



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA**

**“INTERACCIÓN ANALGÉSICA DE DEXKETOPROFENO CON TRAMADOL EN
DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL”**

Carolina Andrea Cárdenas Ahumada

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Hugo F. Miranda G.

TUTOR ASOCIADO

Prof. Dr. Fernando A. Sierralta G

**Santiago - Chile
2012**

ÍNDICE	
--------	--

I RESUMEN.....	3
II INTRODUCCIÓN.....	4
III MARCO TEÓRICO.....	7
1. Concepto de dolor.....	7
2. Clasificación de dolor.....	7
2.1 Según evolución.....	7
2.2 Según etiología.....	8
2.3 Según característica somatosensorial.....	9
2.4 Según temporalidad.....	10
3. Neurofisiología del dolor.....	10
3.1 Aferencias primarias a nivel medular.....	11
3.2 Vías nerviosas nociceptivas ascendentes.....	14
3.3 Control descendente del dolor.....	15
3.4 Sensibilización de nociceptores y sus neurotransmisores.....	16
4. Nocicepción a nivel facial.....	17
4.1 Neurofisiología del dolor facial.....	17
5. Modelo de medición del dolor en animal.....	19
6. Tratamiento y control farmacológico del dolor.....	20
6.1 Analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs).....	21
6.1.1 Mecanismo de acción de los AINEs.....	21
6.1.2 Dexketoprofeno.....	23
6.2 Analgésicos opioides.....	24
6.2.1 Tramadol.....	26
7. Prueba de formalina orofacial adaptada al estudio.....	27
8. Interacciones entre fármacos.....	28

IV HIPOTESIS.....	29
V OBJETIVOS.....	29
Objetivos general.....	29
Objetivos específicos.....	29
VI MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
Tipo de investigación.....	30
1. Animales.....	31
2. Fármacos administrados.....	31
3. Prueba formalina orofacial en el presente estudio.....	32
4. Selección de la muestra.....	34
5. Análisis Isoblográfico.....	35
6. Medición de analgesia.....	36
7. Potencia Relativa.....	37
8. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta.....	37
9. Evaluación estadística.....	38
VII RESULTADOS.....	39
VIII DISCUSIÓN.....	49
IX CONCLUSIONES.....	53
X REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
XI ANEXO 1.....	58
ANEXO 2.....	59

I. RESUMEN

Introducción: En la actualidad el manejo del dolor cuenta con variados tipos de fármacos, entre ellos los Antiinflamatorios no Esteroidales (AINEs) y los Opioides, capaces de alterar el curso natural de una respuesta dolorosa.

Material y Método: En el estudio que aquí se presenta, se evaluó la interacción y actividad analgésica de Dexketoprofeno y Tramadol, y como método algesiométrico se utilizó el test de la formalina orofacial al 2%. Posteriormente se elaboró un análisis isoblográfico para evaluar la acción de ambos fármacos, y los resultados se presentan como promedio \pm error estándar del promedio (E.E.M.). La significancia estadística se determinó por pruebas *t Student* ($p < 0,05$).

Se usaron 120 ratones, a los que se les inyectó vía subcutánea una solución de formalina al 2% en el labio superior, para cuantificar en segundos la cantidad de frotamientos en la zona perinasal durante los primeros 5 minutos (Fase I) y desde los 20 a 30 minutos (Fase II). La administración intraperitoneal de Dexketoprofeno y Tramadol se usó para determinar la actividad antinociceptiva y el tipo de interacción en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial.

Resultados: Se obtuvo que al administrar Dexketoprofeno, Tramadol o su combinación (en proporción 1:1 de sus correspondientes dosis efectivas 50 - DE50-) se produce un efecto analgésico dosis dependiente en ambas fases. La coadministración de ellos demostró, a través del análisis isoblográfico, que tienen una interacción de tipo sinérgica. Ésta resulta beneficiosa ya que así se puede disminuir significativamente la dosis a utilizar, y con ello sus RAM.

Conclusiones: De este modo, la presente investigación demuestra que la interacción entre dexketoprofeno y tramadol es de naturaleza sinérgica en cuanto a la antinocicepción, y puede tener utilidad clínica para el manejo farmacológico del dolor.

II. INTRODUCCIÓN

A lo largo de la evolución humana, el dolor dental y el referente a la región orofacial, ha sido un tema de gran interés para el área de la investigación, siendo,

junto a la inflamación, el motor de búsqueda principal para encontrar nuevas sustancias capaces de suprimir ambas respuestas orgánicas.

El dolor puede generarse como resultado de un daño físico, una alteración somatosensorial, o aparecer espontáneamente, por lo que su concepción de intensidad no es netamente lineal, es decir, intensidad de dolor proporcional a daño sufrido, sino que se concibe como un concepto bio-psicosocial que define al dolor de forma multidimensional (1).

En los últimos años ha habido un importante avance en el conocimiento de la fisiopatología del dolor. De modo que, su importancia fisiológica se entiende como factor de preservación de la función biológica. Actualmente el manejo del dolor se basa en aquellos fármacos que destacan en la capacidad de producir un efecto selectivo y potente en la inhibición del impulso doloroso, tales como: analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), usados ampliamente para el tratamiento tanto del dolor agudo como crónico, prequirúrgico o postquirúrgico, ya sea médico o dental; Anestésicos Locales y Opioides (2).

Los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos son un conjunto de fármacos que poseen similar mecanismo de acción y efectos secundarios. Se caracterizan por inhibir las enzimas Ciclooxygenasas (COXs) a nivel celular, responsables de la transformación de Ácido Araquidónico en Prostaglandinas y Tromboxanos, ambos eicosanoides mediadores del proceso inflamatorio (3). La Aspirina, por ejemplo, es un analgésico muy efectivo, ya que ejerce su acción por medio de la disminución en la producción de eicosanoides (4).

Sin embargo, esta familia de analgésicos no son fármacos seguros, ya que presentan diversos efectos secundarios de alta prevalencia e importancia médica, los cuales no pueden obviarse al momento de prescribirlos al paciente. Dentro de los destacados por la literatura se encuentran: falla renal, úlcera gástrica e hipersensibilidad al componente principal del fármaco (5).

Los opioides son analgésicos potentes, que actúan sobre receptores específicos del Sistema Nervioso Central (SNC), conjunto de estructuras alojadas en el interior del cráneo y la columna vertebral, interconectadas por medio de neuronas, cuya función es integrar la información percibida y generar o modular todas las respuestas orgánicas. Dentro de sus reacciones adversas descritas, se encuentran: constipación, náuseas y vómitos (6).

La industria farmacológica apunta hacia la eficacia terapéutica de estos fármacos, buscando mejorar las dosis efectivas necesarias y/o combinarlos entre ellos, de modo de evitar las reacciones adversas (7), y conseguir una analgesia similar o incluso superior.

Por otro lado, se encuentra el área de la Estereoquímica, rama de la química que se dedica a estudiar la estructura geométrico-espacial de las moléculas, es decir, la forma que los átomos adoptan en el espacio. Dicha área utiliza los enantiómeros de las moléculas, los enantiómeros se definen como un par de moléculas, donde una de ellas es la imagen especular de la otra, y por tanto, no son superponibles, lo mismo que una mano respecto a la otra. Ambos se nombran con letras: **R** (del latín *rectus*, derecho) y **S** (del latín *sinister*, izquierdo). Además, cada enantiómero tiene la propiedad de desviar la luz polarizada hacia la izquierda denominándose levórotatorio, o a la derecha dextrórotatorio. En química, los levórotatorios se designan con un signo (-) y los dextrórotatorios con un signo (+). Cada uno de los enantiómeros presentes en un fármaco, le confieren características farmacocinéticas y farmacodinámicas distintas (8). La industria farmacéutica busca determinar aquel enantiómero que tiene mayor efecto terapéutico, con el fin de reducir la dosis de éste y sus reacciones adversas.

En el presente estudio, se evaluará el efecto del Dexketoprofeno, enantiómero S(+) del Ketoprofeno, que actúa como inhibidor no selectivo de las COXs, pero preferencial por la COX-1 (9).

Sus vías de administración conocidas son oral y parenteral, y se utiliza en procesos dolorosos agudos, de intensidad leve a moderada (10). Además se evaluará el efecto del Tramadol, perteneciente a la familia de los Opioides. Sus

vías de administración son endovenosa, oral, intramuscular y rectal, se utiliza como analgésico de segunda línea, mayormente en dolores crónicos, de intensidad moderada a severa.

De tal forma, este estudio busca evaluar la respuesta analgésica producida por Dexketoprofeno, Tramadol y luego su combinación, usando el método del análisis isoblográfico del laboratorio, en la forma descrita por Tallarida (11), y tomando como modelo de estudio el dolor medido frente a estímulos nociceptivos (12), mediante el test algesiométrico de la formalina orofacial (13).

III. MARCO TEÓRICO

1. Concepto de Dolor.

El dolor no es una experiencia puramente nociceptiva, sino que también incluye componentes emocionales y subjetivos, es por esto que John Bonica, jefe del Departamento de Anestesiología de la Universidad de Washington, quien realizó esfuerzos multidisciplinarios dirigidos al alivio y control del dolor, describe en su libro, *'The management of Pain'* (1953), por primera vez al dolor como una enfermedad en sí misma, más que como un síntoma de algún proceso patológico subyacente (14).

Cada individuo experimenta una sensación dolorosa diferente, la cual se define como una interacción de múltiples variables psicológicas, sociales, biológicas y culturales (15). Hipócrates, por su parte, lo denominó 'síntoma' y lo describió como una sensación molesta, aflictiva y desagradable en el cuerpo, ya sea objetiva (sensorial, física) o subjetiva (emocional, anímica). Actualmente, la Asociación Internacional del estudio del Dolor (IASP), lo define como una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociado a un daño existente o potencial (16).

El dolor se caracteriza según localización, tipo e intensidad (14, 17) conformando el componente discriminativo (aspectos objetivos). También existe el componente cognitivo, conductual y emocional, los cuales se relacionan a la percepción propia del individuo (aspectos subjetivos).

2.- Clasificación del Dolor.

2.1 Según Evolución:

Existen dos tipos: agudo y crónico. Éstos no sólo se diferencian en el aspecto temporal, sino que también en la naturaleza de sus fenómenos, y por ende, los cambios que generan en el organismo.

2.1.1 Dolor Agudo

Constituye un mecanismo fisiológico protector en respuesta a una injuria, con el fin de frenarla. La IASP lo define como un dolor menor a 3 meses de

evolución (18), correspondiente al lapso de tiempo necesario para la reparación y recuperación de los tejidos dañados; otros autores sugieren que este período podría ser de hasta 6 meses, sin llegar a un consenso. Se observa comúnmente en traumas, problemas dentales o procesos patológicos (19, 20).

2.1.2 Dolor Crónico

Es un dolor persistente que no responde a los tratamientos médicos habituales, o bien, persiste largo tiempo una vez resuelta la patología y/o reaparece a intervalos frecuentes. En algunos casos no se logra identificar la causa orgánica, lo cual explicaría la asociación de un componente psicológico (19).

2.2 Según Etiología:

2.2.1 Dolor Nociceptivo

También denominado dolor fisiológico, característico en algias de tipo agudo. Las noxas estimulan los nociceptores periféricos, y estas señales viajan por medio de las vías del dolor hasta llegar al tálamo y la corteza cerebral, lugar donde se integran y elaboran las respuestas (16).

Según su ubicación se divide en:

a) Dolor somático: éste se origina tras una lesión en tejidos blandos (músculo-cutáneo) y osteo-tendíneo, y se transmite por el Sistema Nervioso Periférico (SNP) hasta el SNC. Es un dolor localizado en la zona dañada y bien delimitado (16).

b) Dolor visceral: se origina por activación de receptores que están en las vísceras y se extiende irradiándose a regiones que van más allá del órgano afectado. Se caracteriza por ser mal localizado, y puede ser referido a un área

cutánea que tenga la misma inervación (dolor referido). El paciente lo describe como un dolor difuso e inespecífico. Frecuentemente se asocia a síntomas

neurovegetativos (17).

2.2.2 Dolor Neuropático

Se origina por lesiones primarias o una alteración funcional de las vías nerviosas periféricas o centrales, lo cual genera descargas espontáneas y paroxísticas que son interpretadas como dolor. Es patognomónico la ausencia de relación causal entre lesión tisular y dolor (20). Se caracteriza por ser continuo, de carácter lacerante o urente (quemazón), acompañado de prurito doloroso. Pueden presentar alodinia, es decir, la zona afectada se vuelve hipersensible al roce de cualquier estímulo normalmente indoloro, por ejemplo, la ropa (16). También cualquier otra alteración neurológica sensitiva, tales como disestesias (modificación en la percepción del estímulo), hipoestesias (percibir en menor cantidad), parestesias (adormecimiento), etc.

2.2.3 Dolor Psicógeno

Corresponde a aquellos casos en que luego un estudio completo (evaluación clínica y exámenes) no se encuentra causa orgánica del dolor. Se debe estar consciente que el paciente 'siente' el dolor, por lo que hay que actuar con prudencia validando el síntoma y considerar una posible causa psicológica de éste (17).

2.3 Según Característica Somatosensorial:

2.3.1 Dolor Epicrítico

Se puede definir como un dolor similar al que produce la introducción súbita de una aguja a nivel superficial en la piel. Se caracteriza por ser preciso, local y bien delimitado, de carácter punzante, lacerante, quemante, opresivo o fulgurante. Su función es proteger del daño (14, 17).

