

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA**

**INTERACCION EXPERIMENTAL DE GABAPENTINA CON
NORTRIPTILINA EN DOLOR OROFACIAL INDUCIDO**

Pablo Andrés Loyola Romero

**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
2012**

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA**

**INTERACCION EXPERIMENTAL DE GABAPENTINA CON
NORTRIPTILINA EN DOLOR OROFACIAL INDUCIDO**

Pablo Andrés Loyola Romero

**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

2012

DEDICATORIA

A mis padres, que me otorgaron su apoyo incondicional durante todos los años de estudio y proporcionaron la oportunidad de realizar mis estudios superiores. Gracias a mi madre por sus consejos y su gran sabiduría que me acompañó a lo largo de este camino.

A mi hermana y tía Alicia, pues estoy seguro que siempre estuve en sus oraciones, y principalmente por sus múltiples aportes durante mis años de estudio.

Gracias a mi familia, espero que este pequeño logro en mi vida les brinde alegría.

AGRADECIMIENTOS

- A mi familia por su apoyo y cariño que me entregan a diario.
- A Daniela Araya, por acompañarme en todo momento durante mis últimos años de carrera, y en especial por ayudarme a concretar mis objetivos.
- Al Dr. Hugo Miranda, por su tiempo, dedicación y aportes para desarrollar este trabajo.
- A mis profesores Dr. Raúl Frugone, Dra. Natalia Ortega, Dra. Bárbara Cerda y Dr. Rolando Schulz, que desde sus diferentes perspectivas aportaron para formarme como profesional.
- A los señores J. Lopez y A. Correa por su excelente disposición, amabilidad y ayuda para hacer posible la parte experimental del presente trabajo.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MARCO TEORICO	
• DOLOR	4
○ Definición	4
○ Clasificación del dolor	4
• BASES ANATOMO-MOLECULARES DEL DOLOR	6
○ Nociceptores y fibras sensitivas periféricas	6
○ Medula espinal y organización laminar	8
○ Vías nerviosas ascendentes	10
○ Proyecciones aferentes supraespinales	11
○ Mecanismos moleculares de la nocicepción	12
○ Modulación inhibitoria-excitatoria de la nocicepción	15
○ Mecanismos moleculares relacionados al dolor crónico	16
• DOLOR OROFACIAL CRONICO	18
○ Dolor orofacialneuropático	18
○ Sistema nociceptivotrigeminal	19
○ Dolor orofacialneuropático de tipo periférico	21
• TRATAMIENTO FARMACOLOGICO DEL DOLOR	22
○ Manejo farmacológico del dolor neuropático	22

○ Antidepresivos tricíclicos: Nortriptilina	23
○ Antiepilépticos: Gabapentina	26
• MODELOS DE DOLOR EN ANIMALES	29
○ Generalidades	29
○ Test de la formalina orofacial	30
HIPOTESIS Y OBJETIVOS	32
• Hipótesis	32
• Objetivo General	32
• Objetivos Específicos	32
MATERIAL Y METODOS	33
• Animales	33
• Test de la formalina orofacial	34
• Efectos antinociceptivos de gabapentina y nortriptilina	36
• Análisisisobológico de la interacción de los fármacos	37
• Análisis de los datos	38
RESULTADOS	39
• Test de formalina orofacial y grupo control	39
• Efecto antinociceptivo de gabapentina	39
• Efecto antinociceptivo de nortriptilina	41
• Efecto antinociceptivo de la interacción de gabapentina y nortriptilina	42

• Análisisisobológico de la interacción entre gabapentina y nortriptilina	44
---	----

DISCUSION	47
------------------	----

CONCLUSIONES	52
---------------------	----

SUGERENCIAS	53
--------------------	----

BIBLIOGRAFIA	54
---------------------	----

ANEXO N°1	61
------------------	----

RESUMEN

INTRODUCCION. La región orofacial es sitio frecuente de dolor agudo y crónico, no obstante los mecanismos subyacentes son poco conocidos, lo que se debe a la escasez de investigaciones relacionadas al área trigeminal. La analgesia multimodal es actualmente recomendada para aumentar la eficacia clínica de los analgésicos, e implica la combinación de fármacos con diferentes mecanismos de acción, lo que puede resultar en efectos aditivos o supraditivos. La co-administración de dos compuestos puede desarrollar analgesia a dosis menores que las requeridas para cada fármaco por separado, permitiendo un mejor control del dolor y menores efectos adversos. Los anticonvulsivantes y antidepresivos producen disminución del dolor en modelos de nocicepción aguda y crónica en animales. En el presente estudio se utilizó un modelo de injuria tisular tónico para evaluar las propiedades analgésicas de la gabapentina y nortriptilina. La fase II del modelo nociceptivo utilizado es comparable con el dolor inflamatorio y la sensibilización central en seres humanos, por lo que el propósito general de la investigación es proveer bases científicas para ensayos clínicos referentes al dolor neuropático en la región trigeminal.

MÉTODOS. Gabapentina, nortriptilina y la combinación de ambos fármacos fueron administrados en forma sistémica intraperitoneal (i.p.) a ratones, y los efectos antinociceptivos se determinaron mediante la prueba de la formalina orofacial al 2%. Además, se realizó un análisis isobolográfico para definir la naturaleza de la interacción entre ambos medicamentos.

RESULTADOS. La gabapentina y nortriptilina producen una inhibición dosis-dependiente en la primera y segunda fase de dicho test. No obstante, para ambos fármacos se observó una actividad mayor en la fase II. La combinación de las fracciones de la DE_{50} de gabapentina y nortriptilina producen un efecto de antinocicepción sinérgica.

CONCLUSIONES. El presente estudio sugiere que la administración i.p. de gabapentina y nortriptilina inhibe en forma sinérgica el dolor inflamatorio orofacial cutáneo en ratones, especialmente en la fase II de la prueba, lo que se correlaciona con dolor inflamatorio y mecanismos de sensibilización central en humanos

INTRODUCCION

La capacidad para detectar estímulos nocivos es esencial para la sobrevivencia y bienestar de un organismo. El dolor y la subsecuente nocicepción son críticos para la subsistencia, para lo cual encienden alarmas que tienen la capacidad de iniciar respuestas adaptativas, a través de un aprendizaje asociativo emocional (1). El dolor es una experiencia compleja que abarca dimensiones sensoriales, cognitivas, emocionales y motivacionales en los individuos (2). El sistema nociceptivo tiene el rol de informar al cerebro, sobre el estado del medio ambiente externo e interno, para proteger al organismo y/o limitar el daño (3).

Neuroanatómicamente la transmisión del dolor implica la generación de potenciales bioeléctricos, desde la periferia hacia el sistema nervioso central, donde se produce la integración de la señal nociceptiva en tres niveles fundamentales: médula espinal, tronco encefálico y corteza cerebral (13). En tanto, la génesis del dolor tiene su explicación en un daño tisular que genera potenciales que son percibidos en términos de la injuria. Como consecuencia de esto se acumulan mediadores inflamatorios que evocan mecanismos de sensibilización periférica (4). Sin embargo, la persistencia de estados dolorosos conlleva una alteración de los mecanismos nociceptivos a nivel central, permitiendo la autoperpetuación del dolor, constituyendo estados de dolor crónicos (15).

La región orofacial es una de las áreas más densamente inervadas del organismo, y es un territorio en donde se desarrollan condiciones dolorosas con características propias, que las diferencian del dolor del sistema nociceptivo espinal (7). Además, de los dolores más comunes, como el relacionado a estados patológicos dentales, ésta zona es sitio frecuente de una gran multiplicidad de dolores de tipo crónico, tales como: neuralgias paroxísticas, neuralgia post-herpética y cefaleas trigeminales (7,18). No obstante, los mecanismos asociados a estos dolores son escasamente conocidos, pues existen insuficientes investigaciones relacionadas al área (16,17).

El manejo del dolor continúa planteando interrogantes y desafíos para la odontología y ciencias de la salud en general. Más aún, debido a la alta prevalencia del dolor orofacial y su gran intensidad, se constituye en un problema relevante, pues se asocia con una disminución importante en la calidad de vida de quienes lo padecen y alta tasa de deserción laboral (6,7,8).

La terapéutica farmacológica del dolor tiene una larga data. Clásicamente se han utilizado analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs), que se reservan para el dolor leve-moderado y analgésicos de tipo opioide para el dolor severo (25,25). No obstante, los AINEs suelen ser ineficaces en el tratamiento del dolor neuropático, mientras que, los opioides tradicionales causan efectos no deseados como euforia y sedación (24,25). El control del dolor crónico de tipo neuropático responde de manera óptima a medicamentos antiepilépticos tipo gabapentinoides (gabapentina y pregabalina) y a fármacos antidepresivos especialmente del grupo tricíclicos (29,34). El mecanismo de acción asociado a los antidepresivos tricíclicos implica la inhibición de la recaptación de noradrenalina y serotonina con distintas potencias para uno u otro neurotransmisor (30). Esto finalmente tiene la facultad de potenciar mecanismos de supresión descendentes, lo que permite la modulación nociceptiva en ciertos niveles medulares. Por otra parte, el mecanismo de acción de los gabapentinoides no está totalmente dilucidado, sin embargo, los canales de calcio voltaje-dependientes (Cav) parecen ser un blanco que explicaría sus propiedades analgésicas (37).

En vista de la inadecuada eficacia y tolerancia frente a los medicamentos utilizados para el tratamiento del dolor neuropático, los investigadores continúan intentando identificar nuevas terapias (27). La evidencia disponible sugiere que la combinación de gabapentina con fármacos antidepresivos (imipramina, amitriptilina) tiene beneficios adicionales comparados con la monoterapia (33,34). Por este motivo, es lógico pensar que la combinación de gabapentina con nortriptilina, metabolito de la amitriptilina, tiene mejor eficacia y tolerancia respecto a la monoterapia. A partir de esto, en el presente estudio se evaluó la interacción de dichos fármacos, utilizando el análisis isoblográfico, en un modelo de dolor orofacial inducido (16).

I. Dolor

1. Definición.

En 1986 la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) define el dolor como “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño” (1,3). Esta definición valora las diferentes dimensiones del dolor. Además, indica que no se produce exclusivamente por daño tisular, sino que también, puede ser generado sin causas somáticas (3). Actualmente, el entendimiento de dolor integra tres componentes o dimensiones: el *componente sensitivo del dolor*, que se refiere al potencial de acción generado desde los nociceptores; el *componente cognitivo* se asocia con el aprendizaje cultural, experiencias previas respecto al dolor y las conductas relacionadas; finalmente, el *componente emotivo-afectivo* del dolor se relaciona con las emociones frente a un impulso doloroso y la manera en que estas influyen en la interpretación del mismo (2).

2. Clasificación del dolor.

Existen múltiples clasificaciones de dolor, no obstante, las más utilizadas son las basadas en el tiempo de evolución y en la etiología, pues tienen importancia clínica en términos diagnósticos y terapéuticos.

Según tiempo de evolución

- a) Dolor agudo: corresponde al dolor provocado por la lesión de los tejidos del cuerpo y la consecuente transducción nociceptiva, de duración limitada a la resolución de la patología causal. Corresponde a un mecanismo fisiológico, que genera reflejos protectores para limitar el daño y se asocia con reacciones neurovegetativas como sudor y taquicardia. La duración límite del dolor agudo es de tres meses, según la IASP (4).

