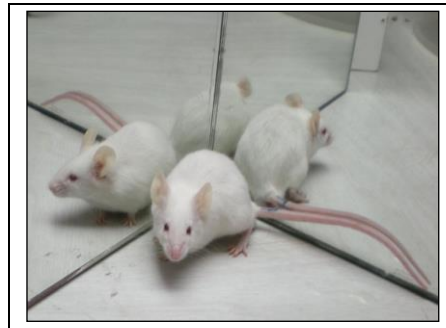


Imagen 1. Ratón *Mus musculus* de la cepa CF/1, debidamente identificado, que se encuentra en cilindro de observación.

4.1 Test de la formalina:

La evaluación de la actividad nociceptiva se efectuó utilizando una modificación del modelo de Luccarini (9). Este test algiesiométrico, de la formalina orofacial que permite medir dolor originado en la estimulación del nervio trigémino, uno de los nervios que otorga mayor inervación al territorio maxilofacial. Para ello, se realizó una inyección subcutánea de 20 μ l de solución de formalina al 2 % en el labio superior del animal. Ello indujo un sostenido frotamiento de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la zona de la cara en el área perinasal. Los ratones se colocaron en un cilindro diseñado para la observación y con un cronómetro digital se midió el tiempo total que se frotaban el área perinasal durante los 5 minutos inmediatos a la inyección y que corresponde a la fase algésica aguda (fase I). Luego se registró por 10 minutos, a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30 minutos, el tiempo durante el cual los animales se frotaron el labio comprometido y que corresponde a la fase inflamatoria y que mide el dolor crónico (fase II). No se contabilizó el tiempo entre la fase algésica y la inflamatoria, debido a que el ratón se encuentra en un periodo de quietud (9). En este trabajo se usó una solución de formalina al 2% debido a que ella produce mejor discriminación y menos posibilidades de daño tisular (9).

Los fármacos se administraron i.p en un volumen constante, de 10mL/kg y el ensayo de la formalina se realizó al momento de tener el efecto máximo de cada droga, el cual se determinó previamente.



Imagen 2. Inyección de 20 μ L de solución de formalina al 2%.

4.2 Evaluación de la analgesia:

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva, se construyeron curvas dosis-respuesta de Ketoprofeno (3, 10, 30 y 100 mg/kg) y de tramadol (1,3,10 y 30 mg/kg) administrados por vía i.p a un mínimo de 6 a 8 animales por cada una de las dosis. Los animales controles fueron inyectados con solución salina al 0.9%.



Imagen 3. Frotamiento de zona perinasa.

4.3 Estudio de la interacción antinociceptiva:

Para la evaluación de la interacción se utilizó el método isoblográfico de (45), que corresponde a representaciones gráficas de las curvas isoeffectivas, por ejemplo, la dosis que produce un 50 % del efecto máximo (DE50). Para cada combinación de las drogas se determinó la DE50 mediante análisis de regresión lineal de su curva dosis-respuesta. Esta dosis se comparó estadísticamente con la dosis que representa teóricamente la adición simple de efectos, que se obtuvo según la siguiente fórmula:

$$DE50 \text{ aditiva teórica} = DE50 \text{ droga 1} / (P1+R \times P2)$$

Donde:

- R: relación de potencias entre las drogas administradas solas.
- P1: proporción Ketoprofeno
- P2: proporción de tramadol en la mezcla.

El punto experimental resultante se graficó en un sistema de coordenadas cartesianas que contienen una línea que conecta de DE50 de Ketoprofeno en la abscisa con la DE50 de Tramadol en la ordenada (línea de aditividad simple o teórica). La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. Si la interacción es sinérgica (supraditiva), el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso de una interacción antagónica, el punto se ubicará sobre la línea de aditividad, y por último, si el punto se ubica en el sector cercano a la línea de aditividad, la interacción será de simple aditividad. Al mismo tiempo, el programa calculó el índice de interacción (I.I.) entre las drogas, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$I.I. = DE50 \text{ experimental} / DE50 \text{ teórico.}$$

Si el valor resultante es menor que 1 corresponde a una interacción sinérgica; al resultar igual a 1 la interacción es aditiva, y si es mayor que 1, es antagónica (50).

El efecto antinociceptivo se calculó en base al valor del porcentaje del efecto máximo posible (%MPE o % de analgesia o de antinocicepción) el cual se obtuvo de acuerdo a:

$$\% \text{ MPE} = 100 - \left(\frac{\text{tiempo de rascado experimental}}{\text{tiempo de rascado control}} \times 100 \right)$$

Los resultados se expresaron como promedio \pm error estándar del promedio (EEM) o bien con sus límites de confianza al 95% (95% LC). Los datos obtenidos se expresaron en curvas logarítmicas dosis- respuestas construidas mediante regresión lineal por cuadrados mínimos y a partir de ellas se determinó la DE50.

Todos los parámetros estadísticos, se calcularon con el programa Pharm-Tools Pro (version 1.27, McCary Groups, Inc.) PA, U.S.A., adaptado de Tallarida 2000 (45). La significancia estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t Student, considerando un nivel del 5% ($p < 0.05$).

