

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

**“SINERGISMO DE LA COMBINACIÓN DICLOFENACO TRAMADOL
EN DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL”**

Leonardo Antillo Acuña

TRABAJO DE INVESTIGACION
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE
CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Hugo F. Miranda

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dr. Fernando Sierralta

Santiago - Chile

2010

DEDICATORIA

*A Dios y a mi familia, porque en ellos están mis raíces.
En especial a mis padres por toda
la paciencia que me han tenido*

AGRADECIMIENTOS

INDICE

	Páginas
Resumen	
Introducción y Marco teórico	1
Hipótesis	28
Objetivos	28
Material y Método	29
Resultados	35
Discusión	41
Conclusiones	44
Sugerencias	45
Bibliografía	46

INTRODUCCIÓN

El dolor corresponde a un síntoma que funciona como un sistema de alarma sensorial que en las etapas agudas va asociado a un comportamiento de evitación de la noxa con una función de protección que permite adaptarnos al medio en el cual nos desenvolvemos. Pero cuando se vuelve crónico la función adaptativa se pierde y se asocia con un menoscabo de la calidad de vida, sufrimiento, automedicación y trastornos en el medio sociocultural en el que se desarrolla el individuo. Por las razones mencionadas anteriormente, el equipo de salud se ha preocupado de disminuir el dolor especialmente cuando este se vuelve crónico o como terapéutica paliativa en patologías irreversibles.

En la actualidad, para el manejo del dolor se utilizan herramientas como la fisioterapia, intervenciones quirúrgicas, farmacoterapia, entre otras. En relación a la farmacoterapia los últimos esfuerzos han estado orientados a disminuir el dolor de la forma más eficiente posible.

Existe una gran variedad de analgésicos para aliviar o eliminar muchos dolores, la dificultad radica que para conseguir una analgesia efectiva al administrar un único fármaco, las dosis necesarias son, en general, muy altas por lo que aparecen efectos secundarios incompatibles con el bienestar del individuo.

La asociación de medicamentos que actúen por mecanismos diferentes es una estrategia que permite obtener una analgesia adecuada o incluso en algunos casos superior con dosis menores disminuyendo los efectos secundarios indeseables.

Los antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) son una gran variedad de fármacos que actúan inhibiendo a las ciclooxigenasas, evitando que se formen elementos proinflamatorios a nivel central y periférico. Siendo medicamentos de elección en el manejo del dolor orofacial.

Otro tipo de fármacos utilizados con menor frecuencia en el manejo del dolor orofacial, son los opioides, fármacos que como su nombre lo indica, fueron aislados desde el opio.

A diferencia de los AINEs su mecanismo de acción es a través de la unión de receptores específicos a nivel central (SNC), inhibiendo así los impulsos nociceptivos provenientes del sitio injuriado.

El presente trabajo tiene por objetivo general comparar la actividad antinociceptiva del diclofenaco con la del tramadol usando el test de la formalina orofacial en ratones mediante el análisis isoblográfico.

MARCO TEORICO

A.- clasificación del dolor:

El estudio sobre el dolor se ha convertido en los últimos 30 años, en el campo de la investigación neurológica de más rápido desarrollo, lo cual ha tenido profundas implicancias clínicas en el tratamiento de los pacientes que sufren de este mal.

Ha sido definido por la asociación internacional para el estudio del dolor (IASP) como: “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descritas en términos de ese daño”

En esta definición el término *potencial* indica que si el dolor se mantiene por un tiempo prolongado, la permanencia de la noxa provocará un daño tisular efectivo (1).

La nocicepción es un mecanismo a través del cual, estímulos nocivos son transmitidos al sistema nervioso central (SNC), el cual participa en la capacidad de analizar la naturaleza, localización, intensidad y duración de la estimulación nociceptiva (1).

Actualmente se entiende el dolor como la integración de tres componentes:

1. *Sensorial-discriminativa*: su función es transmitir la estimulación aversiva e informa con precisión sobre la intensidad, duración, localización y cualidades de la misma.
2. *Motivacional-afectiva*: caracteriza el dolor como desagradable y aversivo, lo que genera en el sujeto distintas respuestas emocionales (miedo, ansiedad, etc.).
3. *Cognitivo-evaluativo*: da significado al dolor en función de la experiencia anterior del sujeto, contexto socioambiental, valores, etc.

Existen múltiples clasificaciones del dolor, pero tal vez las más utilizadas sean aquellas basadas en su evolución (dolor agudo o crónico) y en la naturaleza de su origen (dolor somático, visceral, neuropático y psicogénico) entre otras (2,3).

1. Según duración o evolución

a) *Dolor agudo:*

Es producido por un daño tisular importante y su duración depende del lapso estimado como suficiente para que los tejidos sanen. Esta definición implica una división temporal que aun no esta del todo consensuada, según el comité de taxonomía de las algias de la asociación internacional del estudio del dolor (IASP) propone un tiempo de 3 meses y algunos autores sugieren un periodo de hasta 6 meses. De acuerdo con esta característica, el dolor agudo constituye un mecanismo fisiológico útil, necesario y protector, puesto que evita que nos exponamos a estímulos dañinos mediando reflejos de protección limitando el daño e iniciando los procesos de reparación. Este es el dolor observado después de un trauma, intervenciones quirúrgicas y en algunas enfermedades (2, 4).

b) *Dolor crónico:*

Se observa la persistencia del dolor aún después de que se ha reparado el tejido dañado. El dolor crónico puede ser debido a la persistencia en la estimulación de los nociceptores en áreas donde ha ocurrido daño tisular en ausencia de estímulo desencadenante. En la mayoría de los casos, se le atribuyen causas de tipo neurológica, endocrina e inclusive genética. Carece de propiedades biológicas reparadoras. No tiene valor adaptativo, ya que no es capaz de evocar respuestas reflejas ni conductuales protectoras, por el contrario, su percepción determina cambios psicológicos y cognitivos que influyen negativamente en la sobrevida del afectado (2,4).

El dolor crónico suele ser refractario a variados tratamientos y está asociado a numerosos síntomas psicológicos como depresión, ansiedad, miedo, insomnio y alteraciones del comportamiento.

2. Según origen o fisiopatología

a) *Dolor somático o nociceptivo o fisiológico:*

Es aquel que aparece cuando un estímulo potencialmente dañino para la integridad física excita los receptores nociceptores de la piel, músculos o articulaciones. Es habitualmente bien localizado y el paciente no tiene grandes dificultades en describirlo.

b) *Dolor neuropático:*

Es el resultado de lesiones o alteraciones crónicas en vías nerviosa periféricas o centrales. Se produce por anomalías funcionales (desaferenciación, irritación o defecto de inhibición del sistema nervioso) o estructurales del mecanismo de información/transmisión o codificación del dolor, lo que ocasiona descargas espontáneas y paroxísticas que son interpretadas como dolor. De tal manera que el dolor no tiene relación con la lesión tisular.

Puede desarrollarse y persistir en ausencia de estímulo nocivo evidente, e involucran el sistema nervioso central. Se caracteriza porque el síntoma se presenta como una sensación basal o quemante (disestesia), con hiperalgesia o alodinia (percepción de cualquier estímulo como doloroso).

c) *Dolor psicógeno:*

No resulta de una estimulación nociceptiva ni de una alteración neuronal, sino de causa psíquica (depresión, ansiedad, hipocondría) o de la intensificación psicógena de un dolor orgánico, ya que si bien el daño

estuvo o esta presente, el problema central es la amplificación y distorsión de esos impulsos periféricos por el estado psicológico.

d) Dolor visceral:

El dolor visceral es producto de la estimulación de receptores de dolor que inervan estructuras viscerales tales como intestinos, órganos internos (ya sea de la cavidad craneana, torácica, abdominal o pélvica). Clásicamente es referido por el paciente como un dolor inespecífico de localización difusa, mal definido.

3. Según discriminación espacial

a) Dolor epicrítico:

Su localización es precisa dentro de un campo receptivo, de fácil discriminación. El paciente lo refiere habitualmente como punzante, lancinante, fulgurante, etc. Durante el trayecto hacia el SNC, los impulsos viajan por una sola vía preestablecida sin la emisión de impulsos paralelos.

b) Dolor protopático:

Corresponde a un dolor difuso, mal localizado y relatado por los pacientes como un dolor sordo que abarca extensiones anatómicas mayores que el dolor epicrítico. Durante el trayecto al SNC, los impulsos pueden hacerse divergentes por emisión de vías colaterales, o recibir aferencias de neuronas de otros dermatomas, dando lugar al dolor referido.

B.- Neurofisiología del dolor:

Para que el organismo genere una respuesta dolorosa se necesita de la participación de un sin número de redes de vías neuronales, de neurotransmisores, de centros de integración de información y generación de la respuesta. En forma acotada, el esquema para percibir dolor debe incluir :(5).

I. Una estructura periférica que actúe como receptor

Las vías involucradas en la transmisión de los impulsos dolorosos comienzan en receptores especiales denominados nociceptores, que son terminaciones nerviosas libres que se encuentran en diferentes tejidos corporales como son piel, vísceras, vasos sanguíneos, músculos, etc. Los impulsos dolorosos se transmiten hacia el sistema nervioso central por dos sistemas de fibras las A δ y C. las fibras A δ y C comparten la característica de poseer un umbral de excitación alto (en condiciones normales), confiriéndole la característica de nociceptores. La fibra se proyecta hasta el soma neuronal próximo a la médula, desde donde sale una proyección que hace sinapsis a nivel espinal (neurona en T). La característica de poseer mielina de la fibra A delta la convierte en aquella que transmite el dolor epicrítico, de respuesta rápida y de corta duración (6-20 μ m; velocidad de conducción 4-30 m/s). Por el contrario, la fibra C al ser mas delgada y amielínica, posee una velocidad de conducción mas lenta, por lo que antes de que el impulso alcance el SNC, esta descarga nuevamente para generar una respuesta, lo que ocasiona un dolor más persistente (0,3-1,5 μ m; velocidad de conducción 0,5-2 m/s).

La fibra C responde no solo a estímulos mecánicos intensos, sino que también a estímulos térmicos y químicos irritantes.

El daño celular y la inflamación aumentan las concentraciones de otros químicos tales como la histamina y serotonina, que son liberadas por los mastocitos y desencadenan la síntesis de prostaglandinas, tales como la PGE2 y

ácido monohidroxi-eicosatetraenoicos (HETE'S) desde células endoteliales, que generan hiperalgesia y otros efectos proinflamatorios .

También se produce la síntesis de bradicinina, una de las sustancias más algógenas de este proceso, en conjunto con iones potasio e hidrógeno. Estos mediadores adicionales actúan sinérgicamente para aumentar la transmisión de impulsos nociceptivos a través de las fibras sensoriales aferentes (6).

