



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
LABORATORIO DE FARMACOLOGIA DEL DOLOR**



**“SINERGISMO ENTRE DEXKETOPROFENO CON DICLOFENACO EN EL
DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL”**

David A. Sandoval Miranda

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Hugo F. Miranda
Guzmán.

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dr. Fernando Sierralta G.

**Santiago – Chile
2011-2012**

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	3
1. Marco Teórico.....	6
1.1 Clasificación del dolor.....	6
1.2 Neurofisiología del dolor.....	8
1.2.1 Activación y sensibilización de los nociceptores periféricos.....	9
1.2.2 Transducción.....	10
1.2.3 Transmisión.....	11
1.2.4 Percepción.....	12
1.3 Neurofisiología del dolor orofacial vía trigeminal.....	13
1.4 Tratamiento farmacológico del dolor.....	14
1.4.1 Analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs).....	15
1.4.2 Clasificación de los AINEs.....	16
1.4.3 AINEs y ciclooxigenasas (COXs).....	17
1.4.4 Prostaglandinas y AINEs.....	19
1.4.5 Mecanismo de Acción de los AINEs.....	19
1.5 Diclofenaco.....	22
1.6 Dexketoprofeno.....	23
1.7 Interacción de fármacos.....	26
2. Hipótesis.....	27
3. Objetivos.....	27
3.1 Objetivo general.....	27
3.2 Objetivos específicos.....	27
4. Materiales y métodos.....	28
4.1 Justificación del uso de animales y de la especie en particular.....	29
4.2 Procedimientos previos realizados a los animales.....	29

4.3	Test algésimétrico de orofacial de la formalina.....	30
4.4	Procedimiento posterior al protocolo experimental.....	32
4.5	Evaluación de la analgesia.....	32
4.6	Estudio de la interacción antinociceptiva.....	33
4.7	Método isoblográfico de Tallarida.....	33
4.8	Análisis estadístico.....	35
4.9	Obtención de la muestra.....	36
4.9.1	Grupo control salino.....	36
4.9.2	Grupo diclofenaco.....	36
4.9.3	Grupo dexketoprofeno.....	36
4.9.4	Grupo diclofenaco con dexketoprofeno. Fase I (fase algésica).....	37
4.9.5	Grupo diclofenaco con dexketoprofeno. Fase II (fase inflamatoria).....	37
5.	Resultados.....	38
5.1	Grupo control.....	38
5.2	Grupo Administrado con diclofenaco.....	39
5.3	Grupo Administrado con dexketoprofeno.....	40
5.4	Análisis Isoblográfico de la administración entre diclofenaco/dexketoprofeno....	42
5.5	Dosis Efectiva 50.....	44
6.	Discusión.....	45
7.	Conclusiones.....	47
8.	Sugerencias.....	48
9.	Bibliografía.....	50
10.	Anexos.....	55

Resumen

Introducción : Los Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son fármacos analgésicos de uso común en odontología. En éste estudio se evaluó la analgesia de 2 de ellos: el dexketoprofeno, el diclofenaco y su combinación, según el método algesiométrico de la formalina orofacial.

Materiales y métodos : Se utilizaron 120 ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1, de 25 a 30 gramos de peso y de 2.3 a 2.5 meses de edad. Se les administró vía intraperitoneal una solución de: dexketoprofeno, diclofenaco y su combinación, para posteriormente realizar el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial, que consiste en la inyección en el labio superior del animal de formalina al 2%, evaluando el tiempo de frotado de la zona inyectada, tanto en la fase I (algésica), como en fase II (inflamatoria). El análisis estadístico fue expresado como promedio \pm S.E.M. (error estándar del promedio) y se calculó con el programa computacional Pharm Tools Pro (versión 1.27, McCary Group Inc., USA). La significación estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($p < 0,05$).

Resultados : La Dosis Efectiva 50 (DE50) para el diclofenaco en fase I resultó ser de $4,104 \pm 0,203$ mg/kg. ($n=32$), mientras que para la fase II de $2,583$ mg/kg $\pm 0,293$ ($n=32$). La Dosis Efectiva 50 (DE50) para el dexketoprofeno en fase I resultó ser de $3,307 \pm 0,552$ mg/kg. ($n=32$), mientras que en la fase II de $5,128$ mg/kg $\pm 0,365$ ($n=32$). La DE50 para la combinación de los fármacos en fase I fue de $0,531 \pm 0,071$ mg/kg ($n=32$) y para la fase II de $0,513 \pm 0,039$ mg/kg. ($n=32$). Según el análisis isobolográfico, se obtuvo como resultado una interacción antinociceptiva de tipo sinérgica.

Conclusión : La administración vía intraperitoneal de dexketoprofeno, diclofenaco y su combinación produce un efecto antinociceptivo dosis dependiente en ambas fases del test algesiométrico; la coadministración de dexketoprofeno y diclofenaco actúa de forma sinérgica, lo cual permitiría buscar nuevas alternativas farmacológicas para producir un mejor efecto analgésico con menores dosis y así también se esperaría que los efectos secundarios sean menores.

Introducción

En la odontología existe un sin número de patologías en la que tenemos como síntoma principal el dolor. El dolor es, probablemente, el síntoma que con mayor frecuencia lleva al paciente a la consulta del médico y, por lo tanto, constituye un objetivo de interés para los médicos y demás profesionales de la salud, ya que llega a afectar a una tercera parte de la población en los países desarrollados. ⁽¹⁾

Todos sabemos perfectamente a qué nos referimos cuando hablamos de qué es el dolor y sin embargo no significa lo mismo para ninguno de nosotros. Una de las mejores definiciones para el dolor es la que nos entrega la International Association for the Study of Pain (IASP) que define al dolor como "una experiencia sensorial y emocional desagradable, con daño tisular actual o potencial o descrito en términos de dicho daño". ⁽²⁾

El área orofacial (cara y boca) representa uno de los sitios más comunes de dolor en el cuerpo, pues corresponde a una de las áreas más densamente inervadas, los dolores que se originan en ésta zona pueden presentar distintas etiologías y características, por ejemplo; trastornos temporomandibulares, dolor dentoalveolar y neuralgias, entre otros. ³

Existen diversos fármacos usados para tratar el dolor, conocidos como analgésicos, entre ellos existen: los opioides, los co-analgésicos, los anestésicos locales, antiinflamatorios esteroidales y los antiinflamatorios no esteroidales (AINEs).

Los AINEs son fármacos de uso común en odontología para el manejo del dolor y de la inflamación, son además antipiréticos y antiagregantes plaquetarios. Su mecanismo de acción está ligado a la inhibición de la ciclooxigenasa y, por consiguiente, de la síntesis de prostaglandinas (mediadores principales de la inflamación). Todos poseen un mecanismo de acción similar por lo que los efectos secundarios también son comunes. Los más frecuentes corresponden a alteraciones gástricas leves (como náuseas o vómitos) o graves (como hemorragia

o perforación gástrica). Otros efectos secundarios incluyen el riesgo aumentado de accidentes vasculares (en particular de infarto agudo de miocardio), toxicidad renal por disminución de la perfusión y riesgo de diátesis hemorrágica por el efecto antiagregante plaquetario de estos fármacos. Su uso está contraindicado en el tercer trimestre del embarazo por inducir el cierre prematuro del conducto arterioso. ⁽⁴⁾

La existencia de éstos efectos secundarios crea la necesidad de investigar estrategias de aplicación más seguras de éstos fármacos, para disminuir los efectos indeseados, en éste sentido nos referiremos al sinergismo, que dentro de las interacciones farmacológicas corresponde a la facilitación de la respuesta farmacológica por el uso concomitante de dos o más fármacos, con el cual se consiguen algunas interacciones medicamentosas deseables con el tratamiento conjunto, así los fármacos empleados requerirán de una dosis menor para lograr un mismo efecto, y en consecuencia sus reacciones adversas también tenderán a disminuir. ^(5,6)

Existen estudios previos en donde se evaluó el sinergismo de un AINE, el paracetamol, junto a distintos AINEs (diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, meloxicam, metamizol, naproxeno, nimesulida, parecoxib y piroxicam). Como resultado demostró un efecto analgésico sumatorio en la administración sistémica, tanto por vía intraperitoneal como por vía oral. ⁽⁷⁾

Entre los diferentes AINEs que existen se han seleccionado dos para éste estudio ellos son: el dexketoprofeno y el diclofenaco.

El dexketoprofeno es un isómero activo del ketoprofeno, es un AINE racémico y se ha descrito principalmente como inhibidor de la COX-1. Puede ser administrado tanto por vía oral como parenteral en procesos dolorosos agudos de moderado a severo. ⁽⁸⁾

El diclofenaco, es un derivado fenilacético con actividad analgésica, antitérmica y antiinflamatoria. Posee eficacia comparable a la de los derivados del ácido propiónico (como el ibuprofeno, naproxeno, etc.) que ha sido clasificado

preferentemente como inhibidor de la COX-2 y que se emplea tanto por vía oral como parenteral. ^(9,10)

En este estudio se evaluará, usando un análisis isobolográfico, la interacción analgésica entre dexketoprofeno y diclofenaco, en un modelo de dolor orofacial en ratones. ⁽¹¹⁾

Como todo estudio en animales, las limitaciones se refieren a las extrapolaciones de los posibles resultados, en la población humana, por lo cual deberían efectuarse estudios clínicos pertinentes a futuro.

1. Marco Teórico

Conocer el significado del dolor se basa en la experiencia personal de cada individuo, existen innumerables causas para su aparición y se entremezclan factores anatómicos, culturales y psicológicos entre otros. Todo esto hace que sea difícil generar una definición del dolor que sea universal y que no genere confusiones. La International Association for the Study of Pain (IASP) define el dolor como "una experiencia sensorial y emocional desagradable, con daño tisular actual o potencial o descrito en términos de dicho daño". La importancia del dolor se debe a que es un mecanismo de defensa, es decir, una señal de alarma para proteger al organismo y aumentar la supervivencia del individuo. ⁽¹²⁾

1.1 Clasificación del dolor

Existe un gran número de clasificaciones del dolor, siendo las más usadas en el campo odontológico, según duración o evolución (agudo o crónico) y según discriminación espacial, debido a que tienen implicancias de tipo diagnóstico y terapéutico. Entre las variadas clasificaciones tenemos:

Según duración o evolución:

- **Dolor agudo:** Es aquel que comprende el lapso estimado para que los tejidos sanen, el Comité de Taxonomía de la IASP determinó como tiempo límite de duración del dolor agudo, tres meses. El dolor agudo constituye un mecanismo fisiológico útil, necesario y protector, puesto que evita que nos exponamos a estímulos dañinos, mediando reflejos de protección para limitar el daño e iniciar los procesos de reparación. Su curso temporal es propio de la lesión que lo originó. El dolor agudo, puede dividirse en continuo o recurrente. El continuo permanece estable en una cierta intensidad, mientras el recurrente experimenta períodos de alivio y períodos más intensos. ⁽¹³⁾

- **Dolor crónico:** En contraposición al dolor agudo, es aquél que tiene una duración de más de tres meses, o que por las características de su origen, sobrepasa el tiempo que habitualmente podría definir un dolor agudo semejante. Este dolor tiene poco o nulo componente neurovegetativo, pero grandes efectos psicológicos y conductuales. En la mayoría de los casos, se le atribuyen causas de tipo neurológica, endocrina e inclusive genéticas. Este dolor constituye un problema de salud pública. ⁽¹⁴⁾

Según características somatosensoriales o discriminación espacial:

- **Dolor epicrítico:** Es superficial, de localización precisa y delimitada por el paciente, quien lo puede describir como punzante, lacerante, quemante, opresivo o fulgurante.
- **Dolor protopático:** Es difuso, mal localizado por el paciente y referido en varios cuadros clínicos. En relación a la etiología del dolor, ésta puede ser traumática, genética, infecciosa, inflamatoria, mecánica o psicógena.