- b) Dolor crónico: consiste en un dolor que puede ser causado inicialmente por una lesión, aunque, se le atribuyen otras causas de tipo neurológica, endocrina

o genética. Algunos autores lo definen como una respuesta desadaptativa del organismo, pudiendo ser de tipo nociceptivo, neuropático o combinado (5). Se extiende por más de tres meses, sin haber patologías que justifiquen su presencia. Tiene escaso componente neurovegetativo, pero se acompaña de alteraciones psicológicas y conductuales. El dolor crónico de tipo neuropático representa un problema de salud pública, con tasas de prevalencia disímiles según las múltiples etiologías (6,7). Además, en la mayoría de los casos genera una disminución en la calidad de vida y alta tasa de ausentismo laboral (6,8,9).

Según etiología

- a) **Dolor nociceptivo**: la IASP lo define como “dolor causado por daño potencial o real a estructuras no neurales debido a la activación de nociceptores” (3,10). La activación de nociceptores desencadena un potencial de acción que es conducido hasta centros dolorosos superiores a nivel del tálamo y corteza cerebral (6) (anexo N°1 figura 1A). El *dolor somático* se origina a nivel de la piel, músculos, ligamentos, articulaciones o huesos, es bien localizado, y no se acompaña de reacciones neurovegetativas. En tanto, el *dolor visceral* se caracteriza por ser difuso, se extiende hasta otros territorios alejados del órgano lesionado (dolor referido), y tiene componente neurovegetativo (4).

- b) **Dolor neuropático**: la IASP lo define como “el dolor iniciado o causado por lesiones primarias o disfunciones en el sistema nervioso central (SNC) y/o periférico (SNP)” (3,10) (anexo N°1 figura 1B). Se caracteriza por ser espontáneo, continuo o intermitente, con exacerbaciones, es descrito como descargas paroxísticas, urente y punzante (7,12). Se presenta con signos y/o síntomas de compromiso autonómico, motor y sensitivos. Las alteraciones sensitivas incluyen hipostesia, parestesias y disestesias. La parestesia es en una sensación anormal (espontánea o provocada) no desagradable, en tanto, la disestesia es desagradable (7,11). Otra alteración sensitiva presente es la hipersensibilidad, que incluye alodinia (sensación dolorosa desencadenada por

estímulos inocuos) e hiperalgesia (aumento de respuesta frente a un estímulo doloroso) (11).

- c) Dolor Psicógeno: corresponde al dolor atribuido a causas mentales, emocionales o factores de comportamiento. Este tipo de dolor no responde al tratamiento analgésico habitual y no existe paralelismo entre dolor y lesión (10). Se le ha clasificado como un tipo de dolor crónico bajo el nombre de dolor somatoforme persistente, cuya etiología se asocia al estrés, conflictos emocionales, problemas psicosociales y desórdenes mentales varios (10).

II. Bases anatomo-moleculares del dolor

1. Nociceptores y fibras sensitivas periféricas.

Un receptor sensitivo corresponde a una estructura capaz de responder ante determinados estímulos, transformando la energía de estos estímulos en un potencial eléctrico y transmitiéndola, a través de una vía nerviosa, desde la periferia hasta múltiples formaciones en el SNC, ambos procesos responden al nombre de transducción nerviosa. El origen del dolor tiene su base fisiológica en un tipo de receptores especiales llamados nociceptores que se distribuyen en la piel, músculos, articulaciones y vísceras (4,13). Los nociceptores poseen un umbral de estimulación alto, y corresponden a terminaciones nerviosas libres. Éstas constituyen la porción más distal de las neuronas aferentes primarias y poseen una morfología pseudounipolar, lo que implica que tienen una prolongación periférica que termina conformando a los nociceptores, y una porción proximal, que corresponde al proceso central que realiza sinapsis con neuronas del asta dorsal de la medula, las cuales constituyen las fibras nerviosas de proyección (13).

La sensación dolorosa resulta de la activación directa de los nociceptores, por estímulos térmicos, mecánicos y químicos, aunque también, de su activación indirecta por acumulación de sustancias a nivel local o por cambios metabólicos locales, como disminución de pH (6).

Las fibras aferentes primarias ligadas a la transmisión de impulsos nociceptivos son clasificadas, según su estructura, diámetro y velocidad de conducción del impulso nervioso, en (13,3):

- a) Fibras C, amielínicas, con un diámetro de 0,4-1,2 μm y velocidad de conducción lenta (0,5 a 2 m/s). Se asocian al dolor sordo y están ligadas a termorreceptores, mecanorreceptores de bajo umbral y receptores específicos para sustancias algogénicas (potasio, acetilcolina, enzimas proteolíticas, serotonina, prostaglandinas, sustancia P e histamina). Un gran número de fibras tipo C están vinculadas con receptores de alto umbral para estímulos térmicos, mecánicos y químicos, llamados receptores polimodales, debido a que responden de igual manera a los diferentes estímulos.
- b) Fibras A δ , levemente mielinizadas, con un diámetro de 2-6 μm y velocidad de conducción rápida (entre 12 y 30 m/s). Se asocian al dolor agudo. Las tipo I se asocian a mecanorreceptores de alto umbral, por lo que responden ante estímulos mecánicos de alta intensidad y débilmente a estímulos térmicos y químicos. En tanto, las tipo II están asociadas a receptores térmicos que responden a estímulos de altas y bajas temperaturas (53°C a -15°C).
- c) Fibras A β , mielinizadas, de mayor diámetro (>10 μm) y velocidad de conducción entre 30-100 m/s. No tienen participación en la conducción dolorosa, pero se asocian con mecanismos de supresión segmentaria.

A su vez, los nociceptores se clasifican en tres tipos, de acuerdo al estímulo tras el cual generan potenciales de acción (4):

- a) Mecánicos, responden ante presión o cambios de osmolaridad. Su umbral de activación es elevado y están conformados por terminaciones nerviosas libres de fibras de tipo A δ y C.
- b) Térmicos, generan potenciales ante temperaturas extremas, sobre 45° C o bajo 5° C. En su mayoría son terminaciones nerviosas libres de fibras tipo C.

- c) Polimodales, se activan ante estímulos térmicos, mecánicos o químicos. En gran parte corresponden a terminaciones nerviosas libres de tipo C, y representan la mayoría de los nociceptores.

2. Médula espinal y organización laminar.

La médula espinal constituye la primera estación sináptica y filtro que permite eliminar los mensajes innecesarios y amplificar aquellos más relevantes. Las vías aferentes primarias, conformadas por fibras A δ y C, entran en el SNC a nivel del asta dorsal de la medula, aunque actualmente se sabe que una pequeña porción de estas fibras lo hace por el asta anterior (13). El asta dorsal contiene esencialmente las terminaciones centrales de las neuronas de primer orden, neuronas intrínsecas del asta dorsal (interneuronas, neuronas de proyección), y por último terminaciones de vías descendentes, involucradas en la regulación de la información nociceptiva aferente (13). Tras entrar en el SNC, las fibras aferentes primarias alcanzan la sustancia gris, en donde, hacen sinapsis con una segunda neurona localizada en el asta dorsal de la medula. Estas neuronas del asta dorsal se clasifican en tres tipos según el tipo de aferencia que reciben (13):

- a) Neuronas nociceptivas específicas (NE), las que son activadas exclusivamente por estímulos nociceptivos de alta intensidad provenientes de fibras A δ y C. Se asocian con la codificación de la localización y características físicas del estímulo nociceptivo.
- b) Neuronas de amplio espectro dinámico (WDR), responden a estímulos nociceptivos (provenientes de fibras A δ y C) y no nociceptivos (provenientes de fibras A β). Debido, a esta convergencia de fibras, estas neuronas juegan un rol fundamental en los mecanismos de supresión segmentaria y están ligadas a la codificación de la intensidad del estímulo.
- c) Neuronas no-nociceptivas (NN), responden a estímulos inocuos de baja intensidad mecánica o térmica y propioceptivos, provenientes de fibras A δ y A β . Tienen participación indirecta en mecanismos de supresión segmentaria.

La sustancia gris del asta dorsal de la médula, se organiza formando láminas, mientras que, en la zona intermedia y en el asta ventral constituyen agrupaciones nucleares. El conjunto de los núcleos de cada segmento medular recibe el nombre de láminas de Rexed (3). El asta dorsal agrupa las láminas desde la I a la VI, en tanto, la zona intermedia la constituye la porción dorsal de la lámina VII. Por otra parte, el asta ventral se forma por la porción ventral de la lámina VII y las láminas VIII a la IX, y finalmente la lámina X constituye la sustancia gris periependimaria (3).

Las fibras A δ terminan principalmente en las láminas I, II (porción más externa) y V. Por su parte, las fibras C peptidérgicas inervan la lamina I y la porción más dorsal de la lámina II, en tanto, las fibras C no-peptidérgicas inervan la región media de la lámina II. La región más ventral de la lamina II se caracteriza por la presencia de interneuronas excitatorias, que expresan la isoforma gamma de la proteína kinasa C (PKC), que ha sido implicada en el dolor persistente (3). Análisis electrofisiológicos han demostrado que las neuronas de la lamina I responden a estímulos nociceptivos (vía fibras A δ y C), en cambio, neuronas de la lamina V reciben convergencia de potenciales nociceptivos y no-nociceptivos (3).

Las neuronas intrínsecas del asta dorsal se clasifican en neuronas de proyección e interneuronas. Las primeras transmiten información directamente a centros supraespinales, mientras que, las interneuronas integran múltiples niveles espinales (regiones ipsilaterales y contralaterales) iniciando y mediando la inhibición descendente. Éstas últimas se subdividen en inhibitorias y excitatorias, y se concentran especialmente en láminas II y III (13).

La sinapsis de la segunda neurona puede ser con más de una neurona periférica, lo que se observa en neuronas WDR, lo que explica el dolor irradiado. Una vez realizada la sinapsis con la segunda neurona, el haz principal de fibras decusa en la región comprendida entre el conducto del epéndimo y comisura gris anterior, ascendiendo por el fascículo anterolateral hacia estructuras del tronco encefálico y tálamo (13).

3. Vías nerviosas ascendentes.

Las neuronas de proyección (laminas I y V) forman parte del fascículo anterolateral, de ubicación contralateral, y transmiten el impulso nociceptivo a múltiples estructuras, tales como, tronco encefálico, tálamo e hipotálamo, entre otras. El fascículo anterolateral está formado por tres tractos principalmente: tracto espinotalámico, espinoreticular y espinomesencefálico (13).

Se describen tres aferencias para el tracto espinotalámico. La primera corresponde a la vía neoespinotalámica (circuito monosináptico), la cual transporta información desde fibras A δ , luego se proyecta principalmente al núcleo ventroposterolateral (VPL) del tálamo, y finalmente, alcanza la corteza somatosensitiva primaria (SI) y secundaria (SII). Se relaciona con el componente sensorio-discriminativo del dolor. La segunda aferencia corresponde a la vía paleoespinotalámica (circuito polisináptico), la cual transporta información procedente de fibras tipo C, y se proyecta al núcleo posteromedial e intralaminar del tálamo. Se asocia a aspectos afectivo-emocionales del dolor. Por último, la tercera aferencia corresponde a la vía espinotalámica propiamente tal (circuito monosináptico), la que se proyecta al núcleo centromedial del tálamo, y está ligada al componente afectivo del dolor (13).

El tracto espinoreticular presenta dos prolongaciones en el tronco cerebral, una dirigida al núcleo precerebeloso, involucrada en el control motor y la otra está dirigida a la formación reticular pontobulbar medial, que está relacionada con los mecanismos de nocicepción. Tiene relación con el componente afectivo-motivacional del dolor y con respuestas neurovegetativas, lo que se basa en las conexiones con el núcleo intralaminar del tálamo (13).