5. Resultados

5.1. Grupo control

Al administrar formalina al 2% en ratones (n= 10) previamente tratados con suero salino, produjo un tiempo de rascado de 90.11 ± 5.64 segundos en la fase I y de 91.78 ± 5.54 segundos en la fase II. Estos resultados se grafican en la figura 7.

El curso temporal de la administración de formalina al 2 % se muestra en la figura 7.

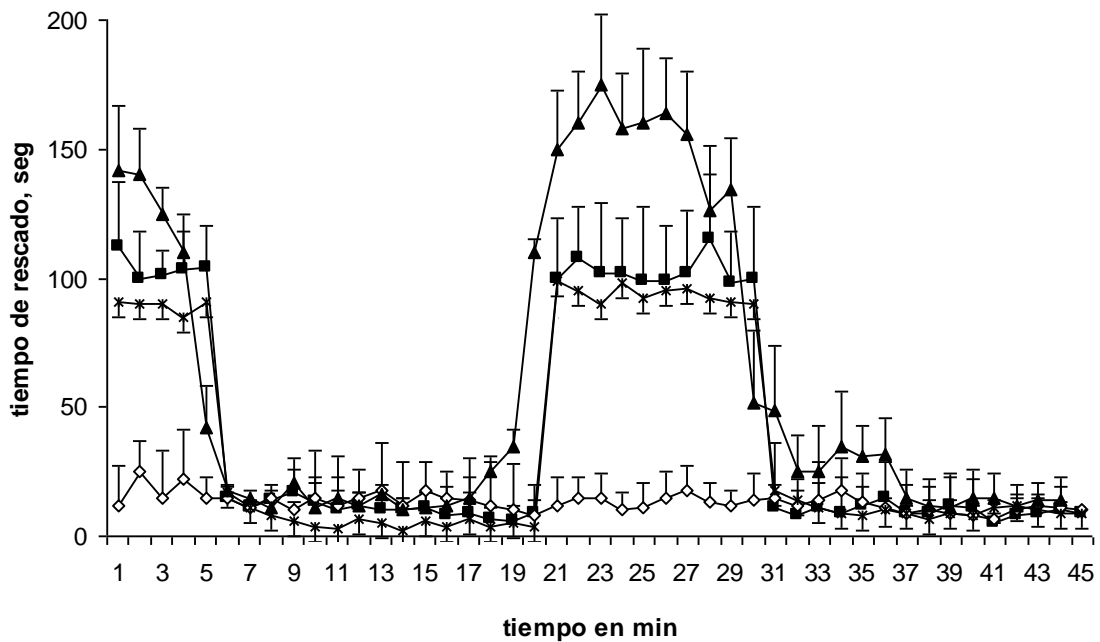


Figura 7. Curso temporal del ensayo de la formalina orofacial en ratones. Control salino (◇), formalina 1 % (*), 2 % (■), formalina 5 % (▲). Cada punto es el promedio de al menos 6 animales con su respectivo EEM.

5.2. Curva dosis-respuesta de ketoprofeno.

La administración i.p de Ketoprofeno, en el ensayo de la formalina orofacial, produjo una respuesta antinociceptiva dosis-dependiente (n=24) tanto en la fase I como en la fase II, como se observa en la tabla 2 y en la figura 8 y 9 respectivamente. La DE50, resultó ser 6.96 ± 1.08 mg/kg para la fase I y de 12.62 ± 2.19 mg/kg para la fase II. La potencia relativa fue mayor 1.8 veces en la fase I que en la fase II. Estos resultados se muestran en tabla 2.

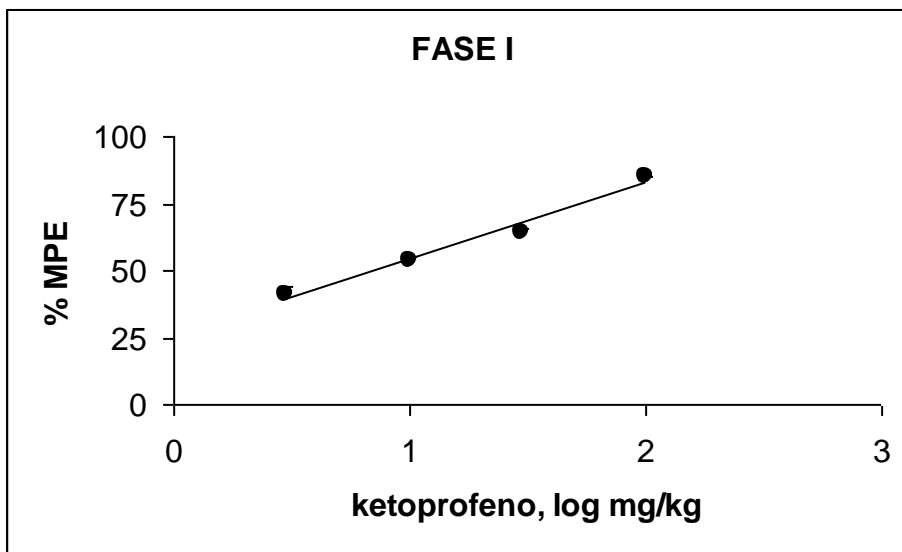


Figura 8: Curva dosis-respuesta del Ketoprofeno administrado i.p., en el ensayo de la formalina orofacial en la fase I. Cada punto es el promedio \pm EEM de al menos 6-8 animales. MPE: máximo efecto posible.