Según fisiología:

- **Dolor fisiológico:** Es aquel desencadenado por estímulos específicos de gran intensidad, bien localizados y de tipo transitorio. Su rol fundamental es proveer un sistema protector, advirtiendo sobre estímulos potencialmente dañinos.
- **Dolor inflamatorio:** Es generado por la existencia de una lesión tisular, la cual conduce a un estado inflamatorio, con la consecuente liberación de mediadores químicos y una activación permanente de las vías nociceptivas.
- **Dolor neuropático:** Se produce por anomalías funcionales o estructurales en el sistema nervioso periférico (SNP) o central (SNC), lo que ocasiona descargas espontáneas y paroxísticas que son interpretadas como dolor. Se presenta como una sensación basal dolorosa o quemante, con

hiperalgesia (sensación elevada a estímulos dolorosos) y alodinia (dolor producido por un estímulo que normalmente no lo produce). ⁽¹⁵⁾

1.2 Neurofisiología del dolor

La neurofisiología explica el origen de la producción del dolor mediante la existencia de mecanismos que permiten ésta percepción. El dolor se origina tras un estímulo periférico que es conducido por un nervio periférico, a través de fibras especializadas, hasta la médula espinal, desde donde asciende a través de haces medulares hasta el tronco y la corteza cerebral, en la que se hará consciente. ⁽¹⁶⁾

En la percepción del dolor participan el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP). El dolor desencadena una serie de reacciones tanto en el SNC como en el SNP que permiten su percepción con el fin de disminuir la causa y limitar las consecuencias. ⁽¹⁶⁾

La serie de eventos fisiológicos que se producen en el sitio activo del tejido dañado y la percepción de dicho daño se denominan nocicepción, la cual comprende varios procesos o etapas.

El esquema total se puede resumir en una cadena compuesta por 3 neuronas, donde la primera (de primer orden) va desde la periferia a la médula espinal, la segunda (de segundo orden) asciende para llegar a los centros superiores y una tercera (de tercer orden) envía la información a la corteza cerebral donde se hace consciente. (Fig. 1)

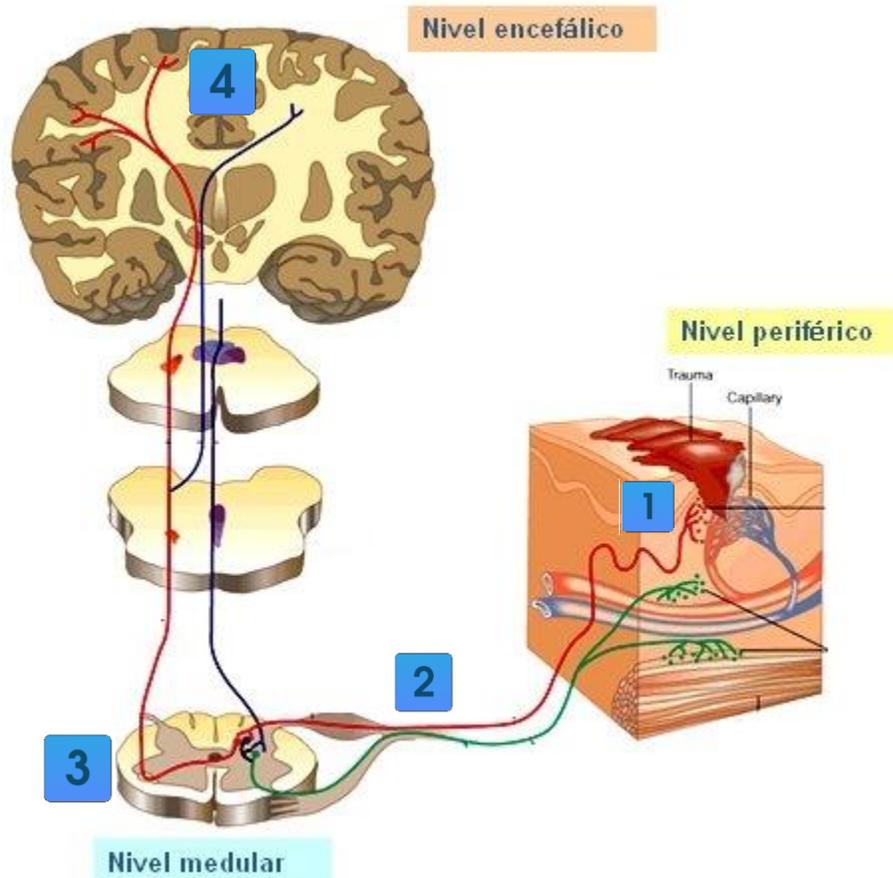


Figura 1. Procesos neurofisiológicos que participan en la nocicepción en los distintos niveles. 1: Activación de receptores, 2: Transducción, 3: Modulación, 4: Percepción.

1.2.1 Activación y sensibilización de los nociceptores periféricos

Los nociceptores son los receptores periféricos del dolor, histológicamente son terminaciones de neuronas bipolares que tienen su soma en los ganglios raquídeos y cuyo axón centrípeta penetra en el asta dorsal de la médula espinal. Éstos nociceptores funcionan ignorando estímulos de baja intensidad y sólo se activan ante estímulos lesivos dentro de un rango de intensidades.

Estas fibras nerviosas son de dos tipos:

- Fibras A- δ : Fibras miélicas de 1-5 μm de diámetro, con una velocidad de conducción rápida de 4-30 m/s. Conducen señales de dolor de corta latencia que precisan respuestas rápidas. (Fig. 2)

- Fibras C : Fibras amielínicas de 0,3 – 1,5 μm de diámetro, su velocidad de conducción es lenta, entre 0,4-2 m/s. Son el grupo más numeroso, son nociceptores polimodales, es decir, responden a múltiples estímulos (térmico, mecánico, químico) (Fig. 2).⁽¹⁷⁾



Figura 2. Esquema de fibras nerviosas. 1: Fibra A- δ , 2: Fibra C. Se puede apreciar la diferencia de diámetro total de las fibras y la presencia de la vaina de mielina esquematizada en color amarillo para la fibra A- δ .

Las fibras A- δ y C están presentes en la piel, en las estructuras viscerales y somáticas profundas, corresponden a los nociceptores propiamente tales. Se caracterizan por poseer un umbral de estimulación alto, en comparación a las fibras de grueso calibre que son de umbral muy bajo, ya que ellas transmiten el tacto suave o ligero. Su bloqueo producirá la abolición del impulso doloroso.⁽¹⁸⁾

La activación de éstos receptores se produce directamente o por acción de mediadores que excitan o inhiben las terminaciones nerviosas aferentes, actuando sobre receptores específicos o en los canales iónicos de la membrana que modifican la permeabilidad de ésta última para generar impulsos eléctricos que viajan al sistema nervioso central (SNC).

1.2.2 Transducción

La transducción corresponde al proceso en el cual los nociceptores transforman los estímulos que reciben (químicos, mecánicos y térmicos) en impulsos nerviosos, podemos reconocer dos tipos de transducción, la activación y la modificación en la sensibilidad. La activación corresponde a la generación del potencial de acción, mientras que la modificación puede ser hacia una mayor o menor sensibilidad (“up-regulation” y “down regulation”), a mayor sensibilidad deben existir mayor cantidad de receptores y menor umbral de excitación.⁽¹⁹⁾

Las sustancias liberadas en el proceso nociceptivo que desarrollan la sensibilización de los receptores son:

- Prostaglandinas, prostaciclina, leucotrienos y tromboxanos.
- Sustancia P.
- Histamina y serotonina (5-HT).
- Bradicinina.
- Catecolaminas.
- Hidrogeniones.

Tras el proceso de activación de los nociceptores periféricos; es en la médula donde se modulan las respuestas nociceptivas a través de las fibras A- δ y C, que terminan a nivel superficial del asta dorsal de la médula contactando con neuronas de segundo orden, cuyo soma se encuentra en ésta asta dorsal. (Fig. 1)

(16)

1.2.3 Transmisión

La transmisión de información nociceptiva entre las neuronas, al interior del asta posterior o dorsal de la médula espinal, ocurre a través de señales químicas mediadas por aminoácidos y neuropéptidos excitatorios e inhibitorios. Estos son producidos, almacenados y liberados en los terminales de aferencias primarias, interneuronas del asta dorsal y terminales de fibras descendentes del sistema supraespinal. Es relevante destacar que la segunda neurona puede hacer sinapsis con más de una primera neurona, proveniente de piel o de una víscera y que esta sinapsis se produce siempre en la sustancia gelatinosa de Rolando, cualquiera sea la distribución del soma en el asta posterior.

Aquí existen neuronas características de esta zona, las interneuronas, que de alguna manera modulan la sinapsis. Esto da un sustrato anatómico-fisiológico a fenómenos como el dolor referido o la modulación que sobre la transmisión nerviosa pueden ejercer centros superiores. Esta segunda neurona puede ser de dos tipos: la neurona específica que es activada por estímulos nociceptivos propiamente tal y la llamada neurona de rango dinámico que tiene la capacidad de activarse ante estímulos nociceptivos y no nociceptivos.

Las vías ascendentes, que llevan información hacia los centros superiores, están constituidas por tres haces que llegan al tálamo, desde donde son proyectados a distintas zonas del cerebro. Uno de ellos, el haz neoespinalámico, que hace sinapsis en núcleos específicos del tálamo: ventral-posterior y posterolateral. Estos núcleos se proyectan a la corteza somestésica o parietal, en las áreas sensitivas I y II, para darle la ubicación topográfica al dolor. Un segundo haz, el paleoespinalámico, se proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo y luego a la corteza frontal, constituyendo la evaluación cualitativa del dolor. Por último, el haz espinoreticulotalámico hace sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia, zona mesencefálica y sustancia gris periacueductal y de allí, en forma bilateral, hacia los núcleos inespecíficos del tálamo. El haz espinoreticulotalámico, por sus relevantes conexiones asociativas, es el que aporta el componente emocional y afectivo al dolor, siendo este factor el responsable de las grandes variaciones en la experiencia dolorosa ante un estímulo de igual naturaleza entre un individuo y otro. Es por medio del haz espinoreticulotalámico que se puede lograr el control voluntario de un estímulo doloroso con modalidades de respiración, concentración o meditación. ^(20,11)

1.2.4 Percepción

La percepción es la respuesta cerebral cortical a las señales nociceptoras que se proyectan a través de las neuronas de tercer orden al cerebro. La experiencia del dolor se define en términos de conciencia, es una experiencia sensorial que involucra múltiples variables y no debe confundirse con nocicepción, nocicepción es la respuesta a la estimulación de los nociceptores, puede ocurrir nocicepción en ausencia de dolor y viceversa, generación de dolor carente de nocicepción, esto explica tipos de dolor no nociceptivo como el neuropático y dolor nociceptivo como el inflamatorio. ⁽¹⁹⁾

1.3 Neurofisiología del dolor orofacial vía trigeminal

La región orofacial es ricamente inervada y posee gran representación y diversificación de receptores. Los impulsos dolorosos se generan por la activación de 4 nervios craneales, el nervio trigémino (V par), el nervio facial (VII par), glossofaríngeo (IX par) y vago (X par). De los nervios craneales mencionados es el nervio trigémino el principal encargado de la inervación de ésta región.

El nervio trigémino es de actividad mixta posee fibras motoras y sensoriales, Su porción sensorial transmite el tacto, dolor, temperatura, y propiocepción de: la cara, músculos faciales y masticatorios, de la articulación temporomandibular y de la cavidad bucal. Éste nervio se divide en 3 ramas: la oftálmica, la maxilar y la mandibular, las que emergen por el cráneo por la cisura orbitaria superior, el agujero redondo y el agujero oval respectivamente. ⁽²¹⁾

La vía aferente del dolor orofacial del V par se extiende desde los receptores periféricos de la cara y el cráneo, hasta la corteza cerebral en el sistema nervioso Central. Está formada por: tres neuronas contiguas y sucesivas; un ganglio, que es la agrupación de cuerpos de neuronas en la periferia del sistema nervioso y por varios núcleos que son la agrupación de cuerpos de neuronas.

El nervio trigémino aferente, posee fibras nerviosas primarias que corresponden a la estimulación periférica de los nociceptores. En el ganglio de Gasser está el soma de la primera neurona de la vía del dolor trigeminal, con una prolongación periférica que es una terminación libre y una prolongación central que se dirige al núcleo espinal trigeminal ipsilateral, llevando la información nociceptiva orofacial hacia los respectivos núcleos sensoriales del encéfalo, a través de las fibras A δ y C. Estos núcleos reciben también proyecciones de otros centros superiores que modulan estas vías. Las fibras A δ y C, descienden al llegar a la protuberancia, formando el tracto espinal del trigémino, al que se unen las fibras aferentes somáticas del resto de los pares craneales, que aportan información nociceptiva. Las fibras nociceptivas llegan al subnúcleo caudal, que recibe también fibras de los segmentos cervicales superiores.