2.3.2 Dolor Protopático

Al estimular los nociceptores se transmite una señal que viaja por el SNP hasta

el SNC. Durante este trayecto, los impulsos pueden seguir por vías colaterales, dando lugar al dolor referido, éste corresponde al dolor producido en un área, el cual se irradia a otras diferentes, no necesariamente contiguas, las cuales comparten su inervación sensitiva. Se caracteriza por ser difuso, de carácter sordo y mal localizado (14).

2.3 Según Temporalidad:

2.3.1 Continuo

Dolor mantenido en el tiempo, de intensidad constante, que no cede ni disminuye durante un cierto periodo (18).

2.3.2 Recurrente

Aquel en que se alternan periodos de alivio y periodos de dolor. Éste puede reaparecer con igual o mayor intensidad. Generalmente se asocia a factores desencadenantes y cede con aquellos atenuantes (18).

2. Neurofisiología del Dolor

El dolor se inicia con un estímulo nocivo que activa fibras nociceptivas especializadas de los tejidos periféricos. La afluencia de información generada activa las neuronas de la médula espinal, las cuales se proyectan a la corteza por vía talámica generando dolor, haciéndolo consciente y elaborando una respuesta (21).

Los nociceptores, terminaciones nerviosas libres (sin órgano transductor periférico) de las fibras aferentes primarias, responden a estímulos potencialmente dañinos y dolorosos. Estos se transforman en impulsos nerviosos que se transmiten por vías aferentes primarias o neuronas de primer orden hacia la médula espinal (20). La mayoría de estas neuronas tienen sus cuerpos celulares localizados en los ganglios de la raíz dorsal de los nervios espinales, o bien, en los

ganglios sensoriales de los pares craneanos V, VII, IX, X.

Estas fibras nerviosas aferentes se clasifican por su diámetro y grado de mielinización:

1) Fibras A beta ($\alpha\beta$): No nociceptiva, su estímulo no transmite dolor sino que percepción mecánica. Son las de mayor diámetro, por tanto su velocidad de conducción es muy rápida. Se encuentran presente en la piel.

2) Fibras A delta ($\alpha\delta$): Nociceptores mecánicos de umbral alto. Se caracterizan por ser fibras de pequeño diámetro y mielinizadas, lo cual les otorga velocidad de conducción rápida (transmiten información mecánica o térmica a 5-30m/seg). Responden al estímulo proporcional al grado de lesión tisular. El dolor atribuido a estas fibras se describe como de naturaleza punzante (22).

3) Fibras C: Nociceptores polimodales no mielinizados y de pequeño diámetro, por lo tanto, de conducción lenta. Responden a una amplia variedad de estímulos, no sólo al nociceptivo, también a los mecánicos, químicos y térmicos (14).

3.1. Aferencias Primarias a Nivel Medular.

El asta dorsal de la médula espinal es el primer nivel de integración en el SNC, en ella se encuentran interneuronas que dirigen la información por vías ascendentes hasta la corteza, permitiendo la elaboración de respuestas reflejas, tanto vegetativas como motoras.

Las fibras nociceptivas ingresan a la médula espinal por el surco posterolateral y se introducen en las láminas del asta posterior. Es aquí donde se produce la sinapsis con la segunda neurona ubicada en la sustancia gelatinosa de Rolando (sustancia gris). Ésta se divide en 10 capas llamadas láminas de Rexed (14), de las cuales la I hasta la VI forman el asta dorsal. La mayoría de la información nociceptiva (fibras A delta) converge en la lámina I (zona marginal), en la lámina II

(fibras C, sustancia gelatinosa), y en la lámina V (rango dinámico amplio), esta última destaca ya que sus células responden a rangos de estímulos amplios, que van desde inocuos a nocivos (23, 24).

Existen neurotransmisores excitatorios e inhibitorios involucrados en las aferencias primarias, los cuales podrían ser liberados conjuntamente en la primera sinapsis. Dentro de los neurotransmisores excitatorios se encuentran: Glutamato y Aspartato, Sustancia P, Neuroquinina A, GRP (péptido regulador del gen de la calcitonina), Colecistoquinina (CCK); y dentro de los inhibitorios destacan: GABA, Glicina, Opioides endógenos, Acetilcolina, Serotonina, Noradrenalina, Dopamina, Sustancia P y CCK. Algunos neurotransmisores pueden actuar tanto como excitadores ó inhibidores, ya que pueden activar interneuronas inhibitorias, ejerciendo efecto de control del dolor a nivel central.

La generación del dolor, por lo tanto, se expresa en distintas etapas las cuales son: transducción, transmisión, modulación y percepción (Figura 1).

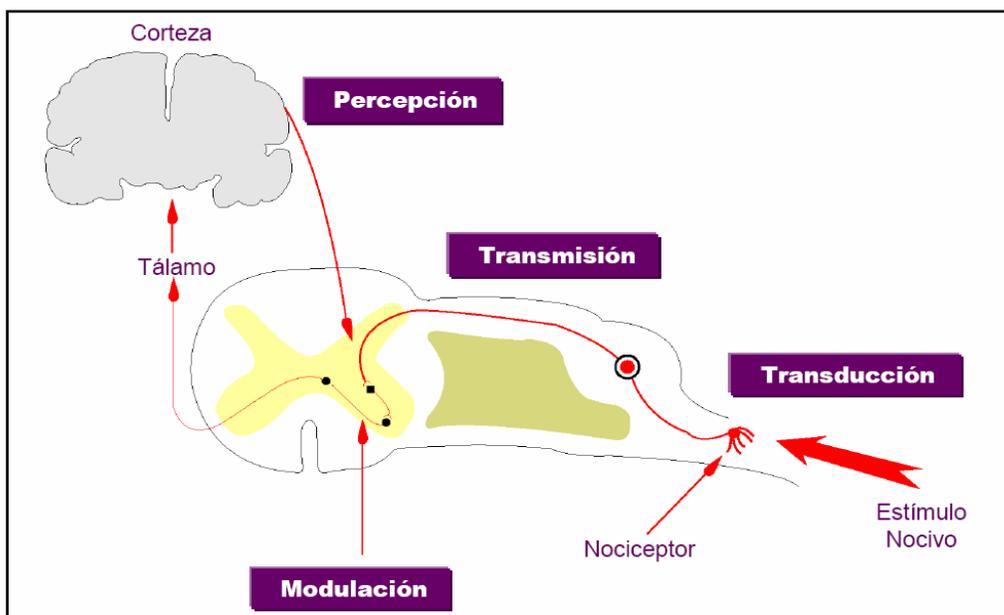


Figura 1. Representación esquemática de los eventos del proceso nociceptivo. (Modificada de Lamont et al, 2000) (27).

a) Transducción: Es la activación de un potencial de acción, como resultado de la interacción noxa-nociceptor mediante estímulos, ya sean mecánicos (distensión, contracción), térmicos (frío, calor) o químicos (cambios de pH), los cuales se transforman en impulsos nerviosos (21). Los nociceptores tienen numerosos receptores y canales específicos, por ejemplo, canales de compuerta-ligando y compuerta-voltaje, ligados a la proteína G.

b) Transmisión: Es la propagación del potencial de acción generado por la unión del neurotransmisor al receptor, ubicado en el cuerpo celular de la neurona nociceptiva. Esta información viaja por la primera neurona, hace sinapsis con la segunda en el asta dorsal de la médula, y asciende hasta la corteza donde hace sinapsis con una tercera neurona que proyecta sobre la corteza sensitiva (25).

c) Modulación: Proceso nervioso dado en el SNC que resulta en la propagación y regulación del estímulo doloroso. La inhibición se realiza por medio de las interneuronas espinales que liberan GABA, Glicina y Opioides (inhibición presináptica) y las neuronas del asta dorsal (inhibición postsináptica). Esta

información se dirige a través de las vías ascendentes y, finalmente, permite la elaboración de respuestas reflejas, tanto vegetativas como motoras. A este nivel también se ejerce el control eferente a través de las vías descendentes (23).

d) Percepción: Desde el punto de vista neurofisiológico, la percepción del dolor involucra tanto el SNC como el SNP. Los estímulos nociceptivos son captados por receptores ubicados en la periferia, y posteriormente seguirán por las vías ascendentes hacia centros superiores (tálamo, corteza) (17). A este nivel ocurre el último procesamiento de la información nociceptiva relacionada con el dolor.

3.2. Vías Nerviosas Nociceptivas Ascendentes

Las vías ascendentes de la médula espinal forman distintos tractos, entre ellos: **haz Espinotalámico, Espinoreticular y Espinomescencefálico**, los cuales se organizan en sistemas llamados **Neoespinotalámico y Paleoespinotalámico**. Ambos forman la vía **Espinoreticulotalámica**.

El sistema **Neoespinotalámico** es la vía directa del haz espinotalámico, el cual tiene que ver con la discriminación del dolor, según localización topográfica e intensidad del estímulo (25). El sistema **Paleoespinotalámico**, por otra parte, conduce el dolor sordo y crónico a partir de las fibras tipo C, y se proyecta al hipotálamo y sistema límbico. Es una vía más difusa y lenta, la cual adquiere importancia en la evaluación cualitativa del dolor (26).

El haz **Espinoreticulotalámico** corresponde a la comunicación directa entre la médula espinal y la formación reticular. Desempeña un papel importante al momento de desencadenar el mecanismo de alerta, contribuyendo con los aspectos motivacionales y afectivos del dolor (26).

3.3. Control Descendente del Dolor

Las vías descendentes del dolor que controlan, modulan y/o facilitan la respuesta dolorosa, fueron observadas tras descubrir que la estimulación eléctrica de la sustancia gris periacueductal (SGP) produce analgesia profunda (18). Estas fibras envían conexiones excitatorias a los núcleos del Rafe que contienen numerosas neuronas serotoninérgicas; el rol de estas neuronas sobre las fibras aferentes podría ser mediante estimulación de interneuronas inhibitorias locales, ubicadas en la formación reticular del bulbo raquídeo, o bien directamente sobre el nociceptor de la segunda neurona aferente, permitiendo así la supresión del dolor (figura 2).

Además, los núcleos del Rafe, especialmente el núcleo Magno, suprimen el dolor tanto de forma directa como indirecta, por medio de las interneuronas de la formación reticular (18). Utilizan como neurotransmisores la Serotonina y diversos neuropéptidos, tales como los Opioides. Envían fibras descendentes que realizan sinapsis inhibitorias con las neuronas de las láminas I, II y V del asta dorsal y con las del núcleo espinal del Trigémico, regulando así la entrada de señales nociceptivas (19).

Por otro lado, las fibras descendentes originadas en el Locus Coeruleus, que también forman parte de la formación reticular, envían proyecciones descendentes hacia la médula espinal y al núcleo del trigémico. Estas fibras bloquean la salida de información desde las neuronas de las láminas I y V del asta dorsal, a través de acciones inhibitorias directas e indirectas mediadas por receptores adrenérgicos (19). La mejor evidencia de la capacidad antinociceptiva de la Noradrenalina, está basada en su acción a nivel postsináptico (al interior del asta dorsal), sin embargo también existen evidencias de su capacidad de actuar directamente sobre el nociceptor.

Las fibras descendentes del Locus Coeruleus también reciben conexiones aferentes del hipotálamo, la amígdala, los núcleos del rafe, la sustancia negra y la SGP (21).

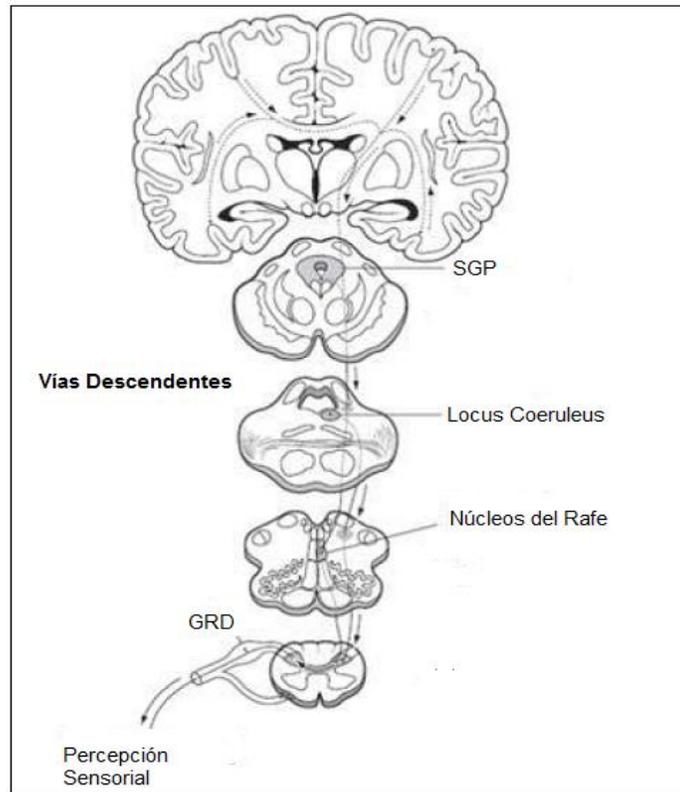


Figura 2. Fibras moduladoras descendentes de la información nociceptiva (Modificado de Basbaum, 2000) (25).