Según el lugar al que se dirigen las proyecciones del tracto espinomesencefálico, encontramos dos sistemas diferentes. El haz espinoamular, que se proyecta a la sustancia gris periacueductal (SGP) y el haz espinotectal que alcanza las capas profundas del colículo superior. Las proyecciones que alcanzan la porción dorsal de la SGP tienen función excitatoria, en tanto, las que terminan centralmente activan mecanismos inhibitorios (13).

4. Proyecciones aferentes supraespinales.

El tálamo representa la estructura de relevo principal de la información sensorial que va destinada a la corteza y está involucrado en la recepción, integración y transferencia de la información nociceptiva. Las diferentes proyecciones hacia y desde sus núcleos a la corteza define el circuito funcional de procesamiento del dolor. Está formado por tres complejos nucleares: lateral, posterior y medial (13).

El complejo nuclear lateral esta formado por los núcleos ventroposterolateral (VPL), ventroposteromedial (VPM) y ventroposteroinferior (VPI). Las aferencias hacia estos vienen principalmente del tracto espinotalámico. El núcleo VPL se relaciona con la localización e intensidad del dolor, en tanto, el núcleo VPM se asocia a aspectos emocionales, respuestas psicomotoras, autonómicas y sensorio-discriminativas frente al dolor. Las interacciones inhibitorias entre ambos núcleos forman un sistema modulador, previo a la propagación del dolor a centros superiores (13)

El complejo nuclear posterior del tálamo está constituido por el núcleo oral pulvinar, núcleo posterior (PO) y la división posterior del núcleo ventromedial (VmPO). Funcionalmente, se organiza a modo de circuito resonante, donde, la información se dirige a la corteza, luego al tálamo y regresa a la corteza, reforzando la activación de neuronas frente a estímulos nocivos. Los núcleos PO y VmPO son parte integral del sistema nociceptivo, debido a que establecen conexiones con la corteza cingular e insular, y se asocian con aspectos afectivos-cognitivos del dolor (13).

El complejo medial del tálamo se constituye por los núcleos intralaminar, centrolateral (LC), centromedial (CM) y la porción ventral del núcleo medial dorsal (MDvc). Estos emiten proyecciones hacia la corteza cingular lo que sugiere cierta asociación con el aspecto afectivo-motivacional del dolor. Además, se conecta con el núcleo estriado y cerebelo, lo que esta asociado a la conducta de escape (13).

Tras la integración sensorial de la información nociceptiva (en el tálamo), los potenciales viajan a la corteza cerebral, a través, de dos sistemas de proyecciones nociceptivas: lateral y medial (13). El sistema lateral tiene relación con aspectos

sensoriales-discriminativos del dolor, y se proyecta desde los núcleos del complejo lateral del tálamo (VPL, VPM) hasta las cortezas SI y SII. En la corteza SI, las neuronas WDR codifican la intensidad, mientras que, las neuronas NE se asocian con la localización del estímulo (13). Ambas cortezas, están interconectadas con el área postparietal y la ínsula, a través, de la vía somatosensorial cortico-límbica, que contribuye al componente afectivo-motivacional del dolor (13). En tanto, el sistema medial tiene relación con el componente afectivo-motivacional del dolor, aunque también, participa en aspectos sensoriales-discriminativos. Se proyecta desde los núcleos del complejo posterior del tálamo hasta la ínsula y corteza cingulada anterior (20). La corteza cingulada anterior coordina la información de áreas parietales con regiones frontales, lo que está ligado con las estrategias y comportamientos frente al dolor (13).

5. Mecanismos moleculares de la nocicepción.

Debido a la morfología pseudounipolar, de las células aferentes primarias, la transmisión de la información es bidireccional. Ambas prolongaciones (central y periférica), pueden ser blancos de moléculas endógenas, sin embargo, sólo la prolongación periférica responde ante estímulos ambientales (3,4), lo que ocurre en el dolor inflamatorio (anexo N°1 figura 1C).

Los nociceptores periféricos expresan receptores especiales asociados a la transducción de señales. El receptor de potencial transitorio V1 (TRPV1) contribuye a la sensación aguda de calor, en cambio, el receptor de potencial transitorio M8 (TRPM8) permite la percepción del frío. La detección del frío y calor se organiza anatómica y funcionalmente en distintos lugares, pues estos receptores son expresados en poblaciones neuronales distintas. El receptor de potencial transitorio A1 (TRPA1) está implicado en la detección de irritantes químicos, y responde a compuestos estructuralmente diversos, que comparten la característica de formar compuestos covalentes con grupos tioles (acroleína, peróxido de hidrógeno, hipoclorito y formalina) (3).

Tras la activación de los diversos receptores los canales de iones voltaje-dependientes se activan. Los canales de sodio voltaje-dependientes (en especial 1.7 Nav) son críticos para la generación de potenciales de acción frente al dolor

agudo, a diferencia, de los canales Cav, quienes juegan un rol principal en la liberación de neurotransmisores. Los canales de calcio tipo T y N son expresados por fibras tipo C y están aumentados bajo condiciones de daño nervioso (3).

El neurotransmisor glutamato es el principal mediador del dolor agudo, tras su liberación genera potenciales nociceptivos post-sinápticos, a través, de su unión con diferentes receptores (11):

- a) Receptor NMDA (N-metil-D-aspartato), ionotrópico, incluye en su estructura un canal para calcio, y la entrada de este catión genera una despolarización lenta y prolongada en las neuronas post-sinápticas.
- b) Receptores No-NMDA, que incluye receptores AMPA (α -amino-3-hidroxil-5-metil-4-isoxazol-propionato) y Kainato, ambos ionotrópicos, poseen un canal para sodio en su estructura, cuya entrada genera una despolarización rápida y breve en las neuronas post-sinápticas.
- c) Receptor de glutamato metabotrópico (mGLU), está acoplado positivamente a fosfolipasa C, permitiendo la activación de la cascada fosfolipasa C-diacilglicerol-PKC. La PKC promueve el aumento de calcio intracelular fosforilando los canales Cav y receptores NMDA permitiendo el influjo de iones de calcio, y también, permitiendo la liberación de calcio desde compartimentos intracelulares.

Otros neurotransmisores asociados a la transmisión del impulso nociceptivo son la sustancia P (SP), péptido relacionado al gen de calcitonina (CGRP), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y el neuropéptido colecistocinina (CCK). La SP activa receptores post-sinápticos NK1, en las neuronas nociceptivas del asta dorsal y corresponde a un receptor de tipo metabotrópico, acoplado positivamente a fosfolipasa C. Se ha visto que la SP, también, se expresa en fibras A β , tras la injuria tisular e inflamación periférica, lo que corresponde a un cambio adaptativo relacionado al fenómeno de alodinia. El péptido CGRP ejerce sus acciones vía dos receptores metabotrópicos, CGRP1 y 2, ambos acoplados positivamente a adenilato ciclasa. Al activarse esta enzima se produce un aumento intracelular de adenosina monofosfato cíclico (AMPc), lo que conduce a

la generación de PKC, que fosforila receptores AMPA y determina la entrada de iones sodio (3).

Otros neuromoduladores asociados a la nocicepción son el óxido nítrico (NO) y las prostaglandinas (PGs). El NO, corresponde a una molécula gaseosa, pronociceptiva, derivada del catabolismo de arginina a citrulina, lo cual es mediado por la enzima óxido nítrico sintasa. En tanto, las PGs son derivadas del catabolismo del ácido araquidónico, por la acción de las enzimas ciclooxigenasas (COXs), y ejercen efectos pronociceptivos (3).

El efecto neto de la liberación de estos mediadores es la modificación de la permeabilidad iónica y la génesis de impulsos nerviosos nociceptivos. Sin embargo, a nivel medular, existe una participación activa de interneuronas, que modifican la transmisión de la información. Las de tipo excitatorio son activadas por fibras de tipo A δ y C, es común encontrar neurotransmisores como glutamato, SP y mediadores como NO y PG. Por otra parte, las interneuronas inhibitorias pueden ser activadas por fibras A δ , A β y tipo C. Generan sinapsis inhibitorias de tipo post-sináptico sobre neuronas de proyección NE (de la lamina I), y de tipo pre-sináptico sobre terminaciones aferentes primarias de fibras A δ y C (3).

Según el tipo de neurotransmisor asociado las interneuronas inhibitorias se clasifican en (14):

- a) Interneuronas opiopeptidérgicas, contienen encefalinas, dinorfinas y orfanina, las cuales ejercen su acción sobre receptores tipo DOR, KOR y ORL1.
- b) Interneuronas colinérgicas, contienen acetilcolina, que actúa sobre receptores muscarínicos m2 y m4. La acetilcolina produce la apertura de canales de potasio e inhibición de canales de Cav en el terminal post-sináptico. También, actúa presinápticamente inhibiendo la liberación de neurotransmisores pronociceptivos.
- c) Interneuronas gabaérgicas, contienen ácido gamma-aminobutírico (GABA), que ejerce su acción a través de receptores GABA-A y B. Los receptores GABA-A son ionotrópicos, y contienen en su estructura un canal para cloruro, por lo que su activación permite la entrada de iones de cloro, determinando

hiperpolarización de la neurona post-sináptica, a diferencia, de los receptores GABA-B que son metabotrópicos acoplados negativamente a adenilato ciclasa, por lo que, producen hiperpolarización presináptica por influjo de iones de potasio y disminución de entrada de iones de calcio.

6. Modulación inhibitoria-excitatoria de la nocicepción.

El primer nivel de modulación nerviosa se encuentra en la médula espinal. Las conexiones que se establecen entre las fibras aferentes nociceptivas y las no nociceptivas controlan la información dolorosa que se transmite hacia los centros superiores, lo que se conoce como la Teoría de la Puerta de Control de Wall y Melzack (2). Según ésta, el dolor es resultante del equilibrio de la actividad de las fibras aferentes nociceptivas y no nociceptivas. A las láminas I y V del asta dorsal llegan estímulos de fibras nociceptivas (A δ y C) y fibras no nociceptivas (A α y β), estas últimas activan interneuronas inhibitorias de la lámina II, que inhiben la descarga de las neuronas de la lámina V y, por tanto, la salida de la información nociceptiva (“Puerta cerrada”). Las fibras A δ y C causan la excitación de las neuronas de la lámina V y al mismo tiempo inhiben las interneuronas inhibitorias de la lámina II, lo que permite la salida de la información nociceptiva (“Puerta abierta”) (2).

El segundo nivel de modulación lo constituye el sistema descendente, que proviene desde centros superiores. Algunas vías descendentes tienen su origen en el tronco cerebral (núcleos serotoninérgicos del rafe, núcleos noradrenérgicos A5-A6-A7, zona rostroventromedial del bulbo raquídeo que contiene al núcleo magno del rafe y al núcleo reticular gigantocelular, núcleo reticular dorsal, del tracto solitario y parabraquial), y en otras estructuras cerebrales (sustancia gris periacueductal, hipotálamo y corteza cerebral). Estas vías tienen un rol relevante en la modulación e integración de los mensajes nociceptivos del asta dorsal. En general, la mayoría de las vías descendentes son de carácter inhibitorio, pero existen algunas con rol facilitador (4). La inhibición descendente está a cargo de neuronas serotoninérgicas, noradrenérgicas y dopaminérgicas. Estas vías descendentes monoaminérgicas pueden disminuir directamente la liberación de neurotransmisores pronociceptivos desde fibras aferentes (A δ y tipo C) y de

proyección. También, disminuyen la liberación de neurotransmisores de forma indirecta mediante la activación de interneuronas inhibitorias y la inhibición de interneuronas excitadoras en el asta dorsal (4).