Los axones de la segunda neurona, ubicada en el núcleo espinal, se cruzan y ascienden, enviando colaterales a la formación reticular, terminando en los núcleos del tálamo, ventral, posteromedial e intralaminares. Desde aquí la información viaja a la región facial del área sensitiva primaria de la corteza (áreas 1, 2, 3 de Brodmann) y a otras estructuras corticales y subcorticales como son: la corteza insular, que procesa información del estado interno del organismo integrando los aspectos cognitivo, sensorial y afectivo, modulando así el umbral doloroso; y la circunvolución cingular, que es parte del sistema límbico, relacionada con el procesamiento afectivo y emocional del dolor. ⁽²²⁾

1.4 Tratamiento farmacológico del dolor

Para el control o alivio del dolor se cuenta con métodos farmacológicos y no farmacológicos. Existen un sin número de medicamentos que difieren tanto en su vía de administración como en su composición química.

Los fármacos más importantes en el tratamiento farmacológico del dolor son:

- Anestésicos locales.
- Analgésicos opioides.
- Analgésicos anti-inflamatorios esteroidales
- Analgésicos anti-inflamatorios no esteroidales (AINEs).
- Co-analgésicos.

De forma general estos fármacos pueden actuar en 3 niveles, en la conducción del estímulo doloroso (anestésicos locales), a nivel central (analgésicos opioides) y a nivel periférico que actúan en la génesis de la injuria como son los AINEs. Cabe destacar que los coanalgésicos son un grupo de fármacos que tienen un objetivo distinto al de eliminar el dolor, pero que tratan síntomas que pueden acompañar al proceso doloroso, ejercen su acción en receptores que son expresados pre y postsinápticamente en neuronas a nivel

espinal y supraespinal, en éste grupo están los antidepresivos tricíclicos, anticonvulsivantes, colinérgicos, nitridérgicos y serotoninérgicos entre otros. ^(23,24)

1.4.1 Analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs)

Los AINEs son un grupo de fármacos, en su mayoría corresponden a ácidos orgánicos débiles que cuentan con una composición molecular variada, pero con un mecanismo de acción común. Son fármacos de uso común en odontología para el manejo del dolor y de la inflamación, son además antipiréticos y antiagregantes plaquetarios. Su mecanismo de acción, descrito por Vane en 1971, está ligado a la inhibición de las ciclooxigenasas (COXs) y, por lo tanto, de la síntesis de prostaglandinas (mediadores principales de la inflamación). Todos poseen un mecanismo de acción similar por lo que los efectos secundarios también son comunes. ⁽²⁹⁾

Los efectos secundarios o también llamadas reacciones adversas a medicamentos (RAMs) se presentan como consecuencia de acciones farmacodinámicas, expresadas en procesos en que las prostaglandinas actúan de manera fisiológica. Las más frecuentes corresponden a alteraciones gástricas leves (como náuseas o vómitos) o graves (como hemorragia o perforación gástrica) producidas por la inhibición de la biosíntesis de las prostaglandinas que actúan como citoprotectores de la mucosa estomacal. Otros efectos secundarios incluyen el riesgo aumentado de accidentes vasculares (en particular de infarto agudo de miocardio), toxicidad renal por disminución de la perfusión y riesgo de diátesis hemorrágica por el efecto antiagregante plaquetario de éstos fármacos. La función plaquetaria se altera porque los AINEs evitan la formación de tromboxano A₂ por parte de las plaquetas, que es un potente agregante, ello explica la tendencia de este tipo de fármacos a prolongar el tiempo de sangría. Su uso está contraindicado en el tercer trimestre del embarazo por inducir el cierre prematuro del conducto arterioso. ⁽³⁾

1.4.2 Clasificación de los AINEs

Existen variadas clasificaciones de AINEs, se los agrupa según: parámetros farmacocinéticos, su clasificación química (Tabla 2), su clase estructural y su actividad inhibitoria sobre las COXs (Tabla 1), etc. ^(25,26)

Tabla 1. Clasificación de los antiinflamatorios no esteroides según su selectividad sobre ciclooxigenasa, entre () el nombre comercial. ⁽²⁴⁾

Antiinflamatorios no Esteroidales Clasificación según actividad sobre las COX	
No Selectivos (COX-1 y 2) (tradicionales, convencionales)	Selectivos (COX-2) (COXIBEs)
Aspirina	Rofecoxib (Vioxx)
Acetaminofen	Valdecoxib (Bextra)
Indometacina (Indocid)	Parecoxib
Ibuprofeno (Motrin, Dalsy)	Celecoxib (Celebra)
Naproxeno (Naprosin)	Etoricoxib (Arcoxia)
Sulindac (Clinoril)	Lumiracoxib (Prexige)
Diclofenaco (Voltaren)	
Piroxicam (Feldene)	
β -Piroxicam (Cycladol)	
Meloxicam (Movatec)	
ketoprofeno (Profenid)	
Dexketoprofeno (Stadium, Enantyum, Merlix)	

Tabla 2. Clasificación de los antiinflamatorios no esteroidales según su grupo químico, destacados los AINEs relativos al estudio.

Principales grupos químicos de AINEs	AINEs
Salicilatos	ASA (ácido acetilsalicílico)
Derivados pirazolónicos	Aminofenazona (dipirona o metamizol)
	Fenilbutazona
	Azaprofazona
Derivados del para-aminofenol	Acetaminofen (paracetamol o tylenol)
Derivados del ácido acético	Indometacina
	Sulindaco
	Glucametacina
Derivados carboxílicos y pirrolpirrólicos	Etodolaco
	Ketorolaco

<i>Derivados del ácido fenilacético</i>	Diclofenaco
	Aclofenaco
	Tolmetina
	Fenclofenaco
<i>Derivados del ácido n-acetilantranílico</i>	Ácido mefenámico
	Niflumico
	Meclofenamico
	Clonixinato de lisina
<i>Derivados del ácido propiónico</i>	Ibuprofeno, Naproxeno, Ketoprofeno, Dexketoprofeno
	Flurbiprofeno, Fenoprofeno, Oxaprozina
<i>Derivados enólicos</i>	Piroxican
	Meloxican
	Tenoxican
<i>Grupo naftilalcanonas</i>	Nabumetona

1.4.3 AINEs y ciclooxigenasas (COXs)

La mayoría de los AINEs son inhibidores reversibles y competitivos de la enzima ciclooxigenasa (COX), siendo una excepción el ácido acetil salicílico que es un inhibidor irreversible, acetila la enzima en el sitio activo, por ello es uno de los agentes más útiles como antiagregante plaquetario ya que inhibe la enzima ciclooxigenasa plaquetaria (COX-1) por toda la vida de la plaqueta (7-11 días), como las plaquetas son fragmentos celulares son incapaces de sintetizar una nueva enzima.

Las COXs son enzimas principalmente de naturaleza proteica, que catalizan reacciones químicas que ocurren en el organismo, siempre que sean termodinámicamente posibles. Participan en la síntesis de prostaglandinas, las cuales desempeñan un importante papel en la fisiología celular. Entre ellas se encuentran las COXs, de las cuales existen 3 tipos o isoenzimas:

- COX-1
- COX-2
- COX-3.

La COX-1 se expresa de manera constitutiva en la mayoría de los tejidos corporales (estómago, riñones, plaquetas e intestinos). Su actividad tiene que ver con la participación de las prostaglandinas y los tromboxanos en el control de funciones fisiológicas; de este modo, es responsable de proteger el epitelio gástrico, incrementando secreción de mucus e inhibiendo la acción ácida, se asocia también con la homeostasis vascular, induce la síntesis de tromboxano A2 (TXA2), promoviendo la agregación plaquetaria, contracción del músculo liso, mantención del flujo sanguíneo renal y ovulación. Está presente en el sistema nervioso central (SNC), principalmente en el cerebro anterior. ⁽³²⁾

Por su parte la COX-2 se expresa en células involucradas en el proceso inflamatorio, como macrófagos y monocitos, siendo inducida por citoquinas inflamatorias y otros mediadores como factores de crecimiento y endotoxinas presentes en el sitio de inflamación, por lo cual mantiene los mecanismos inflamatorios y amplifica las señales dolorosas que surgen de éstos sitios. Se encuentra también en el SNC donde tiene expresión constitutiva, ubicado preferentemente en la corteza, hipocampo, hipotálamo y médula espinal. ⁽²⁷⁾

Dado que se requiere tiempo para la inducción de la COX-2, se sugiere que en situaciones donde el dolor se manifiesta en forma inmediata después del estímulo nociceptivo, puede ser modulado por la actividad de la COX-1. ²⁸

Recientemente se considera un tercer tipo o isoenzima, la COX-3 que se encuentra presente en el sistema nervioso central, corazón, aorta y tracto gastrointestinal y está relacionada con el dolor, la fiebre y la inflamación. En resumen estas 3 isoenzimas COXs contribuyen a mantener la homeostasis del organismo catalizando la formación de prostaglandinas, a partir del ácido araquidónico.

1.4.4 Prostaglandinas y AINEs

Las prostaglandinas son un conjunto de sustancias de naturaleza lipídica que derivan de ácidos grasos, son de 20 carbonos (eicosanoides), contienen un anillo ciclopentano y constituyen una familia de mediadores celulares, con efectos diversos. Las prostaglandinas intervienen en la respuesta inflamatoria, específicamente en lo que es vasodilatación, aumentan la permeabilidad de los tejidos permitiendo el paso de los leucocitos; son antiagregantes plaquetarios; estimulan las terminaciones nerviosas nociceptivas; contraen la musculatura lisa, intervienen en la regulación de la temperatura corporal, etc. ^(29,30)

1.4.5 Mecanismo de Acción de los AINEs

Cuando una injuria produce ruptura de membranas celulares se liberan sustancias como la serotonina, acetilcolina, histamina, norepinefrina, angiotensina II, bradicininas y citoquinas inflamatorias que van a activar a la enzima fosfolipasa A₂ (FLA₂) que hidroliza el enlace éster de los fosfolípidos de la membrana, con la liberación de ácido araquidónico. El ácido araquidónico puede seguir dos vías; la vía de la ciclooxigenasa (COX) o la vía de la lipooxigenasa (LOX) (Fig. 4). ^(9,13)

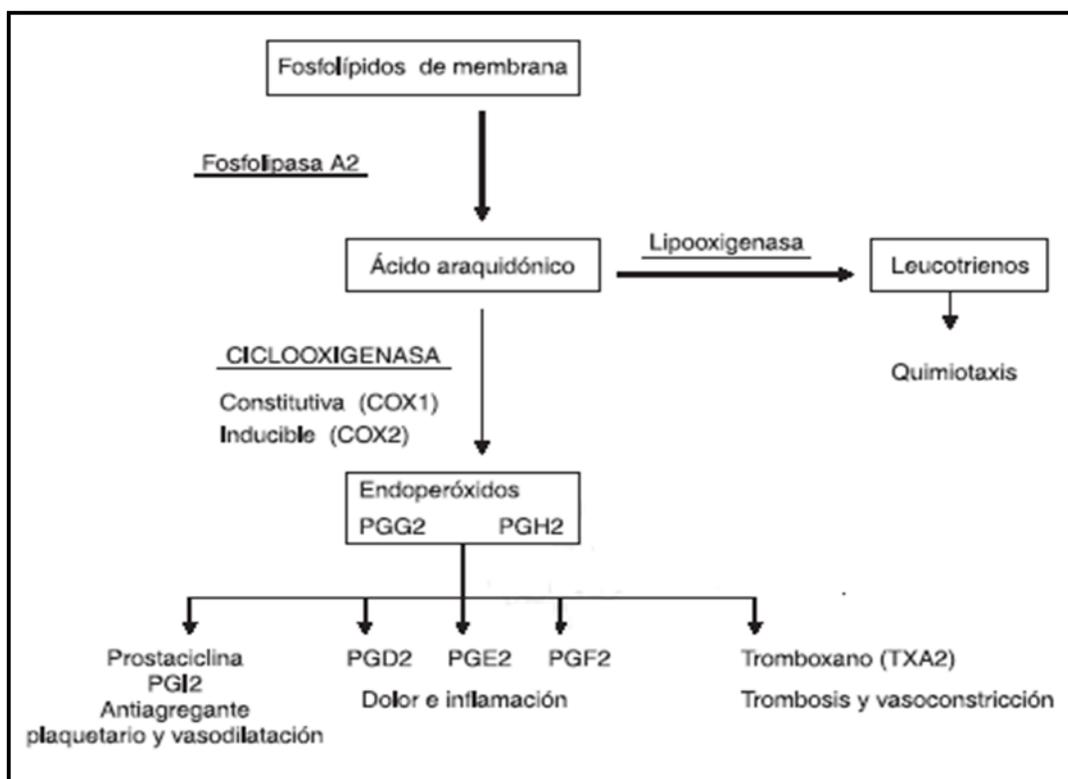


Fig. 3. Mecanismo de acción de los AINEs

Las COXs generan importantes mediadores de la inflamación, estos son las prostaglandinas y tromboxanos. En la vía de la lipooxigenasa se produce leucotrienos, sustancias hipersensibilizantes y vasoconstrictoras con efecto quimiotáctico sobre eosinófilos, neutrófilos y macrófagos. Los antiinflamatorios no esteroideos inhiben la enzima ciclooxygenasa y la producción de prostaglandinas, pero no suprimen la formación de leucotrienos.