3.4. Sensibilización de Nociceptores y sus Neurotransmisores

El neurotransmisor principal de las fibras sensoriales aferentes a nivel de la médula espinal es el Glutamato, que produce potenciales sinápticos rápidos a nivel del asta dorsal, actuando en los receptores de glutamato AMPA, los cuales son permeables a iones Na^+ . Si los estímulos dolorosos son repetitivos y se despolariza la neurona del asta dorsal, genera un potencial excitatorio, y se activa un segundo receptor para glutamato llamado NMDA.

Cuando hay una injuria tisular, se liberan mediadores inflamatorios tales como: Bradiquinina, Prostaglandinas, Histamina, etc., los cuales transmiten el impulso

nervioso hacia el relevo principal, que es el asta posterior de la médula espinal o el subnúcleo caudal de trigémino.

La activación de los terminales nociceptivos aferentes es producida por sustancias algógenas que generan potenciales de acción, los cuales se propagan hacia el SNC a través de la médula espinal. Estos potenciales invaden además otras ramas nerviosas colaterales, donde estimulan la liberación de neuropéptidos como la sustancia P, que está asociada con un aumento en la permeabilidad vascular, lo cual lleva a una marcada liberación de Bradicinina presente en exudados inflamatorios y tejidos lesionados, con capacidad de producir dolor. Además, activa los nociceptores a través de la fosfolipasa C (aumenta el Ca^{2+} intracelular y despolariza la célula), y los sensibiliza mediante la fosfolipasa A2 (aumenta síntesis de prostaglandina E2 (PGE2)). También genera un aumento local de Histamina (liberada por los mastocitos) y Serotonina (producida por las plaquetas). Las cuales conjuntamente, incrementan la Sustancia P perpetuando el estímulo doloroso. La liberación compuesta de Sustancia P e Histamina se relaciona con la vasodilatación y el edema local. Los Opioides, en este ámbito, inhiben la liberación de la Sustancia P (26).

4. Nocicepción a Nivel Facial

4.1. Neurofisiología del Dolor Facial

La información nociceptiva que se codifica a nivel orofacial se transmite desde la periferia al SNC, en este caso los nervios involucrados son cuatro: V par (Trigémino), VII par (Facial), IX par (Glossofaríngeo), X par (Vago), junto a las terminaciones de los tres nervios cervicales superiores. Estos impulsos nociceptivos activan neuronas en los núcleos trigeminales del tronco encefálico y en las astas dorsales cervicales.

El **V par (Trigémino)** es un nervio mixto que contiene fibras aferentes (sensitiva) y eferentes (motora), y da lugar a tres ramas denominadas: V1 oftálmica, V2 maxilar y V3 mandibular, las cuales inervan tres tercios de la cara.

La información entregada por la parte sensitiva tiene relación con tacto, temperatura y dolor.

El nervio trigémino posee en sentido rostro caudal tres núcleos sensitivos: núcleo Sensitivo Principal, núcleo Espinal y núcleo Mescencefálico, este último contiene células que participan en la propiocepción (25), relacionado a la sensibilidad propioceptiva de presión en dientes, periodonto, paladar blando y cápsulas articulares. Los núcleos Sensitivo Principal y Espinal representan la sensibilidad exteroceptiva, es decir sensación de dolor, temperatura, tacto y presión. El núcleo Espinal se relaciona, principalmente, con la información proveniente de la mandíbula y dientes (14).

En el ganglio de Gasser está el soma de la primera neurona de la vía del dolor trigeminal, con una prolongación hacia la periferia que es una terminación libre, y una prolongación central que se dirige al núcleo espinal trigeminal ipsilateral por medio de la fibras A delta y C, llevando información nociceptiva orofacial hacia los núcleos sensoriales del encéfalo, los cuales también reciben proyecciones de otros centros superiores moduladores. Las fibras A delta y C ascienden hasta llegar a la protuberancia, formando el tracto espinal del trigémino, junto a pequeños componentes somatosensoriales del nervio facial, glossofaríngeo y vago que entran en este haz. En el núcleo Espinal se reconocen tres agrupaciones: subnúcleo oral, subnúcleo interpolar y subnúcleo caudal. En ellos se resume la sensibilidad de labios, dientes, y mucosas de la cavidad oral. Además, en los subnúcleos caudal e interpolar, se encuentra representada la sensibilidad térmica y dolorosa del territorio orofacial. En el subnúcleo oral se encuentra la sensibilidad táctil no discriminativa y de presión (26).

El 90% de los axones de las neuronas de segundo orden se decusan en la línea media, mientras que el 10% asciende de forma ipsilateral, llegando al núcleo ventral posteromedial del tálamo (VPM), relacionado con la discriminación y localización del dolor. Entre un 42% y 63% de las neuronas que proyectan al tálamo y al cerebelo son de tipo nociceptivas. El núcleo interpolar del trigémino,

por su parte, interviene en el procesamiento de las sensaciones percibidas en la región orofacial profunda.

Desde los núcleos trigeminales sale la tercera neurona que va a sinaptar en el núcleo VPM del tálamo, el cual emite proyecciones a distintas zonas tales como sistemas autónomos, corteza somatoestésica y área límbica.

5. Modelo de medición del Dolor en animal

La observación y experimentación con animales en Medicina, ha permitido un avance importante en el área Biomédica, básicamente entendiendo la fisiopatología de las enfermedades y su cura.

El dolor en animales es difícil de evaluar, ya que no verbalizan su desagrado, sino que alteran su conducta (12). Es definido, en animales, como “una experiencia emocional y sensorial aversiva, representada en una evitación por parte del animal y cambios en su comportamiento para evitar el daño, con la probabilidad de reducir su repetición y promover la recuperación”. La nocicepción, en este caso, pasa a ser el análisis experimental de la conducta animal, según lo percibido frente al estímulo nocivo (27).

El dolor experimental es una aproximación al dolor clínico, donde el comportamiento animal se observa en la vocalización, arqueado del lomo, lamer o rascar zona afectada, tendencia a permanecer quietos o apartarse del resto (12).

Los estudios de comportamiento animal en relación a la nocicepción de la región trigeminal son escasos. Se han diseñado diferentes modelos algiesiométricos animales, especialmente en roedores para evaluar nocicepción, entre éstos se encuentra la prueba de formalina orofacial (28).

6. Tratamiento y Control Farmacológico del Dolor

Actualmente, el tratamiento del dolor dispone de una amplia gama de fármacos en los que se considerara la dosis utilizada, el tipo de fármaco y la patología a tratar. 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 AINEs y los Opioides. Además existen los coanalgésicos, tales como los antidepressivos, antiepilépticos, cannabinoides, alcohol, etc. (29,30).

Su acción puede ser:

a) A nivel de Conducción del Estímulo Doloroso: aquí se encuentran los anestésicos locales cuyo efecto es reversible.

b) A nivel Central: se unen a receptores específicos en los centros de control descendente del dolor. Aquí se encuentran los Opioides, cuyo uso ha de ser normado y controlado, ya que la evidencia demuestra que su uso por periodos prolongados, genera dependencia física y tolerancia (29).

c) A nivel Periférico: modulan la respuesta inflamatoria local en el sitio de la injuria, lo que determina una disminución del envío de señales dolorosas hacia el SNC (31). Dentro de este grupo se encuentran los antiinflamatorios, ya sean esteroidales (Corticoides) o no esteroidales (AINEs) (32).

6.1. Analgésicos Antiinflamatorios no Esteroidales (AINEs)

De los fármacos ya mencionados, los AINEs son los más utilizados en cualquier tipo de dolor, ya sea agudo o crónico, por lo tanto son los más estudiados en las diversas especialidades médicas, especialmente en el área odontológica, siendo útiles tanto en el preoperatorio como postoperatorio. Sin embargo, son considerados fármacos poco seguros debido a sus reacciones adversas, lo cual limita su amplio uso (32).

6.1.1. Mecanismo de Acción de los AINEs

La degradación de los fosfolípidos estructurales de la membrana celular por la enzima Fosfolipasa A2 da origen al Ácido Araquidónico (AA), el cual es transformado en dos grupos de mediadores inflamatorios diferentes (eicosanoides): los Leucotrienos, y por otra parte las Prostaglandinas y Tromboxanos, por medio de las enzimas Lipooxigenasas (LOXs) y Ciclooxygenasas (COXs), respectivamente (fig 3). Los AINEs se caracterizan por inhibir las enzimas COXs.

El AA se transforma, por medio de las COXs, en Prostaglandina H₂ (PGH₂), la cual luego se transforma en otros eicosanoides por acción de la enzima Prostaglandina sintetasa. Estos productos cumplen un importante rol en la homeostasia celular, y en la mediación de la respuesta inflamatoria y dolor, interviniendo en la regulación de la temperatura corporal, entre otras (33, 34).

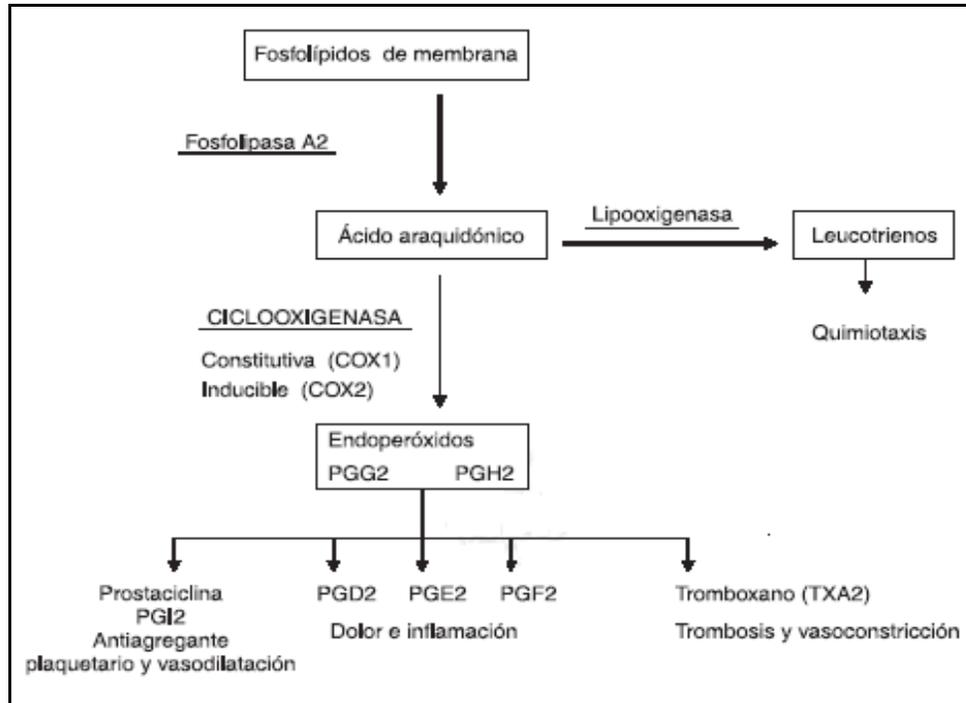


Figura 3: Secuencia de la síntesis de Eicosanoides. Modificado de Warner y Mitchell, 2004. (35)

Existen tres tipos de isoformas de enzimas COXs: COX-1, COX-2 y COX-3 (6), con diferente función y localización. La **COX-1** es una enzima constitutiva, es decir, se expresa en forma estable y continua en la mayoría de las células del organismo. Es la responsable de la síntesis de prostanoides, por lo tanto se encarga de los procesos homeostáticos del organismo, como la regulación del tono vascular y bronquial, y la agregación plaquetaria (5,6). También cumple función en la protección de la mucosa gástrica (36).

La **COX-2** es una enzima que se encuentra en varios tipos de células, pero a diferencia de la COX-1, su expresión no es permanente sino que inducida por diferentes estímulos, tales como lipopolisacáridos, citoquinas inflamatorias (IL-1b, FNT, IL-4, IL-13 y IL-10) y factores de crecimiento; y se inhibe por los glucocorticoides. Es la responsable de producir prostanoides en zonas inflamadas ante un estímulo nocivo (37), por lo tanto juega un rol esencial en el dolor, la inflamación, la fiebre y la proliferación celular. La **COX-3** se encuentra casi

exclusivamente en la corteza cerebral y corazón, pero su rol aún no está totalmente claro (38).

Al implementar la terapia farmacológica con los AINEs, se inhibe la síntesis local de prostanoïdes, inhibiendo COX1, COX-2 o ambas, a la espera de una modulación del dolor. Al inhibir cualquiera de las dos isoenzimas se producen efectos secundarios no deseados (34), ya que no son enzimas específicas del tejido dañado. Es por ello que los AINEs se clasifican según su capacidad de inhibir selectiva o no selectivamente a las COXs, de modo de disminuir sus efectos adversos (ver anexo1).

6.1.2. Dexketoprofeno

Es un enantiómero de la mezcla racémica del ketoprofeno (39). Esto significa que los enantiómeros L y D son encontrados en proporciones aproximadamente equivalentes, es decir un 50%. Este AINE es perteneciente a la familia de los derivados del ácido propiónico, y corresponde al enantiómero S (+) o dextrórotatorio (Fig 4). Se ha comprobado que la actividad farmacológica del ketoprofeno reside exclusivamente en el enantiómero S (+) o dexketoprofeno (39, 10), el cual (+) es capaz de bloquear la acción de las COXs y por tanto ejercer la acción terapéutica. Por otra parte el enantiómero R (-) carece de dicha actividad, además puede deteriorar la cinética del fármaco, siendo preciso metabolizarlo y excretarlo sin obtener provecho terapéutico, con la posibilidad de generar riesgos tóxicos. Así al utilizar solo el isómero activo, la cantidad de fármaco a ser absorbido metabolizado y excretado se reduce a la mitad.