Otra forma de modulación nociceptiva es la de tipo celular, llevado a cabo por células gliales (microglia y astroglia), que están presentes en el asta dorsal. Estas células liberan mediadores pronociceptivos (glutamato, NO, PG, citocinas IL-1, IL-6 y TNF- α) que modifican el microambiente del asta dorsal, por lo que modifican la excitabilidad de las neuronas de segundo orden (4,11).

7. Mecanismos moleculares relacionados al dolor crónico.

La persistencia prolongada de dolor agudo, da paso a cambios nerviosos que junto con la muerte de interneuronas inhibitorias terminan generando dolor crónico (4). Los cambios nerviosos tienen su base en la neuroplasticidad, que es la remodelación de la citoarquitectura neuronal, que consiste en aumento y modificación de sinapsis, lo cual, es propiciado por células gliales (15). La neuroplasticidad incluye dos fenómenos: modulación y modificación neurológica. La modulación son cambios reversibles en la excitabilidad de aferentes primarios y neuronas centrales, lo que es posible por el cambio en la expresión de receptores y canales iónicos. Por otra parte, la modificación neuronal son cambios duraderos de la expresión de neurotransmisores, receptores, canales iónicos y modificaciones en la citoarquitectura, por lo cual, este fenómeno parece ser el nexo entre dolor agudo y crónico (4,15).

Los episodios de dolor agudo (persistente) dan paso a la potenciación sináptica de neuronas intrínsecas del asta dorsal, lo que se conoce como wind-up. Este fenómeno es crucial en la génesis del dolor crónico. El wind-up genera cambios plásticos tempranos en diversos sistemas de señalización intracelular, alterando la expresión genética, lo que termina en alteraciones morfofuncionales duraderas (cambios plásticos tardíos) (15).

En condiciones de reposo las neuronas de proyección del asta dorsal mantienen inactivos los receptores NMDA, con un ión de magnesio que bloquea el canal asociado. El glutamato liberado por fibras A δ y C activa receptores No-

NMDA, generando despolarizaciones breves de las neuronas post-sinápticas. De esta forma, la despolarización acumulativa determina una disminución en el potencial de membrana, el ion magnesio es liberado y los receptores NMDA se activan, lo que determina un flujo masivo de calcio. El calcio activa proteínas quinasas que fosforilan la enzima óxido nítrico sintasa y fosfolipasa A2. El NO y las PG generadas actúan retrógradamente potenciando la liberación de glutamato desde terminales pre-sinápticos. De este modo, existe un efecto cíclico capaz de mantener la descarga de la neurona post-sináptica en ausencia de estimulación periférica (11,15).

Los cambios plásticos tardíos requieren de cambios en la transcripción genética, lo que termina alterando la expresión de ciertas proteínas ligadas a la transmisión sináptica, constituyendo la base de la sensibilización central. Algunas de estas proteínas se relacionan con procesos de remodelación neuronal, desarrollando ramificaciones que crean nuevas sinapsis, en fibras $A\beta$, lo que explica el fenómeno de alodinia. Existe, también, un aumento de la síntesis e inserción de canales Cav y receptores post-sinápticos para neurotransmisores pronociceptivos (6,15)

La sensibilización periférica, a diferencia de su contraparte central, corresponde a un mecanismo que disminuye el umbral de activación de los nociceptores (hiperalgesia primaria), lo que ocurre tras la liberación local de mediadores inflamatorios (anexo N°1 figura 2). En tanto, la sensibilización central implica una reducción del umbral de activación de neuronas del asta dorsal, aumento de la actividad espontánea, respuestas alteradas frente a estímulos sobre el umbral y aumento de campos receptivos, lo que genera dolor en áreas no lesionadas (hiperalgesia secundaria) (3,15).

La sensibilización central (anexo N°1 figura 3) tiene su explicación en múltiples mecanismos (3,15):

a) Acción glutaminérgica, que termina en activación de PKC que contribuye a la sensibilización mediante diversos mecanismos como fosforilación de

receptores NMDA/AMPA y disminución de la transmisión inhibitoria mediada por GABA y glicina.

- b) Pérdida de controles inhibitorios, mediados por interneuronas gabaérgicas y glicinérgicas, densamente distribuidas en el asta dorsal.
- c) Activación glial, pues se potencia la hiperexcitabilidad por liberación de mediadores pro-inflamatorios. En la médula espinal sensibilizan neuronas de la lamina I, y en el tronco encefálico contribuyen a la facilitación descendente, contrarrestando los controles inhibitorios descendentes.

III. Dolor orofacial crónico

1. Dolor orofacial neuropático.

La región orofacial es uno de los territorios más densamente inervados, y representa una zona en donde, se desarrollan condiciones dolorosas con características propias, que lo diferencian del dolor del sistema nociceptivo espinal (7). No obstante, los mecanismos asociados a estos dolores son escasamente conocidos, pues existen insuficientes investigaciones relacionadas al área facial (16,17).

Las estructuras orofaciales incluyen gran diversidad de tejidos como piel, dientes, lengua, músculos masticatorios, glándulas salivales y articulación temporomandibular (ATM). El dolor nociceptivo orofacial proviene mas comúnmente de problemas asociados a piezas dentarias, dolor miofascial y degeneración de la ATM. En cambio, el dolor neuropático orofacial incluye gran heterogeneidad de entidades, tales como: la neuralgia post-herpética, neuralgia trigeminal y glosofaríngea, odontalgia atípica, síndrome de boca urente y cefaleas autonómicas trigeminales (7, 18). Debido a la multiplicidad de síndromes, es difícil conocer la epidemiología real del dolor neuropático (15). Algunos estudios reportan una prevalencia de 8% en Reino Unido, 6.9% en Francia, 3.3% en Austria y 2% en América latina, sin embargo, en otros se indica que en Europa alcanza el 60% (15,19).

El origen de este tipo de dolor tiene su base neuroanatómica en la hiperexcitabilidad a lo largo del axón nervioso (18). Los impulsos nerviosos se

pueden generar, anormalmente, a lo largo del recorrido de los axones aferentes primarios (anexo N°1 figura 4A). Esto último tiene relación con dos fenómenos: desmielinización y axotomía. La desmielinización es un proceso degenerativo, en donde, se pierde la integridad de la vaina de mielina, lo que determina una alteración en la génesis y conducción de potenciales. Etiológicamente puede ocurrir por compresión originada en estructuras vasculares, radiación, infección, inflamación y exposición a neurotoxinas (5). Por otra parte, la axotomía, corresponde a la sección de una porción de fibras aferentes, lo que ocurre en caso de trauma. De esta manera las descargas generadas pueden ser espontáneas o evocadas. Estudios actuales han indicado que el aumento de canales de sodio, especialmente en zonas amielínicas dañadas, es responsable de descargas espontáneas (5).

Existe evidencia, que asocia el género y exposición a esteroides sexuales, como factores de riesgo para desarrollar condiciones de dolor neuropático (7). Las neuronas trigeminales expresan receptores de estrógenos y sufren cambios de expresión genética tras la exposición a estradiol, lo que implica un aumento de neuropéptidos como prolactina capaz de generar sensibilización ante capsaicina y/o calor (5,7).

2. Sistema nociceptivo trigeminal.

Los impulsos nerviosos que codifican el dolor craneofacial tienen su origen en cuatro nervios craneales: facial (VII), glossofaríngeo (IX), nervio vago (X) y trigémino (V), siendo este último el de mayor importancia. En muchos aspectos, la anatomía, fisiología, bioquímica y vías del dolor son homólogas a aquellas que tienen relación con las señales dolorosas originadas en el resto del cuerpo (9).

El trigémino es un nervio mixto, su porción sensorial recibe aferencias de tacto, nocicepción, temperatura, y propiocepción de la cara, músculos faciales y masticatorios, de la ATM y la cavidad bucal. El V par se compone de tres raíces nerviosas: nervio oftálmico (V1), nervio maxilar (V2) y nervio mandibular (V3). Los somas de las neuronas que forman las fibras aferentes se encuentran en el ganglio trigeminal y penetran al SNC en el tronco encefálico a nivel de la protuberancia, distribuyéndose por el complejo sómato-sensitivo trigeminal, que

esta constituido (rostro-caudalmente) por el núcleo mesencefálico, sensitivo principal (Vp) y núcleo espinal del trigémino (SpV). El núcleo SpV esta formado por tres subnúcleos (en orden descendente): oral (Vo), interpolar (Vi) y caudal (Vc) (9). Es ampliamente conocido que existe una representación somatotópica de las estructuras orofaciales en el complejo sensitivo trigeminal, de hecho, las aferencias provenientes desde V3 terminan dorsalmente, las de V1 en forma ventral y en la zona intermedia las de V2 (8). Por otra parte, los aferentes primarios provenientes desde zonas más anteriores terminan cefálicamente en Vc y los provenientes de zonas más posteriores terminan caudalmente en este núcleo (14). El dolor del área orofacial es procesado primariamente en núcleo Vo y secundariamente en Vc (20). A partir de estudios imagenológicos actuales se ha determinado que la información nociceptiva (cutánea y muscular) activa núcleos Vo y Vc. Por otra parte, el núcleo Vi es activado solamente por estímulos nocivos cutáneos, y sorprendentemente el núcleo Vp es activado por estímulos nocivos musculares, lo que se contradice con el conocimiento previo que lo asocia sólo con estímulos no nociceptivos (46). La activación de la zona de transición entre núcleos Vi y Vc juega un rol en el desarrollo de dolor persistente del área orofacial (14).

Contrario a las descripciones clásicas, el dolor del área trigeminal activa en forma bilateral el núcleo VPM y la corteza cerebral (SI y SII) (20). Esto se explica en forma parcial por las conexiones indirectas que recibe el núcleo Vo desde Vc (anexo N°1 figura 5) (20).

La información nociceptiva del cuerpo y el área orofacial alcanza la corteza cerebral, a través de la vía espinotalámica/trigeminotalámica medial y lateral (20). La primera sinapsis, de la vía del dolor en el área orofacial, se encuentra en el núcleo SpV ipsilateral (anexo N°1 figura 6). Desde éste se inicia la segunda neurona, que decusa y asciende formando parte del tracto trigeminotalámico, que alcanza núcleos contralaterales del tálamo (20). En el caso de la vía lateral alcanza el complejo lateral del tálamo, en tanto, para la vía medial alcanza el complejo posterior del tálamo. A este nivel ocurre la segunda sinapsis, y se inicia

el trayecto de la tercera neurona que termina en la corteza SI y SII para el sistema del dolor lateral (20).

En la corteza SI existe una representación somatotópica de la cara (de forma invertida) menos definida, en comparación con el núcleo VPM del tálamo (20).

3. Dolor orofacial neuropático de tipo periférico.

La neuralgia trigeminal (NT) se asocia más comúnmente a V2 y V3 unilateralmente. Se reporta una prevalencia de 27/100.000 personas (19). Es descrita como una descarga eléctrica de pocos segundos hasta dos minutos. Puede ser desencadenada por estímulos como: tacto suave, lavado de dientes y peinado de cabello, entre otros (11). Dentro de su etiología se le asocia comúnmente a desmielinización por compresión vascular, motivo por el cual se ha propuesto como tratamiento quirúrgico la descompresión microvascular (procedimiento de Jannetta), con el que se logra alivio en 80% de los casos por 20 años (11). También, puede ser desencadenada por trauma, siendo asociada a procedimientos tales como cirugía ortognática, exodoncia de 3° molares inferiores, posicionamiento de implantes dentales y tratamiento endodóntico (11,18).