La actividad antiinflamatoria de los AINEs se ejerce principalmente a través de la inhibición de las ciclooxygenasas. La inhibición de la COX-1 sería la responsable de los efectos adversos de los AINEs clásicos sobre la mucosa gastrointestinal, mientras que sus beneficios terapéuticos dependerían de la inhibición de la COX-2. Los AINEs inhiben tanto la COX-1 como la COX-2, es por esto que las líneas de investigación apuntan a lograr fármacos altamente selectivos por la COX-2, y por lo tanto, con mínimo efecto sobre la COX-1. ⁽³¹⁾

En general las acciones de los AINEs son a través de las COXs, sin embargo, estudios señalan que también modifican otros mediadores de la inflamación de manera directa o indirecta, tales como: radicales de oxígeno y metabolitos citotóxicos, citocinas que intervienen en la inflamación crónica, sistema de complemento, cininas (bradicinina y precalicreína) que sensibilizan terminaciones nerviosas produciendo dolor y aminas vasoactivas (histamina y serotonina), que permiten el aumento de la permeabilidad vascular, producidos en plaquetas basófilos y mastocitos. ⁽²⁶⁾

Los AINEs además de realizar muchas propiedades terapéuticas, tales como ser: analgésicos, antipiréticos, antiinflamatorios, antitumorígenicos, entre otras, producen varios efectos colaterales indeseables o RAMs entre las que destacan: gastrointestinales, renales, hematológicas, hepáticas, cefaleas a nivel del SNC e incluso fenómenos de hipersensibilidad. ⁽²⁶⁾

La acción de los AINEs posee un “efecto techo” o efecto máximo, el cual no puede sobrepasarse, ya que no se logra disminuir el dolor al aumentar la dosis, por otro lado los efectos adversos si son dosis dependientes. ⁽³⁾

En este estudio se seleccionó de toda la gama de AINEs a dos fármacos para evaluar su interacción, el diclofenaco y el dexketoprofeno. *

* Como se mencionó anteriormente en este estudio se evaluará, usando un análisis isoblográfico, la interacción analgésica entre dexketoprofeno y diclofenaco, en un modelo de dolor orofacial en ratones. El laboratorio de Estudio del Dolor del Programa de Farmacología, dependiente de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, busca estudiar la interacción analgésica de múltiples AINEs y pone a disposición de los alumnos interesados en realizar el trabajo de investigación, un grupo de fármacos en donde el alumno debe elegir 2 AINEs para la investigación, con el prerrequisito de que esa interacción no haya sido estudiada antes en el laboratorio.

1.5 Diclofenaco.

El diclofenaco es un AINE fenilacético, y su nombre químico es ácido 2-[2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil]acético. (Fig. 4)

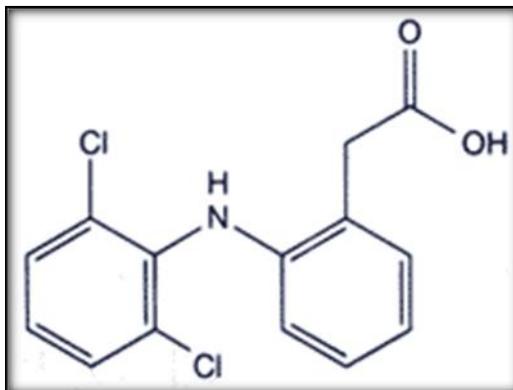


Fig. 4. Estructura química del diclofenaco. Tomada de Enciclopedia of Pain. Schmidt R. Editorial Springer pág. 1469

El Diclofenaco es inhibidor tanto de la COX-1 como de la COX-2, pero tiene una preferencia de aproximadamente unas diez veces más de bloquear la COX-2. La inhibición de la COX-1 disminuye la producción de prostaglandinas en el epitelio del estómago lo que lo hace mucho más vulnerable a los ataques producidos por ácidos gástricos, siendo éste uno de los principales efectos secundarios del diclofenaco. Pero como tiene una preferencia a actuar sobre la COX-2, la incidencia de éstos efectos negativos gastrointestinales es baja en comparación a los mostrados por la indometacina y la aspirina. ^(9, 32)

Existen evidencias de que el diclofenaco inhibe la producción de la enzima fosfolipasa A2 en su mecanismo de acción. Ésta acción adicional puede explicar su alta efectividad como analgésico antiinflamatorio.

El diclofenaco es absorbido rápida y eficientemente luego de su administración oral, rectal o intramuscular. Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan entre los 10 y 30 minutos posteriores a la administración intramuscular y entre 1.5 y 2.5 horas luego de ingerir la formulación oral recubierta. El diclofenaco se une en gran medida (99.5%) a proteínas. La droga

penetra en forma eficiente en el líquido sinovial inflamado, en el cual mantiene altas concentraciones en comparación con los niveles plasmáticos.⁽³³⁾

Sólo un 60% de la droga alcanza la circulación sanguínea sin modificaciones luego de la administración oral. Se elimina principalmente por metabolismo hepático y posterior excreción urinaria de los conjugados de sus metabolitos. La administración diaria de 75 mg a 100 mg de diclofenaco produce efectos analgésicos y antiinflamatorios significativos en el tratamiento de diversas condiciones reumáticas (tendinitis, bursitis, ciática, mialgias) y de daño agudo de tejidos blandos (esguinces, torceduras). El diclofenaco también resulta eficaz para tratar los signos y síntomas de la dismenorrea.³⁴

1.6 Dexketoprofeno.

El dexketoprofeno es el enantiómero dextrorrotatorio del ketoprofeno (S(+)-ketoprofeno) (Fig. 5) y su nombre químico es ácido (2S)-2-[3-(benzoil)fenil]propanoico. El ketoprofeno es un AINE racémico y se ha descrito como inhibidor tanto de la COX-1 como de la COX-2, pero con una preferencia notable por la COX-1. Puede ser administrado tanto por vía oral como parenteral en procesos dolorosos agudos de moderado a severo.^(7,31)

El ketoprofeno se viene usando desde 1973 como agente analgésico, antipirético y antiinflamatorio y es uno de los inhibidores más potentes de la síntesis de prostaglandinas *in vitro*. Este efecto deseado del ketoprofeno, es debido al enantiómero S(+)-ketoprofeno, por otro lado el enantiómero R(-)-ketoprofeno carece de dicha actividad y al no ser una molécula inerte, se asocia más bien a la aparición de efectos secundarios; es así como la acción ulcerogénica del dexketoprofeno es 5 veces menor en comparación con ketoprofeno.⁽³⁵⁾

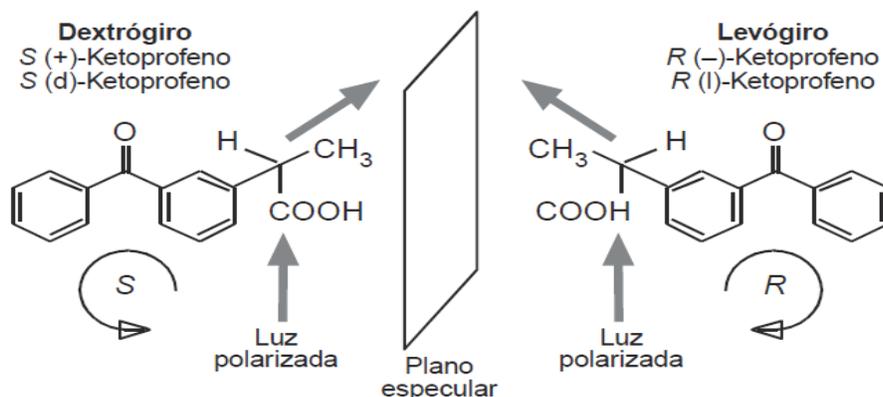


Figura 5. Esquema y nomenclatura de los enantiómeros del ketoprofeno.

La utilización del dexketoprofeno en comparación con ketoprofeno, confiere las siguientes ventajas:

- Podría disminuirse la dosis necesaria para obtener el mismo efecto analgésico como combinación racémica.
- La carga metabólica podría ser reducida a la mitad.
- El riesgo de efectos secundarios causados directa o indirectamente por el isómero puede ser minimizado.

Estudios realizados por Ferrer *et al.* llegaron a la conclusión de que la potencia antiinflamatoria de dexketoprofeno es equivalente a la demostrada por el doble de la dosis de ketoprofeno; corroborando lo anterior Barbanoj *et al.* demostraron que la eficacia analgésica clínica de la fase oral del dexketoprofeno era aproximadamente similar a la que se veía después de la dosis doble compuesto racémico, pero con un inicio de acción más rápido. ⁽³⁶⁾

El dexketoprofeno se ha formulado como sal de trometamina, denominado dexketoprofeno trometamol (DKT). Este corresponde a una sal hidrosoluble del enantiómero dextrorrotatorio del ketoprofeno, formulación que posee una solubilidad acuosa superior a la del ácido libre. ⁽³⁷⁾

La biodisponibilidad relativa del DKT oral en dosis de 25mg es similar a la del ketoprofeno racémico oral en dosis de 50mg. Al reducir la dosis del compuesto racémico a la mitad, disminuye la carga renal y hepática, además de reducir la formación de metabolitos. Otra ventaja es que permite evitar los potenciales efectos tóxicos atribuidos al enantiómero R(-) inactivo, presentando una baja incidencia de efectos adversos. ⁽³⁸⁾

El DKT administrado vía oral, se absorbe en 0.25-0.75 horas hasta la concentración plasmática máxima, mientras que el tiempo hasta la concentración plasmática máxima del enantiómero S(+) del fármaco racémico es de 0.5-3 horas. Estudios farmacocinéticos realizados en individuos sanos demostraron que la administración oral de dexketoprofeno trometamol presentó un perfil cinético favorable para su uso en el dolor agudo, en comparación con la formulación de ácido libre o el ketoprofeno racémico. Aunque la concentración plasmática de S(+)-ketoprofeno tras la administración oral de dexketoprofeno trometamol es equivalente a la existente tras la administración del compuesto racémico a dosis enantioméricamente equivalentes, la absorción es más rápida, y se alcanzan concentraciones plasmáticas máximas más elevadas que con la formulación de ácido libre o el compuesto racémico. ^(37, 38)

Dexketoprofeno es eliminado luego de completar su metabolismo. El proceso de eliminación es muy rápido, permitiendo administrar varias dosis del fármaco sin resultar en una acumulación plasmática evidente. ⁽³⁸⁾

1.7 Interacción de fármacos.

Como se mencionó anteriormente los AINEs son de uso común en odontología, sin embargo la existencia de estos efectos secundarios, crea la necesidad de investigar estrategias de aplicación más seguras de estos fármacos para disminuir los efectos indeseados.

La interacción farmacológica entre drogas se puede considerar desde el punto de vista farmacocinético o farmacodinámico, por esto cuando dos drogas se administran en forma conjunta, sus efectos pueden ser: ⁽³⁹⁾

- **Aditivos** : Corresponde a la suma de los efectos que produce cada una de ellas separadamente.
- **Subaditivo o antagónico** : Corresponde a un efecto menor que la suma de cada agente por separado.
- **Sinérgico o supraaditivo** : Que es un efecto mayor que la suma de los efectos por separados de cada droga.