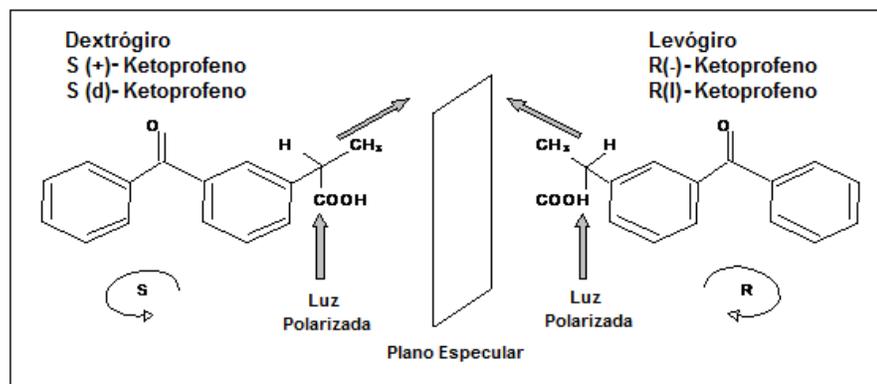


Figura 4. Nomenclatura de los enantiómeros del ketoprofeno en función de sus propiedades químicas y físicas (Modificada de Sweetman, 2003) (39).

El dexketoprofeno se ha formulado como sal soluble en agua de trometamina, denominado dexketoprofeno trometamol. Posee una alta unión a proteínas plasmáticas, cercana al 99%. Es metabolizado en el hígado y su excreción es principalmente renal (70-80%). A las dosis terapéuticas este compuesto es muy bien tolerado, el hecho de que sea una sal soluble le confiere características cinéticas que mejoran su absorción y tolerabilidad, traduciéndose esto en un rápido inicio de acción y disminuidos efectos secundarios (10).

Dexketoprofeno es un inhibidor no selectivo de la ciclooxigenasa aunque posee más afinidad por COX-1, y lipooxigenasas. La inhibición de la síntesis de prostaglandinas determina un potente efecto principalmente de tipo analgésico y antiinflamatorio indicado para el tratamiento del dolor agudo de leve a moderado de distinta etiología tales como odontalgia, traumatismos, dolor asociado a procesos inflamatorios.

6.2. Analgésicos Opioides

Actúan estimulando receptores de tres tipos: *mu opioide* receptor (MOR), *delta opioide* receptor (DOR) y *kappa opioide* receptor (KOR). Se utilizan para el tratamiento del dolor moderado a severo.

Su clasificación es en base a la actividad sobre el receptor opioide:

- a) **Agonistas Puros:** Tienen máxima actividad intrínseca y acción preponderante sobre el receptor MOR. Ejemplos son: Morfina, Peptidina, Fentanilo, Tramadol, Metadona, Codeína, entre otros.
- b) **Agonistas Parciales:** De menor acción intrínseca, predominante sobre el receptor KOR y baja sobre el MOR. Entre ellos destaca la Buprenorfina.
- c) **Antagonistas Puros:** Aquellos con afinidad por todos los receptores opioides, pero que carecen de actividad intrínseca. Se utilizan como antídoto, y destacan: la Naloxona y Naltrexona (19).

Sus receptores presinápticos tienen un rol neuromodulador en cuanto a la liberación de ciertos neurotransmisores como Acetilcolina, Noradrenalina, Serotonina, GABA y Sustancia P.

El mecanismo de acción de los Opioides se relaciona con la inhibición de la adenilato ciclasa y consecuente reducción del AMPc, apertura de canales de K^+ y cierre de canales de Ca^{+2} . El aumento de la conductancia del K^+ produce hiperpolarización de la membrana, lo que reduce la duración del potencial y disminuye la liberación del neurotransmisor. Este tipo de respuesta se observa en múltiples sitios del SNC y SNP: locus coeruleus, hipotálamo, médula espinal, núcleo parabraquial, ganglios raquídeos y plexo submucoso de la pared intestinal.

En 1962 se sintetizó un analgésico de acción central relacionado estructuralmente con la Codeína (modificación de grupo terminal alcohólico en la morfina), llamado Tramadol (fig 5).

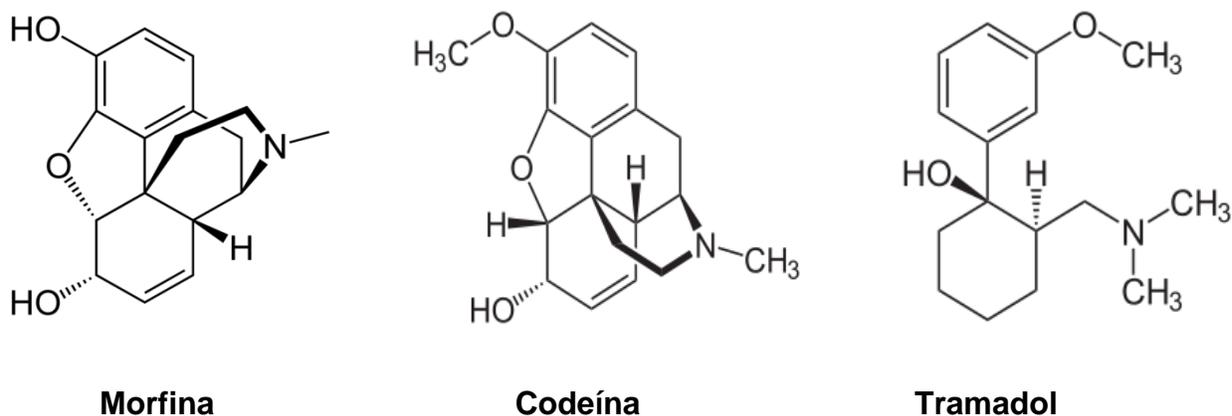


Figura 5: Fórmula química de la Morfina, Codeína y Tramadol.

6.2.1. Tramadol

Pertenece a los analgésicos opioides, indicado para tratamiento del dolor de moderado a severo. Su elevada potencia analgésica radica en su acción principalmente a nivel del SNC (29). El perfil de este opioide corresponde a un fármaco racémico, es decir tanto sus enantiómeros S (+) Tramadol y R (-) Tramadol, como sus metabolitos contribuyen en la analgesia. Además inhibe la recaptación de Serotonina y Noradrenalina.

Su acción terapéutica es menor que la Morfina y semejante a la Codeína, tanto así que la administración de Naloxona (antagonista de receptores opioides) disminuye pero no elimina por completo la analgesia inducida por Tramadol (30). La biodisponibilidad del fármaco es de un 68-70% por vía oral. Se metaboliza un 80% por desmetilación y posterior conjugación en el hígado lo que deriva en diversos metabolitos. Dentro de éstos, el de mayor importancia es: (±)-O-desmetil-tramadol, el cual es metabolizado por el citocromo P450 CYP 2D6.

El metabolito (+)-O-desmetil-tramadol es el agonista con mayor afinidad del receptor MOR, por lo que se le atribuye el efecto opioide del fármaco. El 90% de su eliminación ocurre por vía renal y el 10% restante se excreta en las heces, vías biliares y la saliva (30).

Sus reacciones adversas son frecuentes e incómodas para el paciente, entre ellas destaca constipación (50-80%), náuseas y vómitos (10-40%), prurito (30%), mareos, sedación, alucinaciones, convulsiones, y a dosis altas puede alterar la función respiratoria (depresión centro respiratorio) y cardíaca (hipotensión, bradicardia) (29). Con el fin de disminuir sus RAM y obtener una analgesia eficiente, es frecuente administrarlo asociado a AINEs de modo de disminuir las dosis requeridas de ambos.

Durante la última década, el conocimiento de la fisiología de los receptores acoplados a la proteína G ha progresado bastante, constituyendo un sitio de acción adicional de diversos agentes anestésicos y analgésicos, entre ellos, Tramadol (40). Este opioide actúa acoplado a la proteína G en receptores muscarínicos, nicotínicos, y NMDA, todos ellos implicados en la respuesta dolorosa.

7. Prueba de la formalina orofacial adaptada al estudio

Este modelo se ha adaptado para estudiar el dolor orofacial que se observa tras aplicar un irritante por vía subcutánea en el labio superior de los roedores. Se administran 20 µl de formalina al 2%. Luccarini y colaboradores (11), estudiaron la relación entre el tiempo que los ratones se frotaron el labio superior, y la concentración de la solución de formalina, e investigaron el efecto de dos analgésicos: Morfina y Paracetamol.

Esta región posee numerosas terminaciones nerviosas libres de pequeño diámetro (fibras A delta y C) las que responden a estímulos dolorosos, sensibilizadas por diferentes mediadores químicos. En base a esto, se describen estudios usando modelos algiesiométricos, como la prueba de formalina, en los cuales se evalúa el comportamiento del animal frente al estímulo. En este caso se observan dos fases: Fase 1 (algesia aguda), la cual se genera por activación de nociceptores, que tras la injuria produce un efecto irritante, comienza en el minuto

0, luego de inyectar el irritante, hasta el minuto 5; y Fase 2 (Inflamatoria, algésica), la cual se genera debido a la organización de un foco inflamatorio en el sitio de injuria, y una sensibilización central y periférica, comienza al minuto 20 de inyectar el irritante, y termina en el minuto 30. El lapso entre el minuto 5 y 20, tras la inyección de formalina, se denomina Periodo de Latencia y no se contabiliza, debido a que el roedor permanece inmóvil (11).

8. Interacciones de fármacos

Esta es definida como cualquier modificación de los efectos de un fármaco sobre otro, de modo que este experimenta un cambio ya sea cualitativo o cuantitativo en sus efectos. Por tanto cuando se coadministran ciertos fármacos es posible obtener los siguientes efectos (46):

- Subaditividad (antagonismo): el resultado logrado corresponde a un efecto menor que la suma de la actividad de cada fármaco por separado.
- Supraaditividad (sinergismo): el resultado que se obtiene es significativamente mayor que la simple suma de los efectos de cada fármaco por separado.
- Aditividad (sumación): el resultado que se consigue es la simple suma algebraica de los efectos que produce cada uno de los fármacos por separado.

Existen estudios de asociación de AINEs (Ketocorolaco) con Tramadol en modelos de rata, los cuales han dado resultados positivos traducidos en sinergismo de acción (41).

IV. HIPÓTESIS

La administración de dexketoprofeno asociada a tramadol produce una actividad antinociceptiva de tipo sinérgica. En el test de la formalina orofacial en ratones.

V. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Establecer la actividad antinociceptiva del tramadol y del dexketoprofeno y de su combinación, administrados intraperitonealmente en el ensayo de la formalina orofacial en ratones.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la analgesia producida por la administración intraperitoneal de dexketoprofeno, tramadol y de su combinación en la prueba de la formalina orofacial.
- Comparar la potencia analgésica entre tramadol y dexketoprofeno, durante la fase I y II de la prueba de la formalina orofacial.
- Caracterizar la actividad antinociceptiva y evaluar si existe paralelismo entre las curvas dosis-respuesta de tramadol y dexketoprofeno.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de investigación

El presente estudio forma parte del proyecto **“Perfil farmacológico de analgésicos en dolor crónico experimental”**, cuyo investigador principal es el Dr. Hugo F. Miranda. Se llevó a cabo en el Laboratorio de Neurofarmacología del Dolor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Este trabajo cuenta con la aprobación del Comité de Bioética sobre Investigación en Animales de acuerdo al protocolo CBA N° 0238 FMUCH (anexo 2).

Es un estudio de carácter explicativo, con un diseño experimental de laboratorio que se realiza basándose en normas éticas internacionales que rigen este tipo de experimentación (42, 43). El número de animales utilizado fue el mínimo estrictamente necesario y posee grupo control.

Las variables presentes en este estudio corresponden a:

Variable Independiente: Tipo de Fármaco, corresponde a los fármacos administrados, en este caso tramadol y dexketoprofeno. Esto es, a través de la administración de distintas concentraciones de estos fármacos en el estudio.

Variable Dependiente: Tipo de Interacción, se define como la naturaleza de la asociación que se produce al administrar en forma conjunta tramadol y dexketoprofeno. Se obtiene a través de un análisis isobolográfico, pudiendo adquirir tres valores distintos: interacción sinérgica, aditiva o antagónica.

1. Animales

Se utilizaron 120 ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1, de 28 a 30 gramos de peso, dos meses de edad (fig1A). Los animales fueron habituados al entorno del laboratorio 2 horas previas al experimento, manteniéndose en condiciones de temperatura y humedad ambiental, iluminación artificial (12/12) y un espacio adecuado que permitió libertad de movimiento y libre acceso a agua y comida.

2. Fármacos administrados

Todos los fármacos y materiales utilizados fueron suministrados por el Laboratorio de Neurofarmacología del Dolor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

Fármacos: Dexketoprofeno y tramadol, soluciones de Formalina al 2% y solución salina de NaCl al 0,9%, Jeringas de tuberculina (1 ml) para inyección intraperitoneal, hamilton (50 μ L) para inyección subcutánea, agujas 27 Gauge, cronómetro digital.

Para la observación y habituación de los ratones éstos se dispusieron en un cilindro transparente de 15 a 20 min, adicional a las 2 horas antes mencionadas. Este cilindro posee una altura y diámetro de 20 cm aproximadamente y un sistema de espejos para visualizar al animal en todas sus facetas y movimientos.