Otro tipo de dolor orofacial periférico lo constituye la neuralgia post-herpética (NPH), que corresponde a un dolor descrito como quemante, que persiste sobre tres meses tras un episodio de herpes zoster (HZ) (18,21). Su prevalencia es de 39/100.00 personas, y en general 1 de cada 5 personas con HZ desarrolla NPH (19,22). El HZ es causado por el virus varicela zoster (VVZ) y se caracteriza por presentar hiperestesia o parestesia, inicialmente en la región afectada. Posteriormente, se presenta con erupciones tipo ampollas, que afectan comúnmente cara o tronco. El virus permanece en estado de latencia en ganglios nerviosos, pero puede reactivarse por múltiples factores como estrés, alteración inmunológica, resfríos y cáncer. Se presenta más frecuentemente en la rama V1 (11).

La odontalgia atípica es una condición de dolor constante en piezas dentarias sin causa aparente. Es definida, por la Sociedad Internacional del dolor de cabeza

(IHS), como un subgrupo de dolores idiopáticos faciales persistentes, también se incluye el dolor persistente tras una extracción dental (> seis meses) sin signos de patología subyacente (18,23). Los dientes más comúnmente afectados son molares (58%), siendo más frecuente en el maxilar (2:1). El dolor tiene una evolución de aproximadamente tres meses. La pieza dentaria afectada presenta sensibilidad a la percusión y al frío. Se desconoce el mecanismo patofisiológico, pero la hipótesis de origen neuropático es la más aceptada. La génesis parece ser la pérdida de aferentes primarios, por causas endodónticas, apicectomías y exodoncias, entre otras. Esto genera alteraciones del plexo nervioso periodontal que determina ramificaciones neuronales (sprouting) y neuromas (18,23).

III. Tratamiento farmacológico del dolor

1. Manejo farmacológico del dolor neuropático.

Actualmente, la clasificación del dolor neuropático se basa en las múltiples entidades patológicas que lo generan, lo que explica que un mismo tratamiento no sea igualmente efectivo para los distintos tipos de dolor neuropático. La red de investigación de dolor neuropático alemana (DFNS) propone un nuevo sistema de clasificación, basado en síntomas sensitivos y su relación con los mecanismos subyacentes, lo que permite avanzar en el manejo del dolor neuropático (5,11). El tratamiento de este tipo de dolor aún constituye un desafío, pues existen muchos pacientes que no logran obtener un alivio adecuado, lo que se explica, además, por la coexistencia de aspectos psicológicos y emocionales (5).

El tratamiento óptimo debe ser un equilibrio entre analgesia, efectos adversos e interacciones del medicamento. El objetivo de las investigaciones actuales es identificar los medicamentos y sus combinaciones que permitan la mayor analgesia con el menor porcentaje de efectos adversos. La terapia combinada de dos o más medicamentos (analgesia multimodal) es, generalmente, necesaria para alcanzar el alivio adecuado del dolor (5).

Según las guías de consenso de la Asociación Internacional para el estudio del dolor neuropático (IASP), la sociedad del dolor canadiense (CPS) y la

federación europea de sociedades neurológicas (EFNS), consideran como tratamientos de primera línea para el manejo del dolor neuropático (excluyendo la NT), los antidepresivos tricíclicos, antiepilépticos (gabapentina y pregabalina) y parches de lidocaína al 5% (24,25,26). Los analgésicos opioides se reservan como medicamentos de segunda línea en el manejo de este tipo de dolor (26). De este mismo modo, la academia americana de neurología (AAN) en conjunto con la EFNS recomiendan, como tratamiento de primera línea para la NT, la administración de carbamazepina, sin embargo, por su baja tolerancia se sugiere la utilización oxcarbazepina (25). No obstante, no existe suficiente evidencia para respaldar o refutar la eficacia de gabapentina y antidepresivos tricíclicos en el tratamiento de esta entidad (24,25). Considerando los escasos mecanismos de acción de los medicamentos disponibles para el tratamiento de la NT, se recomiendan terapias combinadas, a pesar de que, no existen publicaciones que comparen la monoterapia con la analgesia multimodal (25).

Más recientemente se han utilizado otros tratamientos, tales como, inyección de toxina botulínica y parches de capsaicina al 8%, pero los resultados han sido inconsistentes (26).

2. Antidepresivos tricíclicos (ATC): Nortriptilina.

En 1977 se comenzó a utilizar los ATC para el tratamiento de la neuropatía diabética. Desde entonces, se ha demostrado que su efecto analgésico se logra en pacientes con o sin depresión, por lo que tiene un efecto analgésico genuino. Este efecto se logra a menores dosis y de manera más rápida que la actividad antidepresiva (5, 22, 27). Además, su acción dual (analgésica y antidepresiva) es relevante por la coexistencia de depresión en gran parte de los casos de dolor neuropático (5).

Los ATC se consideran como antidepresivos de primera generación y se clasifican en dos grandes grupos: aminas tricíclicas secundarias y terciarias. Las aminas terciarias (imipramina y amitriptilina) generan una inhibición balanceada de la recaptación pre-sináptica de noradrenalina y serotonina, en donde, la inhibición de la recaptación de la última es ejercida directamente por estos fármacos, en tanto, la inhibición de la recaptación de noradrenalina es llevada a cabo por sus

metabolitos desipramina y nortriptilina (aminas secundarias), respectivamente. Las aminas secundarias, por su parte, causan inhibición de la recaptación de noradrenalina y débilmente de serotonina (28,29).

Además, los ATC bloquean post-sinápticamente receptores α_2 -adrenérgicos, receptores de histamina (H1), receptores muscarínicos y canales iónicos voltaje-dependientes (Ca, Na, K). No tienen efecto sobre la recaptación de dopamina, pero pueden tener efectos dopaminérgicos indirectos y desensibilización de receptores dopamina D2 (29). Se han reportado interacciones con receptores opioides y NMDA, pero a concentraciones terapéuticas que carecen de significancia (29).

La nortriptilina determina un incremento en la concentración de monoaminas en el espacio sináptico, lo que genera potenciación en los mecanismos descendentes de supresión, mediante la unión de estas aminas en sus receptores a nivel del asta dorsal de la médula (30). Los receptores β_2 -adrenérgicos (β_2 -A) son críticos para la acción analgésica de este fármaco, y se ha identificado que los receptores DOR-opioides están implicados en su mecanismo de acción analgésica como mediadores finales del sistema monoaminérgico (30,31). El tratamiento crónico con ATC actúa incrementando paulatinamente la expresión de péptidos opioides y/o reclutando receptores DOR-opioides, cambiando su expresión, localización o funcionalidad (29,32).

Los receptores β -adrenérgicos son miembros de una familia de receptores asociados a proteína G, que activa cascadas intracelulares generando cambios en la expresión genética (31). Existen tres subtipos: β_1 -A, β_2 -A y β_3 -A. El subtipo β_2 -A está ampliamente distribuido en el SNC y SNP. Se ha visto que la administración prolongada de agonistas β_2 -A (clenbuterol, formoterol) resulta en efectos antialodínicos en ratones (31).

Tras la administración de nortriptilina se logra un peak plasmático a las 7-8.5 horas y su vida media plasmática va desde 16 a > 90 horas. Se encuentra levemente más concentrada en la leche materna respecto de sus niveles plasmáticos. Es metabolizada en el hígado por el sistema del citocromo P450

(CYP): CYP1A2, CYP2D6, CYP3A4, CYP2C. Finalmente es eliminada principalmente por vía urinaria, pero también es excretada por vía biliar (28).

La nortriptilina, es un metabolito derivado de la amitriptilina. Ambos medicamentos, tienen la mejor eficacia documentada para el tratamiento del dolor neuropático (27). En un meta-análisis se encontró una reducción significativa del dolor de tipo neuropático, 42.4% con amitriptilina y 17.4% con nortriptilina (33). Los ATC inhibidores duales de monoaminas han mostrado tener mayor eficacia comparados con los inhibidores de recaptación selectivos, no obstante, estos últimos son mejor tolerados y presentan una farmacocinética menos variable (29). La AAN junto con la EFNS recomiendan la utilización de ATC (amitriptilina, nortriptilina, imipramina y desipramina) como tratamiento de primera elección en dolores neuropáticos (neuropatía diabética, NPH y dolor facial atípico) (22,24). Los analgésicos opioides, que además de su acción sobre receptores μ -opioides inhiben la recaptación de monoaminas, son utilizados como alternativa de segunda línea para el tratamiento de NPH, debido a la mayor generación de efectos adversos. Sin embargo, su eficacia es levemente superior comparados con ATC (5,24,33).

Los ATC tienen gran cantidad de efectos adversos, los que se deben principalmente a sus propiedades anticolinérgicas, sin embargo, estos efectos se pueden reducir utilizando aminor secundarias (33). Los efectos adversos asociados con ATC incluyen alteraciones cardiovasculares (hipotensión, hipertensión, arritmias), neurológicas (ataxia, adormecimiento extremidades), anticolinérgicas (sequedad bucal, visión borrosa, constipación, retención urinaria), hematológicas (depresión de medula ósea: agranulocitosis, trombocitopenia, púrpura), gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea), endocrinas (aumento/disminución libido, impotencia) y otras como aumento de peso, debilidad, fatiga e inflamación de parótidas (28). Los efectos secundarios mas comunes para el grupo de aminor secundarias son sedación (por afinidad a receptores H1 de histamina) y efectos anticolinérgicos (5,22,26,27). La administración conjunta de nortriptilina con antidepresivos inhibidores de monoaminoxidasa genera el síndrome serotoninérgico, y además se contraindica su uso tras episodios de infarto al miocardio (28).

Algunos medicamentos inhibidores de la vía de citocromo P450 (CYP), específicamente de CYP2D6, determinan un aumento en la concentración de ATC, llegando a valores tóxicos. Algunos de estos fármacos son cimetidina, antidepresivos inhibidores de la recaptación de serotonina (fluoxetina, sertralina) que pueden generar síndrome serotoninérgico (28). Por otra parte, el uso conjunto de fármacos β -bloqueadores no selectivos con nortriptilina determina una disminución en efectos analgésicos de ésta (30).

3. Antiepilépticos: Gabapentina.

Los anticonvulsivos son medicamentos utilizados primariamente para la prevención y tratamiento de convulsiones, y también, como profilaxis en el tratamiento de migrañas (24). Sin embargo, en el último tiempo varios se han utilizado para el tratamiento de condiciones dolorosas crónicas. Clínicamente han mostrado ser eficaces en el tratamiento de la neuropatía diabética, neuralgia post-herpética (NPH), neuralgia trigeminal (NT), dolor facial y odontalgia atípica (24,34).

Los medicamentos antiepilépticos pueden ser clasificados como de primera y segunda generación, siendo estos últimos mejor tolerados, pues, generan menores efectos secundarios sobre el SNC (33).

Este grupo de fármacos posee múltiples mecanismos de acción, que en términos generales implica la disminución de la neurotransmisión excitatoria aferente y facilitan la inhibición segmentaria. La carbamazepina y fenitoína, ejercen su acción por medio de la inhibición del influjo iónico en canales de sodio, disminuyendo la excitabilidad de membrana, por la hiperpolarización (25). En tanto, el mecanismo de acción de los gabapentinoides (gabapentina y pregabalina) implica el bloqueo de canales Cav (34,35).