II. Una sinapsis a nivel de la médula espinal:

La proyección axonal proximal de la neurona en T se introduce en la médula hasta alcanzar alguna de las láminas de Rexed de la sustancia gris periacueductual. Las fibras A delta se distribuyen preferentemente en las láminas I,II,III,IV,V y X, mientras que las fibras C lo hacen preferentemente en las láminas I,II,VI y X. hacen sinapsis con neuronas de 2º orden que se dirigen al encéfalo a través de los distintos tractos. Al interior del asta posterior de la médula , existen interneuronas que pueden inhibir en forma presináptica o postsináptica a las neuronas nociceptivas, o bien, emiten ramas colaterales que sinaptan sobre los somas de las neuronas de la sustancia gelatinosa de Rolando y estas sinaptan sobre las vías del asta dorsal inhibiendo la descarga de la neurona nociceptiva sobre la 2º neurona de la vía del dolor, en lo que se conoce como “teoría de la compuerta”, elaborada por Melzack y Wall en el año 1965, y que constituye uno de los sistemas fisiológicos para el control del dolor (1).

III. Vías de conducción desde la médula hacia los centros superiores como el bulbo, diencefalo, corteza, etc.

La prolongación central de la neurona pseudounipolar hace sinapsis en el asta dorsal, desde allí una segunda neurona cruza la línea media y asciende junto a la información que viene de niveles inferiores a través del tracto espinotalámico lateral, que asciende por el cordón lateral. Luego esta información llega al núcleo ventro-postero-lateral del tálamo en donde hace sinapsis. A este núcleo llega la información del dolor y temperatura de todo el cuerpo, a excepción de la cabeza.

Desde allí sale una tercera neurona tálamocortical que terminará en la corteza cerebral, específicamente al área sensitiva primaria que se establece en el giro postcentral o circunvolución parietal ascendente, en donde se encuentra el homúnculo sensitivo. Esta vía consta por tanto, de tres neuronas, y es conocida como sistema neoespinotalámico, significa que es más nuevo dentro de la evolución (5).

IV. Vías descendentes desde los centros superiores (corteza, tálamo y núcleos reticulares) a la médula, que actúan como mecanismos principalmente inhibitorios (pueden ser facilitatorios).

Desde los centros superiores, las vías descendentes realizan sinapsis en otros centros de control del dolor , como son hipotálamo, amígdalas unidas por la reticular a la sustancia gris periacueductual, el núcleo del tracto solitario (en los casos de nocicepción visceral por la gran cantidad de aferencias vagales), proyecciones en los núcleos parabraquiales y dorsolaterales; y finalmente, las eferencias hacia los nociceptores periféricos A delta y C, formándose un complejo de situaciones de retroestimulación y posteriormente inhibición.

Nocicepción a nivel facial:

Lo detallado anteriormente corresponde al proceso de nocicepción de los dermatomas inervados por el 2º nervio cervical hacia abajo, por lo tanto para poder describir el proceso doloroso facial es necesario hacerlo por separado ya que posee características especiales dese el punto de vista anatómico.

La inervación sensitiva de la cara esta dada por varios nervios craneales entre ellos se puede mencionar el nervio facial, el glossofaríngeo, el vago y el trigémino, este último es quién proporciona la mayor parte de la sensibilidad al rostro y por ende de dolor, por lo tanto nos abocaremos a describirlo con mayor detalle.

El nervio trigémino se divide en 3 ramas para inervar los 3 tercios del rostro y sus anexos (cavidad bucal, fosas nasales, cavidad orbitaria, etc.), además de la inervación de las meninges en las fosas craneales anterior y media a través de sus ramos intracraneales. El recorrido de la vía nociceptiva facial se describe a continuación:

I. El nociceptor percibe el estímulo en la periferia, pasando por el ganglio de Gasser, lugar donde se unen las 3 ramas del Trigémino y donde se encuentran los núcleos de dichas neuronas, salvo las neuronas propioceptivas en que la mayoría de los cuerpos celulares están en un núcleo del tallo cerebral, (núcleo mesencefálico del trigémino) luego sus axones aferentes penetran en la protuberancia anular por delante del pedúnculo cerebeloso medio.

II. Una vez al interior de la protuberancia, las fibras sensitivas del trigémino se dirigen hacia alguno de los 3 núcleos sensitivos:

a) Núcleo sensitivo principal o pontino, que como su nombre lo indica, se ubica a la misma altura del lugar de entrada de las fibras sensitivas, en el puente, a este núcleo llegan aferencias de fibras de gran diámetro para el tacto discriminativo y para el tacto ligero y además recibe algunas ramas de los axones de neuronas del núcleo mesencefálico del trigémino.

b) Núcleo mesencefálico, en posición superior, en las inmediaciones del mesencéfalo, aquí se encuentran los somas de las neuronas propioceptivas.

c) Núcleo espinal, más largo que los anteriores y extendiéndose hasta el tercer segmento cervical (C3). Está dividido en 3 subnúcleos; oral, interpolar y caudal, en ellos está representada la sensibilidad de los labios, dientes y mucosa de la cavidad oral. La porción caudal, que recibe fibras para el dolor y temperatura, se extiende desde el nivel de la decusación piramidal hasta los primeros tres niveles cervicales, relacionándose con las láminas I-IV del

cuerno gris dorsal que permitirían así el control por la teoría de la compuerta (5).

III. Desde los núcleos trigeminales sale una neurona que va a sinaptar en el núcleo ventro pósteromedial (VPM) del tálamo y desde aquí se proyecta al extremo inferior del área somatosensorial primaria de la corteza cerebral, donde posee una gran representación como lo demuestra el homúnculo sensitivo.

Control descendente del dolor:

Las vías descendentes del dolor realizan sinapsis en diversos núcleos que albergan distintas poblaciones de neuronas tanto a nivel del tronco cerebral como de estructuras cerebrales, jugando un rol facilitador de la transmisión nociceptiva o un rol inhibitorio de la respuesta dolorosa, dependiendo del receptor al cual se acoplen.

A nivel espinal los mecanismos descendentes están dados básicamente por 3 tipos de neuronas; serotoninérgica, noradrenérgicas y, con menor importancia, dopaminérgicas (7). Estas vías descendentes monoaminérgicas pueden actuar de 3 formas:

- a) Mediante la inhibición presináptica a través de la reducción directa de los neurotransmisores pronociceptivos desde las fibras A δ y C.
- b) Mediante la activación de interneuronas intrínsecas inhibitorias o inhibición de interneuronas intrínsecas excitadoras del asta dorsal.
- c) Actuando sobre la neurona de proyección involucrada en la transmisión del dolor hacia estructuras supramedulares, acción que puede ser ejercida directamente sobre las neuronas de proyección o en forma indirecta mediante la activación de interneuronas inhibitorias o la inhibición de interneuronas excitadoras.

Describiremos a las dos neuronas monoaminérgicas más importantes:

- Las neuronas serotoninérgicas se encuentran principalmente en el núcleo del *rafe magnus*, y sus fibras se distribuyen generosamente en la médula espinal, principalmente láminas I y II del asta posterior y en otros núcleos. Interactúa tanto con neuronas de proyección que llevan información hacia el tálamo o al núcleo parabraquial, 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 la antinocicepción son 5-HT₁, 5-HT₂, 5HT₃ y 5HT₄₋₇. Sin embargo, dichos receptores también se asocian a procesos facilitatorios. La ocurrencia de uno u otro hecho depende de una serie de redes neuronales que interactúan entre si.

- Las neuronas noradrenérgicas se ubican en los núcleos A5, A6 en el *locus coeruleus* y A7 en el puente (*subcoeruleus*). Se distribuyen ampliamente entre las *neuronas de la médula espinal* especialmente en las láminas VI, VII, VIII y IX, fibras que provienen esencialmente de los núcleos A5 y A6, y también sobre las láminas I-II, IV-V y X del asta posterior con aporte adicional de la fibras que provienen del núcleo A7. La capacidad antinociceptiva de la noradrenalina esta basada en su acción a nivel postsináptico (al interior del asta dorsal). Sin embargo, existen también estudios que avalan su capacidad de actuar directamente sobre el nociceptor. La liberación de sustancia P, por parte de neuronas que se encuentran en las sustancias gris periacueductal, las aferencias provenientes del hipotálamo y la administración supraespinal de cannabinoides, colinérgicos y neurotensinas desencadenan la liberación de noradrenalina desde los núcleos, actuando en los receptores α_1 y α_2 . La acción de esta monoamina sobre las interneuronas inhibitorias encefalinérgicas (liberadoras de encefalinas) y GABAérgicas (liberan ácido gama-amino.butírico (GABA) ubicada en el asta dorsal es mediada por el receptor α_1 . A su vez, 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. Se ha observado que los agonistas del receptor α_2 disminuyen significativamente la alodinea mecánica en modelos del dolor neuropático, en comparación con los opioides.

Otros sistemas de control descendentes del dolor es el eje opioide sistema que incluye ligando y receptores específicos que por medio de interneuronas opiopeptidérgicas que se encuentran en el asta dorsal inhiben a las neuronas de proyección nociceptivo- específica de la lámina I y a las convergentes de las láminas IV, V, VI.

Los receptores opioides más conocidos son DOR (delta), KOR (Kappa) y MOR (mu), existiendo otros como el OFQ/N y el ORL-1 (opioide receptor like) (8). Estos receptores se encuentran acoplados a proteínas G inhibitorias de la membrana neuronal (Gi/o), los que al unirse con un ligando a fin, desencadenan una cascada de acontecimientos que comienza con un aumento en la conductancia del K^+ , esto a su vez provoca hiperpolarización con lo que se inhibe la conductancia del Ca^{+2} lo que posteriormente inhibe a las adenilato-ciclasas (AC) acopladas transmembrana y con ello disminuye el AMPc intracelular, provocando finalmente una disminución de la excitabilidad neuronal (7,8,9). Observaciones recientes han mostrado la presencia de heterodímeros de estos receptores (MOR/DOR, KOR/DOR) en la membrana de las neuronas, las cuales presentan características de acoplamiento y unión a ligando distintas a sus respectivas unidades monoméricas (7). Esto podría explicar la gran variabilidad de respuesta de estos receptores, ante un mismo ligando (10,11). Además se debe tener presente la variedad de ligando para receptores opioides conocidos; en la actualidad se sabe de al menos 7 tipos de péptidos endógenos que se unen a los receptores opioides (7,8). Estudios inmunohistoquímicos han demostrado que los receptores para los péptidos opioides no sólo se encuentran en el SNC, sino que también alcanzan la periferia se han encontrado estos péptidos distribuidos en el

tubo digestivo, la glándula suprarrenal, aparato reproductor, entre otros (17), lo que explicaría que de cierta forma las reacciones adversas a los fármacos opioides advertidas en otros sistemas del organismo humano.