Los fármacos fueron disueltos en solución salina de NaCl al 0.9% y se administraron intraperitonealmente en dosis de un volumen constante de 10 ml/kg de peso, la inyección intraperitoneal (fig1B) se realizó 30 min antes del ensayo algesiométrico orofacial de la formalina, puesto que existe evidencia previa que demuestra que es el tiempo de latencia necesario para alcanzar el efecto analgésico máximo de ambos fármacos (44). Para el grupo control inyectado con solución salina, se esperó el mismo periodo de tiempo para realizar el test de la formalina.

Los animales usados como grupo control fueron tratados intraperitonealmente con suero salino de NaCl al 0,9%, incluyéndose 1 a 2 ejemplares en cada grupo experimental.

Las dosis utilizadas fueron 3,10, 30 y 100 mg/kg para dexketoprofeno y 1, 3, 10 y 30 mg/kg para tramadol. La dosis efectiva 50 (DE₅₀) de tramadol y dexketoprofeno, que es la dosis que produce el 50% del máximo efecto posible, se calculó mediante un programa computacional y se usaron dichas dosis teóricas en base a curvas dosis- respuestas determinadas en estudios previos, que indican que los valores de DE₅₀ se ajustan a este rango de concentraciones (44, 11, 46). El isoblograma descrito por Tallarida (11), contiene un set de dosis o concentraciones que se establecen de trabajos anteriores. El nivel escogido en el programa es la dosis que represente el 50% del efecto máximo posible.

3. Prueba de la formalina orofacial en el presente estudio

La actividad antinociceptiva se efectuó utilizando una modificación al test algesiométrico orofacial de la formalina de Luccarini (45). Para ello se realizó una inyección subcutánea con 20µL de solución de formalina al 2% en el labio superior (Fig 1C). Ello induce un sostenido frotamiento de la zona inyectada, ya sea con sus extremidades delanteras o traseras (Fig 1D, 1E). Inmediatamente después de la punción se cuantificó el tiempo total que se frotaron el área perinasal durante la fase I (que transcurre en los primeros 5 minutos del ensayo, 0-5 min), y luego en la fase II (desde el minuto 20 hasta el minuto 30 post-inyección). Los resultados se expresaron en segundos de frotamiento registrados en cada intervalo.

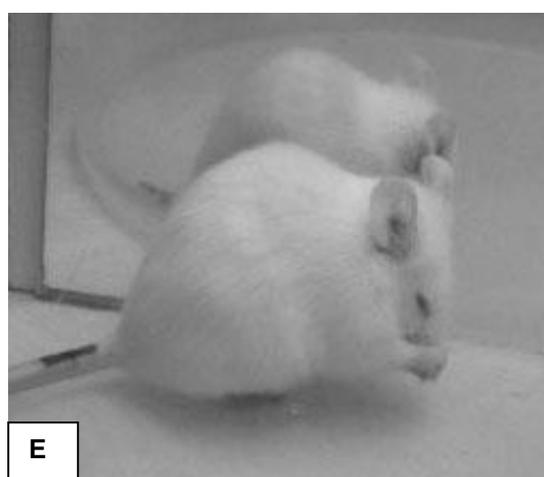
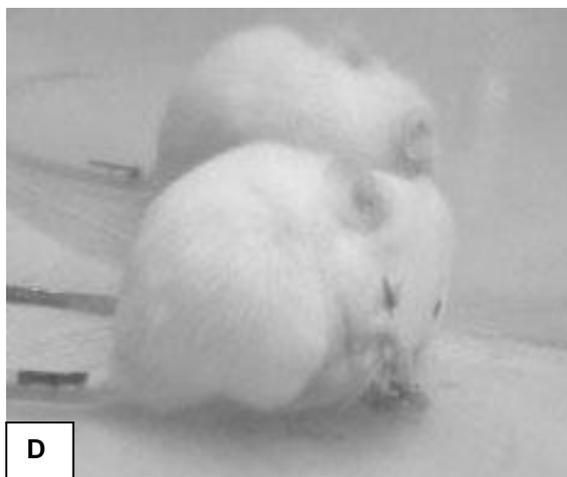


Figura 1: A: ratones *Mus musculus* cepa CF/1, B: se observa aplicación inyección intraperitoneal de fármacos, C: aplicación inyección subcutánea formalina 2% labio superior, D: frotamiento zona perinasal patas delanteras, E: frotamiento zona perinasal patas traseras.

4. Selección de la muestra

Los ensayos fueron efectuados en forma aleatoria, ciega, entendiéndose esta como el desconocimiento de la intervención asignada a los grupos en estudio, ya sea para uno o los participantes del trabajo, en este caso la preparación de la dosis aplicada lo manejaba solo una persona.

Para la medición de rascado del ratón (grooming) en este ensayo, el observador no sabía que dosis había sido inyectada en el ratón con el fin de neutralizar subjetividad. Como control se usó solución salina NaCl 0.9%, el tamaño total de la muestra fue de 120 ratones ($n=120$), los cuales se dividieron en 5 grupos experimentales.

Grupo tratado con Dexketoprofeno: ratones inyectados por vía intraperitoneal con dosis de 3, 10, 30 y 100 mg/kg. Para cada una de las dosis se utilizó 7 animales.

Grupo tratado con tramadol: ratones inyectados con tramadol por vía intraperitoneal con dosis de 1, 3, 10 y 30 mg/kg. Para cada una de las dosis se utilizó 7 animales.

Grupo tratado con mezcla de dexketoprofeno y tramadol durante Fase I: ratones inyectados por vía intraperitoneal con una mezcla que contiene cada fármaco en una proporción 1:1, en fracciones de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de sus correspondientes DE_{50} durante la fase I. Para cada una de las dosis se utilizaron 7 animales.

Grupo tratado con mezcla dexketoprofeno y tramadol durante Fase II: ratones inyectados por vía intraperitoneal con una mezcla que contiene a cada fármaco en una proporción 1:1, en fracciones de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de sus correspondientes DE_{50} durante la fase II. Para cada una de las dosis se utilizaron 7 animales.

Grupo control: ratones inyectados por vía (i.p.) con solución salina al 0,9%. Se utilizaron 8 animales.

5. Análisis isoblográfico

Para evaluar los diferentes parámetros y la interacción producida entre los fármacos, durante ambas fases, se utilizó el método, descrito por Tallarida y cols (11) y consignado en el Programa Pharm Tools Pro, versión 1.27 (McCary Groups, Inc., PA, U.S.A.). Este programa permite conocer si existe interacción entre los fármacos, de que tipo es esta interacción y cuál es su magnitud.

Esto se logra a través de representaciones gráficas de dosis isoeffectivas de cada fármaco utilizado tanto en forma individual o combinada. Lo que se determina mediante análisis de regresión lineal de las correspondientes curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados por vía (i.p.) .Se administra cuatro dosis para dexketoprofeno y cuatro dosis para tramadol y de forma conjunta ambos fármacos, en proporciones de 1:1 y en mezclas de fracciones: 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las correspondientes DE_{50} de dexketoprofeno y tramadol para cada intervalo (0-5min y 20-30 min), tanto para la fase I como para la fase II. Luego, estas curvas dosis-respuesta fueron analizadas mediante regresión lineal (por mínimos cuadrados) 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 (11):

$$DE_{50} \text{ aditividad teórica} = \frac{DE_{50} \text{ droga 1}}{P1 + R \times P2}$$

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

P1: proporción de dexketoprofeno en la mezcla.

P2: proporción de tramadol 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 dexketoprofeno en la abscisa con la DE_{50} de tramadol en la ordenada (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:

- **Interacción sinérgica o supraaditiva:** si el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad y es estadísticamente diferente del valor teórico de la DE_{50} .
- **Interacción aditiva:** si el punto se ubica cerca de la línea de aditividad y además estadísticamente no es diferente de la DE_{50} teórica.
- **Interacción antagónica o subaditiva:** si el punto experimental se sitúa sobre la línea de aditividad y es estadísticamente distinto de la DE_{50} teórica.

6. Medición de la analgesia

La evaluación de la actividad antinociceptiva de cada fármaco en forma individual se realizó mediante la construcción de curvas dosis-respuesta. Estas curvas se construyeron utilizando el logaritmo de las dosis en la abscisa y el efecto antinociceptivo expresado como el porcentaje del máximo efecto posible (MEP), en la ordenada. El valor del porcentaje del MEP se obtuvo de acuerdo a la siguiente fórmula (11):

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

El tiempo rascado control fue evaluado en el grupo control y se puede ver su promedio obtenido en los resultados. A partir de las curvas dosis-respuesta de cada fármaco, se ajustó una recta por análisis de regresión lineal o línea logarítmica (recta) obtenido del software Pharm tools Pro, versión 1.27 (McCary Groups, Inc., PA, U.S.A.) .Por medio de este se determina la dosis que produce un 50% del efecto máximo posible (DE_{50}), tanto para la fase I como para la fase II.

7. Potencia relativa

Con el objetivo de comparar el efecto de los distintos fármacos y en las diferentes fases del ensayo, se calculó la potencia relativa, que relacionó la cantidad o dosis de fármaco administrada y la acción que produce. Con esta información se pudo concluir que un fármaco es tanto más potente que otro, cuanto menor sea la dosis administrada en comparación con el segundo para conseguir la misma acción. Se calculó dividiendo la DE_{50} del fármaco con mayor valor por sobre la DE_{50} del fármaco de menor valor, para la fase I y II, es decir (47):

$$Potencia\ Relativa = \frac{DE_{50}\ droga\ x}{DE_{50}\ droga\ y}$$

En donde: Droga x es la que presenta el mayor valor de DE_{50} .

Droga y es la que presenta el menor valor de DE_{50} .

8. Paralelismo de las curvas dosis-respuestas

Se realizó comparando las pendientes de las curvas dosis-respuestas del dexketoprofeno y del Tramadol, obtenidas mediante el software usado para los cálculos. Si las drogas activan los mismos receptores o enzimas se obtienen curvas dosis-respuestas que son paralelas entre sí, de lo contrario no se logra paralelismo entre ellas (47).

El programa permite conocer también el índice de interacción (I.I) de los fármacos, a través de esta fórmula (11):

$$Indice\ de\ interacción = \frac{DE_{50}\ experimental}{DE_{50}\ teórica}$$

La magnitud de la interacción se obtiene del cociente de ambas DE_{50} . Valores menores a 1 indican una interacción sinérgica; si es igual a 1 es de tipo aditiva y si es mayor a 1 es de tipo antagónica (11).

9. Evaluación estadística

En este estudio los resultados se consideran como el promedio \pm error estándar de la media o promedio (E.E.M.) con su límite o intervalo de confianza correspondientes al 95% (LC 95%). La significación estadística se determinó por pruebas *t* Student no pareado y de dos colas. Este test permite decidir si dos variables aleatorias tienen medias diferentes, en este caso se aplicó *t* Student por partes, es decir, un grupo experimental más control y aplicación de test y así sucesivamente hasta obtener los resultados estadísticos.

Considerando la significancia a un nivel del 5% ($p < 0,05$). Los parámetros fueron calculados en base al software mencionado en análisis isoblográfico.

VII. RESULTADOS

1. Evaluación de la analgesia

1.1. Grupo Control

La administración (i.p.) de solución salina al 0,9%, 30 minutos antes del test de la formalina orofacial, produjo un tiempo de frotamiento de la zona labial y perinasal de $91,88 \pm 2,65$ segundos para la fase I; y de $93,13 \pm 2,07$ segundos para la fase II.

1.2. Grupo tratado con Dexketoprofeno

La administración de dexketoprofeno, 30 minutos antes del test de la formalina orofacial, produce una disminución en el tiempo de frotamiento de forma dosis dependiente con respecto al grupo control. Lo cual se observó tanto en la fase I (gráfico 1) como en la fase II (gráfico 2).

Determinación de la DE₅₀ de dexketoprofeno: Para el cálculo de la DE₅₀ de la fase I y II, se construyó una curva dosis-respuesta antinociceptiva, expresada en el logaritmo de las dosis de dexketoprofeno versus el porcentaje del máximo efecto posible (MEP). Desde esta curva se obtiene la DE₅₀ del dexketoprofeno que fue de $17,7 \pm 3,74$ mg/kg para la fase I y $12,57 \pm 0,42$ mg/kg para la fase II.

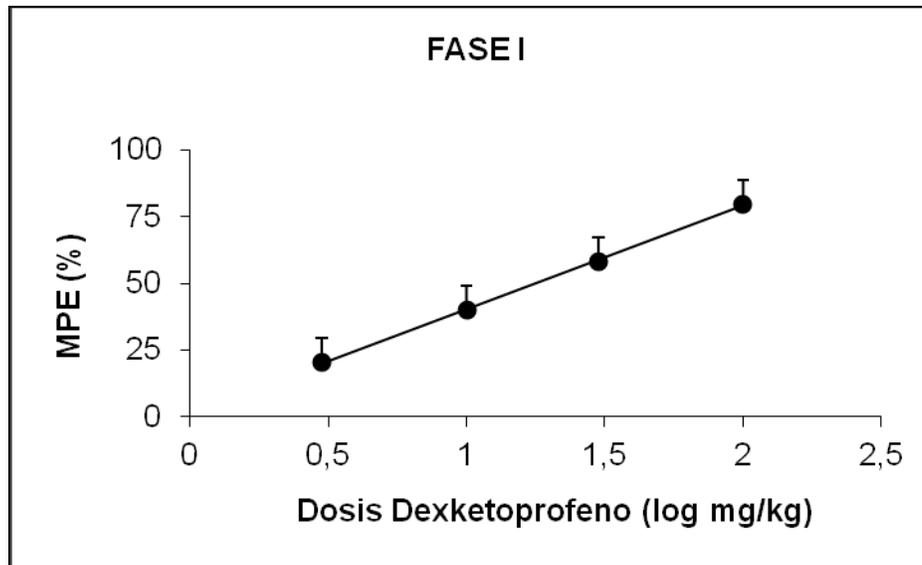


Grafico 1. Curva dosis-respuesta de la administración (i.p.) de Dexketoprofeno en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm E.E.M. (n=7 para cada dosis).