La gabapentina (antiepiléptico de segunda generación) fue sintetizada en la década de 1960, y fue aprobada por la FDA en 1994, como agente antiespástico para atenuar el reflejo espinal polisináptico (36). Posteriormente, en el 2002 se aprobó su prescripción para el tratamiento de NPH (36). Inicialmente se sintetizó como agonista del GABA (35). Su mecanismo de acción ha sido extensamente estudiado y existen múltiples hipótesis. Dada su homología estructural con el neurotransmisor GABA se pensó que ejercía su acción sobre receptores GABA_A y

GABA_B, sin embargo, a concentraciones terapéuticas muestra escasa afinidad por estos (37,38). Por otra parte, genera elevación de niveles de GABA en el cerebro, lo que se ha asociado con sus efectos antiepilépticos y ansiolíticos (38). Además, actúa de forma sinérgica con antagonistas de AMPA/NMDA, por lo que estos no corresponden a los sitios de acción relacionados al efecto analgésico (37). Su transporte es llevado a cabo por sistema L- α -aminoácido, que tiene importancia en su paso a través de la barrera hematoencefálica y para la absorción intestinal, pero no tiene relación con su acción analgésica (27,35,37).

Finalmente, en 1996 Gee et al., demostró que la actividad analgésica de este fármaco se debe a su unión con la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 de canales de calcio voltaje-dependientes (Cav) tipo N (35,39). Los Cav son proteínas de transmembrana, que se componen de subunidades α -1, $\alpha 2\delta$ y β , las dos últimas son consideradas como auxiliares y modifican la apertura del canal (anexo N°1 figura 7). Existen cuatro subtipos de unidades $\alpha 2\delta$ (1-4), de las cuales solo $\alpha 2\delta$ -1 y $\alpha 2\delta$ -2 se unen a gabapentinoides. Ambas, comparten la característica de tener el aminoácido arginina en la posición 217, lo que ha sido sindicado como un componente crítico para la unión de estos (37,38).

La unión de la gabapentina a la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 de Cav altera el influjo de calcio presinápticamente, disminuyendo la liberación de neurotransmisores (principalmente glutamato) y por ende la excitabilidad neuronal post-sináptica (21,39,40). En condiciones de dolor crónico se encuentra aumentada la expresión de esta subunidad en neuronas sensitivas del asta dorsal, lo que explica la acción de la gabapentina en condiciones de dolor inflamatorio o neuropático, pero no en dolor agudo (35,39).

La subunidad $\alpha 2\delta$ -1 permite la estabilización de los canales de calcio, pues, se une al colágeno extracelular, y se cree que la gabapentina podría alterar esta propiedad (39). Por otra parte, la unión de la L-leucina con la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 promueve el movimiento de los Cav hacia la superficie celular, en tanto, la gabapentina ejerce el mecanismo contrario, alejando los Cav hacia el citosol, (anexo N°1 figura 8). Finalmente, algunos estudios actuales sugieren que los gabapentinoides reducen la vía de señalización del factor de transcripción NF- κ B

(factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) que controla la transcripción de genes asociados a proteínas pro-inflamatorias (COX-2, IL-6) (39,40).

La gabapentina posee una absorción no lineal, que se explica por su transporte por medio de transportadores saturables (L-aminoácido) lo que resulta en una biodisponibilidad no proporcional al aumento de las dosis. Su vida media plasmática es de 5-9 horas. Se une en < 3% a las proteínas plasmáticas. Atraviesa rápidamente la barrera hematoencefálica. En el fluido espinal se encuentra entre 5-35% de la concentración plasmática y un 80% de esta se encuentra a nivel cerebral. Es excretada de manera inalterada, completamente por vía renal (21,33,36).

Sus aplicaciones terapéuticas incluyen el tratamiento de crisis epilépticas parciales, trastorno bipolar, fobia social, migraña, tratamiento de la dependencia de opioides y condiciones de dolor crónico: neuropatía diabética, NPH y NT (35). Tiene eficacia comparable con la nortriptilina en el tratamiento de estos dolores crónicos (24,41). La elección de gabapentinoides o ATC en el tratamiento de dolores crónicos depende de factores como efectos secundarios, contraindicaciones y costo (22,33). En pacientes con alteraciones del sueño o depresión, los ATC son de elección, a diferencia de pacientes con alteraciones cardíacas, donde los gabapentinoides son la alternativa (41).

Se estima que este fármaco provee un alivio moderado frente al dolor crónico (disminución del 30%) en 1 de 2 pacientes, y un alivio sustancial (disminución de 50%) en 1 de 3 pacientes (19). A raíz de esto último se desprende que la combinación de medicamentos con diferentes mecanismos de acción podría ser adecuada para alcanzar mayores niveles de eficacia (27). Existe evidencia de los beneficios de la terapia combinada de gabapentina y ATC, lo que resulta en analgesia sinérgica, permitiendo una mayor eficacia y tolerabilidad (24, 26,41).

Los efectos secundarios son el mayor limitante de este grupo de medicamentos, y difieren ampliamente según el tipo de anticonvulsivo. El efecto no deseado mas común es la sedación, lo que puede ser potenciado por el consumo concomitante de alcohol, benzodiazepinas, opioides y antihistamínicos

(27). La gabapentina se asocia con mioclono, aumento de peso, somnolencia, ataxia, mareos, fatiga y edema periférico (34,36). Los estudios demuestran una relación entre la dosis y la incidencia de efectos adversos, por lo que un aumento paulatino de la dosis permite mejor tolerancia (40). Estos efectos adversos se presentan en 2/3 de las personas que lo consumen, siendo necesario suspender el tratamiento solo en 1 de cada 10 casos (19). Estudios revelan que no existen diferencias significativas en cuanto al abandono del tratamiento, por efectos adversos, entre gabapentina y ATC, sin embargo, hay menos efectos adversos asociados al tratamiento con parches de lidocaína al 5% (22,27,41). Últimamente, se ha detectado que la gabapentina produce menor sequedad bucal que ATC, en tanto, éstos producen menos episodios de ataxia que la gabapentina (41).

La gabapentina es uno de los pocos anticonvulsivos libre de interacciones medicamentosas, aunque, los antiácidos reducen su biodisponibilidad por lo que su administración conjunta debe ser espaciada (21). Otros fármacos antiepilépticos, como la carbamazepina, inducen vías de citocromo P450 oxidasa, lo que se traduce en reducción de la concentración serosa de múltiples medicamentos como ATC y anticonceptivos orales (36). Por otro lado, los medicamentos que inhiben el citocromo P450 (claritromicina y eritromicina de amplio uso en odontología) determinan una disminución en el metabolismo de la carbamazepina lo que puede tener efectos tóxicos (34).

IV. Modelos de dolor en animales

1. Generalidades.

La investigación pre-clínica, ha avanzado mucho en los últimos años en su intento de conocer las bases anatomo-moleculares, fisiológicas y patológicas del dolor, lo que se debe en gran parte a los modelos de dolor en animales. Es importante hacer una distinción entre nocicepción y dolor, especialmente cuando se realizan estudios pre-clínicos en animales. La nocicepción incluye todos los mecanismos por los cuales los estímulos nocivos son detectados, codificados y transferidos hacia centros superiores del SNC (1). En cambio, el dolor es una experiencia consciente que requiere de integración cortical, con componentes

afectivos, sensorio-discriminativos, autonómicos y cognitivos (1). Por lo expuesto anteriormente, en animales no se realizan pruebas de dolor sino que de nocicepción, lo que se explica por la ausencia de comunicación verbal en animales, lo que constituye un obstáculo para la evaluación del dolor (1,42).

Previamente se reinterpretó la definición de dolor de la IASP para ser aplicada en animales, por lo que el dolor en animales se define como “una experiencia sensorial aversiva causada por una lesión real o potencial que produce reacciones motoras y vegetativas progresivas, desencadena un comportamiento aprendido de evitación y puede modificar comportamientos específicos de la especie, incluyendo los sociales” (1). De este modo, los modelos de dolor en animales implican procedimientos en los que se valora la reacción de un animal frente a un estímulo nocivo de diferente naturaleza (térmico, eléctrico, mecánico y químico), en los cuales solo es posible valorar el comportamiento y no es posible analizar la dimensión afectiva del dolor (1). Algunas de las pruebas, como tail-flick y hot-plate se basan en la latencia de aparición del comportamiento a cuantificar (retiro de extremidad o cola de animal). Otras pruebas se basan la medición de umbrales del estímulo (filamentos de Von Frey, analgesiómetro de Randall-Selitto) (1). Finalmente, el test de la formalina y de acetona implican la observación y puntuación de comportamientos específicos definidos previamente (1).

2. Test de la formalina orofacial.

Diferentes agentes químicos irritantes pueden ser utilizados como estímulos nociceptivos. Estos agentes químicos inducen un estado de dolor que es evaluado mediante puntuación de ciertos comportamientos (1). El test de la formalina es el procedimiento mas comúnmente utilizado, y se considera de mayor relevancia respecto del dolor clínico comparado con otras pruebas como el tail-flick y hot-plate (1,16,17). Esta prueba consiste en la inyección del compuesto en el labio superior de roedores, lo que produce una reacción bifásica de comportamiento nociceptivo. La fase I, dura entre 3-5 minutos, y se debe a la activación directa de nociceptores (17). Luego continúa un período de relativa quietud que dura 10-15 minutos. Posteriormente la fase II, dura entre 20-40 minutos, e implica mecanismos inflamatorios y de sensibilización central a nivel del asta dorsal (17).

La formalina inyectada genera una modificación covalente de residuos de lisina y cisteína de canales TRPA1 (en fibras tipo C), lo que activa estos canales y explica la nocicepción de la fase I (43). El daño tisular provocado por la formalina explica la fase II del modelo. El sistema inmunológico libera bradisinina (BK), que determina la síntesis y liberación de TNF- α , que activa dos vías de señalización. Una requiere la expresión de IL1- β , IL-6 y la generación de PGs. La otra involucra expresión de IL-8 y la activación de aminas simpáticas (44).

Clavelou et al. (1989) realizó una modificación del test inicial propuesto por Dubuisson et al. (1977), para evaluar el proceso de nocicepción en el área orofacial en ratas. Posteriormente Luccarini et al. (2006) adaptó este test para su aplicación en ratones (17). El sitio de inyección corresponde al labio superior del ratón, lateral a la nariz del animal. Tras la aplicación de la formalina aparecen respuestas conductuales nociceptivas, de frotamiento del área perinasal con la pata delantera y trasera ipsilateral, lo que debe ser contabilizado (16,17,42). La duración de la respuesta nociceptiva tiene relación con la concentración de la formalina (42). En ratones, Luccarini observó una relación lineal positiva entre concentración y amplitud de la respuesta, en la primera y segunda fase del test, con concentraciones hasta 4% (17). En ratas, Raboisson encontró una relación lineal positiva solo en la segunda fase con concentraciones de hasta 2.5% (16). En ambos estudios el uso de concentraciones mayores no se traduce en una mayor expresividad, sino que se alcanza un efecto techo en ratones (17) y una disminución de la respuesta en ratas (16). Esto se explica pues a mayor concentración se producen largos períodos de inmovilidad del animal (freezing) y por la desensibilización de nociceptores periféricos, lo que induce una interpretación alterada de la conducta nociceptiva (17).

Dentro de las limitaciones de esta prueba, la más importante se relaciona con la medición de la nocicepción, la que se realiza en función de una reacción motora (frotamiento), por lo que cualquier fármaco que la altere puede llevar a mal interpretación de los resultados (16,17).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. Hipótesis.

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

2. Objetivos.

2.1. Objetivo general.

Estudiar la actividad antinociceptiva de gabapentina, nortriptilina y su combinación en el test de la formalina orofacial en ratones.