Dentro del sistema nervioso la distribución de los péptidos opioides y sus receptores amplia se lo puede encontrar en regiones de la corteza somestésica, prefrontal, orbitaria y cerebelosa, tálamo, ganglios basales (núcleo caudado, globo pálido y putamen), hipotálamo, sistema límbico, hipófisis anterior y posterior, ganglios trigéminales, petroso y yugular y varias regiones del tronco cerebral. Todas estas estructuras se hayan íntimamente conectadas con la transmisión del estímulo doloroso (7,12).

C.- control farmacológico del dolor:

Existe un amplio arsenal de fármacos que modifican la respuesta dolorosa, éstos pueden operar de diversas formas:

a) Afectando la conducción del estímulo doloroso esto se origina cuando se ejerce una acción inhibitoria reversible en la conducción del potencial de acción de las membranas despolarizables de la neurona, de este modo actúan los anestésicos locales (Ej.: lidocaína y procaína) (13). O bien, injuriando el nervio, como lo hacen los alcoholes y fenoles, condición que puede llegar a ser irreversible.

b) Actuando a nivel central, acoplándose a receptores específicos ubicados en los centros de control descendente del dolor, como lo hacen los fármacos opioides (actualmente estos fármacos son los más efectivos para la inhibición del dolor, pero su gran defecto son las reacciones adversas), o bien inhibiendo la recaptación de monoaminas, como los antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la

monoamino-oxidasa (IMAO's) o los inhibidores de la recaptación de serotonina o noradrenalina los cuales tienen acción antinociceptiva central.

c) Ejerciendo a nivel periférico, modulando la respuesta inflamatoria local en el sitio de la injuria, lo que determina una disminución de envío de señales dolorosas hacia el sistema nervioso central. De esta forma actúan los fármacos antiinflamatorios, ya sean esteroidales (corticoides) o no esteroidales (AINES).

Existe una gran variedad de agentes capaces de producir un poderoso y selectivo efecto en la inhibición de la neurotransmisión dolorosa, tanto a nivel preclínico, en animales, como a nivel clínico, en el ser humano. Así, se pueden mencionar los fármacos alfa-adrenérgicos, serotoninérgicos, colinérgicos, nitridérgicos, antidepresivos, antiepilépticos, anestésicos locales, cannabinoides, anti-inflamatorios no esteroidales, opioides.

Para efecto de nuestro trabajo de investigación analizaremos y describiremos las características asociadas a dos familias de fármacos en particular: Opioides y Antiinflamatorios no esteroidales

AINES

Los AINEs (anti-inflamatorios no esteroidales) han sido conocidos por muchos años por actuar periféricamente reduciendo la producción de prostaglandinas, potentes mediadores hiperalgésicos, los cuales modulan múltiples sitios a lo largo de la vía nociceptiva e intensifican tanto el proceso de transducción: efecto de sensibilización periférica, como el de transmisión: efecto de sensibilización central (14).

Han asumido un papel terapéutico importante en el tratamiento de las enfermedades inflamatorias, ya que afectan la mayoría de las situaciones que

tienen en común un proceso inflamatorio: productos de la fagocitosis, liberación enzimática lisosomal, estímulos de quimiotaxis, activación de la coagulación, procesos fibrinolíticos, quininas y la cascada de la coagulación, entre otras (15).

Los AINEs son medicamentos que en su mayoría inhibe la acción de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), presente en los tejidos lesionados. Y además inhiben a la ciclooxigenasa 1 (COX-1) la que se encuentra presente en diversos tejidos, la cual media reacciones fisiológicas.

La inhibición de la ciclooxigenasa 2 es responsable de disminuir los efectos indeseables de la inflamación. Pero la inhibición de los efectos de la COX-1 es responsable de los efectos colaterales.

La mayoría de los AINES además de tener poder antiinflamatorio poseen otras características como son la acción analgésica y algunos antipirética. Acción derivada de su capacidad de inhibir a las ciclooxigenasas (COXs), enzimas específicas. En la actualidad deben sumarse el efecto antiagregante plaquetario y antitumorígeno que poseen algunos AINES. (16). Actualmente, el descubrimiento que la COX-2 es sobreexpresada en los cánceres colon rectal y de próstata, y que parece tener un rol en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer, sugieren que los futuros roles de los AINES se pueden extender para incluir la profilaxis de estas condiciones.

Los AINES incluyen una gran variedad de compuestos que en la mayoría de los casos no comparte relación química alguna. Pero si se relacionan por las actividades terapéuticas y por los efectos colaterales. (16).

Principales grupos químicos de AINES (17)

Salicilatos:	ASA (ácido acetilsalicílico), diflunisal
Derivados pirazolónicos:	aminofenazona (dipirona o metamizol),
Derivados del para-aminofenol	acetaminofeno o paracetamol
Derivados del ácido acético	indometacina
Derivados carboxílicos y pirrolacéticos	ketorolaco
Derivados del ácido fenilacético	diclofenaco , aclofenaco, tolmetina
Derivados del ácido antralínico	ácido mefenámico, clonixinato de lisina
Derivados del ácido propiónico	ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno, fenoprofeno.
Derivados enólicos	piroxicam, meloxicam, tenoxicam
Metasulfonamidas	Nimesulide

Mecanismo de acción de los aines

Toda membrana celular esta constituida por fosfolípidos los cuales al ser degradados por la enzima fosfolipasa A2 dan origen al ácido araquidónico (AA), este compuesto es sometido a la conversión por las COXs.

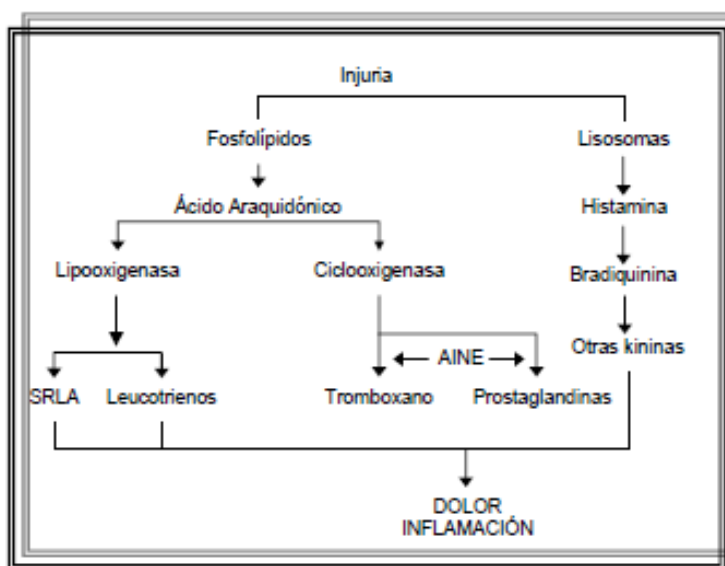


Figura 1. (Cashman Jeremy N. The mechanisms of action of NSAIDs in Analgesia. *Drugs*. 52: 13-23, 1996.)

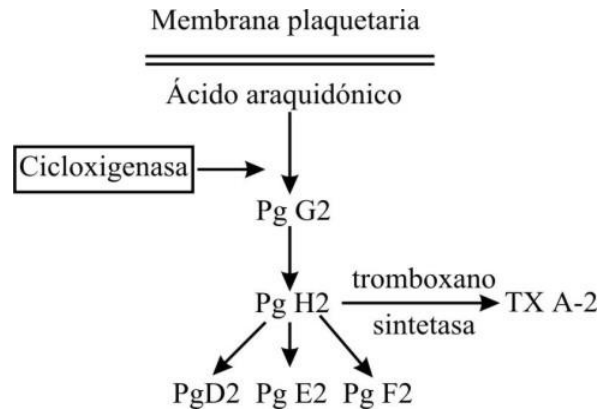


Figura 2. (Dennin EA. Diversity of group type regulation and function of phospholipase A2. J Biol Chem 1996; 209:13057-66.)

Cuando se produce la agresión de los tejidos celulares se activa la fosfolipasa A2 (FLA2) esta enzima hidroliza los enlaces ester de los fosfolípidos de membrana con la liberación del ácido araquidónico. (AA)(18). El ácido araquidónico es sometido a conversión por dos tipos de enzimas las lipooxigenasas (LOXs) y las ciclooxigenasas (COXs). (fig. 1)

Las COXs convierten a los AA en prostaglandina H2 (PGH2) las cuales posteriormente por acción de la prostaglandina sintetasa la transforma en variados productos pertenecientes al grupo de los eicosanoides (son productos que derivan de ácidos grasos esenciales de 20 carbonos), llamados prostanoides como las prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina las cuales juegan un rol fundamental en la homeostasis celular como también en la mediación de la respuesta inflamatoria (19, 20, 21).

La PGH2 también es metabolizado en las plaquetas a TXA2, sustancia poderosamente vasoconstrictora y agregante plaquetario, la tromboxano sintetasa es la enzima que media la formación de este mediador químico (fig.2).

La PGI2 es formada también a partir de PGH2 por acción de la prostaciclina sintetasa, solamente a nivel de los endotelios. La PGI2 tiene efectos opuestos al TXA2, ya que es vasodilatadora y antiagregante (22,23). En cambio el A.A., que

es metabolizado por la lipooxigenasa (LOX), dará lugar a la producción de leucotrienos, que son sustancias hipersensibilizantes y vasoconstrictoras.

Las prostaglandinas y leucotrienos son importantes mediadores del proceso inflamatorio y serán responsables de las manifestaciones clínicas de la inflamación (23).

Enzimas que participan en la síntesis de prostaglandinas

La COX-1 se expresa en forma *constitutiva* en casi todas las células. Los productos derivados de la acción de esta enzima son responsables de la homeostasis del organismo (24).

La COX-2, que es *constitutiva* en cerebro, pulmón, páncreas, riñón y ovario, necesita ser inducida en los otros tejidos, se expresa en forma transitoria y casi exclusivamente en células inflamatorias estimuladas y promueve la formación rápida y en gran escala de mediadores de la inflamación (16). Su concentración aumenta hasta 20 veces en células efectoras de la respuesta inflamatoria ante un estímulo nocivo, como los lipopolisacáridos y citoquinas (19,20) por ello también se le ha llamado enzima *inducible*.

La COX-3 es una variante de la COX-1 pero incluye el intrón 1 del ARNm por lo que su secuencia de aminoácidos aumenta entre 30 y 34. Se encuentra casi exclusivamente en el encéfalo y su acción es analgésica y antipirética al actuar sobre el hipotálamo (19). También se ha encontrado en el corazón, pulmón, tracto gastrointestinal y vasos sanguíneos (50).