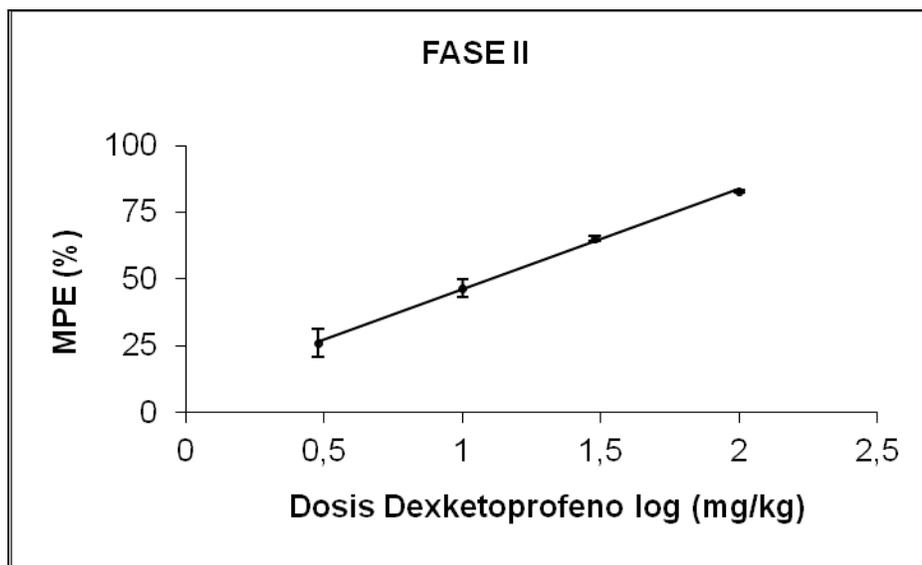


Grafico 2. Curva dosis-respuesta de la administración (i.p.) de Dexketoprofeno en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm E.E.M. (n=7 para cada dosis).

1.3 Grupo tratado con tramadol

La administración de tramadol, 30 minutos antes de la prueba de la formalina orofacial, produce una disminución en el tiempo de frotamiento de forma dosis dependiente con respecto al grupo control, Esto se observó tanto en la fase I (gráfico 3) como en la fase II (gráfico 4).

Determinación de la DE₅₀ de Tramadol: Para el cálculo de la DE₅₀ de la fase I y II, se construyó una curva dosis-respuesta antinociceptiva, expresada en el logaritmo de las dosis de Tramadol versus el porcentaje del máximo efecto posible (MEP). Desde esta curva se obtiene la DE₅₀ del Tramadol que fue de $1,92 \pm 0,47$ mg/kg para la fase I y $1,48 \pm 0,13$ mg/kg para la fase II.

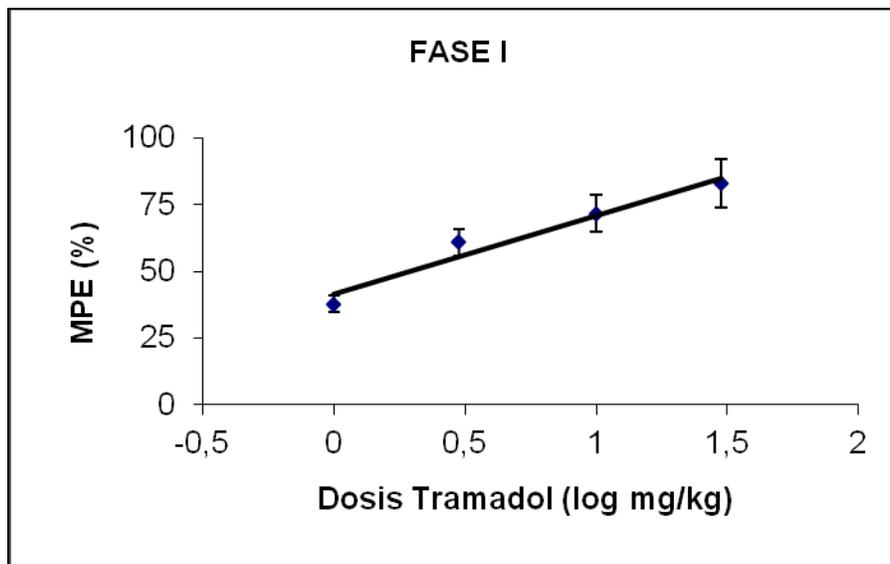


Grafico 3. Curva dosis-respuesta de la administración (i.p.) de Tramadol en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm E.E.M (n=7 para cada dosis).

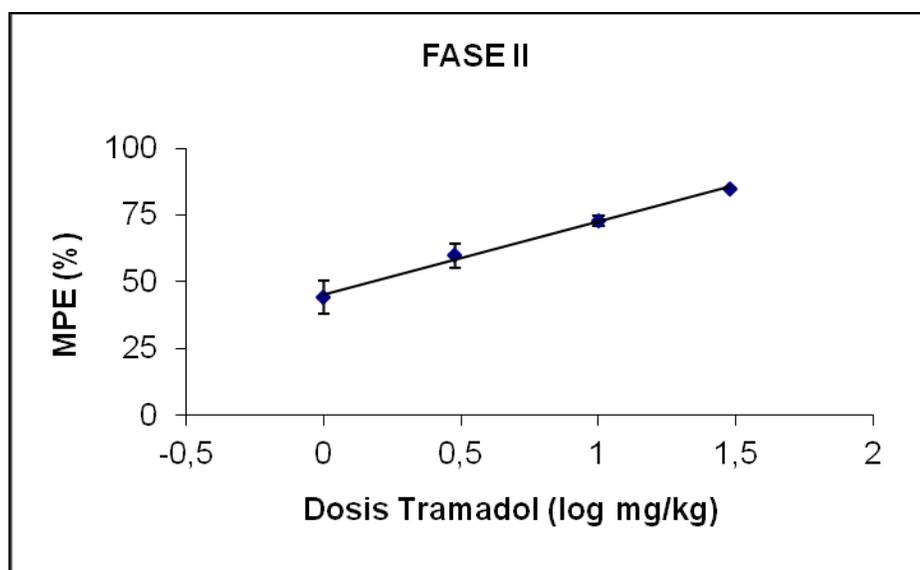


Grafico 4. Curva dosis-respuesta de la administración (i.p.) de Tramadol en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm E.E.M. (n=7 para cada dosis).

2. Grupo tratado con mezcla de Dexketoprofeno y Tramadol durante la Fase I

Al administrar por vía intraperitoneal la asociación de dexketoprofeno y tramadol en proporción fija (1:1) de cada una de sus respectivas mezclas de DE_{50} (1/2, 1/4, 1/8, 1/16), se obtuvo una disminución en la actividad antinociceptiva dosis dependiente, con respecto al grupo control durante la fase I (Gráfico 5).

Determinación de la DE_{50} experimental Fase I: Para el cálculo de la DE_{50} experimental de la mezcla de DKT con tramadol durante la fase I se construyó una curva dosis-respuesta antinociceptiva, expresada en el logaritmo de las dosis de la mezcla versus el porcentaje del máximo efecto posible (MEP). De estos resultados se obtuvo la DE_{50} experimental de la mezcla durante la fase I con un valor de $0,80 \pm 0,18$ mg/kg.

2.1 Grupo tratado con mezcla de DKT y Tramadol durante la Fase II

Al administrar por vía intraperitoneal la asociación de dexketoprofeno y Tramadol en proporción fija (1:1) de cada una de sus respectivas mezclas de DE_{50} (1/2, 1/4, 1/8, 1/16), se obtuvo una disminución actividad antinociceptiva dosis dependiente, con respecto al grupo control durante la fase II (Gráfico 6).

Determinación de la DE_{50} experimental Fase II: Para el cálculo de la DE_{50} experimental de la mezcla de DKT con Tramadol durante la fase II se construyó una curva dosis-respuesta antinociceptiva, expresada en el logaritmo de las dosis de la mezcla versus el porcentaje del máximo efecto posible (MEP). De estos resultados se obtuvo la DE_{50} experimental de la mezcla durante la fase II con un valor de $0,734 \pm 0,09$ mg/kg.

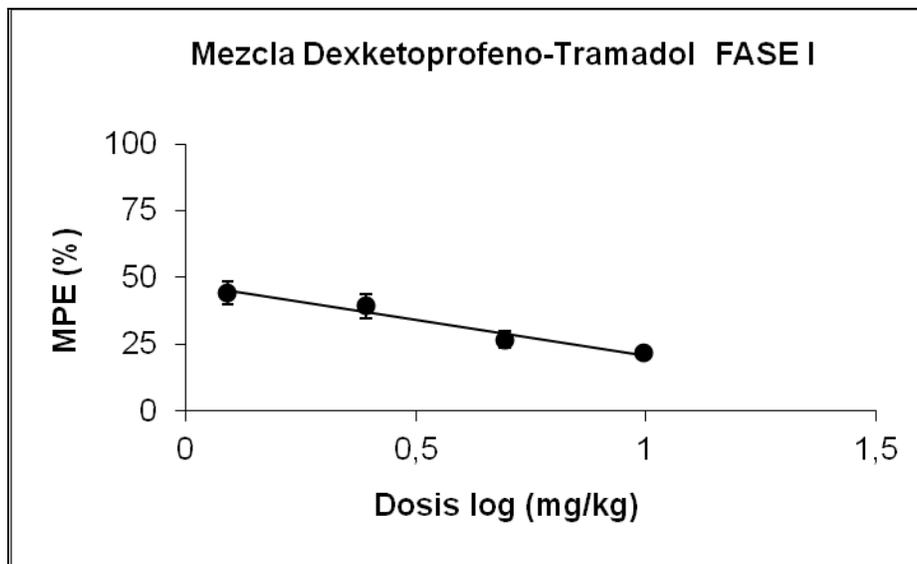


Gráfico 5. Curva dosis-respuesta de la administración (i.p) de la mezcla de Dexketoprofeno y Tramadol en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm E.E.M (n=7 para cada dosis).

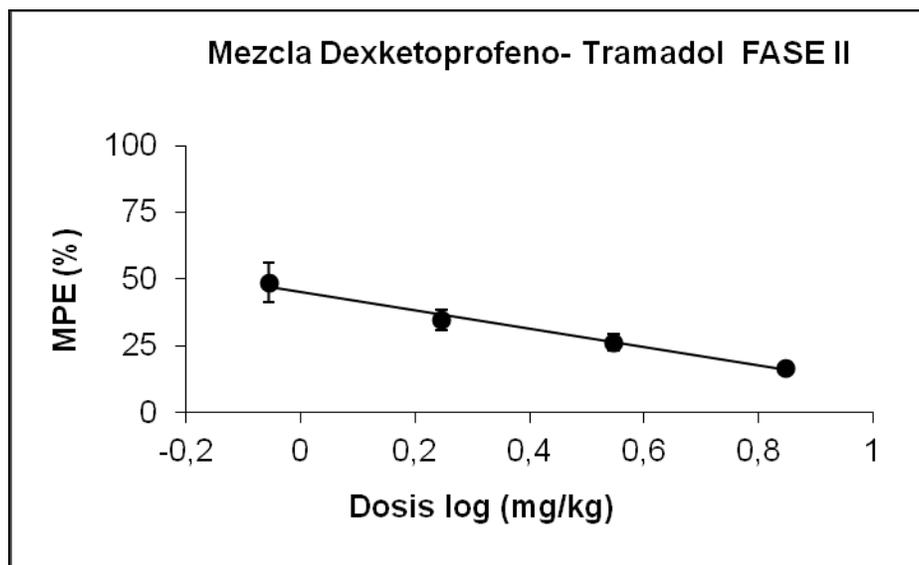


Gráfico 6. Curva dosis-respuesta de la administración (i.p) de la mezcla de DKT y Tramadol en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm E.E.M. (n=7 para cada dosis).

4. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de dexketoprofeno y Tramadol.

El análisis de las curvas dosis-respuestas de dexketoprofeno y Tramadol calculada sus pendientes en el software, demostró que ellas no eran estadísticamente paralelas, tanto fase I (gráfico 7) y fase II (gráfico 8).

5. Potencia relativa

La potencia relativa del Tramadol resultó ser mayor con respecto al dexketoprofeno, 9.1 veces en la fase I y en la fase II 8,48 veces.