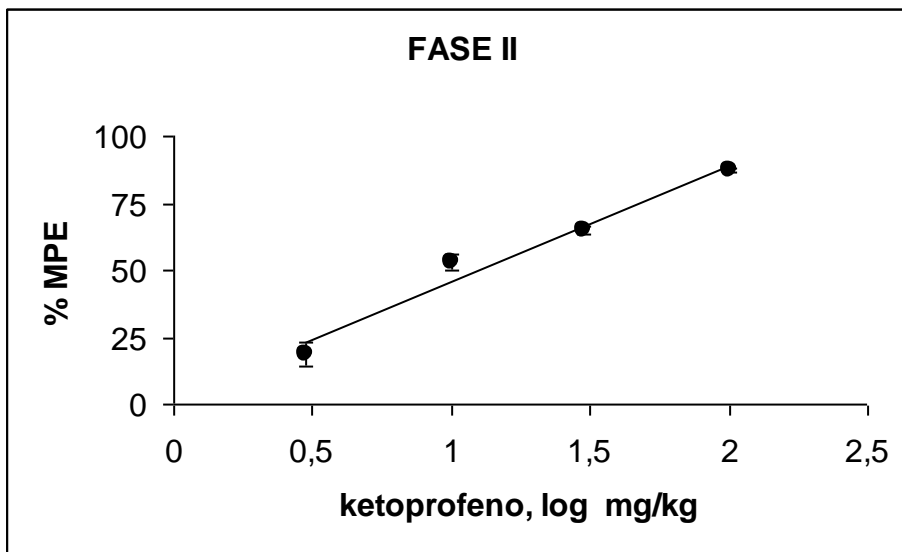


Figura 9: Curva dosis-respuesta del ketoprofeno administrado i.p., en el ensayo de la formalina orofacial en la fase II. Cada punto es el promedio \pm EEM de al menos 6-8 animales. MPE: máximo efecto posible

5.3. Curva dosis--respuesta de administración de tramadol.

La administración i.p de Tramadol, en el ensayo de la formalina orofacial, produjo una respuesta antinociceptiva dosis-dependiente ($n=24$) tanto en la fase I como en la fase II, como se observa en la tabla II y en la figura 10 Y 11 respectivamente. La DE50, resultó ser 2.41 ± 0.45 mg/kg para la fase I y de 1.97 ± 0.61 mg/kg para la fase II. La potencia relativa fue mayor 1.2 veces en la fase II que en la fase I. Estos resultados se muestran en tabla II.

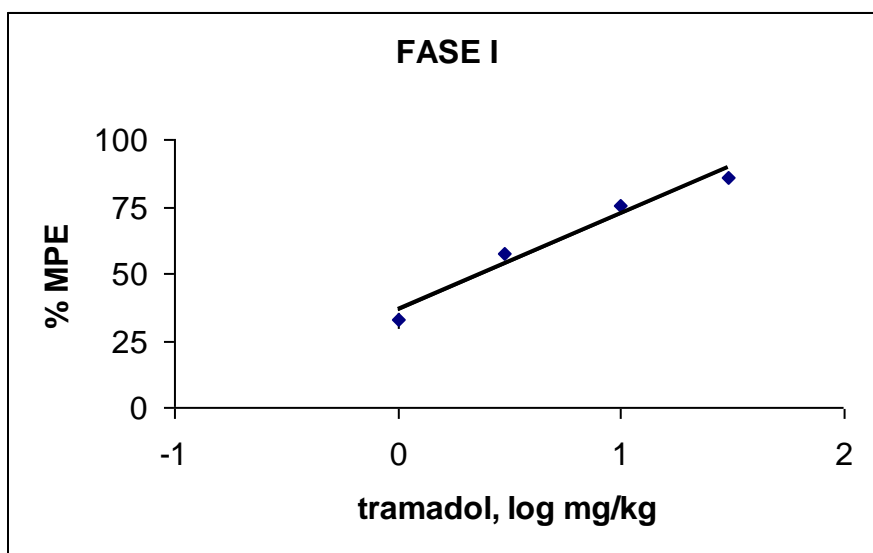


Figura 10: Curva dosis-respuesta de tramadol administrado i.p. en el ensayo de la formalina orofacial en la fase I. Cada punto es el promedio \pm EEM de al menos 6-8 animales. MPE: máximo efecto posible