Los AINEs ejercen su actividad antiinflamatoria a través de la inhibición de la COX-2 en el sitio de la inflamación. Pero también estos fármacos son capaces de inhibir la COX-1 en los tejidos gastrointestinales y renal, lo que genera efectos indeseables y puede limitar su utilidad terapéutica, expresando en otros términos la relación beneficio riesgo de los AINEs, que dependerá de su capacidad de bloquear en mayor o menor grado a estas formas de COX (16,25).

Reacciones adversas de los aines

La inhibición de las distintas COXs por los fármacos llevara a efectos beneficiosos como la modulación del dolor y efecto antiinflamatorio local, la disminución de las prostaglandinas también causa efectos adversos en otras zonas del organismo.

Es por esto que la capacidad de inhibir selectivamente o no selectivamente a las COXs constituye el principal criterio de clasificación de los AINEs. (fig. 3)

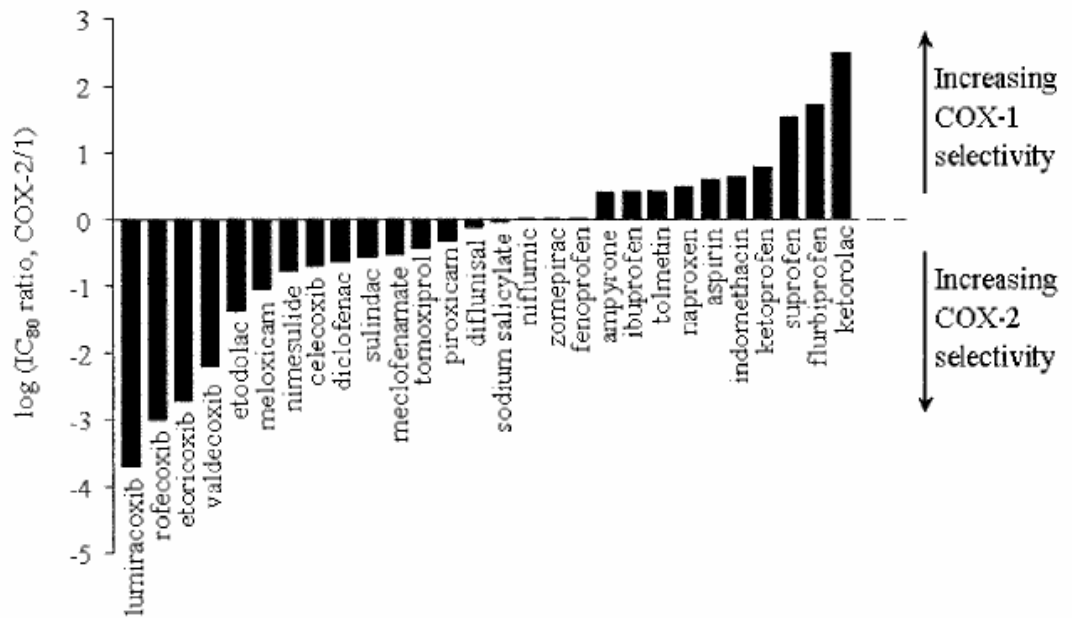


Figura 3. Efecto preferentemente COX-2 del diclofenaco (Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. FASEB J.18: 790-804, 2004.)

Algunas de las reacciones adversas de los AINEs son:

- *Renal*: Mayor riesgo de Insuficiencia renal, necrosis papilar, síndrome nefrótico, nefritis intersticial y fallo renal en insuficiencia cardiaca congestiva, cirrosis, insuficiencia renal.

La PGE2 reduce la reabsorción de agua en el nefrón causada por la hormona antidiurética. Los AINEs, al disminuir la producción de PGE2 provocan un aumento de la volemia y una consecuente hipertensión arterial.

- *Gastrointestinales*: Mayor riesgo de ulceración, perforación y sangrado (2-4 %). En pacientes con antecedentes de úlcera péptica, enfermedad cardiovascular y edad mayor de 65 años, esofagitis, pancreatitis.

- *Encefálico*: Mayor riesgo en pacientes que usan betabloqueadores.

- *Hematológicas*: Hemorragias por interferir con función antiagregante de las plaquetas, neutropenia y otras citopenias por fallo medular, principalmente con indometacina y fenilbutazona.

- *Cardiovascular*: Hipertensión arterial y secundariamente, infartos de miocardio y accidentes vasculares encefálicos. Mayor riesgo en pacientes que usan betabloqueadores.

- *Respiratorio*: Asma, rinitis, anafilaxia.

- *Dermatológicas*: Eritema multiforme (Steven-Johnson), angioedemas, fotosensibilidad, urticaria.

- *Sistema nervioso central*: cefaleas, depresión, confusión, alucinaciones, trastornos de personalidad, pérdida de memoria, irritabilidad. (27,28)

DICLOFENACO SÓDICO

El diclofenaco sódico es un AINE bien conocido que ha sido empleado durante muchos años en reumatología, puesto que parece ofrecer una combinación de eficacia y buena tolerancia.

Estudios a doble ciego frente a placebo han demostrado que el diclofenaco tiene un efecto analgésico dosis-dependiente y se ha comprobado que su efecto se basa en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, aunque se admite la hipótesis de que éste no es el único mecanismo de acción ya que intervienen concentraciones elevadas de beta-endorfinas en el plasma.

Es un fármaco que se administra por vía oral (VO), rectal, intramuscular e intravenosa (IV).

El diclofenaco corresponde a un AINE que actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas; éstas desempeñan una acción importante respecto de la aparición de la inflamación, dolor y fiebre. Inhibidor tanto de COX-1 como de COX-2, sin embargo, muestra una mayor selectividad por COX-2, al igual que nimesulide, celecoxib y meloxicam. (29). Esto se ve mediante estudios que muestran una marcada reducción en la excreción urinaria del metabolito TXB₂ y solo una moderada inhibición en la agregación plaquetaria, tampoco influyó en el tiempo de sangrado (30). Se absorbe en forma rápida y luego de ingerir 50mg, las concentraciones plasmáticas alcanzan el valor máximo de 3,9 µmol/L al cabo de 20 a 60 minutos. La mitad de la dosis se metaboliza en el hígado y se fija 99% a las proteínas séricas (albúminas). Se excreta 60% por orina en forma de metabolitos mientras que el resto se elimina por la bilis en las heces. Se usa en tratamientos breves de las siguientes afecciones agudas: procesos inflamatorios postraumáticos, reumáticos, extraarticular, infecciones dolorosas e inflamatorias de faringe, nariz, oído (ej.:faringoamigdalitis). Procesos dolorosos o inflamatorios en ginecología, dismenorrea primaria. Estados dolorosos postoperatorios. Sus reacciones adversas incluyen: dolor epigástrico, náuseas, vómitos, diarrea. Con

menor frecuencia hemorragias, úlcera péptica y en casos aislados colitis hemorrágica inespecífica y exacerbación de colitis ulcerativa. En el sistema nervioso central: cefaleas, mareos, vértigo. En raras ocasiones somnolencia y en casos aislados trastornos de la visión. A nivel dermatológico: erupción cutánea. En casos aislados: trombocitopenias, leucopenia, agranulocitosis, anemia hemolítica, anemia aplásica. A nivel renal: raras veces insuficiencia renal aguda, alteraciones urinarias, síndrome nefrótico. Induce reacciones de hipersensibilidad: broncoespasmos, reacciones sistémicas anafilácticas, incluso hipotensión. Administrado en forma simultánea con preparados de litio o digoxina, puede elevar el nivel plasmático de éstos. Puede inhibir el efecto de los diuréticos. Se ha descrito que el peligro de hemorragias aumenta durante el empleo combinado de diclofenaco y anticoagulantes; puede aumentar la concentración sanguínea del metotrexato y elevar su toxicidad. La nefrotoxicidad de la ciclosporina puede ser mayor mediante los efectos antiinflamatorios no esteroides del diclofenaco sobre las prostaglandinas renales (31).

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. Su disposición química ha permitido que la industria farmacéutica lograra manipular algunos grupos terminales de ciertos carbonos para así obtener semisintéticos cuyas características específicas la hace útil en clínica. Se destaca el hidroxilo fenólico en el carbono 6, el hidroxilo alcohólico en el carbono 3, el doble enlace entre los carbonos 7 y 8 y el metilo (CH₃) en el nitrógeno terciario, es en estos puntos donde se introducen las sustituciones. Al suplir el grupo OH del carbono 3 por OCH₃ se obtiene un derivado de la morfina llamado codeína.

En 1962 fue sintetizado por primera vez un analgésico de acción central relacionado estructuralmente con la codeína y la morfina llamado Tramadol (fig. 4).

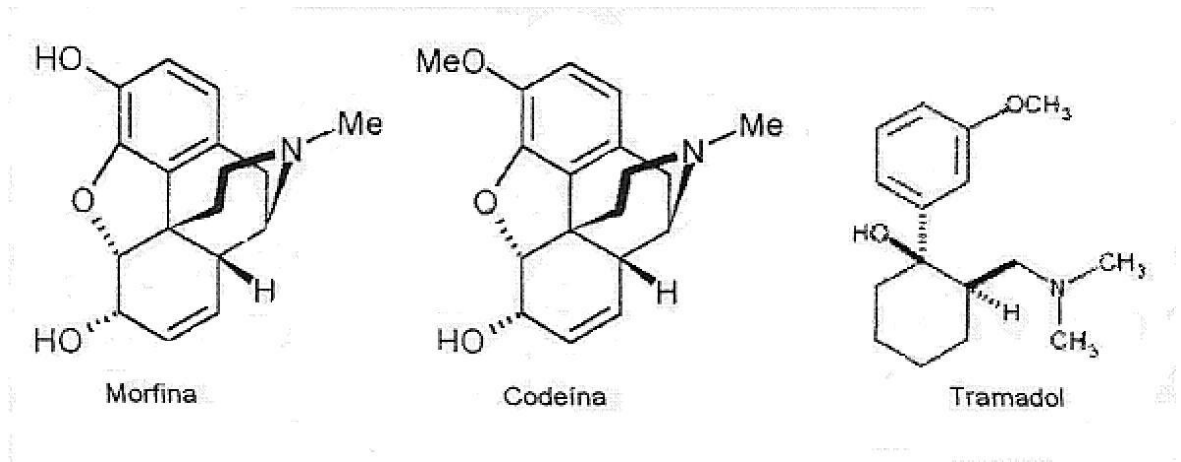


Figura 4. (Grond S, Sablotzki A. Clinical pharmacology of tramadol. Clin Pharmacokinet (2004); 43(13): 879-923)

TRAMADOL

Este fármaco ha estado disponible para el tratamiento del dolor en Alemania desde 1977. Corresponde a un análogo de la codeína sintético.