2.2. Objetivos específicos.

- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración i.p. de gabapentina en el test de la formalina orofacial.
- Calcular a partir de la curva dosis-respuesta de gabapentina, la dosis que produce el 50% del efecto máximo (DE_{50} del E_{max}).
- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración i.p. de nortriptilina en el test de la formalina orofacial.
- Calcular a partir de la curva dosis-respuesta de nortriptilina, la dosis que produce el 50% del efecto máximo (DE_{50} del E_{max}).
- Evaluar la naturaleza e intensidad de la interacción farmacológica de gabapentina con nortriptilina en el ensayo antes mencionado.

MATERIAL Y METODOS

1. Animales.

Se utilizaron 136 ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1 de 25 a 36g de peso. Los experimentos se realizaron según el protocolo CBA N° 455 aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina, en concordancia con Guías para el uso de animales en investigación de IASP (47), utilizándose el mínimo de animales necesarios para un correcto análisis estadístico. Los ratones se mantuvieron en cajas plásticas con acceso libre a comida y agua (figura N°1), y se habituaron al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes del experimento. Las sesiones de experimentación se desarrollaron durante la mañana entre las 8:30-13:00 horas, en un ambiente tranquilo. Para la observación del experimento se utilizó un cilindro de acrílico transparente con un espejo doble para facilitar el registro (figura N°2). Las observaciones fueron efectuadas en forma ciega para los fármacos, aleatoria y controlada con solución salina.

Cada animal fue habituado al cilindro de experimentación por 10 minutos para minimizar el estrés. Los ratones no tuvieron acceso a comida y/o agua durante el desarrollo del experimento, y recibieron solamente una dosis de los fármacos, tras lo cual, se sacrificaron mediante dislocación cervical por personal experimentado.



Figura N°1. Recipiente de habituación de los animales.

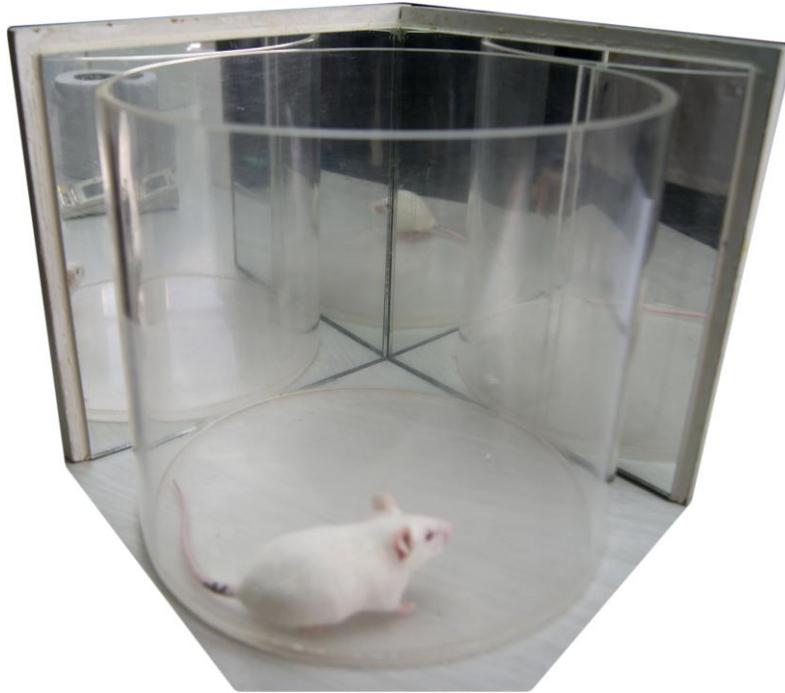


Figura N°2. Recipiente de observación de la experimentación.

2. Test de la formalina orofacial.

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó utilizando el test de la formalina orofacial, que se basa en la estimulación nociceptiva del nervio trigémino. Se inyectó por vía subcutánea 20 μ L de una solución de formalina al 2%, en el labio superior derecho del animal (figura N°3). Tras la inyección los ratones se colocaron en el cilindro de acrílico para la observación. Este procedimiento genera un frotamiento sostenido de la zona inyectada y del área perinasal con la extremidad delantera y trasera ipsilateral, aunque, también en ciertas ocasiones con la extremidad delantera contralateral (figura N° 4A y 4B). Dichos comportamientos se contabilizaron, en forma continua, mediante un cronómetro digital. El registro se efectuó durante los 5 minutos inmediatos a la inyección, lo que corresponde a la fase I de la prueba (algésica aguda), y por 10 minutos, a partir del minuto 20, lo que corresponde a la fase II (inflamatoria) asociada al dolor crónico. El período interfases no se contabilizó pues

corresponde a un período de quietud, como se ha observado en ensayos anteriores (16,17,42,43).



Figura N°3. Inyección de solución de formalina al 2% en labio superior del ratón.



(A)



(B)

Figura N°4. Respuesta nociceptiva a consignar. (A) Frotamiento zona perinasal con extremidad anterior ipsilateral. (B) Frotamiento zona perinasal con extremidad posterior ipsilateral.

3. Efectos antinociceptivos de gabapentina y nortriptilina.

Los fármacos se administraron vía intraperitoneal (i.p.) en un volumen constante, de 10 mL/kg, 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, pues la evidencia demuestra que es el tiempo en que se alcanza un efecto analgésico máximo (17). Los animales usados como grupo control fueron tratados con una solución salina administrada por vía i.p., para lo cual, se utilizó un ejemplar por cada grupo experimental.

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva de ambos fármacos, se construyó una curva dosis-respuesta. Ambos medicamentos se administraron por vía i.p. en dosis de 1, 3, 10 y 30 mg/kg (figura N°5). De esta forma, para cada dosis se utilizaron 8 animales, por lo que la experimentación de cada fármaco por separado implicó la utilización de 4 grupos (n= 32). Se utilizó 1 animal control por cada grupo experimental (n=8), a los que se les inyectó solución salina al 0.9 %.



Figura N°5. Inyección intraperitoneal de fármacos.

4. Análisis isobolográfico de la interacción de los fármacos.

El análisis isobolográfico se utilizó para determinar la naturaleza y magnitud de la interacción entre gabapentina y nortriptilina. El método se basa en la comparación de la combinación de las dosis equiefectivas, la cual se realiza a partir de las dosis de cada uno de los agentes y que son consideradas equipotentes (55). Por lo tanto, a partir de las curvas dosis-respuesta de ambos fármacos por separado se determina la DE_{50} (dosis efectiva que produce el 50% de la respuesta máxima frente a la formalina) de cada uno. Consecuentemente, se obtiene una curva dosis-respuesta de la coadministración, de ambos, en proporción fija 1:1 de los valores de DE_{50} de cada fármaco por separado. Posteriormente, se administró a grupos separados $(DE_{50}$ gabapentina + DE_{50} nortriptilina)/2, $(DE_{50}$ gabapentina + DE_{50} nortriptilina)/4, $(DE_{50}$ gabapentina + DE_{50} nortriptilina)/8, $(DE_{50}$ gabapentina + DE_{50} nortriptilina)/16. De este modo, a partir de la curva dosis-respuesta obtenida se realizó el análisis isobolográfico, según lo descrito por Tallarida (48).

Para cada combinación de los medicamentos se determinó la DE_{50} 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:

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

Donde:

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

El punto experimental resultante fue graficado en un sistema de coordenadas cartesianas, que contiene una línea que conecta la DE_{50} de gabapentina en la abscisa, con la DE_{50} de nortriptilina 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 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 se calculó el índice de interacción entre las drogas, de acuerdo a la siguiente fórmula:

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

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 (48).

5. Análisis de los datos.

Los resultados fueron expresados como porcentaje del promedio \pm error estándar de la media (EEM o SEM). El tiempo total de frotamiento (grooming) de cada período, medido en segundos, se convirtió en el porcentaje del máximo posible efecto (MPE), según la siguiente fórmula:

$$\%MPE = 100 - (\text{tiempo grooming post-droga} / \text{tiempo grooming control salino}) \times 100$$

La dosis que produce el 50% del MPE (DE_{50}), fue calculada por análisis de regresión lineal de la curva obtenida por el trazado del logaritmo (log) de la dosis versus %MPE. El análisis estadístico de los datos obtenidos de las curvas log dosis respuestas, se analizaron mediante regresión lineal por cuadrados mínimos para determinar las DE_{50} , ya sea, de los fármacos administrados en forma aislada como de sus combinaciones. Todos los parámetros estadísticos se calcularon con un software del laboratorio (Pharm Tools Pro, version 1.27, The McCarty Group Inc, PA, USA), y la significancia estadística se determinó mediante la prueba t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

1. Test de formalina orofacial y grupo control.

La administración de formalina en el labio superior del animal generó una respuesta nociceptiva bifásica, compuesta por una fase de corta duración (fase I) y una fase más prolongada (fase II). Ambas fases, se presentaron en forma separada por un período interfase, de inactividad relativa. La primera fase, medida durante los primeros 5 minutos, comenzó a los 10-15 segundos tras la inyección de la solución de formalina. La segunda fase, medida a partir del minuto 20, se prolongó por 10 minutos aproximadamente.

El grupo control fue inyectado con una solución salina al 0,9% vía i.p., 30 minutos antes de la administración de formalina. El tiempo de frotamiento de la zona labial y perinasal fue de $93,63 \pm 1,66$ seg. para la fase I (n=8), y de $101,63 \pm 2,49$ seg. para la fase II (n=8).

2. Efecto antinociceptivo de gabapentina.

La administración sistémica de gabapentina, resultó en una disminución dosis-dependiente, de la respuesta nociceptiva en la fase I y II. En este estudio, las cuatro dosis utilizadas resultaron tener un efecto antinociceptivo significativo en ambas fases. La reducción de la amplitud de la respuesta de frotamiento para la fase I fue de $41.92 \pm 3.0\%$ ($P < 0.05$), $57.81 \pm 5.0\%$ ($P < 0.05$), $73.83 \pm 3.0\%$ ($P < 0.05$) y $83.4 \pm 4.0\%$ ($P < 0.05$) tras la administración de 1, 3, 10 y 30 mg/kg, respectivamente (ver grafico N°1). A diferencia de la reducción para la fase II, la cual fue de $55.6 \pm 4.0\%$ ($P < 0.05$), $66.4 \pm 2.0\%$ ($P < 0.05$), $73.1 \pm 2.3\%$ ($P < 0.05$) y $81.1 \pm 1.0\%$ ($P < 0.05$) tras la administración de 1, 3, 10 y 30 mg/kg, respectivamente (ver grafico N°2). La DE_{50} resultó ser de $1,7 \pm 0,22$ mg/kg para la fase I (n=32), mientras, en la fase II resultó ser $0,4 \pm 0,093$ mg/kg (n=32) (ver tabla N°1).