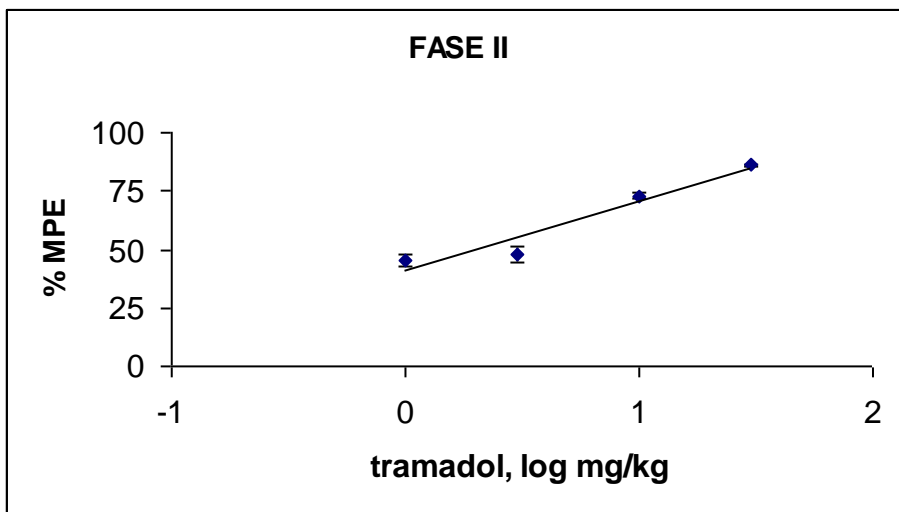


Figura 10: Curva dosis-respuesta de Tramadol administrado i.p., en el ensayo de la formalina orofacial en la fase II. Cada punto es el promedio \pm EEM de al menos 6-8 animales. MPE: máximo efecto posible

5.4. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta

El análisis estadístico de las curvas dosis-respuesta del Ketoprofeno y del Tramadol, en la fase I y en la fase II, demuestra que ambas curvas no son paralelas.

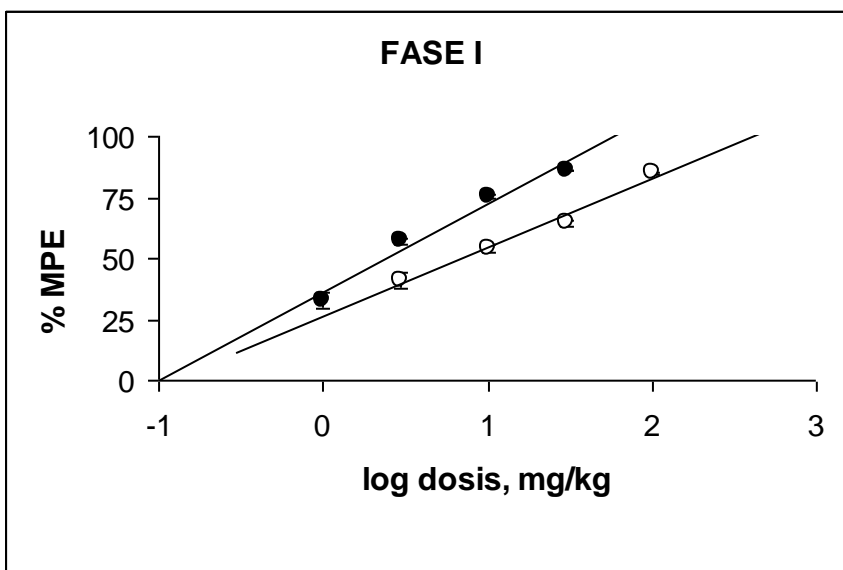


Figura 12: Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de Ketoprofeno (●) y de Tramadol (○), administrado por vía intraperitoneal, en la fase I del test de la formalina orofacial

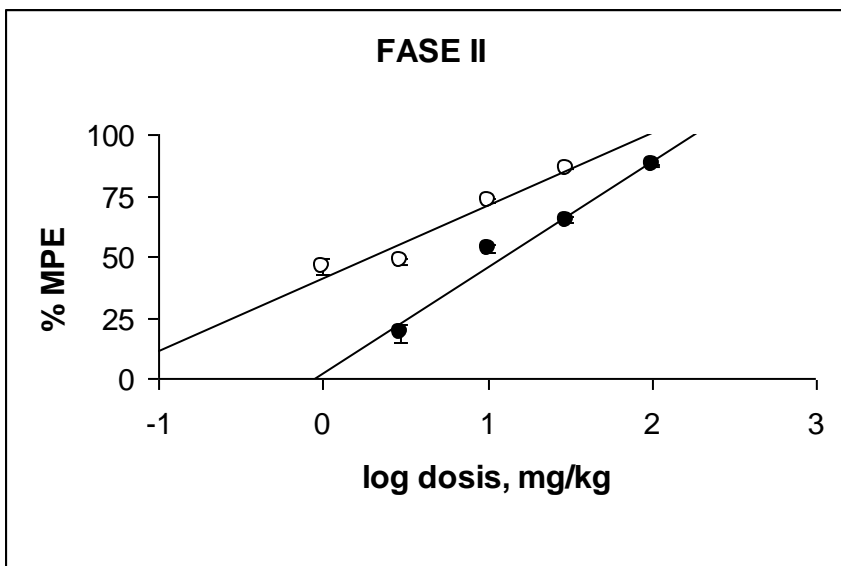


Figura 13. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de ketoprofeno (●) y de tramadol (○), administrado por vía intraperitoneal, en la fase II del test de la formalina orofacial.

5.5. Análisis isoblográfico de la interacción entre tramadol y ketoprofeno.

La actividad antinociceptiva de la coadministración i.p. de Ketoprofeno con Tramadol, en relación fija (1:1) de fracciones de sus DE50, evaluada mediante el sistema de isoblografía. En esta metodología se calcula la DE50 de la mezcla experimental y se comparó con la DE50 teórica, calculada como se describe en materiales y método. Del análisis isoblográfico de la combinación resultó una interacción antinociceptiva de tipo supraaditiva o sinérgica, tanto para la fase I como para la fase II. Los índices de interacción resultaron ser estadísticamente menores a 1 en ambas fases: fase I = 0.245 y fase II = 0.331. Todos estos resultados se observan en las figuras de los gráficos 14 y 15, y los valores de las DE50 correspondientes en la Tabla II.