Tramadol puede ser recomendado como analgésico base en el tratamiento del dolor agudo de intensidad moderada a severa, es particularmente útil en pacientes con una pobre función cardiopulmonar, incluido en los ancianos, obesos, fumadores y después de la cirugías pediátricas, etc. Su uso es habitual posterior a cirugías, exodoncias de terceros molares, etc. Tramadol también puede ser recomendado en el tratamiento del dolor crónico de origen no maligno, como osteoartritis o dolor neuropático.

El tramadol es un fármaco racémico es decir donde tanto sus enantiómeros, (+)-tramadol y (-)-tramadol, como sus metabolitos contribuyen a obtener la analgesia a través de diferentes mecanismos, esto incluye la unión al receptor opioide y la inhibición de la recaptación de serotonina y noradrenalina. Esta duplicidad de acción ha llevado a la FDA a clasificarla como analgésico central no tradicional o atípico. El (+)-tramadol y el metabolito (+)-O-desmetil-tramadol son agonistas del receptor MOR. Además (+)-tramadol inhibe la recaptación de serotonina y de noradrenalina, mientras que el (-)-tramadol inhibe la recaptación

de noradrenalina pero es 10 veces mas potente que su (+)-enantiómero (32,47). Existen algunos estudios en que se han demostrado un aumento en la liberación de serotonina y noradrenalina (32,6) subsecuentemente a la administración de tramadol in vitro. (33, 34, 35)

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 siendo los mas importantes (+)-O-desmetil-tramadol el cual es metabolizado por el complejo citocromo P450 (CYP) 2D6. El metabolito (+)- O-desmetil-tramadol es el agonista con mayor afinidad por el receptor MOR, mostrando tener una afinidad de 700 veces la del compuesto rracémico, por lo que se le atribuye el efecto opioide del fármaco. Se reconocen alrededor de 30 productos de la metabolización del tramadol y aunque experimentalmente se ha comprobado que algunos de ellos tendrían mayor potencia, se han tenido que descartar debido a que sus características farmacodinámicas (liposolubilidad, polaridad) la hacen inviable a nivel central (33).

El 90% de la eliminación del tramadol ocurre a través del sistema renal, el resto es encontrado en las heces, vías biliares y en saliva (33).

Cuando se administra en forma oral, la absorción de tramadol es casi completa (100%) después de un tiempo de latencia que varía entre 12 y 13 minutos dependiendo si se administra en gotas o cápsulas 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 analgesia empieza en el transcurso de una hora luego de la dosificación vía oral, y el efecto alcanza al máximo en el transcurso de tres a dos horas. La analgesia dura aproximadamente seis horas. La dosis diaria máxima recomendada es de 400 miligramos.

El tramadol es un fármaco que se encuentra disponible en varias formas farmacéuticas, como por ejemplo, en ampollas para la administración intravenosa, intramuscular o subcutánea; en cápsulas, tabletas solubles, gotas y en supositorios. Esta diversidad le confiere distintas propiedades farmacocinéticas entre si.

Entre las principales RAM a considerar en el uso de tramadol están el causar náuseas y vómitos. Estos efectos se deben a la acción del tramadol sobre el receptor MOR. A diferencia de otros fármacos opioides, el tramadol no tiene efectos clínicamente relevantes sobre la respiración, esta asociado con una baja incidencia de la constipación ya que a pesar de su actuar a nivel del receptor MOR y del incremento de los niveles de noradrenalina, los mayores causantes del estreñimiento, estos son contrarrestados parcialmente por el aumento de los niveles de serotonina en el sistema nervioso y a nivel intestinal provocando el aumento del transito gastrointestinal explicando así la baja incidencia a la constipación (37)

Debido a su efecto inhibitor sobre la captación de serotonina, el tramadol no debe utilizarse en pacientes que estén tomando inhibidores de las monoaminoxidasas (IMAO). No esta claro su potencial de abuso, por lo que este medicamento debe evitarse en personas con antecedentes de adicción.

Interacción de fármacos:

Al realizar combinaciones de dos o más agonista que producen un efecto común a través de mecanismos que no están relacionadas con un único receptor afín, se producen situaciones en las que la presencia de uno no afecta a la unión del receptor del otro. Este tipo de agonista de acción conjunta fue denominado por Bliss en 1939 como "similar e independiente" (38).

La coadministración de dos fármacos, generalmente con diferente mecanismo de acción, pero con similar efecto, puede generar las siguientes alternativas de interacción (38):

1. **Aditivos:** el efecto obtenido corresponde a la simple suma de los efectos que produce cada uno de los fármacos por separado.

2. **Subaditivo o antagónico:** el efecto que se obtiene corresponde a un efecto menor que la suma de la actividad de cada fármaco por separado.

3. **Supraditivo o sinérgico:** el efecto obtenido es significativamente mayor que la suma de los efectos de cada fármaco por separado.-

La farmacología al realizar combinaciones de preparados, generalmente busca una interacción de tipo sinérgica ya que éste tipo de asociación permitiría disminuir las dosis de cada fármaco reduciendo así sus RAMs obviamente sin minimizar el efecto deseado.

HIPÓTESIS

La administración sistémica de DICLOFENACO, TRAMADOL y de su combinación en proporción 1:1 de dosis efectivas 50 (DE50), produce actividad analgésica de naturaleza sinérgica en el modelo de dolor orofacial de la formalina.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antinociceptiva de DICLOFENACO, TRAMADOL y de su combinación en el modelo de dolor orofacial de la formalina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal (I.p.) de DICLOFENACO y de TRAMADOL en el test de la formalina al 2% aplicada subcutáneamente en la región suborbitaria.

2. Caracterizar la actividad antinociceptiva de ambos analgésicos

3. Estudiar la naturaleza de la interacción de la combinación de DICLOFENACO con TRAMADOL, en proporción de 1:1 de sus DE50, por medio del análisis isoblográfico.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Animales y administración de fármacos:

En el estudio fueron usados 118 ratones machos de la cepa CF/1 (*Mus musculus*), de 25 a 30 gramos de peso (imagen 1). Los animales fueron aclimatados al ambiente de laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación, la cual se realizó siguiendo el protocolo n° 238 FMUCH aprobado por la Comisión de ética para estudios con animales de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Cada animal, seleccionado de manera aleatoria, fue utilizado sólo una vez y recibió una única dosis de las drogas estudiadas. Las observaciones fueron efectuadas en forma aleatoria, ciega y controladas con solución salina. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después de realizado el experimento mediante dislocación cervical, por personal especializado.

Las drogas disueltas en solución salina fueron diclofenaco y tramadol, se administraron intraperitonealmente (i.p) (imagen 2), en un volumen constante de 10 ml/kg, 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, ya que existe evidencia que demuestra que es el tiempo en que se alcanza el efecto analgésico máximo. Los animales usados como grupo control fueron tratados con salino i.p. incluyéndose, al menos 2 ejemplares en cada grupo experimental. Posteriormente son dejados en las cajas de observación para su evaluación.

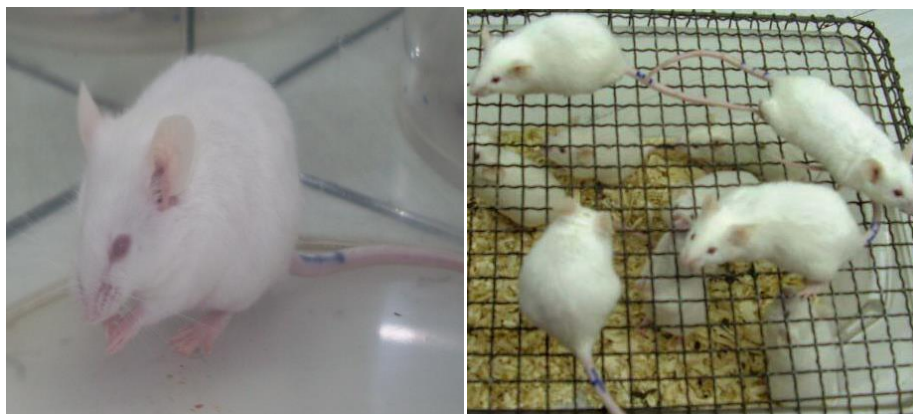


Imagen 1: ratones de la cepa CF/1 *Mus musculus* debidamente identificados



Imagen 2: Inyección intraperitoneal de (los) fármaco (s) o salino

2. Test de la formalina al 2% o test orofacial:

El modelo utilizado para la medición experimental de la capacidad antinociceptiva de los fármacos, fue el test de la formalina orofacial. Consiste en la inyección subcutánea de formalina, en este caso a una concentración del 2%, en la región suborbitaria derecha del animal (imagen 3). Esto da lugar a una respuesta dolorosa que puede ser dividida en 2 fases: una inicial, donde los nociceptores perciben la irritación química provocada por la formalina (fase I), y una tardía, producto de la organización de un foco inflamatorio en el sitio de la injuria con la subsecuente sensibilización central y periférica (fase II). En ambas fases se induce hiperalgesia que provoca una conducta de "frotamiento" del sitio de inyección con alguna de sus extremidades (39) como se aprecia en la imagen 4. Para la administración de la formalina se utilizó una jeringa Hamilton con aguja de 27 Gauge, y un volumen de 20 μ L al 2%. Inmediatamente posterior a la inyección, los ratones regresados a las cajas de observación y se registra el tiempo en ambas fases: de 0-5 minutos (fase I) y de 20-30 minutos (fase II). Los resultados se expresan en segundos de frotamiento en cada intervalo, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%MPE = 100 - \left(\frac{\text{tiempo frotamiento postdroga}}{\text{tiempo frotamiento control salino}} \right) \times 100$$