En éste sentido nos referiremos al sinergismo, que dentro de las interacciones farmacológicas corresponde a la facilitación de la respuesta farmacológica por el uso concomitante de dos o más fármacos, con el cual se consiguen algunas interacciones medicamentosas deseables con el tratamiento conjunto, así los fármacos empleados requerirán de una dosis menor para lograr un mismo efecto, y en consecuencia sus reacciones adversas también tenderán a disminuir. ^(4,5)

En este estudio se evaluará usando el análisis isoblográfico la interacción analgésica entre dexketoprofeno y diclofenaco, en un modelo de dolor orofacial en ratones, inducido por la administración de formalina en el labio superior. ⁽¹⁰⁾

2. Hipótesis:

La coadministración intraperitoneal de dexketoprofeno con diclofenaco, produce sinergismo analgésico, en dolor producido por el ensayo de la formalina orofacial en ratones.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general:

Determinar la actividad antinociceptiva de dexketoprofeno, diclofenaco y de su mezcla en el ensayo algiesiométrico de la formalina orofacial en ratones.

3.2 Objetivos específicos:

3.2.1 Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal (i.p.) de dexketoprofeno en el test de la formalina orofacial.

3.2.2 Evaluar la analgesia producida por la administración i.p. de diclofenaco en el mismo ensayo.

3.2.3 Evaluar el tipo de interacción analgésica que se obtiene al administrar en conjunto dexketoprofeno con diclofenaco en el ensayo antes citado.

4. Materiales y métodos.

Se utilizaron 120 ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1 de 25 a 30 g de peso y de 2.3 a 2.5 meses de edad (Fig. 6), habituados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes del experimento, de acuerdo al protocolo realizado especialmente para este proyecto de investigación **CBA# 0502 FMUCH** (adjunto en el anexo), aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (cada animal recibió solamente una dosis de las drogas, las observaciones fueron efectuadas en forma ciega, aleatoria y controladas con solución salina). El número de animales se encuentra justificado por la necesidad de obtener resultados estadísticamente válidos ($p < 0.05$) y se deja constancia que, basándose en las normas éticas internacionales que rigen este tipo de experimentación, el número de animales utilizados fue el mínimo estrictamente necesario, para un correcto análisis estadístico.



Figura 6. Ratones machos de la cepa CF/1, *Mus musculus*.

4.1 Justificación del uso de animales y de la especie en particular.

No existen otros modelos alternativos para el estudio del dolor, es imposible estudiar reacciones dolorosas en modelos computacionales, en células aisladas o en tejidos de cultivo, el dolor como se describió anteriormente en este documento es una reacción compleja y difícil de interpretar.

Se utiliza esta especie animal por su facilidad de manipulación para la administración de drogas, acompañados de un bajo costo económico y excelente exactitud en cuanto a la reproducción de los resultados, además los modelos algesiométricos utilizados que serán descritos están diseñados para animales pequeños como roedores.

4.2 Procedimientos previos realizados a los animales.

Los ratones fueron trasladados desde el vivero perteneciente al Programa de Farmacología Molecular y Clínica, hasta el laboratorio de Estudio del Dolor del Programa de Farmacología, los ratones se aclimataron por lo menos 2 horas al ambiente de laboratorio (Fig. 7), tiempo que ha sido determinado y aprobado en publicaciones en revistas ISI.



Figura 7. Ratones aclimatados en recipientes diseñados para el procedimiento.

En cada sesión un grupo de 6 ratones, sometido a ligera restricción manual, fue inyectado vía intraperitoneal, por medio de una jeringa de tuberculina de 1mL con aguja de 27G en un volumen constante de 10 ml/kg con uno de los AINEs (diclofenaco, dexketoprofeno y su mezcla) en diversas concentraciones (que están dados por la potencia de cada uno de los AINEs) y con solución salina al 0.9% para el caso de los grupos controles. (Fig. 8)

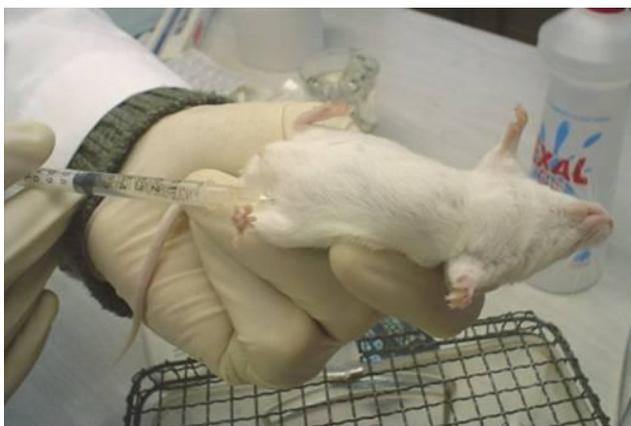


Figura 8. Restricción manual para la administración vía intraperitoneal de los AINEs o de la solución salina al 0.9%.

4.3 Test algesiométrico orofacial de la formalina.

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuará utilizando el test algesiométrico orofacial de la formalina que mide el dolor originado por la estimulación del nervio trigémino, uno de los nervios de mayor inervación del territorio máxilofacial. Para ello se realizará una inyección subcutánea de 20 μ L de una solución de formalina al 2 % en el labio superior del animal (Fig. 10). La inyección de formalina orofacial al 2% ha sido descrita en varios trabajos de Miranda y colaboradores. ^(40,41)

Esta administración de formalina induce un sostenido frotamiento de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal de manera intermitente (Fig. 11). Luego de inyectados con formalina, los ratones se colocan en un cilindro diseñado para la observación y se registra por medio de un

cronómetro digital el tiempo total que se frota el área perinasal durante los 5 minutos inmediatos a la inyección y que corresponde a la fase algésica aguda (fase I). Luego se registra por 10 minutos, a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30 minutos, el tiempo durante el cual los animales se frota el labio comprometido y que corresponde a la fase inflamatoria y que mide el dolor crónico (fase II). No se contabiliza el tiempo entre la fase I y II debido a que el ratón se encuentra en un período de quietud. ⁽¹⁰⁾ (Fig. 9)

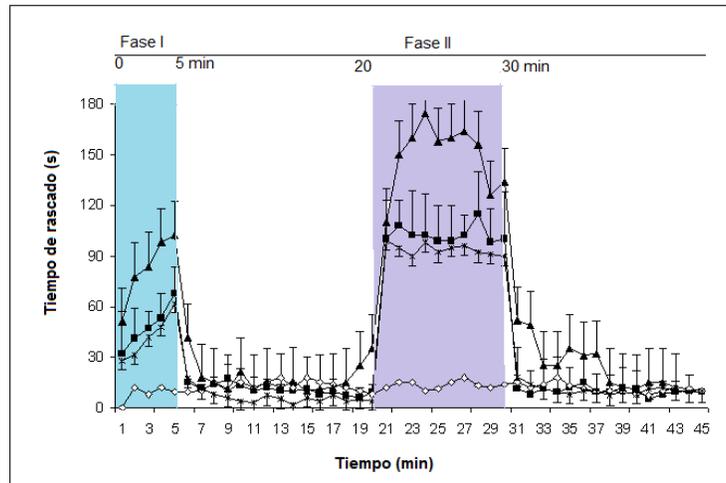


Figura 9. Curso temporal del ensayo de la formalina. (Control salino (∩); formalina 1% (*); formalina 2% (■) y formalina 5% (▲)). Cada punto es el promedio ± EEM de al menos 6 animales. Se aprecian los tiempos de rascado tanto en fase I (en celeste) como en fase II (en morado), se observa el período de quietud entre ambas fases. ⁽¹⁰⁾



Fig 10. Inyección subcutánea de 20 µL de una solución de formalina al 2 % en el labio superior del animal.

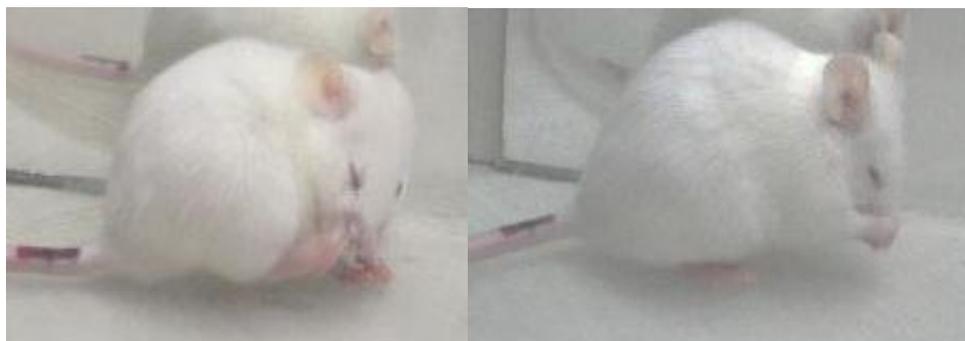


Fig 11. Frotamiento de la zona perinasal post-inyección de formalina 2%. Izquierda con la pata trasera; derecha, con la pata delantera.

4.4 Procedimiento posterior al protocolo experimental.

Después de realizado el protocolo experimental los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, sin observadores no comprometidos en la experimentación, previa anestesia por vía intraperitoneal de una mezcla de ketamina (100 mg/kg) con xilamina (10 mg/kg) o con 50 mg/kg de pentobarbital; el procedimiento fue realizado por un técnico con más de 25 años de experiencia que fue entrenado por un veterinario y que realizó los cursos correspondientes para el manejo y trabajo con animales en el ISP. El procedimiento realizado es validado por todos los comités internacionales para el estudio del dolor en animales.⁽⁴²⁾

4.5 Evaluación de la analgesia

El tiempo total de rascado o frotamiento (grooming) contabilizado en segundos, se convirtió a % del máximo tiempo posible de analgesia (MPE). El valor del MPE se obtuvo con la siguiente fórmula.

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

4.6 Estudio de la interacción antinociceptiva

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva, se construyeron curvas dosis-respuesta del AINE administrado por vía intraperitoneal (i.p.) con un mínimo de 6 animales por cada uno, de al menos 4 dosis logarítmicas. Los animales controles fueron inyectados con solución salina al 0.9 %. Los fármacos se administraron vía i.p. en un volumen constante, de 10 mL/kg y el test de formalina orofacial se realizó 30 minutos después ya que es el momento en que se obtiene el efecto máximo de cada droga, el cual ha sido determinado en un estudio previo. ⁽⁴³⁾

4.7 Método isoblográfico de Tallarida.

Para la evaluación de las interacciones se utilizó el método isoblográfico de laboratorio, en la forma descrita por Tallarida ⁽⁴⁴⁾, 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 cuál es su magnitud.

Para cada combinación de las drogas se determina la dosis efectiva 50 (DE50), que corresponde a la dosis que produce el 50% del MPE. La DE50 experimental de cada fármaco, tanto para fase I como para fase II, se calculó mediante el análisis de regresión lineal de su curva dosis-respuesta, que fueron

construidas utilizando el logaritmo de las dosis en la abscisa versus % MPE en la ordenada.

La DE50 experimental de la mezcla se comparó estadísticamente con la DE50 teórica que representa teóricamente la adición de simple de efectos, que se obtiene según la siguiente fórmula:

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

Donde:

- R : Relación de potencia entre las drogas administradas solas.
- P1 : Proporción de dexketoprofeno en la mezcla.
- 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 de dexketoprofeno en la abscisa con la DE50 de diclofenaco en la ordenada (línea de aditividad simple o teórica) (Fig. 12). La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. En el caso de que la interacción sea sinérgica (supraditiva), 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.

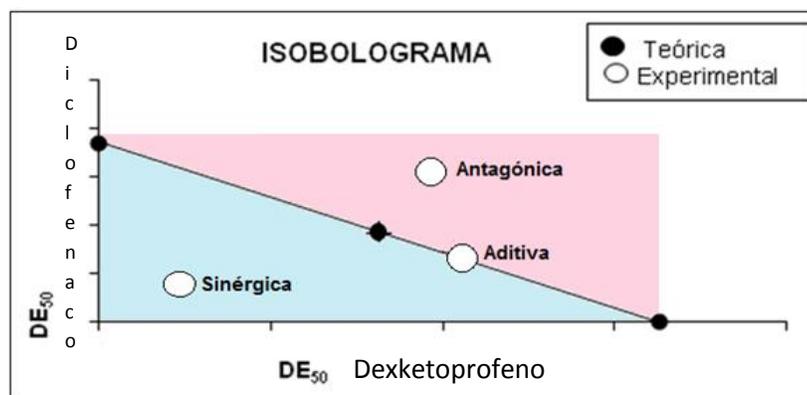


Figura 12. Isobolograma que ejemplifica la interpretación de los resultados, ya sea esta sinérgica, antagónica o de simple aditividad.