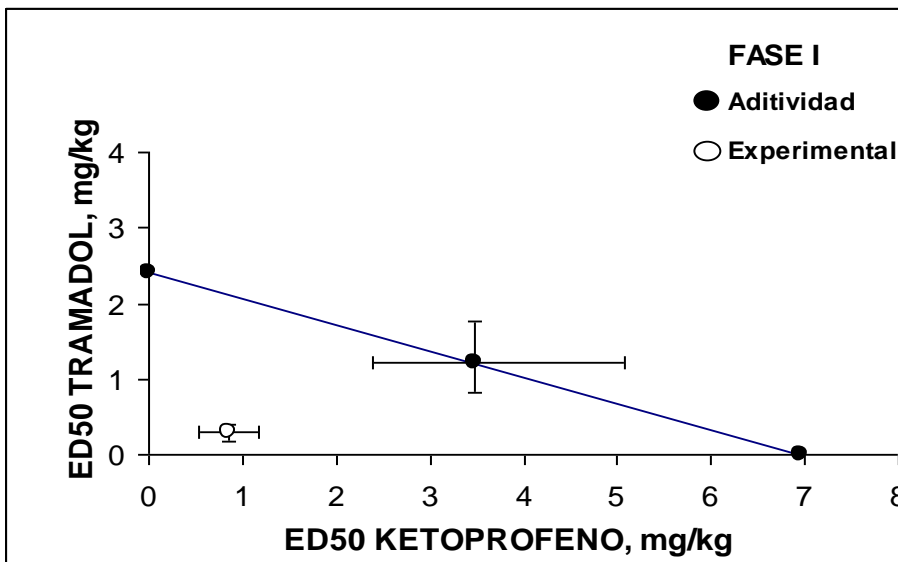


Figura 14: Gráfico isoblograma de interacción entre Ketoprofeno y Tramadol, en el test de la formalina orofacial, en la fase I. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

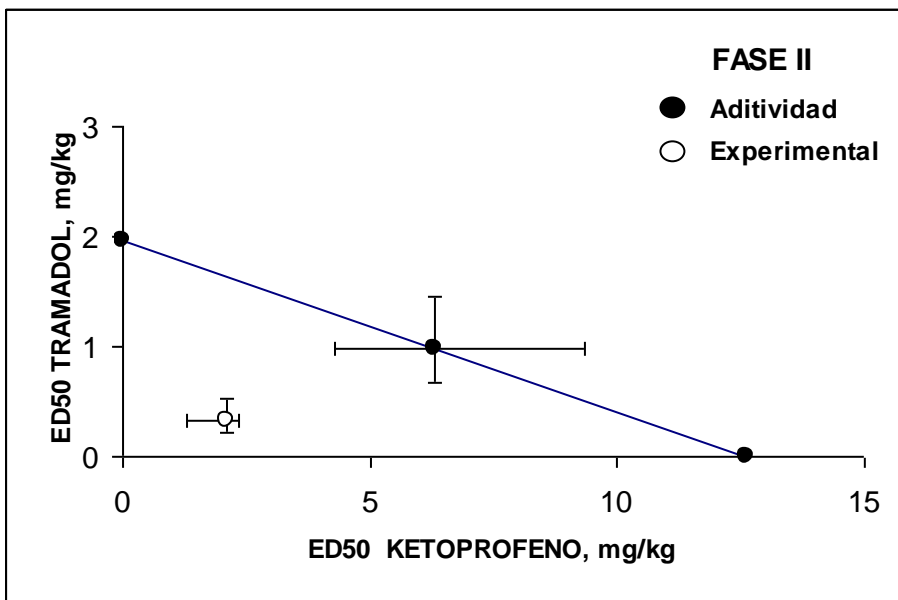


Figura 15: Gráfico isoblograma de interacción entre Ketoprofeno y Tramadol, en el test de la formalina orofacial, en la fase II. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

Tabla 2 : Valores de la DE50 de Ketoprofeno, Tramadol y de su combinación, en fase I y en fase II, del ensayo de la formalina orofacial al 2 %.

Fase	Condición experimental	DE₅₀ ± EEM
I	Ketoprofeno	6.93 ± 1.08
I	Tramadol	2.41 ± 0.45*
II	Ketoprofeno	12.62 ± 2.19♦
II	Tramadol	1.97 ± 0.6*
I	Combinación Ketoprofeno+Tramadol teórica	4.68 ± 0.06
I	Combinación Ketoprofeno + Tramadol experimental	1.14 ± 0.10*
II	Combinación Ketoprofeno+Tramadol teórica	7.29 ± 0.07‡
II	Combinación Ketoprofeno+Tramadol experimental	2.41 ± 0.07+*

* $p < 0.05$ con respecto al control de Ketoprofeno tanto en fase I como en fase II; ♦ en relación a Ketoprofeno de fase I; † con respecto a la combinación experimental de fase I; ‡ en relación a la combinación teórica de fase I; * en relación a la combinación teórica de fase I y II.I. Cada valor es el promedio ± EEM de a lo menos 28 animales.