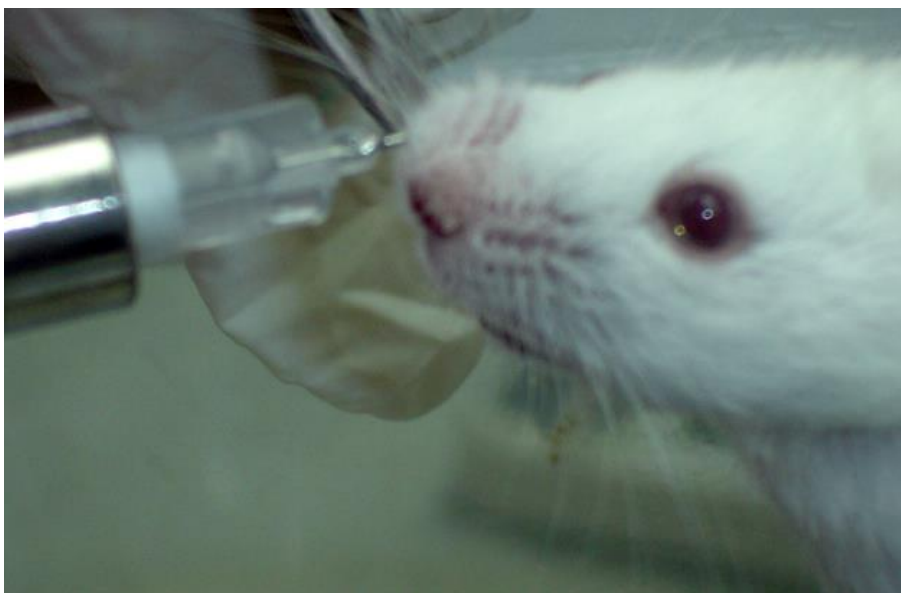


Imagen 3: Inyección subcutánea, de formalina 2% en región suborbitaria derecha

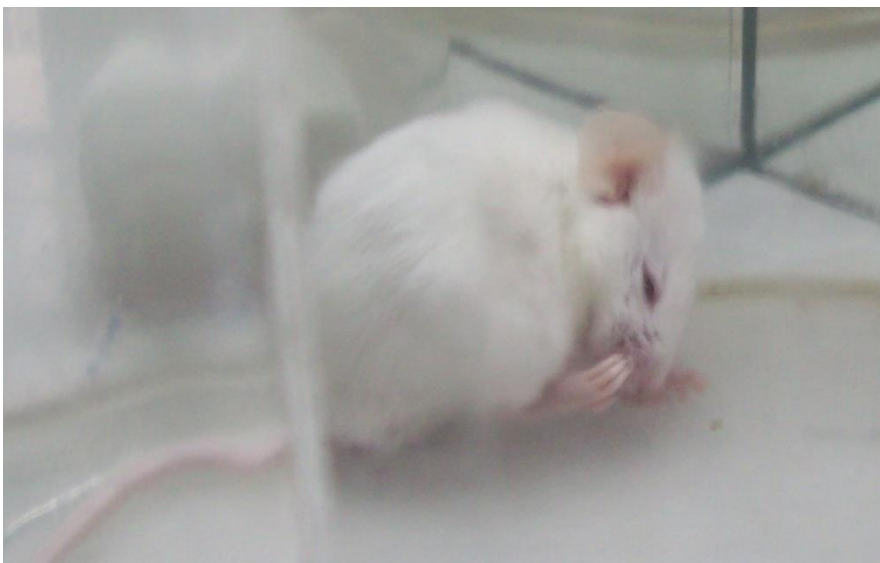


Imagen 4: Frotamiento de la región perinasal con sus extremidades anteriores o posteriores ipsilaterales.

4. Análisis isoblográfico de la interacción diclofenaco/tramadol:

Para el estudio de las interacciones se utilizaron dosis que producen un 50% de efecto máximo (DE50) para cada uno de los fármacos, las cuales se determinaron mediante el análisis de regresión lineal de las correspondientes curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados por vía i.p. en siete animales por cada una de las correspondientes dosis 1, 3, 10, 30 mg/kg para tramadol y 6.25; 12.5; 25; 50 mg/kg para diclofenaco. La interacción entre las drogas se efectuó coadministrando, por vía i.p., una mezcla de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las correspondientes DE50 de tramadol y diclofenaco, en proporciones de 1:1. Para la evaluación de las interacciones se utilizó el método isoblográfico del laboratorio, en la forma descrita por Tallarida (38), que corresponde a representaciones gráficas de dosis isoefectivas para un efecto determinado, de cada uno de los fármacos utilizados individualmente y combinados. Este tipo de análisis permite conocer si existe interacción, de que tipo y cual es su magnitud.

Para cada combinación de las drogas se determinó la DE50 mediante el 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 obtiene según la siguiente fórmula:

$$DE\ 50\ aditividad\ teórica = 50\ droga\ 1 / (P1 + R \times P2)$$

Donde:

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

El punto experimental resultante se grafica en un sistema de coordenadas cartesianas que contienen una línea que conecta la DE50 del tramadol en la abscisa con la DE50 de diclofenaco en la ordenada (línea de aditividad simple o teórica). La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. En el caso de que la interacción sea sinérgica (supraaditiva), el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso contrario, si resultase una interacción antagónica, el punto se ubicará sobre la línea de aditividad, y por último, si el punto se ubica en un sector cercano a la línea de aditividad, la interacción será de simple aditividad.

Al mismo tiempo, el programa calcula 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 (38).

Los resultados se expresan como promedio \pm error estándar del promedio (EEM) o bien como promedio con su correspondientes 95 % de límite o intervalo de confianza (95 % LC). El análisis estadístico de los datos obtenidos se calcularon con el programa computacional Pharm Tools Pro, Mc Cary Group, versión 1.27, PA, U.S.A., basado en Tallarida (39) y la significación estadística se determinó por análisis de varianza (ANOVA) seguido por el test de Student-Newman Keuls y prueba t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($p < 0,05$)

RESULTADOS

Grupo control:

La administración de 10 mg/Kg de solución salina al 0,9% vía i.p. 30 minutos antes de la administración de la solución de formalina al 2 % produjo un tiempo de frotamiento de la zona labial y perinasal derecha de $91,38 \pm 1,97$ seg. para la fase 1 (n=8) y de $105,5 \pm 4,1$ seg. para la fase II (n=8).

El curso temporal de la administración de formalina al 2 % se muestra en el gráfico 1.

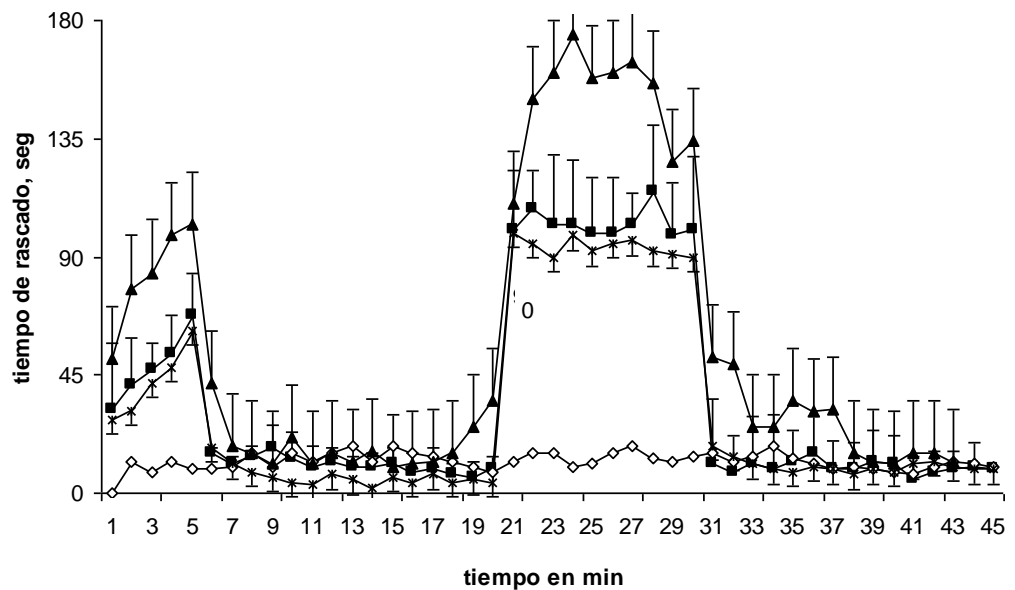


Gráfico 1. Curso temporal del ensayo de la formalina orofacial en ratones. Control salino (◇), formalina 1 % (*), 2 % (■), formalina 5 % (▲). Cada punto es el promedio de al menos 6 animales con su respectivo EEM.

Grupo tratado con tramadol:

La administración i.p. de tramadol, da como resultado una actividad antinociceptiva dosis-dependiente tanto en la fase algésica aguda (fase I), como en la fase inflamatoria (fase II), como se observa en los gráficos 2 y 3 respectivamente. La DE50 resultó ser de $1,24 \pm 0,167$ mg/kg para la fase 1 (n=26), mientras que para la fase II fue de $1,43 \pm 0,526$ (n=26)

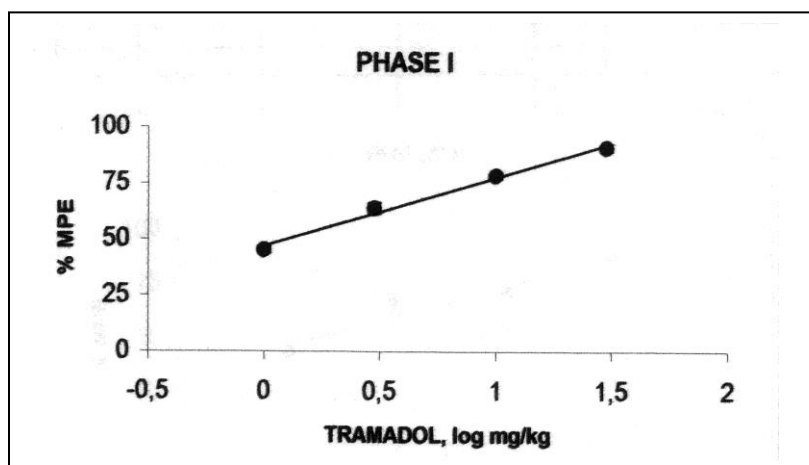


Gráfico 2. Curva dosis respuesta de tramadol, en la fase I del ensayo de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 6 animales.

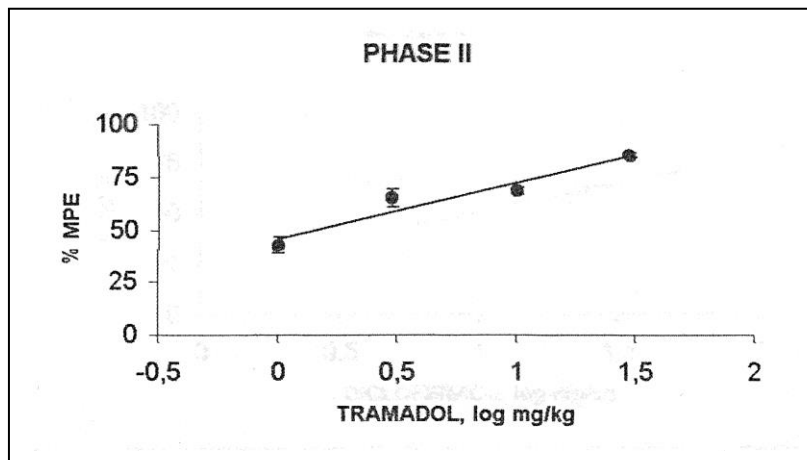


Gráfico 3. Curva dosis respuesta de tramadol, en la fase II del ensayo de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 6 animales

Grupo tratado con diclofenaco:

La administración de diclofenaco vía i.p. indujo una respuesta antinociceptiva dosis-dependiente tanto en la fase I como en la II, observándose los resultados que se muestran en los gráficos 4 y 5 respectivamente. La DE50 fue de $9,5 \pm 0,45$ mg/kg para la fase I (n=28), mientras que para la fase II fue de $13,8 \pm 1,25$ mg/kg, (n=28).