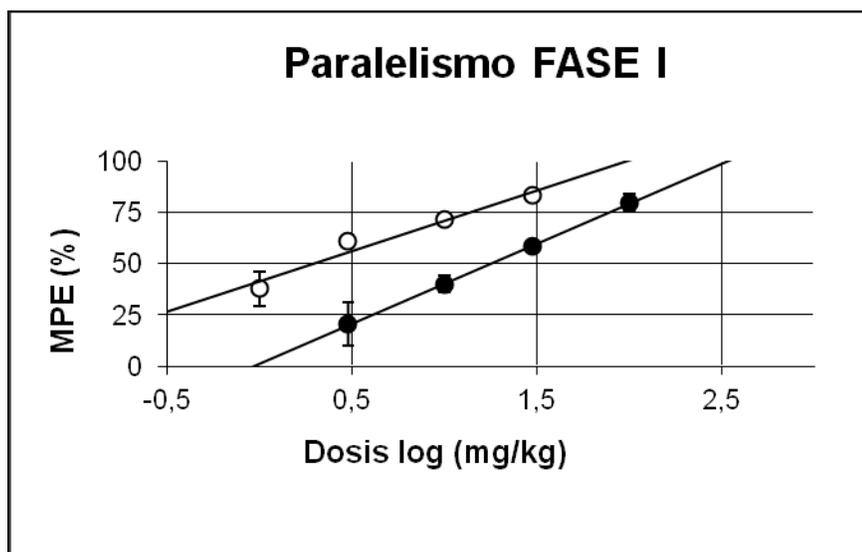


Gráfico 7. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de Dexketoprofeno (●) y tramadol (○) durante la fase I del test de la formalina orofacial.

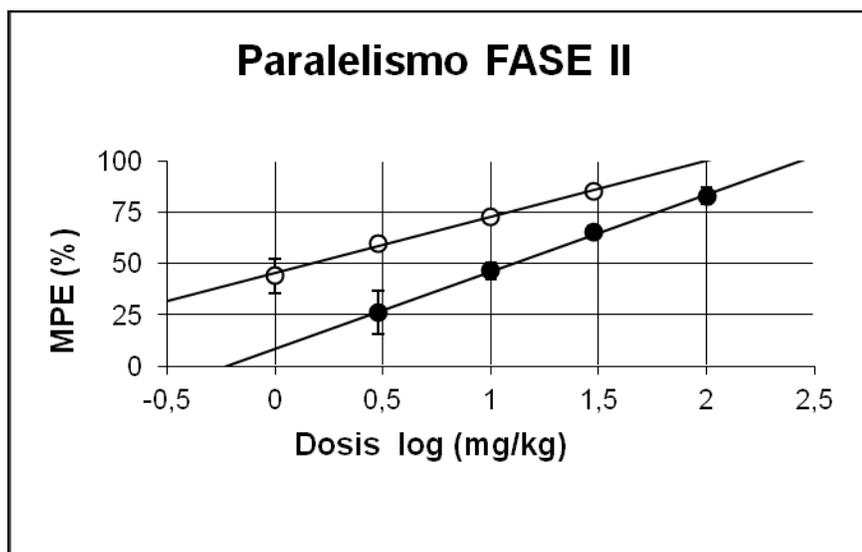


Gráfico 8. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de Dexketoprofeno (●) y tramadol (○) durante la fase II del test de la formalina orofacial.

6. Análisis isoblográfico

De la asociación de Dexketoprofeno con tramadol, se obtuvo una interacción antinociceptiva de tipo supraaditiva, tanto para la fase I (Gráfico 9) como para la fase II (Gráfico 10). Esto se concluye a partir de la ubicación del punto experimental, bajo la línea de aditividad, con índices de interacción menores a 1 en ambas fases.

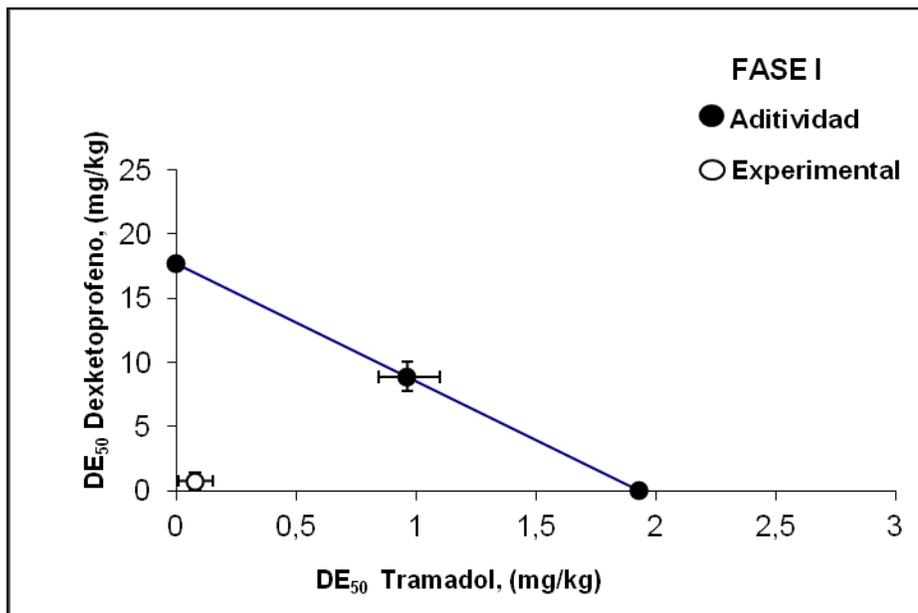


Gráfico 9. Isoblograma de la interacción entre Dexketoprofeno y Tramadol para la fase I en el test de la formalina orofacial. El punto (●) representa la aditividad teórica de la combinación, mientras que el punto (○) representa la aditividad experimental, cada uno con sus respectivos límites de confianza (LC) al 95%.

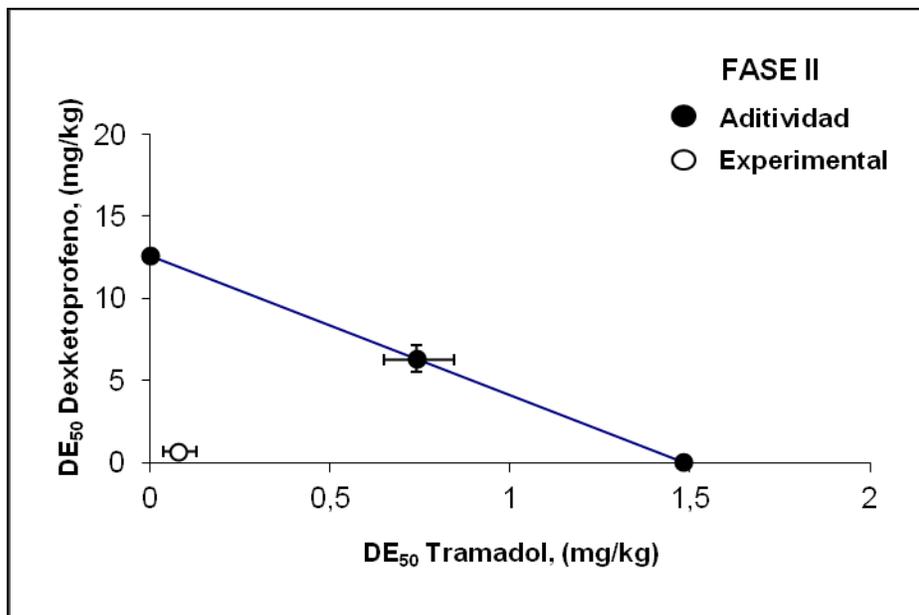


Gráfico 10. Isoblograma de la interacción entre Dexketoprofeno y Tramadol para la fase II en el test de la formalina orofacial. El punto (●) representa la aditividad teórica de la combinación, mientras que el punto (○) representa la aditividad experimental, cada uno con sus respectivos límites de confianza (LC) al 95%.

VIII. DISCUSIÓN

Hoy en día las ciencias de la salud han debido enfrentarse a diario con el tema del dolor tanto a nivel médico como dental, la profesión odontológica ligada al dolor recurre a la farmacología como uno de los medios para subsanar esta situación clínica. En lo que concierne al presente estudio se caracterizó el dolor en lo referente a la región orofacial. Este se ha definido como una experiencia sensitiva compleja y multidimensional, de ahí la importancia de reducir o eliminar en lo posible el dolor, evaluando terapias que permitan un mejor manejo de éste, con el fin de mejorar la calidad de vida.

Los resultados obtenidos en este trabajo, mediante el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, demuestran que la administración de dexketoprofeno y Tramadol por vía intraperitoneal en ratones CF/1, producen actividad antinociceptiva, es decir bloqueo fisiológico del dolor. Esto se deduce, pues los tiempos de rascado de los animales (comportamiento que expresa dolor) tratados farmacológicamente, ya sea con dexketoprofeno o Tramadol presentaron una disminución significativa con respecto al grupo control.

Además se observó que la respuesta antinociceptiva que producen los fármacos administrados, es dosis dependiente, tanto para la fase I como para la fase II.

En el test algesiométrico de la formalina orofacial, realizado en este trabajo, la fase I se caracteriza por presentar algesia aguda en donde actúan tanto la COX-1 como la COX-2. Mientras que durante la fase II se produce un foco inflamatorio, donde actúan ambas ciclooxigenasas, pero principalmente COX-2. Es por este motivo que los fármacos actuarán con mayor eficacia en una u otra etapa según sea su mecanismo de acción.

Con respecto a la actividad antinociceptiva ejercida por el dexketoprofeno durante ambas fases del test algesiométrico, las DE_{50} durante la fase I y II fueron

similares. Esta similitud es explicable por que el Dexketoprofeno no es un AINE inhibidor selectivo de la COX-1 y COX-2, sino solamente preferencial DE COX-1 (35).

En el caso del Tramadol que es un fármaco analgésico opioide, presentó buenos resultados en ambas fases del experimento. Este presentó un valor de DE_{50} menor en la fase II en comparación a la fase I. Además al administrarlo asociado a analgésicos no opioides como los AINEs disminuye las dosis y con esto disminuyen sus RAM. En la actualidad existen preparaciones en que se asocia tramadol con inhibidores de la COX como dipirona, paracetamol, ketorolaco (6). La potencia relativa del Tramadol resultó ser mayor que la del dexketoprofeno, tanto en la fase I (9,1 veces) como en la fase II (8,48 veces). Estos resultados concuerdan con la mayor potencia del Tramadol como analgésico en comparación con el Dexketoprofeno.

La ausencia de paralelismo entre las curvas dosis-respuesta que presenta cada fármaco, podría atribuirse a que estos actúan en distintos receptores. En donde Dexketoprofeno actúa sobre la COX-1 preferencialmente y Tramadol que genera su efecto analgésico mediante la activación de los receptores MOR que se encuentran ampliamente distribuidos en el cerebro y medula espinal, inhibiendo neuronas de proyección nociceptivo-específicas. Los receptores MOR se encuentran acoplados a proteína G inhibitorias de la membrana neuronal, los que ante la unión de un ligando afín, producen aumento de la conductancia del K^+ , esto a su vez provoca hiperpolarización con lo que se inhibe la conductancia del Ca^{+2} lo que inhibe la adenilato-ciclasa, con ello disminuye el AMPc intracelular, provocando finalmente una disminución de la excitabilidad neuronal (49). Lo cual va acompañado de su capacidad a nivel sináptico de recaptar serotonina y noradrenalina cuyo rol sobre las fibras aferentes de los nociceptores podría ser mediante la estimulación de interneuronas inhibitorias locales, o bien directamente sobre el nociceptor de la segunda neurona aferente (16).

A partir del análisis isoblográfico, donde se estudió, la asociación de Dexketoprofeno con Tramadol se obtuvo como resultado una interacción antinociceptiva de tipo supraditativa o sinérgica, que se observó tanto para la fase I como para la fase II. Esto se concluye a partir de la ubicación del punto experimental, que está bajo la línea de aditividad, y se acompaña con índices de interacción (I.I.) estadísticamente menores a 1 en ambas fases (fase I= 0,082; fase II= 0,104). El sinergismo producido por estos fármacos, es concordante con la teoría general de interacción de drogas, que establece que la combinación de fármacos es más efectiva que cuando actúan en forma individual ya que tienen mecanismos de acción analgésicos diferentes por lo tanto, la posibilidad de que actúen de forma supraaditativa es mayor (48).

Además se debe considerar que, aunque no existe un criterio definitivo que explique el mecanismo por el cual se produce la sinergia entre fármacos (44), hay diversas teorías que proponen posibles mecanismos, entre los cuales se pueden mencionar sus acciones tanto en la periferia como a nivel central, dexketoprofeno presenta una actividad similar sobre isoenzimas COX-1 y COX-2 en estudios *in vitro*, y que puede alcanzar concentraciones suficientes en el SNC para inhibir la síntesis de PGs a los 20 minutos de administrarlo vía oral (9). Otra forma que explica esta interacción es la inhibición que ejercen los agonistas del receptor MOR, en la sustancia gris periacueductal, sobre interneuronas GABAérgicas que bloquean ciertas vías de control descendente, la inhibición de estas neuronas la vemos mediada por el ácido hidroperoxieicosatetraenoico (HPETE), que se metaboliza a partir del ácido araquidónico por la enzima lipooxigenasa 12 (LOX-12). El dexketoprofeno al inhibir COX, aumenta la disponibilidad de ácido araquidónico para ser utilizado en la vía de LOX-12 inhibiendo la liberación de GABA.

Este estudio demostró la actividad analgésica de Dexketoprofeno y Tramadol en ambas fases del ensayo de la formalina orofacial (fase I algésica y fase II algésica-inflamatoria), y que la asociación entre ambos producen un efecto

supraaditivo o sinérgico. En este caso se ha usado un modelo de dolor animal explicativo y pre-clínico. El cual pudiese ser un modelo útil para evaluar analgésicos diseñados para su aplicación clínica paralela en seres humanos, para el tratamiento del dolor orofacial. Esto da pie e incentivo para la generación de futuras investigaciones. Este sinergismo observado al coadministrar dexketoprofeno y Tramadol, se traduce en la utilidad clínica de que es posible disminuir la dosis necesaria de cada fármaco. Reduciendo de esta manera los efectos adversos propios de los AINEs y de un opiode como en este caso el Tramadol.