Al mismo tiempo, el programa calcula el índice de interacción (I.I.) entre las drogas, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$I.I. = DE_{50} \text{ experimental} / DE_{50} \text{ teórico}$$

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.

4.8 Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como promedio \pm error estándar del promedio (SEM) o bien como promedio con su correspondiente 95 % de límite o intervalo de confianza (95 % LC). El análisis estadístico de los datos obtenidos en las curvas log dosis respuestas se analizarán mediante regresión lineal por cuadrados mínimos para determinar las DE₅₀, ya sea de los fármacos administrados en forma aislada como de sus combinaciones. Todos los parámetros estadísticos, se calcularon con un programa computacional de laboratorio (Pharm Tools Pro, versión 1,27, McCary Group Inc., PA USA) y la significación estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($p < 0,05$).

4.9 Obtención de la muestra

Las observaciones se realizaron en forma aleatoria, ciega simple y con un grupo control. La elección de los animales para ser asignados a sus respectivos grupos se realizó de forma aleatoria, por lo tanto, la muestra es de tipo probabilística.

El tamaño de muestra fue de 120 ratones, los cuales se dividieron en 5 grupos:

4.9.1 Grupo control salino

Los ratones fueron inyectados por vía i.p. con solución salina al 0.9%. Su administración fue realizada 30 minutos antes de aplicar el test algesiométrico. Se utilizaron 24 animales.

4.9.2 Grupo diclofenaco

Los ratones fueron inyectados con diclofenaco por vía i.p. con dosis de 1, 3, 10 y 30 mg/Kg. La administración de este fármaco fue realizada 30 minutos antes de aplicar el test algesiométrico. Para cada una de las dosis se utilizaron 6 animales.

4.9.3 Grupo dexketoprofeno

Los ratones fueron inyectados con dexketoprofeno por vía i.p. con dosis de 3, 10, 30 y 100 mg/Kg. La administración de este fármaco fue realizada 30 minutos antes de aplicar el estímulo nociceptivo. Para cada una de las dosis se utilizaron 6 animales.

4.9.4 Grupo diclofenaco con dexketoprofeno. Fase I (fase algésica)

Los ratones fueron inyectados por vía i.p. con una mezcla de la DE50 de cada fármaco, en una proporción fija de 1:1, administrando 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de sus DE50. La administración de estas proporciones fue realizada 30 minutos antes de aplicar el estímulo nociceptivo, y la medición del tiempo de rascado fue cuantificada sólo en los primeros 5 minutos del test de la formalina (primera fase). Para cada una de las dosis se utilizaron 6 animales.

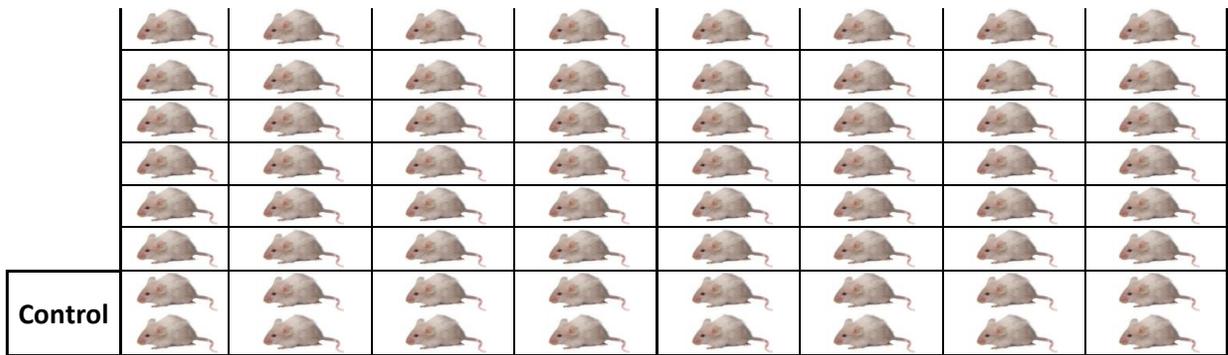
4.9.5 Grupo diclofenaco con dexketoprofeno. Fase II (fase inflamatoria)

Los ratones fueron inyectados por vía i.p. con una mezcla de la DE50 de cada fármaco, en una proporción de 1:1, administrando en 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de sus DE50. La administración de estas proporciones fue realizada 30 minutos antes de aplicar el estímulo nociceptivo, y la medición del tiempo de rascado fue cuantificada sólo en los últimos 10 minutos del test de la formalina, entre los 20 y 30 minutos, después de la inyección de la formalina (segunda fase). Para cada una de las dosis se utilizaron 6 animales.

La distribución de los ratones en cada uno de los grupos experimentales, se muestra en la siguiente tabla (Tabla 3):

Tabla 3. Número total de ratones utilizados (120) y su distribución en cada uno de los grupos.

	Diclofenaco				Dexketoprofeno			
	1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg
								
								
								
								
								
Control								



Las diversas concentraciones de los fármacos usados, tanto de diclofenaco (1-30 mg) como de dexketoprofeno (3-100 mg), están dadas por la potencia de cada uno de los AINEs y fueron definidas en estudios anteriores de Miranda, H. F. y cols. sobre sinergismo entre AINEs. ⁽³⁸⁾

5. Resultados

5.1 Grupo control

Los ratones pertenecientes al grupo control, dieron un tiempo de rascado de la zona labial y perinasaal derecha de 92.5 ± 2.34 segundos, para la fase I (n=8) y de 103 ± 2.24 segundos para la fase II (n=16) (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados del grupo control, en fase I y en fase II.

	Grupo Control		Solución salina al 0.9%	
	fase I		fase II	
n	8		16	
Tiempo de rascado en segundos	92,5	$\pm 2,34$	103	$\pm 2,24$

5.2 Grupo administrado con Diclofenaco

La administración de diclofenaco, resultó en una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, tanto en la fase I como en la fase II, del ensayo algesiométrico orofacial, lo que se observa en las figuras respectivas. La DE50 en fase I resultó ser de $4,104 \pm 0,203$ mg/kg. (n=32) (Fig. 13), mientras que en la fase II resultó ser de $2,583$ mg/kg $\pm 0,293$ (n=32) (Fig. 14).

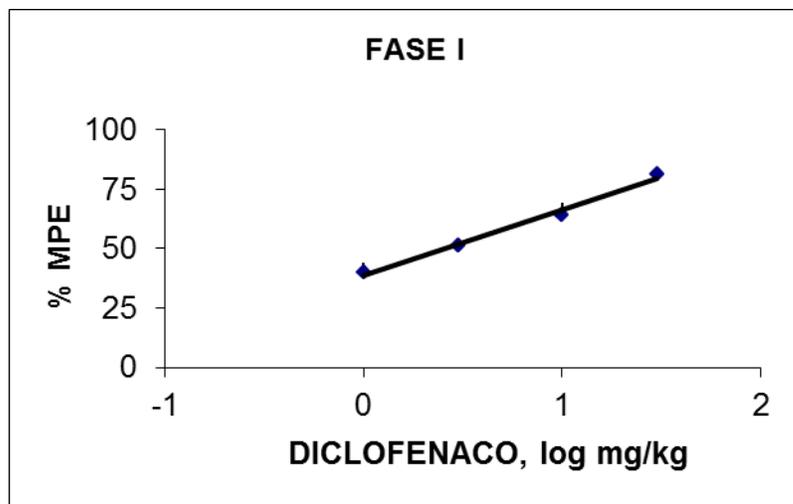


Figura 13. Curva dosis respuesta para la administración de Diclofenaco en la fase I del test de la formalina orofacial al 2 % en ratones. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 6 animales.

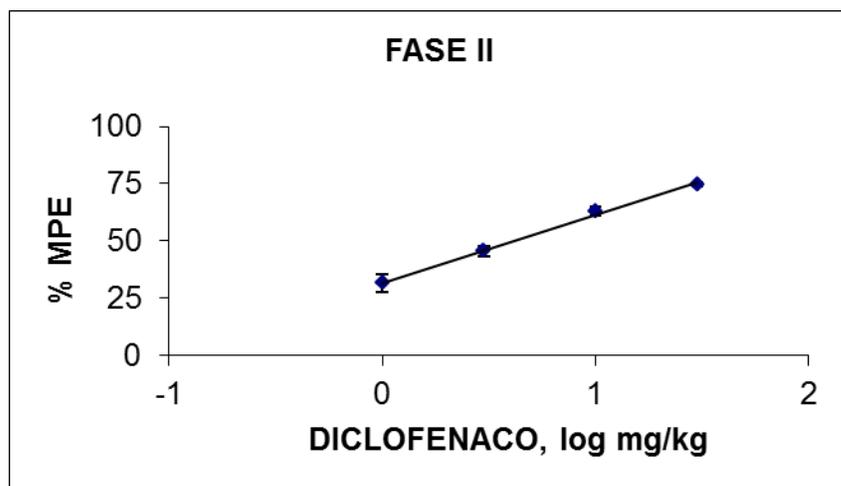


Figura 14. Curva dosis respuesta para la administración, de diclofenaco en la fase II del test de la formalina orofacial en ratones. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 6 animales.

5.3 Grupo administrado con Dexketoprofeno

La administración de dexketoprofeno, resultó en una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, tanto en la fase I como en la fase II, del ensayo algesiométrico orofacial, lo que se observa en las figuras respectivas. La DE50 en fase I resultó ser de $3,307 \pm 0,552$ mg/kg. (n=32) (Fig. 15), mientras que en la fase II resultó ser de $5,128$ mg/kg $\pm 0,365$ (n=32) (Fig. 16).

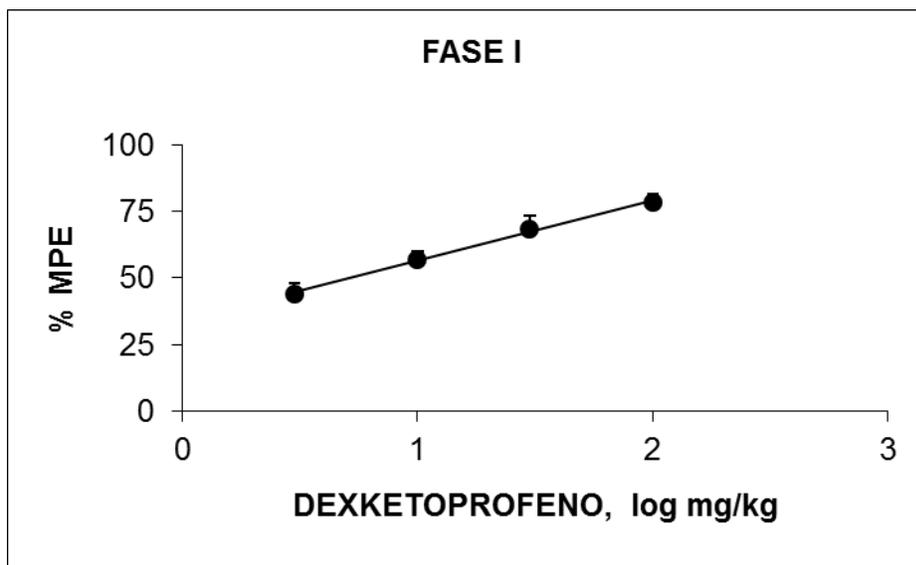


Figura 15. Curva dosis respuesta para la administración de dexketoprofeno en la fase I del test de la formalina orofacial al 2 % en ratones. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 6 animales.