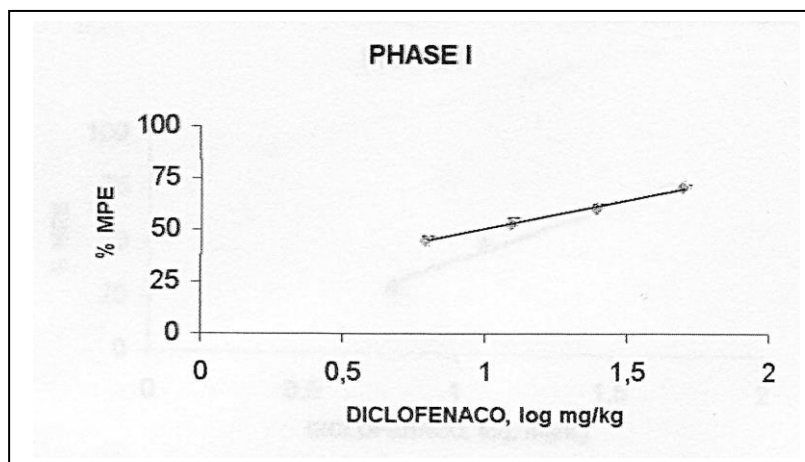


Gráfico 4. Curva dosis respuesta de diclofenaco, en la fase I del ensayo de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 6 animales.

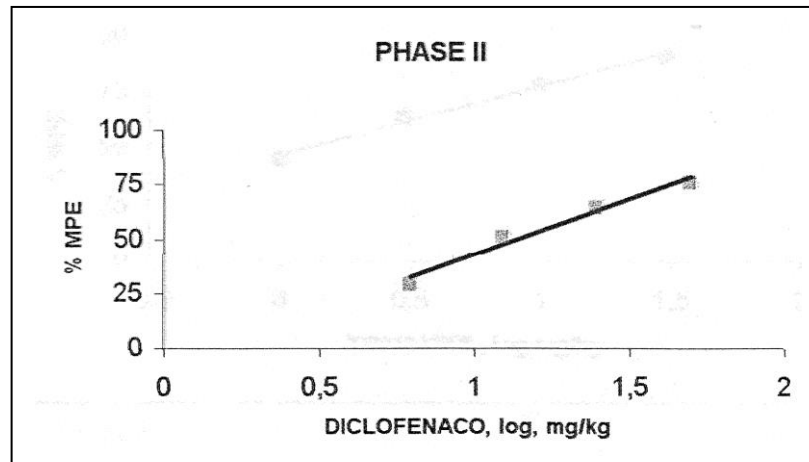


Gráfico 5. Curva dosis respuesta de diclofenaco, en la fase II del ensayo de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 6 animales.

Análisis isobolográfico de la interacción entre tramadol y diclofenaco:

La actividad antinociceptiva inducida por la coadministración (1:1) de dosis equianalgésicas y en proporciones fijas (1/2,1/4,1/8,1/16) de las DE50 de tramadol y diclofenaco para cada fase, se evaluó mediante el análisis isobolográfico, dando como resultado que la interacción antinociceptiva es de tipo aditiva, al ubicarse el punto experimental cercano a la línea de aditividad y con índices de interacción de 1,158 para la fase I y de 0,706 para la fase II. Estos resultados se observan en los gráficos 6 y 7.

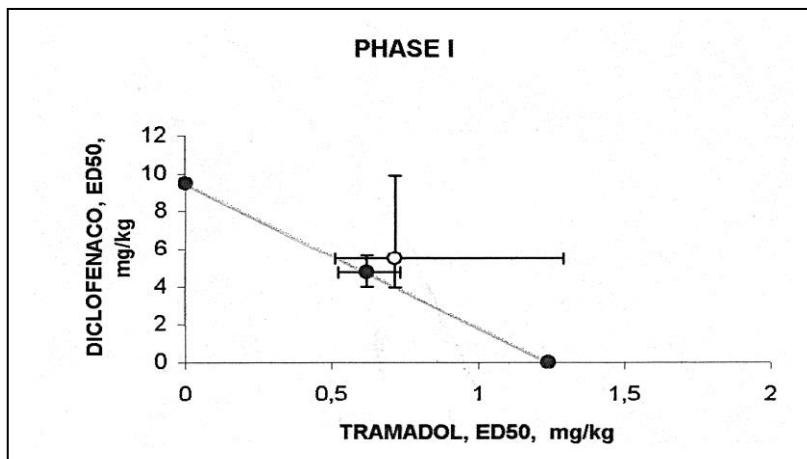


Gráfico 6. Isoblograma de la interacción entre tramadol y diclofenaco, en la fase I. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95 %.

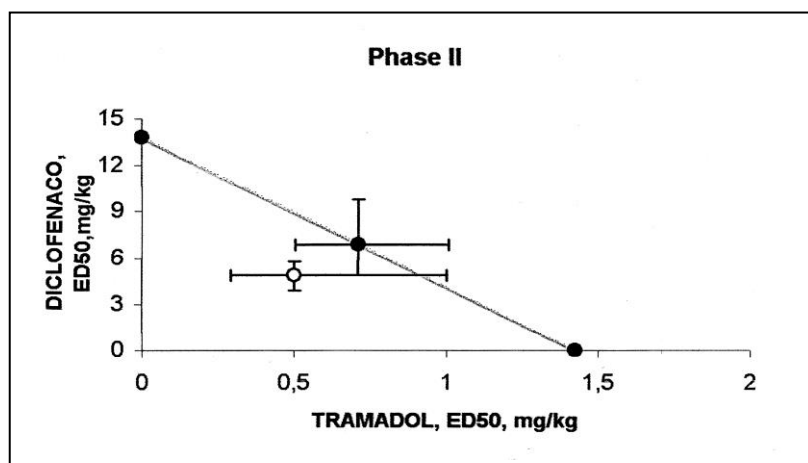


Gráfico 7. Isoblograma de la interacción entre tramadol y diclofenaco en la fase II. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

DISCUSIÓN

La medicina esta constantemente buscando nuevos fármacos y asociaciones de fármacos para lograr un mejor manejo del dolor. Ya sea descubriendo asociaciones o fármacos que poseen mayor efectividad y menores efectos adversos. Sobre todo cuando en determinadas patologías la medicina esta limitada a tratar de forma paliativa la sintomatología dolorosa buscando mitigar el sufrimiento del ser humano.

Las manifestaciones del dolor orofacial poseen características especiales, debido a que el territorio orofacial tiene una gran representación en la corteza somatosensorial y su presencia dependiendo de su duración e intensidad se ve traducida en una importante alteración en la calidad de vida del individuo que lo sufre.

El test de la formalina es uno de los modelos de dolor experimental más adecuados para representar las condiciones de dolor orofacial (39).

Los hallazgos obtenidos en este trabajo utilizando el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, dejan de manifiesto que la administración de tramadol o de diclofenaco, por vía intraperitoneal, genera una actividad antinociceptiva dosis dependiente tanto en la fase I como en la fase II. Cabe mencionar que la DE50 de tramadol no varia significativamente desde la fase I a la fase II aumentando en la fase II en un 0,85%, mientras que la DE50 de diclofenaco experimento un aumento significativo en un 65,9% desde la fase I a la fase II.

El resultado obtenido que tramadol es mas eficiente en la fase I y en la fase II que diclofenaco podría deberse a la diferencia en los mecanismos de acción de estos fármacos, quedando de manifiesto al comparar las ED50 de la fase I 1,24 mg/kg para tramadol versus 9,5 mg/kg para diclofenaco y la ED50 de la fase II de 1,43 mg/kg para tramadol versus 13,8 mg/kg para diclofenaco. Lo que se explicaría porque tramadol posee un mecanismo de acción doble; actúa

sobre receptores opioides MOR y además inhibe la recaptación de serotonina y noradrenalina (33-35).

En relación a la coadministración intraperitoneal de ambos fármacos se observa una interacción analgésica de simple aditividad en ambas fases.

La relación de actividad entre tramadol/diclofenaco (ED50 tramadol/ED50 diclofenaco) en la fase I es de 0,13 se mantiene prácticamente idéntico en la fase II con el valor de 0,10.

La interacción antinociceptiva de los fármacos utilizados de manera conjunta, no concuerda con la hipótesis, ya que ella resultó ser de tipo aditiva y no sinérgica, al ubicarse el punto experimental cercano a la línea de aditividad y con índices de interacción de 1,158 para la fase I y de 0,706 para la fase II. No presentan estos valores, de sus correspondientes índices de interacción ED50 (experimental / teórica) una diferencia estadísticamente significativa.

La actividad aditiva podría tanto en las fases I y en la fase II ser explicada por la teoría general de la interacción de drogas (40). Esta hace alusión a que la administración conjunta de drogas que tengan mecanismos de acción diferentes, tienen una alta probabilidad de obtener un efecto sinérgico. Esta condición, a pesar de que se cumple en esta combinación, no produjo sinergismo. Mientras diclofenaco es capaz de inhibir las ciclooxigenasas, tramadol posee un mecanismo de acción dual; activa receptores opioides MOR e inhibe la recaptación de monoaminas endógenas (22- 24).

Los mecanismos involucrados en la aditividad de estas drogas y la mayor capacidad antinociceptiva del tramadol podría ser explicada por los siguientes razones: capacidad del tramadol para activar vías de control descendente del dolor, ya sean mediadas por receptores opioides, principalmente el MOR (33,34,36,48), actuando sobre neuronas serotoninérgicas (33,34,36,32,49) o neuronas noradrenérgicas (33,34,36,41) también se describe la acción del tramadol sobre receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) los cuales serían los responsables de la acción de tramadol y sus metabolitos sobre los receptores de

serotonina, noradrenalina, muscarínicos y NMDA, vinculados también a la respuesta antinociceptiva (42)

La interacción aditiva entre ambos fármacos tramadol y diclofenaco podrían explicarse por diversos mecanismo tentativos tanto a nivel central como periféricos. Es así, como a nivel central la PGE2 es capaz de coartar la acción de los mecanismos de control descendentes del dolor al inhibir la liberación de noradrenalina desde el terminal axónico (43). Los AINEs al inhibir la acción de la COX-1 disminuye la acción de las PGs sobre las neuronas noradrenérgicas favoreciendo la acción antinociceptiva. (44). Otra mecanismo a nivel central que podría explicar esta interacción sería a través de la inhibición que ejercen los agonistas del receptor MOR, en la sustancia gris periacueductal, sobre interneuronas GABAérgicas que bloquean ciertas vías de control descendente. (45).