6. Discusión

El manejo de tanto el dolor agudo, como crónico es de suma importancia, no solo para el bienestar del paciente, sino que también para prevenir complicaciones a largo plazo y para evitar el aumento de la morbilidad. El dolor orofacial no se escapa a esto, ya que su gran representación somatosensorial sumado a un fuerte componente emocional hace que cualquier tratamiento que no incorpore lo paliativo sea insuficiente. En la actualidad la investigación sigue buscando nuevas terapias que permiten un mejor manejo del dolor, logrando un mayor grado de analgesia y una disminución de efectos adversos. El test de la formalina es uno de los modelos de dolor experimental más adecuados para representar las condiciones de dolor orofacial.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, mediante el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial al 2%, demuestran que la administración intraperitoneal de tramadol y ketoprofeno produce actividad antinociceptiva de tipo dosis dependiente, tanto en la fase I como en la fase II. Estos hallazgos son concordantes con trabajos previos que demuestran una acción analgésica dosis dependiente, tanto de tramadol como de ketoprofeno (32, 35, 36, 48, 49). Sin embargo, la falta de paralelismo confirma la diferencia de mecanismos de acción de ambos analgésicos, siendo tramadol un opioide atípico y ketoprofeno un AINE de preferencia inhibidor de COX-1 (19, 31, 38).

La potencia relativa de tramadol resultó ser de 1.2 veces mayor en fase II que en fase I, mientras que la potencia relativa del ketoprofeno fue 1.8 veces mayor en fase I que en fase II. Estas diferencias se deben a que por sus mecanismos de acción, tramadol es un opioide débil y ketoprofeno es un AINE primordialmente analgésico (31, 32, 33). Por su perfil farmacológico, tramadol es una droga analgésica por tres mecanismos (opioide, inhibidor noradrenalina,

inhibidor de serotonina) y Ketoprofeno, tendría solamente un mecanismo (inhibidor de COXs).

Los efectos sinérgicos obtenidos después de coadministración de tramadol con ketoprofeno, son plenamente concordantes con la teoría general de interacciones de drogas (35, 36). Así, se ha establecido que después de la administración de drogas que tengan mecanismos de acción diferente, la probabilidad de obtener sinergia es muy alta. Esta condición se cumple en esta combinación, ya que mientras el ketoprofeno es capaz de inhibir las ciclooxigenasas, Tramadol posee un mecanismo de acción dual; activa receptores opioides MOR e inhibe la recaptación de monoaminas endógenas, tales como noradrenalina y serotonina (31, 32, 33). Los mecanismos implicados en la sinergia precedente, podrían radicar en diferentes funciones celulares, como por ejemplo la actividad de canales iónicos, la diferente acción de receptores, las interacciones químicas de cada fármaco con los lípidos de membrana; el control por uno de los fármacos de la transcripción génica. Por otra parte, se ha sugerido que el sinergismo depende de variables como el tipo e intensidad del estímulo; la relación relativa de las concentraciones de las drogas, la localización y amplificación que ejerce cada fármaco en los mecanismos de transducción; de propiedades cinéticas y fisicoquímicas de cada uno de los fármacos asociados, etc (31, 32). Es posible que más de uno de los mecanismos que han sido sugeridos anteriormente se cumplan en la asociación entre tramadol con ketoprofeno.

7. Conclusiones

- La administración de tramadol como de ketoprofeno, en forma separada vía intraperitoneal, producen un efecto antinociceptivo de naturaleza dosis-dependiente, en el test algesiométrico de la formalina orofacial, tanto en la fase algésica aguda (fase I) como en la fase algésica inflamatoria (fase II).
- Tramadol posee mayor potencia analgésica que el ketoprofeno tanto en la fase I como en la fase II.
- La coadministración de tramadol y de ketoprofeno por vía intraperitoneal, demostró la existencia de una interacción de tipo sinérgica o supraditiva.
- La administración conjunta de tramadol y de ketoprofeno sugiere ventajas en cuanto a lograr un mayor efecto analgésico con menores dosis, así como la posibilidad de disminuir ciertos efectos adversos.

8. Sugerencias

- Se sugiere evaluar, en estudios posteriores, la capacidad antinociceptiva e interacción entre Ketoprofeno y Tramadol mediante otras vías de administración de fármacos.
- Evaluar la antinocicepción de ketoprofeno y de tramadol, y la naturaleza de su interacción al ser coadministrados, en otros ensayos algesiométricos.
- Evaluar el daño a nivel gastrointestinal de la combinación de ketoprofeno y tramadol, comparado con los efectos producidos por la administración de ketoprofeno únicamente. En el contexto de evaluación de RAMs de medicamentos.
- Se sugiere generar análisis isoblográficos tridimensionales, con tres fármacos que presenten distintos mecanismos de acción.