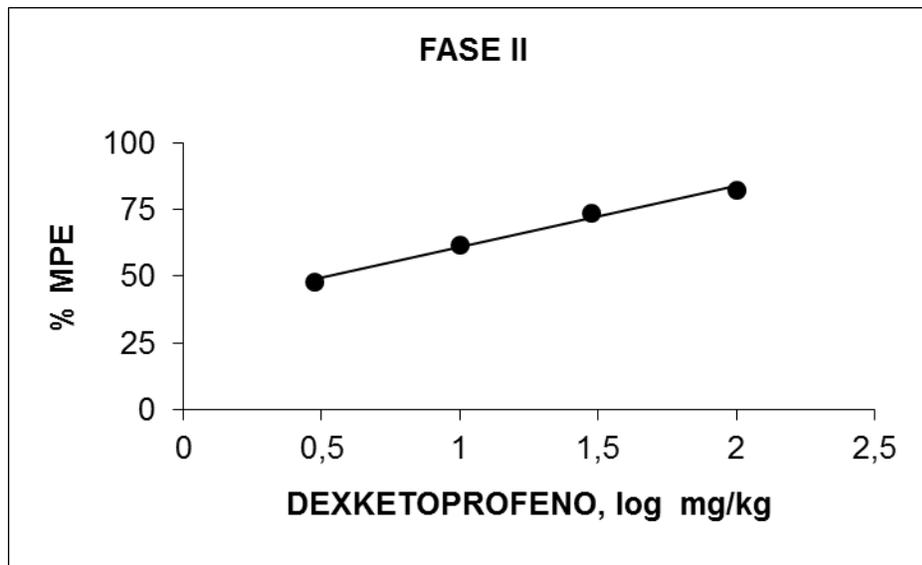
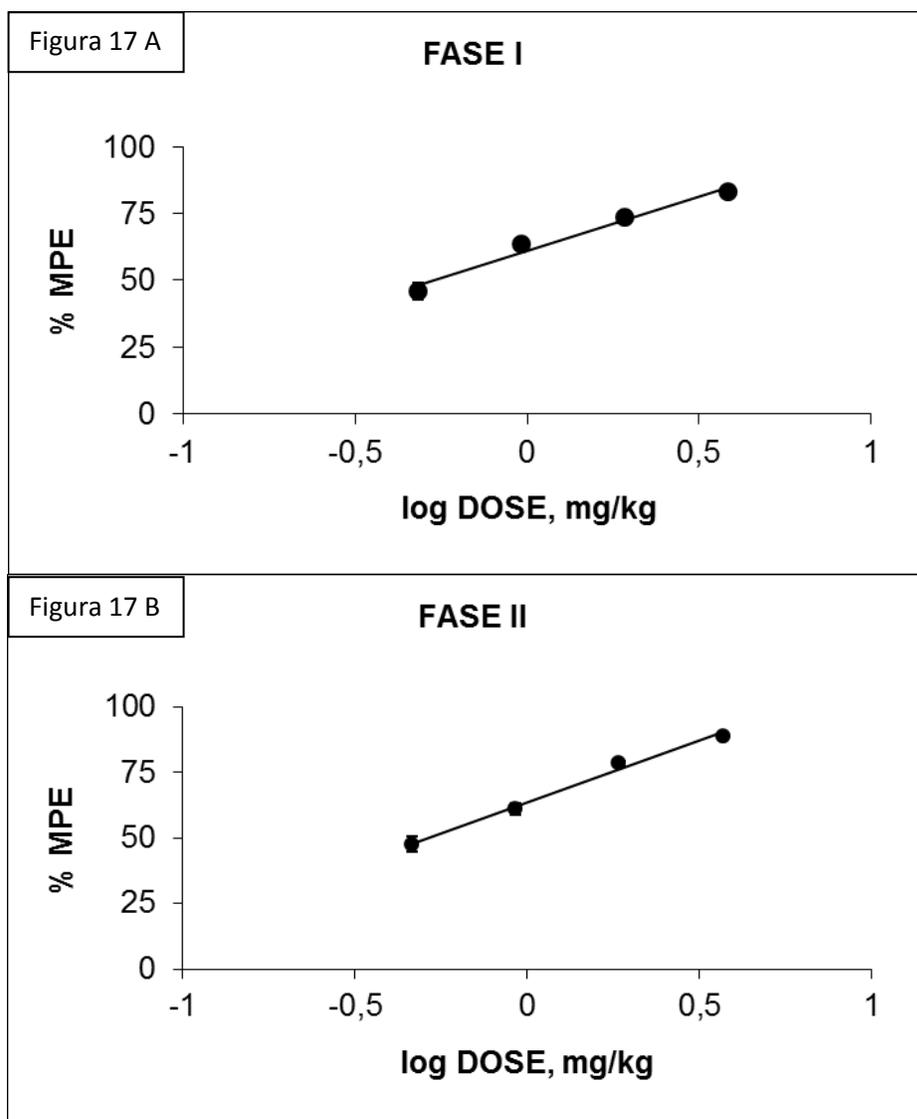


Figura 16. Curva dosis respuesta para la administración, de dexketoprofeno en la fase II del test de la formalina orofacial en ratones. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 6 animales.

5.4 Análisis Isoblográfico de la administración entre diclofenaco/dexketoprofeno

La coadministración de la mezcla diclofenaco con dexketoprofeno en proporción 1:1 de cada una de sus correspondientes DE50, resultó en una actividad antinociceptiva dosis dependiente tanto en la fase I como en la fase II, lo que se muestra en las figuras respectivamente. La DE50 en la fase I fue de $0,531 \pm 0,071$ mg/kg (n=32) (Fig. 17 A) y para la fase II de $0,513 \pm 0,039$ mg/kg. (n=32) (Fig. 17 B).



Figuras 17. Curva dosis (DOSE) respuesta para la coadministración de la mezcla Diclofenaco con Dexketoprofeno en la fase I (Figura 17 A) y II (Figura 17 B) del test de la formalina orofacial en ratones. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 6 animales.

Del análisis isoblográfico de la combinación de diclofenaco con dexketoprofeno, se obtuvo como resultado una interacción antinociceptiva de tipo supraaditiva o sinérgica, tanto para la fase I como para la fase II, esto se concluye por la ubicación del punto experimental, bajo la línea de aditividad, y con índices

de interacción estadísticamente menores a 1 en ambas fases: Fase I, I.I.= 0,138 (Fig. 18) y fase II, I.I: = 0,138 (Fig. 19).

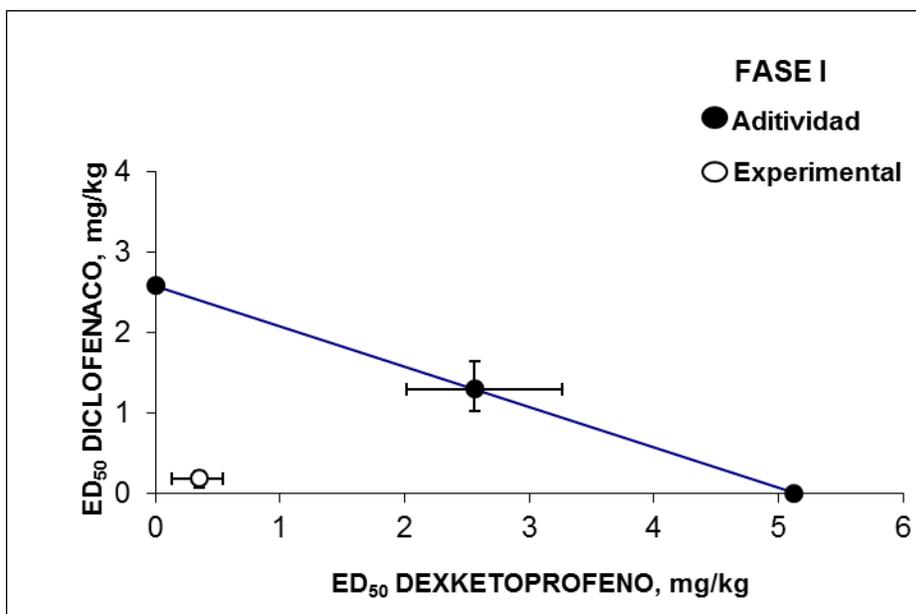


Figura 18. Isoblograma de interacción entre diclofenaco con dexketoprofeno , en el test de la formalina orofacial al 2%, en la fase I. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

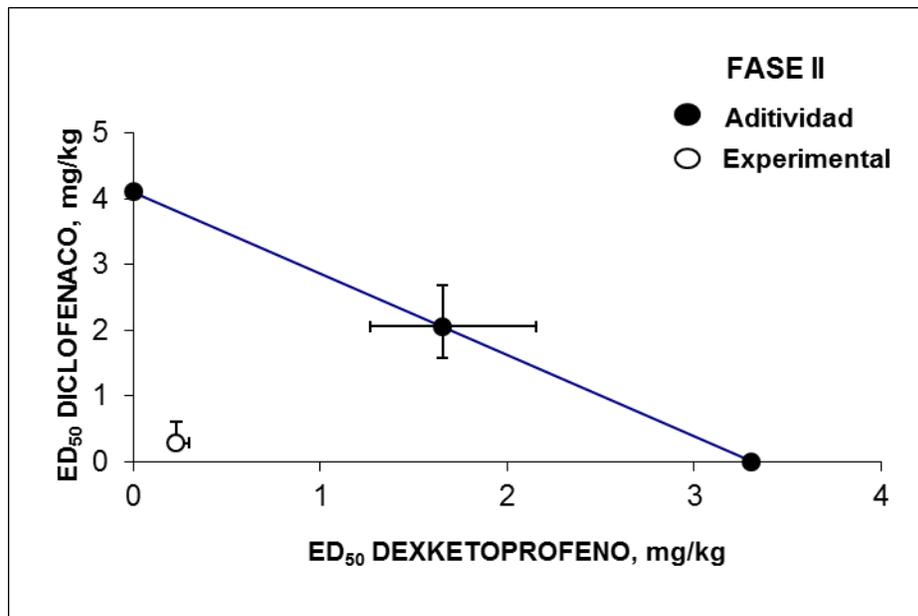


Figura 19. Isoblograma de interacción entre diclofenaco con dexketoprofeno , en el test de la formalina orofacial al 2%, en la fase II. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

5.5 Dosis Efectiva 50

Los valores de dosis efectiva 50 (DE50) con sus respectivos errores estándar promedio (EEM), para el efecto nociceptivo de la administración intraperitoneal (i.p.) de: diclofenaco, dexketoprofeno, y de su mezcla en la fase I y II del test de la formalina orofacial al 2% en ratones, se muestran en la siguiente tabla (Tabla 5).

Tabla 5. Valores dosis efectiva 50 (DE50) con sus respectivos errores estándar promedio (EEM). (^a = P<0.05)

Fármacos	Fase I	Fase II
Diclofenaco	4,104 ± 0,203 mg/kg (n=32) ^a	2,583 mg/kg ±0,293 (n=32) ^a
Dexketoprofeno	3,307 ± 0,552 mg/kg (n=32) ^a	5,128 mg/kg ±0,365 (n=32) ^a
Diclofenaco/Dexketoprofeno	0,531 ± 0,071 mg/kg (n=32) ^a	0,513 ± 0,039 mg/kg (n=32) ^a

6. Discusión

La profesión odontológica está obligada a lidiar con uno de los síntomas más relevantes para los pacientes, el dolor. La mayoría de las maniobras realizadas en la práctica diaria están dirigidas a la disminución del dolor y contamos además con una variada gama de opciones farmacológicas que de variadas formas ayudan a eliminar el dolor.