A nivel periférico, estudios demuestran que la acción de PGs sobre las neuronas de los ganglios dorsales, aumentan la producción intracelular de AMPc en estas neuronas, hecho que aumenta la excitabilidad de las mismas (45). Acción que se vería limitada por el efecto inhibitorio de las COXs que tendría el diclofenaco.

Nuevos estudios buscan explicar el efecto antinociceptivo local que tendría tramadol, mediado sólo parcialmente por su efecto sobre los receptores MOR en los nociceptores, pero que no logran explicar por completo el efecto analgésico que se logra por esta vía, proponiendo ciertos mecanismos alternativos distintos a los utilizados por los inhibidores de las COXs (46).

CONCLUSIONES

- La coadministración tramadol y de diclofenaco por vía intraperitoneal, demostró la existencia de una interacción solamente de tipo aditiva.

- La administración de tramadol como diclofenaco, en forma separada vía intraperitoneal, producen un efecto antinociceptivo de naturaleza dosis dependiente, en el test algésimétrico de la formalina, tanto en la fase algésica aguda (fase I) como en la fase algésica inflamatoria (fase II).

- Tramadol posee mayor potencia analgésica que diclofenaco tanto en la fase I como en la fase II.

- La administración conjunta de tramadol y de diclofenaco podría sugerir ventajas en cuanto a lograr un mayor efecto analgésico con menores dosis, así como la posibilidad de disminuir ciertos efectos adversos.

SUGERENCIAS

- Se sugiere evaluar, en estudios posteriores, la capacidad antinociceptiva e interacción entre diclofenaco y tramadol mediante otras vías de administración.

- Evaluar la antinocicepción de diclofenaco 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 diclofenaco y tramadol, comparado con los efectos producidos por la administración de diclofenaco únicamente.

- Evaluar la posibilidad de comercializar la mezcla diclofenaco y tramadol en el mercado farmacéutico, previo cumplimiento de las exigencias necesarias para tal efecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schwartz S.I., Principios de cirugía, Séptima Edición, México Vol II, Séptima Edición, Mc Graw Hill Interamericana, 1999. pag. 2032-2033.
2. Bonica JJ. Anatomic and physiology basic of nociception and pain. The management of pain 2ed. Pennsylvania, Lea & Febiger, 1990. 28-94
3. Paeile, C., Saavedra, H., “El dolor, aspectos básicos y clínicos”. Santiago, Chile Editorial Mediterráneo, 1997. 28-40
4. Millan M. “the induction of pain: an integrative review”.. Prog. Neurobiol.. 1999. 57:1-164.
5. Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S. Afferent pain pathways: neuroanatomical review. Brain Res 1000:40-56. 2004.
6. Bjorkman R. Central antinociceptive effects of non-steroidal anti- inflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat .Acta Anaesthesiol Scand.103:1-44, 1995.
7. Millan, Mark J. Descending control of pain. Progress Neurobiology 66: 355-477. 2002
8. Waldhoer M, Barlett SE, Whistler JL. Opioid receptors. Annu Rev. Biochem, 73:953-990. 2004

9. Sánchez-Blázquez P, Gómez-Serranillos P, Garzón J. Agonists determine the pattern of G-protein activation in Mu-opioid receptor-mediated supraspinal analgesia. *Brain Res Bull*, 2001, 15;54:229-35.
10. Gupta A, Décaillot Fm, Devi L Targeting opioid receptor heterodimers: strategies for screening and drug development. *AAPS J*, 2006,10;8: E153-9
11. George SR, Fan T, Xie Z, Tse R, Tam V, Varghese G, O'Dowd BF. Oligomerization of Mu-and delta-opioid receptor. Generation of novel functional properties. *J Biol Chem*, 2000, 25;275:26128-26135.
12. Bodnar RJ. Endogenous opiates and behaviour: 2006. *Peptides* (2007) 28; 2435-2513.
13. Paeile C. *El Dolor, Aspectos Básicos y Clínicos. Segunda Edición. Santiago-Chile, Publicaciones Técnicas Mediterráneo Ltda., 1997, pp. 20-21.*
14. Burian M, Geisslinger G. COX-dependt mechanisms involved in the antinocieptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. *Pherm. And Ther.* 107:139-154, 2005
15. W Bradford Rockwell and H. Paul Ehrlich. Ibuprofen in acute-care therapy. *Ann. Surg.*, 1990; 211 : 78-83
16. Brooks P, Emery P. Interpreting the clinical significance of different inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. *Rheumatology* 1999;38:779-88.
17. Snyder M, Shugars DA, White RP, Phillips C. Pain medication as an indicator of interference with lifestyle and oral function during recovery after third molar surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63:1130-7.
18. Dennin EA. Diversity of group type regulation and function of phospholipase A2. *J Biol Chem* 1996; 209:13057-66.
19. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors and lessons from the clinic. *FASEB J*, 2004, 18:790-804.

20. 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 base don the cyclooxygenase 2 pathway activated by serum-free stimulation in A549 Cells. The Pharmaceutical Society of Japan, 2007, 127: 527-532.
21. Kristina E Furse, Derek A. Pratt, Claus Schneider, Alan R. Brash, Ned A. Porter and Terry P. Lybrand. Molecular dynamics simulations on arachidonic acid-dreived pentadienyl radical intermediate complexes with COX-1 and COX-2: insights into oxygenation region and stereoselectivity. *Biochemistry.*,2006. 14; 45, 3206-3218.
22. Vane JR, Botting RM. Overview: mechanism of action of anti- inflammatory rugs. COX-2 enzyme inhibitors. Kluwer academic publishers- William Hawey Press; 1996:1-27.
23. Smith CJ. Pharmacological analysis of cyclooxygenase-1 in inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:13313-13318.
24. Leone S., Ottani A, Bertolini A. Dual macting anti-inflammatory drugs. *Current topics in medicinal chemistry*, 2007, 7, 265-275.
25. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain.* 1989; 38:347-352.
26. Fosslie E. Cardiovascular complications of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Clin Lab Sci.* 2005;35:347-385
27. Mc Carthy DM. Comparative toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med.* 1999; 107: 375-475

28. Fauler J. Undesired effects of NSAIDS and coxibs. *MMW Forttschr Med.* 2005; 147:31-5.
29. Warner T.D., Mitchell J.A. Cyclooxygenases: new form, new inhibitors, and lesson from the clinics. *Faseb J.*, 2004;18:790-804
30. Van Hecken A, Schwartz JI, Depre M, De Lepeleire I, Dallob A, Tanaka W, Wynants K, Buntinx A, Arnout J, Wong PH, Ebel DL, Gertz BJ, De Schepper PJ., Comparative inhibitory activity of rofecoxib, meloxicam, diclofenac, ibuprofen, and naproxen on COX-2 versus COX-1 in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* 2000;40:1109-1120.
31. Tang W. The metabolism of diclofenac--enzymology and toxicology perspectives. *Curr Drug Metab.* 2003;4:319-329.
32. Halfpenny Dm, Callado LF, Hopwood SE, Bamigbade TA, Langford RM, Stamford JA. Effects of tramadol stereoisomers on norepinephrine efflux and uptake in rat locus coeruleus measured by real time voltametry. *Br j Anaesth*, 1999; 83: 909-91
33. Grond S, Sablotzki A. Clinical pharmacology of tramadol. *Clin Pharmacokinet*, 2004; 43: 879-923
34. 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; 260 :275-285.
35. Garrido MJ, Valle M, Campanero MA, Calvo R, Troconiz IF. Modeling of the in vivo antinociceptive interaction between an opioid agonist, (+)-O-desmethyltramadol, and a monoamine reuptake inhibitor, (-)-O-desmethyltramadol, in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000 ; 295: 352-359.

36. Bagmigdade TA, Davison C, Langford RM, Stamford JA. Actions of tramadol, its enantiomers and principal metabolite, O-desmethyltramadol, on serotonin (5-HT) efflux and uptake in rat dorsal raphe nucleus. *Br J Anaesth*,1997; 79: 352-356.
37. E. Planas, R. Poveda, S. Sánchez, A. Romero, M. Puig. Non-steroidal anti-inflammatory drugs antagonise the constipating effects of tramadol. *European journal of Pharmacology* 482, 2003, 223-226
38. Tallarida RJ. Drug synergism: its detection and applications. *J Pharmacol Exp Ther.*,2001 ; 298 :865-872.
39. Luccarini P, Childeric A, Gaydier AM, Voisin D, Dallel R. The orofacial formalin test in the mouse : a behavioral model for studying trigeminal nociception. *J Pain* ,2006 ; 7: 908-14
40. Chou TC. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol Rev*,2006, 58:621-681.
41. Minami K, Uezono Y, Ueta Y .The pharmacological aspects of the effects of tramadol on G-protein coupled receptors. *J Pharmacol Sci.* 2007;103:253-260.
42. Harman JG, Limbird LE the pharmacological basis of therapeutics. 10th Edition. McGraw-Hill, 2001, chapter 4; 72-73.
43. Taiwo YO, Levine JD. Prostaglandins inhibit endogenous control mechanisms by blocking transmission at spinal noradrenergic sinapsis. *J Neurosci* 1988; 8: 1346-1349

44. Jain NK, Kulkarni SK, Singh A. Modulation of NSAID-induced antinociception and anti-inflammatory effects by α -2-adrenoreceptor. *Life Sci* 2002; 70 :2857-2869
45. Christie MJ, Connor M, Vaughan W, Ingram SI, Bagley EE. Cellular actions of opioids and other analgesics: implications for synergism in pain relief. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27 :520- 523.
46. Mert T, Gunes Y, Gunay. Local analgesic efficacy of tramadol following intraplantar injection. I, *Eur J Pharmacol* 2007; 558:68-72
47. Leppert W. Tramadol as an analgesic for mild to moderate cancer pain. *Pharmacol Rep.* 2009 ;61:978-992.
48. A. Koga, T. Fujita, T. Totoki & E. Kumamoto. Tramadol produces outward currents by activating μ -opioid receptors in adult rat substantia gelatinosa neurones. *British Journal of Pharmacology*, 2005, 145, 602–607
49. Yanarates O., Dogrulm A., Yildirim V, Sahin A., Sizlan A., Seyrek M., Zgur O, Kozak O, Kur E., Aypar U. Spinal 5-HT₇ receptors play an important role in the antinociceptive and antihyperalgesic effects of tramadol and its metabolite, *o*-desmethyltramadol, via activation of descending serotonergic pathways, *Anesthesiology*, 2010; 112:696 –710
50. Laudanno OM, San Miguel P, Aramberry LJ, Cesolari JA. Mechanism of inhibition OF COX-2 and COX-3 in gastrointestinal damage induced by NSAID in rats . *Acta Gastroenterol Latinoam* 2003;33:183-185