9. Resumen

Los fármacos más prescritos son los antiinflamatorios no esferoidales (AINEs) y los analgésicos opioides. En el presente trabajo se investigó la actividad antinociceptiva individual y en combinación de Ketoprofeno (AINE) y Tramadol (opioide) en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial al 2 %. Se utilizaron ratones (*Mus musculus*) CF-1 machos, a los cuales se les inyectó en la región del labio superior izquierdo, en forma subcutánea, 20 µL de solución de formalina al 2%, midiéndose el tiempo de frotamiento de la zona perinasal durante los cinco minutos inmediatos a la inyección (fase I o etapa aguda), y desde los 20 minutos post inyección hasta los 30 minutos (fase II o etapa inflamatoria). La administración tanto de Ketoprofeno como de Tramadol indujo analgesia en ambas fases, siendo más potente la actividad del Tramadol. Al coadministrarlos en proporción 1: 1 de sus DE50 produjeron un efecto sinérgico en ambas fases del ensayo. La sinergia obtenida es concordante con los aspectos teóricos y prácticos de la asociación de fármacos (analgesia multimodal). Los hallazgos del presente trabajo, podrían ser de utilidad clínica en el tratamiento farmacológico del dolor tanto agudo (fase I del ensayo) como crónico (fase II del ensayo).

10. Referencias Bibliográficas

1. Flores J, Armijo JA, Mediavilla AF "Farmacología Humana". 4° Edición, Masson, Barcelona, España 2003; p 355-361, cap. 20; p 375-385, cap. 22. Dionne R.A, Berthold C.W. "*Therapeutic uses of non-steroidal anti-inflammatory drugs in dentistry*". Crit Rev Oral Biol Med. 2001; 12(4):315-330.
2. Martin T J, Eisenach J. C. Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states. J. Pharmacol. Exper. Ther. 2001, 299: 811-817.
3. Christie MJ et al. Cellular actions of opioids and other analgesics: Implications for synergism in pain relief. Clin. Exper. Pharmacol. Physiol. 2000; 27: 520-523.
4. Vane J. The mechanism of action of anti-inflammatory drugs. Int J Clin Pract Suppl. 2003 Apr; (135): 2.
5. Smith WL, DeWitt DL, Garavito R. M. Cyclooxygenase: structural, cellular and molecular biology. Ann. Rev. Biochem. 2000; 69: 145-182.
6. Bodnar RJ. Endogenous opiates and behaviour: 2006. Peptides (2007) 28;2435-2513.
7. Gourlay Gk. Advances in opioid pharmacology. Support Care Cancer. 2005; 13: 153-159.
8. Miranda H.F, Sierralta F, Pinaridi G. An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception. Anesth. Anal. 2001; 93:430-435.

9. Luccarini P. et al. "*The orofacial formalin test in the mouse: a behavioral model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception*". J. Pain. 2006; 12: 908 – 914.
10. Bonica, J.J. "Neurophysiologic and pathologic aspects of acute and chronic pain". Arch. Surg 112:750-61; 1977.
11. Le Bars D, Gozariu M, Cadden S.W. animal models of Nociception. Pharmacol Rev 53:597-652, 2001.
12. Bonica J.J. "Anatomic and Physiology basics of nociception and pain". En: Bonica J.J:(ed). The management of pain. 2° ed. Pennsylvania, Lea & Febiger. 1990; 28-94.
13. Reig, J. Neuroanatomía del Dolor: Bases Anatómicas de la Percepción Dolorosa. [12], 217-250. 2002. Monografies Mèdiques de l'Acadèmia de Ciènces Mèdiques de Catalunya i de Balears. Unidades de Dolor. Realidades Hoy, Retos para el Futuro. Busquets, J. and Ribera, MV
14. Turk, DE. Okifuji A. Pain terms and taxonomies of Pain. En: Loeser, JD., Butler, SH., Chapman, CD. Bonica's Management of Pain. 3Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
15. 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 41(4): 299-332, 2001.
16. Aguggia, M. "Neurophysiology of pain". Neurol Sci 24: 557-560; 2003.
17. Mason L., Edwards J.E., Moore R.A., et al. "*Single-dose oral naproxen for acute postoperative pain: a quantitative systematic review*". BMC Anesthesiol. 2003; 3:4-10.
18. Almeida, TF., Roizenblatt, S., Tufik, S.: Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. Brain Res 2004;1000:40-56.

19. Waldhoer M., Barlett S.E., Whistler J.L. "*Opioid receptors*". *Annu Rev Biochem.* 2004; 73: 953-90.
20. 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.
21. Villanueva, L.: Asta dorsal medular: ¿cuál es su rol en el procesamiento de los impulsos que generan la sensación dolorosa? *Rev Soc Esp Dolor* 1998;5:52-69.
22. Sessle BJ. Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates. *Minerva Anesthesiol* 2005; 71:117-136.
23. 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.2004; 209-228.
24. Sessle BJ. Mechanisms of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates. *J. Oral Rehabil.* 33(4): 243–261. 2006.
25. Guevara-López U: Dolor Mixto. Cambiando Paradigmas. *Anest Mex Suppl* 2005;1:12-20.
26. Millan Mark J. Descending control of pain. *Progress Neurobiology* (2002) Apr; 66(6):355-477.
27. Miranda H.F, Sierralta F, Pinaridi G. Neostigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs. *Br. J. Pharmacol.* 2002; 135: 1591-1597.
28. Baek. S. J et al. Dual function of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): inhibition of cyclooxygenase and induction of NSAID-activated gene. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002; 301: 1126-1131.
29. Halfpenny DM, Callado MF, Hopwood SE, Bamingade TA, Langford RM, Stamford JA. Effects of tramadol stereoisomers on norepinephrine efflux and