En este estudio revisamos que la acción de los AINEs es ejercida por la bioinhibición de las PGs, en todas las isoformas de la COX conocidas hasta hoy en día. Tanto la COX-1 como la COX-2, están implicadas juntas en la reacción inflamatoria y pueden contribuir al efecto de transducción a nivel periférico, donde la respuesta más temprana es debido a la COX-1 y, a medida que la inflamación progresa, la COX-2 es la que se transforma en la fuente principal de producción de PGs. ⁽⁴⁵⁾

El test algesiométrico de formalina orofacial al 2%, estimula las fibras A-δ y C, eso produce como respuesta dolorosa en el animal un frotamiento de la zona

afectada (en éste caso del labio superior), en esta respuesta podemos identificar 2 fases:

- Fase I: Fase algésica aquí tenemos una estimulación directa de los nociceptores periféricos.
- Fase II: Fase Inflamatoria que se produce por la síntesis de mediadores inflamatorios. ⁽⁴⁸⁾

De los AINEs estudiados, diclofenaco y dexketoprofeno, demostraron ser buenos analgésicos, tanto en fase I (fase algésica), como en fase II (fase inflamatoria), esto demostrado en las dosis de curva y respuesta obtenidas en el test de formalina orofacial. Ésta acción demostró ser además dosis dependiente y es concordante con resultados previos de trabajos realizados en diferentes AINEs. ⁽³⁷⁾

Con los valores de las DE50 podemos establecer que la potencia relativa en Fase I es mayor para el dexketoprofeno 1,24 veces comparada con el diclofenaco, por otro lado la potencia en Fase II del diclofenaco resulta ser 1,985 veces mayor que el dexketoprofeno. Éste resultado puede ser explicado por la afinidad que tiene cada uno de los fármacos por inhibir las COXs, como se mencionó anteriormente el diclofenaco tiene mayor afinidad por la COX-2, en cambio el dexketoprofeno tiene mayor selectividad para inhibir la COX-1. ^(35,36,37)

La coadministración de fármacos que inducen efectos antiinflamatorios supra-aditivos o sinérgicos, constituyen un acercamiento válido para el tratamiento del dolor agudo o crónico con gran inflamación, el mecanismo íntimo de la sinergia no ha sido definido con exactitud, entre las posibilidades se deben citar el incremento de absorción de uno de los AINEs por el otro ; aumento de afinidad, por su receptor, inducida por uno de los fármacos en combinación sobre el otro; posibilidad de aumentar los mecanismos de acción de una droga por el otro, como ser a nivel de proteína G, AMPc, etc. ^(46, 47)

Este resultado puede deberse también a la cooperatividad que existe entre los AINEs, debido a la distinta selectividad que poseen sobre las COXs, dado que, diclofenaco es un inhibidor preferencial de COX-2 y dexketoprofeno un inhibidor con mayor preferencia por COX-1. Esta diferencia en el mecanismo de acción,

diferentes blancos farmacológicos pero la producción de un efecto común la analgesia, concuerda con las bases generales de sinergismo entre fármacos descritas por Chou y Berenbaum. ^(46, 48)

No debemos olvidar que los AINEs tienen efecto techo, es por lo tanto muy beneficioso buscar alternativas que permitan lograr buena analgesia con la administración de concentraciones reducidas de éstos fármacos y por consiguiente una disminución de los efectos adversos.

7. Conclusiones

- Diclofenaco produce una actividad antinociceptiva que es dosis dependiente al ser administrado por vía i.p. en el test algesiométrico de la formalina orofacial al 2 % en ratones.
- Dexketoprofeno produce una actividad antinociceptiva que es dosis dependiente al ser administrado por vía i.p. en el test algesiométrico de la formalina orofacial.
- Diclofenaco posee mayor potencia analgésica en la fase II comparada con la fase I.
- Dexketoprofeno posee mayor potencia analgésica en la fase I que en la fase II.
- Diclofenaco posee mayor potencia analgésica que dexketoprofeno en la fase II o Inflamatoria.
- Dexketoprofeno posee mayor acción analgésica que diclofenaco en la fase I o analgésica.

- La combinación de ambos fármacos interactúan en forma sinérgica en el test de la formalina orofacial.
- La coadministración de diclofenaco con dexketoprofeno permitiría buscar nuevas alternativas farmacológicas para producir un mejor efecto analgésico con menores dosis y así también he de esperar que los efectos secundarios sean también menores.

8. Sugerencias

- Evaluar la interacción analgésica de diclofenaco con otros AINEs y de dexketoprofeno con otros AINEs, a través del ensayo de formalina orofacial.
- Evaluar la interacción analgésica de los AINEs estudiados con fármacos opioides, a través de distintos ensayos algesiométricos.
- Evaluar si la administración de menores dosis en conjunto de diclofenaco y dexketoprofeno produce realmente un aumento o disminución de reacciones adversas.
- Según el test algesiométrico empleado, no siempre los resultados van en un mismo sentido, ya que las noxas son diferentes: químicas, en el caso de la formalina orofacial o del test de la carragenina; físicas, como el calor en el test de la cola del ratón o el hot-plate; por esta razón, es necesario corroborar los resultados obtenidos en este estudio realizando el mismo protocolo de investigación, pero con otros métodos algesiométricos.

9. Bibliografía

¹ Loeser JD, Melzack R. Pain: an overview. *Lancet* 1999; 353: 1607-9.

² Bonica JJ. Definitions and taxonomy of pain. En Bonica JJ. *The management of pain*. 2nd edition. Philadelphia: Lea & Febiger. 1990: 18-27.

-
- ³ Cuellar S., Melvin B. El dolor orofacial. *Univ. Cienc. Soc.* 2009; 1: 51-54.
- ⁴ Poveda-Roda R, Bagán JV, Jiménez-Soriano Y, Gallud-Romero L. Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs in dental practice. A review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007; 12:E10-8.
- ⁵ Calzado et al. Sinergismo farmacodinámico. A propósito de un caso intervenido quirúrgicamente de urgencia bajo anestesia general. *rev electron biomed / electron j biomed.* 2004; 2: 56-64.
- ⁶ Qiu H., Liu J., Kong H., Liu Y., Mei X. Isobolographic analysis of the antinociceptive interactions between ketoprofen and paracetamol. *European Journal of Pharmacology.* 2006; 557: 141-146.
- ⁷ Miranda HF, Puig MM, Prieto JC, Pinardi G. Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain. *Pain.* 2006; 121: 22-28.
- ⁸ Barbanoj M J. et al. Clinical pharmacokinetics of dexketoprofen. *Clinical pharmacokinetics. Clin Pharmacokinet.* 2001;40: 245-62.
- ⁹ Flórez J, Armijo J. A., Mediavilla A. *Farmacología Humana.* 4^o Edición. Barcelona, España. Editorial Masson. 2003; 20:355 – 361; 22: 375 - 385.
- ¹⁰ Miranda HF, Sierralta F, Pinardi G. An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception. *Anesth. Anal.* 2001; 93: 30-435.
- ¹¹ Luccarini, Philippe. The orofacial formalin test in the mouse: a behavioral model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception. *J Pain* 2006; 12:908-914.
- ¹² Dagnino, Jorge. Definiciones y clasificaciones del dolor. *Boletín Esc. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile.* 1994; 23: 148-151.

-
- ¹³ Bonica, J.J. "Anatomic and physiology basics of nociception and pain". The management of pain. 2ª ed., Pennsylvania, Lea & Febiger. 1990; 28-94.
- ¹⁴ Bonica, J.J. "Neurophysiologic and pathologic aspects of acute and chronic pain". Arch. Surg. 1977; 112:750-761.
- ¹⁵ Ito s., Okuda-ashitaka E., Minami T. Central and peripheral roles of prostaglandins in pain and their interactions with novel neuropeptides nociceptin and nocistatin. Neurosci Res. 2001; 41(4): 299-332.
- ¹⁶ Cotran R. S., Kumar V, Collins T. Patología estructural y funcional. 6º Edición. Madrid, España. Editorial Elsevier. 2000; 3: 1-95.
- ¹⁷ Romera E, Perena MJ, Perena MF and Rodrigo MD. Neurophysiology of pain. Rev Soc Esp Dolor. 2000; 7: 11-17.
- ¹⁸ Guyton AC, Hall J. A. Tratado de fisiología médica. 11º Edición. Madrid, España. Editorial Elsevier Saunders. 2006; 33: 429-455.
- ¹⁹ Sessle BJ. Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates. Minerva anestesiol. 2005; 71:117-136.
- ²⁰ Ganong WF. Fisiología médica , Manual moderno.16ª edición. México. 1998; pp. 155-162.
- ²¹ Takemura M et al. "mechanism of orofacial pain control in the central nervous system". Arch Histol Cytol. 2006; 69 (2): 79-100.
- ²² Sessle, B.J. "Mechanisms of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates". J. Oral Rehabil. 2006; 33(4): 243–261.

-
- ²³ Furst S. "Transmitters involved in antinociception in the spinal cord". Brain Res Bull. 1999; 48 (2): 129-141.
- ²⁴ Duane E. Haines. Principios de Neurociencia. 2a edición. 2003; pp. 264-292.
- ²⁵ Amstrong L, Goldman M, Lacy C, Lance L. Drug Information Handbook. 13th Edition. 2005; pp. 1281-1282.
- ²⁶ Warner T.D., Mitchell J.A., "Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. Faseb J. 2004; 18: 790-804.
- ²⁷ Ermert, L., M. Ermert, H. A. Ghofrani, W. Homberger, and W. Seeger. Immunohisto-chemical localization of COX-2 in normal and isolated rat lungs. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1988;18: 479-488.
- ²⁸ Torres-López J., Granados-Soto V. Participación de la ciclo-oxigenasa-1 en el dolor inflamatorio. Universidad y Ciencia. 2001; 17: 73-81.
- ²⁹ Vane J. The mechanism of action of anti-inflammatory drugs. Int J Clin Pract Suppl. 2003;135:2.
- ³⁰ Smith WL, DeWitt DL, Garavito R. M. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. Ann. Rev. Biochem. 2000; 69: 145-182.
- ³¹ Cashman JN. The mechanism of action of NSAIDs in analgesia. Drugs 52 (suppl). 1996:13-23.
- ³² Gómez-Luque A. Inhibidores de la COX ¿hacia dónde vamos?. Rev. Soc. Esp. Dolor. 2006; 12(6): 321-325.
- ³³ Todd PA, Sorkin EM. Diclofenac Sodium. A Reappraisal of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy. Drugs 56; 244-285, 1988.

-
- ³⁴ Collins SL, Moore RA, Oral Ibuprofen and Diclofenac in postoperative pain: a quantitative systemic review. *European Journal of Pain* 1998 2: 285-291.
- ³⁵ Jiménez-Martínez E y cols. Estudio de la eficacia analgésica del dexketoprofeno trometamol 25 mg. vs. ibuprofeno 600 mg. tras su administración oral en pacientes sometidos a una intervención quirúrgica oral. *Med Oral*. 2004; 9:138-48.
- ³⁶ Barbanoj MJ. et al. Dexketoprofeno-trometamina: evidencia clínica apoya su eficacia como analgésico. *Expert Rev. Neurother*. 2008; 8(11): 1625-1640.
- ³⁷ Sweetman BJ. Development and use of the quick acting chiral NSAID dexketoprofen trometamol (keral). *Acute Pain*. 2003; 4:109-115.
- ³⁸ Bagan JV, Lopez Arranz JS, Valencia E, Santamaria J, Eguidazu I, Horas M, Forns M, Zapata A, Artigas R, and Mauleon D. Clinical comparison of dexketoprofen trometamol and dipyrone in postoperative dental pain *J. Clin. Pharmacol*. 1998; 38: 55 -64.
- ³⁹ Furst DE, et al, "Perspectives on the Cyclooxygenase-2/Cyclo-oxygenase-1 hypothesis". *J Clin Rheumatol*. 1998; 5: 40- 48.
- ⁴⁰ Miranda, H. F., Noriega, V., Olavarria, L., Zepeda, R. J., Sierralta, F. and Prieto, J. C., Antinociception and Anti-Inflammation Induced by Simvastatin in Algesiometric Assays in Mice. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2011; 109: 438–442.
- ⁴¹ Miranda, H. F. y cols. Antinociception induced by atorvastatin in different pain models. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2011; 100:125-123.
- ⁴² International Association for the study of Pain. Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals, *Pain*. 1983; 16: 109-110.

⁴³ Miranda H.F., Sierralta F., Prieto J.C. Synergism between NSAIDs in the orofacial formalin in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2009; 92: 314-318.

⁴⁴ Tallarida R.J. Murray R.B. "Manual of pharmacologic calculations with computer programs". Second edition, Springer-Verlag, New York, 1987; 77: 284.

⁴⁵ Burian M., Geisslinger G. COX-dependent mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. *Pharmacology & Therapeutics.* 2005; 107: 139– 154.

⁴⁶ Chou, T.C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol Rev.* 2006 ; 58: 621-681.

⁴⁷ Barrera N.P, Morales B., Torres S.M., et al. Mechanism and modeling of synergism in cellular responses. *Trends Pharmacol Sci.* 2005; 26:526-532.

⁴⁸ Berenbaum M.C. What is synergy?. *Pharmacological rev.* 1989; 41:93-141.

10. Anexo

Certificado de aprobación (Protocolo CBA# 0502 FMUCH) realizado por el comité de bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.