IX. CONCLUSIONES

- La administración intraperitoneal de Tramadol produce una actividad antinociceptiva dosis dependiente, en el test algesiométrico de la formalina, tanto en la fase algésica (fase I) como en la fase algésica-inflamatoria (fase II) en ratón.
- La administración intraperitoneal de dexketoprofeno produce una actividad antinociceptiva dosis dependiente, en el test algesiométrico de la formalina, tanto en la fase algésica (fase I) como en la fase algésica-inflamatoria (fase II) en ratón.
- La coadministración intraperitoneal de dexketoprofeno y Tramadol demostró la existencia de una interacción de tipo sinérgica entre ambos fármacos tal como es representado por el isoblograma. Esto puede deberse al diferente mecanismo de acción de ambos fármacos en la cual la activación paralela de diferentes sistemas puede modular una vía común, o bien un compuesto puede aumentar la afinidad y/o unión del otro.
- Al administrar intraperitonealmente la combinación de dexketoprofeno y Tramadol en ratón se produce una actividad antinociceptiva dosis dependiente, en el ensayo de la formalina orofacial, tanto en la primera como en la segunda fase. Esto sugiere mayor efecto analgésico con menores dosis, disminuyendo la posibilidad de efectos adversos propios de cada fármaco.
- Tramadol posee mayor potencia analgésica que dexketoprofeno tanto en la fase I (algésica) como en la fase II (algésica-inflamatoria) en ratón.
- Las curvas dosis-respuestas de dexketoprofeno y Tramadol no son estadísticamente paralelas.
- Los hallazgos obtenidos no pueden ser extrapolados clínicamente, no obstante, respaldan futuras investigaciones clínicas que utilicen la combinación de ambos fármacos, para el mejor control del dolor orofacial y reducción de efectos adversos.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Jeske AH, (2002). selecting new drugs for pain control: evidence-based decisions or clinical impressions. *J Am. Dent. Assoc.* 133:1052-1056.
- [2] Miranda HF, Sierralta F, Prieto JC (2009). Synergism between NSAIDs in the orofacial formalin test in mice. *Neurosci Biobehav Rev*;92:314-318.
- [3] Lorenzo P, Moreno A, Leza JC, Lizasoain I, Moro M.A. Velazquez (2004). *Farmacología básica y clínica 17° edición.* Buenos Aires; Madrid. Médica Panamericana.
- [4] Burian M, Geisslinger G (2005). COX-dependt mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 107:139-154.
- [5] Moreno C, Prada D (2004). Fisiopatología del dolor clínico. En *Guía Neurológica 3.* Asociación colombiana de neurología. Bogotá, ExLibris Editores. p 9-21.
- [6] Grond S, Sablotski A (2004). Clinical pharmacology of tramadol. *Clin Pharmacokinet*; 43 : 879-923.
- [7] Hutt AJ, Tan SC (1996). Drug chirality and its clinical significance. *Drugs*, 52 suppl. 5:1-12.
- [8] McConathy J, Owens MJ, Antonijoan RM, Gich I. (2003). Stereochemistry in Drug Action. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry.* Apr; 5(2):70-73.
- [9] Mauleón D, Artigas R, García ML, Carganico G (1996). Preclinical and clinical development of dexketoprofen. *Drugs*, 52 suppl 5: 24-46.
- [10] Ossipov MH, Jerussi TP, Ren K, Sun H, Porreca F (2003). Differential effects of spinal(R) –ketoprofen and (S) –ketoprofen against sings of neuropathic pain and tonic nociception:evidence for a novel mechanism of action of (R) –Ketoprofen against tactile allodynia. *J. Pain*, 87 suppl 2:193-9.
- [11] Tallarida RJ (2000). *Drug synergism and dose-effect data analysis.* Chapman and Hall/CRC, New York.
- [12] Le Bars D, Gozariu M, Cadden S. (2001). Animal Models of Nociception. *Pharmacol Rev* 53:597–652.
- [13] Capone F, Aloisi AM (2004). Refinement of pain evaluation techniques. The formalin test. *Ann Ist Super Sanità.* 40:223-229.

- [14] Bonica JJ (1990). Anatomic and physiology basics of nociception and pain. En: The management of pain. 2ª Edición. Philadelphia: Lea & Febiger. Cap3. p 28 -94.
- [15] Ronald Melzack, Ph.D (2001). Pain and the neuromatrix in the brain. Journal of Dental Education, 65:(12) 1378-1382.
- [16] International Association for the Study of Pain. (1979). Pain terms: A list with definitions and notes on usage. Pain. 6: 249-52.
- [17] Sluka K. (2009). Mechanisms and management of pain for the physical therapist. IASP Press, Seattle. p 411.
- [18] Paeile C, Bilbeny N (2005). El dolor de lo molecular a lo clínico. 3ª Edición. Editorial Mediterraneo. Buenos Aires. Capítulo 1. p.26-30.
- [19] Turk DE, Okifuji A, Butler JD, Chapman SH, Loeser CR (2001). Pain Terms and Taxonomies of Pain. In: Bonica's Management of Pain. 3ª ed. Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins.
- [20] Reig M, Busquets CJ, Ribera MV (2002). Neuroanatomía del Dolor: Bases Anatómicas de la Percepción Dolorosa. p 217-250. Monografies Mèdiques de l'Acadèmia de Ciències Mèdiques de Catalunya i de Balears. Unidades de dolor. Realidad hoy, retos para el futuro.
- [21] Cervero F, Laird J, Aliaga L, Baños JE, de Baruteil C, Molet J (2002). Fisiología del dolor Rodríguez de la serna editores, Tratamiento del dolor 2ª Ed Barcelona: P.Permanyer:S.L.p.9-25.
- [22] López García J, Herrero J (1998). Somestesia: mecanorrecepción, termorrecepción y nocicepción. Manual de Neurociencia. Editorial Síntesis. p 457-482.
- [23] Benarroch E (2005). Dolor: Conceptos emergentes en fisiología y fisiopatología. Rev Neurol Argentina; 30:70-82.
- [24] Julius D, Basbaum A. (2001), Molecular mechanisms of nociception. Nature; 413:203-210.
- [25] Basbaum AI, Jessell TM (2000). The perception of Pain. Principles of Neural Science. 4ª Edición. p 472-491.
- [26] Villanueva L. (1998). The dorsal horn of the spinal cord: hypotheses about its role in the processing of signals that originate pain sensations. Rev. Soc. Esp. Dolor; 5:52-69.

- [27] Lamont LA, Tranquilli WJ, Grimm KA. (2000). Physiology of Pain. Management of pain. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 30:703-728.
- [28] Raboisson P, Dallel R (2004). The orofacial formalin test. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 28:219-226.
- [29] Martin TJ, Eisenach JC (2001). Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states. *J. Pharmacol. Exper. Ther* 299: 811-817.
- [30] Christie MJ, Connor M, Vaughan CW, Ingram SL, Bagley EE (2000). Cellular actions of opioids and other analgesics: Implications for synergism in pain relief. *Clin Exper Pharmacol Physiol.* 27: 520-523.
- [31] Baek SJ, Wilson LC, Lee CH, Eling TE (2002). Dual function of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): inhibition of cyclooxygenase and induction of NSAID-activated gene. *J Pharmacol Exp Ther.* 301:1126-1131
- [32] Gómez-Moreno G, Guardia J, Cutando A, Calvo J (2009). Pharmacological interactions of anti-inflammatory-analgesics in odontology. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 14(2):81-89.
- [33] Kristina E, Furse, Derek A Pratt, Claus Schneider, Alan R. Brash, Ned A. Porter and Terry P. Lybrand (2006). Molecular dynamics simulations of Arachidonic Acid-derived pentadienyl radical intermediate complexes with COX-1 and COX-2: insights into Oxygenation region and stereoselectivity. *Biochemistry.* 45: 3206-3218.
- [34] Vane J. (2003). The mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Int J Clin Pract. Suppl.* (135): 2.
- [35] Warner TD, Mitchell JA (2004). Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J.* 18:790-804.
- [36] Leone S, Ottani A, Bertolini A (2007). Dual acting anti-inflammatory drugs. *Current Topics in Medicinal Chemistry.* 7:265-275.
- [37] Jin Cheng Yao, Wei Gang Duan, Yu Yun, De Quan Liu, Ming Yan, Zhen Zhou Jiang, Lu Yong Zhang. (2007). 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* 127: 527-532.
- [38] Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL (2002). COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:13926-13931.

- [39] Sweetman BJ. (2003). Development and use of the quick actino chiral NSAID desketoprofen trometamol (keral). *Acute Pain*. 4:109-115.
- [40] Minami K, Uezono Y, Ueta Y (2007). Pharmacological Aspects of the Effects of Tramadol on G-Protein Coupled Receptors. *Journal of Pharmacology* 103, 253-260.
- [41] López- Muñoz FJ, Diaz Reval M, Terrón JA, Déciga M (2004). Analysis of the analgesic interactions between Ketorolac (NSAID) and Tramadol (atypical opioid drug) during arthritic nociception in rat. *Eur J Pharmacol* 484:157-165.
- [42] Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. (1999). Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Sciences National Research Council. Edición Mexicana auspiciada por la Academia Nacional De Medicina. Copyright National Academy Press, Washington, D.C.
- [43] Guide for the care and use of laboratory animals. (2010). Canadian Council on Animal Care (CCAC). 8^a Edition.
- [44] Miranda HF., Puig MM., Dursteler C., Prieto JC., Pinardi G (2007). Dexketoprofen-induced antinociception in animal models of acute pain: synergy with morphine and paracetamol. *Neuropharmacology*. 52: 291-296.
- [45] Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JL (1992). Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. *J Pharmacol* 260:275-85
- [46] Luccarini P, Childeric A, Gaydier A-M, Voisin D, Dallel R (2006). The Orofacial Formalin Test in the mouse: A Behavioral Model for Studying Physiology and Modulation of Trigeminal Nociception. *J. Pain*;12: 908-914.
- [47] Miranda Hugo F, Pinardi G (1997). Farmacodinamia Mecanismo de acción de las drogas. Santiago, Chile. Editorial Mediterráneo. p 53.
- [48] Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A (2005). Farmacología Humana. 4^o Edición, Masson, Barcelona, España. Cap. 22. p 355-387.
- [49] Waldhoer M, Barlett SE, Whistler JL (2004). Opioid receptors. *Annu Rev Biochem*, 73:953-990.

Anexo 1
Clasificación de los AINEs, Flores 2005 (47).

GRUPO FARMACOLÓGICO	INHIBIDORES NO SELECTIVOS DE COXS	INHIBIDORES SELECTIVOS DE COX-2
ÁCIDOS		
<ul style="list-style-type: none"> • Salicílico 	Ácido Acetilsalicílico	
<ul style="list-style-type: none"> • Enólicos - Pirazonas - Pirazolidindionas - Oxicams 	Metamizol Fenilbutazona Piroxicam, Tenoxicam	Meloxicam
<ul style="list-style-type: none"> • Acético - Indolacético - Pirrolacético - Fenilacético - Pironoindolacético 	Indometacina Ketorolaco Diclofenaco Naproxeno	Etodolaco
<ul style="list-style-type: none"> • Propiónico 	Naproxeno Ibuprofeno Ketoprofeno, Dexketoprofeno	
<ul style="list-style-type: none"> • Antralínico 	Ácido Mefenámico	Amidas Ésteres meclofenamatos
<ul style="list-style-type: none"> • Nicotínico 	Clonixina	
NO ÁCIDOS		
<ul style="list-style-type: none"> • Sulfoanilidas • Alcalonas • Paraaminofenoles • Coxibs 	Nabumetona Paracetamol	Nimesulida Celecoxib Rofecoxib

Anexo 2



1762
- 6 SET. 2007

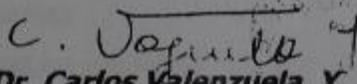
**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
COMITE DE BIOETICA SOBRE INVESTIGACION EN ANIMALES**

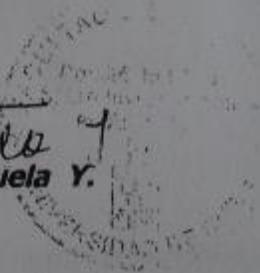
CERTIFICACIÓN

Este Comité, certifica que en el Proyecto de Investigación titulado: "*Perfil farmacológico de analgésicos en dolor crónico experimental*" cuyo investigador responsable es el **Dr. Hugo F. Miranda** no se plantean acciones que contravengan las normas Bioéticas básicas de Manejo y Cuidados de los animales a utilizar en los procedimientos experimentales planificados (Protocolo CBA# 0238 FMUCH).

El Dr. Miranda se ha comprometido a mantener los procedimientos experimentales planteados en el Protocolo de trabajo y a no realizar ninguna modificación sin previa información y posterior aprobación por parte de este Comité.

Se otorga la presente certificación por el tiempo que dure la realización del proyecto indicado, financiado por Laboratorios Menarini.


Dr. Carlos Valenzuela Y.
Presidente



Santiago, 30 de agosto 2007
CBA # 0238
CVY/rkv