- uptake in the rat locus coeruleus measured by real time voltametry. *Br J Anaesth* (1999); 83: 909-910.
30. Bamingade TA, Davidson C, Langford RM, Stamford JA. Actions of tramadol, its enantiomers and principal metabolite, O-desmethyltramadol, on serotonin (5-HT) efflux un uptake in the rat dorsal raphe nucleus. *Br J Anaesth* (1997); 79: 352-356.
31. Grond S, Sablowski A. Clinical pharmacology of tramadol. *Clin Pharmacokinet* (2004); 43 (13): 879-923.
32. Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JL. Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an "atypical" opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther* (1992) Jan;260 (1): 275-285.
33. Garrido MJ, Valle M, Campanero MA, Calvo R, Troconiz IF. Modeling of the vivo antinociceptive interaction between an opioid agonist, (+)-O-desmethyltramadol, and a monoamine reuptake inhibitor, (-)-O-desmethyltramadol, in rats. *J Pharmacol Exp Ther* (2000) Oct; 295(1): 352-359.
34. Eulalia Planas, Raquel Poveda, Silvia Sanchez, Asunción Romero, Margaritta M. Puig. Non-steroidal anti-inflammatory drugs antagonise the constipating effects of tramadol. *European Journal of Pharmacology* 482(2003) 223-226.
35. Francisco Javier Lopez-Muñoz, María Irene Díaz-Reval, José Antonio Terrón, Myrna Déciga Campos. Analysis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rat. *Eur J Pharmacol.* 484(2004) 157-165.
36. Padi S.V. Satyanarayana, Naveen K. Jain, Amarjit Singh, Shirinivas K. Kulkarni. Isobolographic analysis of interaction between cyclooxygenase

- inhibitors and tramadol in acetic acid-induced writhing in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 28 (2004) 641-649.
37. W. Bradford Rockwell and H. Paul Ehrlich. Ibuprofen in acute-care therapy. *Ann. Surg.* (1990) Jan; 211 (1): 78-83.
38. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors and lessons from the clinic. *FASEB J* (2004). May 18: 790-804.
39. Jin Cheng Yao, Wei Gang Duan, Yu Yun, De Quan Liu, Ming Yan, Zhen Zhou Jiang, Lu Yong Zhang. Screening Method for nonsteroidal Antiinflammatory Drugs Based on the Cyclooxygenase 2 Pathway Activated by Serum-Free Stimulation in A549 Cells. *The Pharmaceutical Society of Japan* (2007) 127 (3) 527-532.
40. Kristina E. Furse, Derek A Pratt, Claus Schneider, Alan R. Brash, Ned A. Porter and Terry P. Lybrand. Molecular dynamics simulations of Arachidonic Acid-dreivedpentadienyl radical intermediate complexes with COX-1 and COX-2: insights into Oxygenation region and stereoselectivity. *Biochemistry.* (2006) Marzo 14; 45(10) 3206-3218.
41. Flores J., Armijo J.A, Mediavilla A., 2003. *Farmacología humana*. 4^a edición, Barcelona, España; cap 20, Mediadores celulares II. Eicosanoides, óxido nítrico y factor activador de plaquetas. Espluges, JV Lopez- Jaramillo P. pag. 327-342; cap. 22 Fármacos Analgésicos antitérmcos y antiinflamatorios no esteroideos. Antiartríticos. Feria M. pag. 355-388.
42. Leone S., Ottani A., Bertolini A. Dual acting anti-inflammatory drugs. *Current Topics in Medicinal Chemistry* (2007), 7, 265-275.
43. Sanchez- Blazquez P, Gomez- Serranillos P, Garzón J. Agonists determine the pattern of G-Protein activation in mu-opioid receptor-mediated supraspinal analgesia. *Brain Res Bull* (2001) Jan 15; 54 (2): 229-235.

44. Chandrasekharan NV, Dai H, Turepu Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression. *Proc Natl Acad Sci USA* (2002;99(21): 13926-13931.
45. Tallarida RJ. Drug synergism and dose- effect data analysis. Boca Raton, Florida, USA, 2000.
46. Hao H., Wang G., Jianguo S. "*Enantioselective pharmacokinetics of ibuprofen and involved mechanism*". *Drug Metab Rev.* 2005; 37(1): 215-34.
47. Ting-chao Chou. Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies. *Pharmacol (2006) Rev* 58:621-681.
48. Martinez EJ et al. Estudio de la eficacia analgésica del Dexketoprofeno Trometadol 25 mg vs Ibuprofeno 600 mg. Tras su administración oral en pacientes sometidos a una intervención quirúrgica oral. *Med Oral* 2004 mar-abr; 9(2); 143-8.
49. McGurk M. Et al. Clinical comparison of dexketoprofen trometamol, ketoprofen and placebo in post operative dental pain. *J. Clin. Pharmacol* 1998; 38; 46S-54S.
50. Barbanoj MJ, Antonijoan RM, Gich I. Clinical pharmacokinetics of dexketoprofen. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40 (4): 245-262.