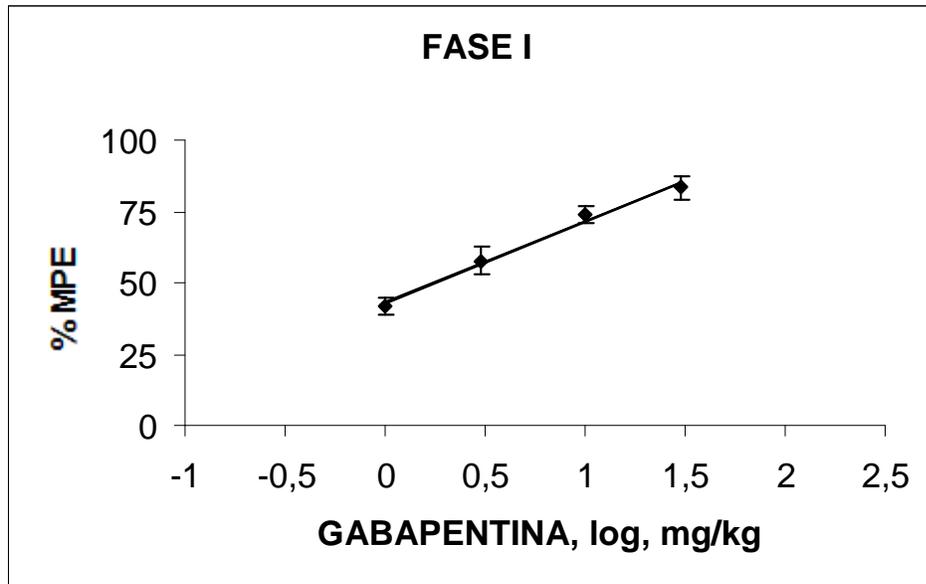


Gráfico N°1: Curva dosis-respuesta para la administración i.p. de gabapentina en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales. MPE: máximo posible efecto.

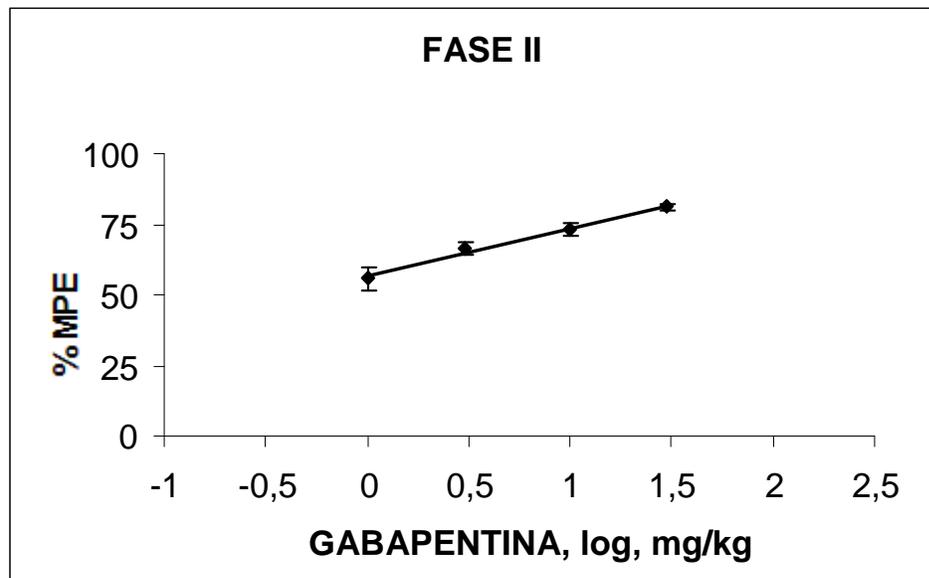


Gráfico N°2: Curva dosis-respuesta para la administración i.p. de gabapentina en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales. MPE: máximo posible efecto.

3. Efecto antinociceptivo de nortriptilina.

La administración i.p. de nortriptilina, resultó en una disminución dosis-dependiente, de la respuesta nociceptiva en la fase I y II. En este estudio las cuatro dosis utilizadas resultaron tener un efecto antinociceptivo significativo en ambas fases. La reducción de la amplitud de la respuesta de frotamiento para la fase I fue de $50.6 \pm 2.5\%$ ($P < 0.05$), $69.40 \pm 0.6\%$ ($P < 0.05$), $79.3 \pm 0.6\%$ ($P < 0.05$) y $90.3 \pm 0.5\%$ ($P < 0.05$) tras la administración de 1,3,10 y 30 mg/kg, respectivamente (ver grafico N°3). En tanto, la reducción para la fase II fue de $69.12 \pm 4.0\%$ ($P < 0.05$), $75.8 \pm 1.0\%$ ($P < 0.05$), $86.30 \pm 2.0\%$ ($P < 0.05$) y $95.8 \pm 3.0\%$ ($P < 0.05$) tras la administración de 1,3,10 y 30 mg/kg, respectivamente (ver grafico N°4). La DE_{50} resultó ser de $0,75 \pm 0,21$ mg/kg para la fase I ($n=32$), mientras en la fase II resultó ser $0,10 \pm 0,02$ mg/kg ($n=32$) (ver tabla N°1).

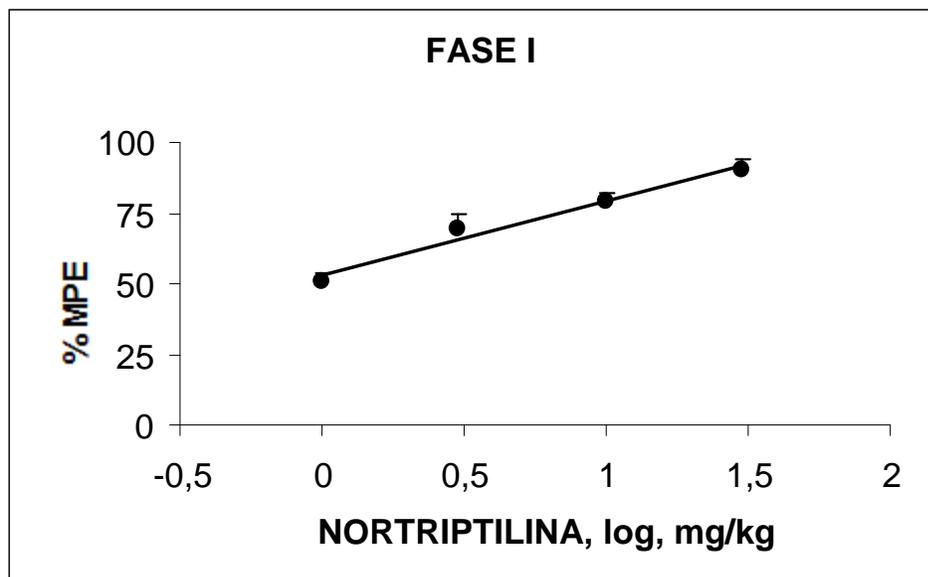


Gráfico N°3: Curva dosis-respuesta para la administración i.p. de nortriptilina en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales. MPE: máximo posible efecto.

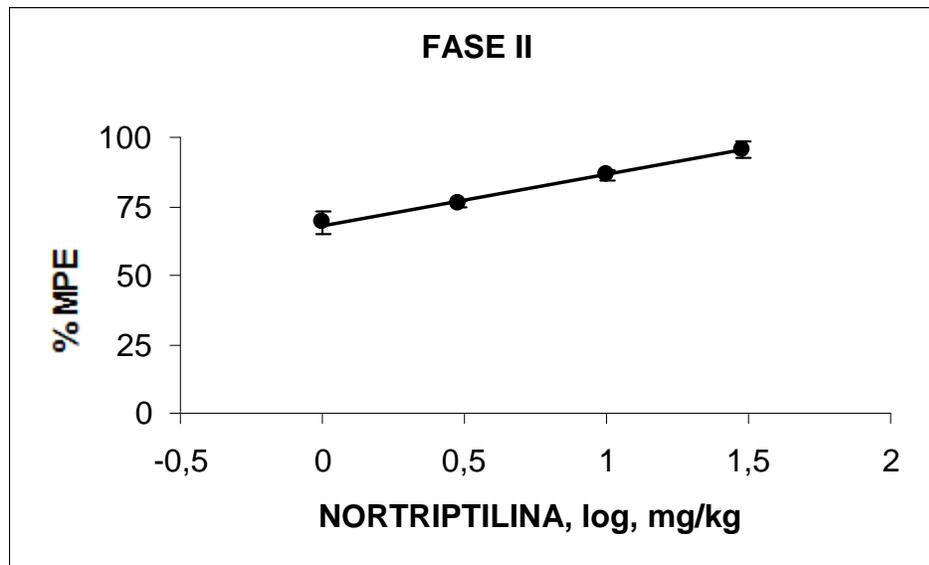


Gráfico 4: Curva dosis-respuesta para la administración i.p. de nortriptilina en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales. MPE: máximo posible efecto.

4. Efecto antinociceptivo de la interacción de gabapentina y nortriptilina

La coadministración sistémica (i.p.) de gabapentina con nortriptilina en proporción 1:1 de sus correspondientes DE_{50} , resultó en una disminución dosis-dependiente, de la respuesta nociceptiva en la fase I y II. La reducción de la amplitud de la respuesta de frotamiento para la fase I fue de $40.32 \pm 2.0\%$ ($P < 0.05$), $53.81 \pm 1.6\%$ ($P < 0.05$), $66.62 \pm 0.44\%$ ($P < 0.05$) y $76.5 \pm 0.52\%$ ($P < 0.05$), tras la administración de las fracciones de DE_{50} 1/16, 1/8, 1/4, 1/2, respectivamente (ver grafico N°5). Mientras que, la reducción para la fase II fue de $39.24 \pm 3.08\%$ ($P < 0.05$), $50.06 \pm 5.25\%$ ($P < 0.05$), $64.7 \pm 3.0\%$ ($P < 0.05$) y $77.12 \pm 1.67\%$ ($P < 0.05$) de las fracciones de DE_{50} 1/16, 1/8, 1/4, 1/2, respectivamente (ver grafico N°6). La DE_{50} fue de $0,25 \pm 0,01$ mg/kg para la fase I ($n=32$), y de $0,06 \pm 0,002$ mg/kg para la fase II ($n=32$) (ver tabla N°1).

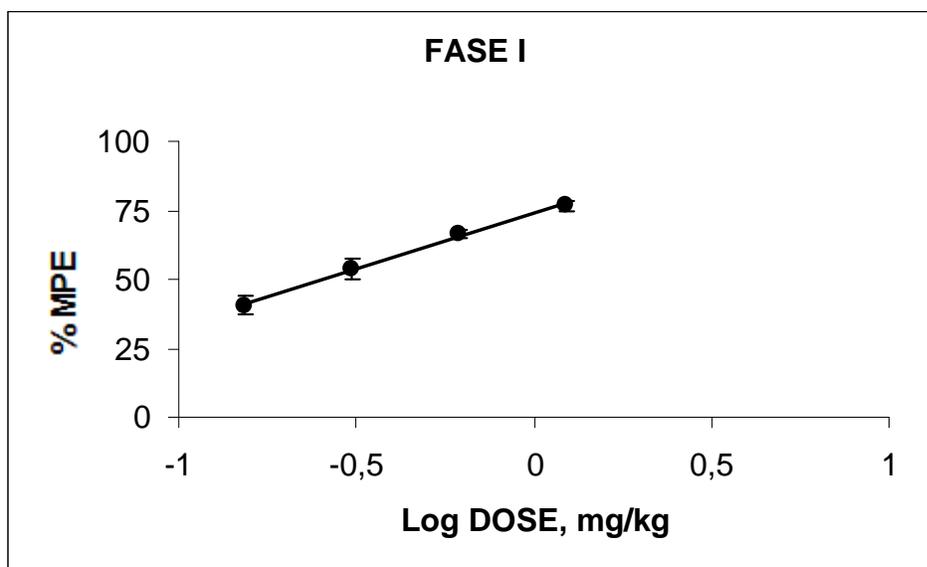


Gráfico N°5: Curva dosis-respuesta para la coadministración i.p. de las mezclas gabapentina/nortriptilina en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales. MPE: máximo posible efecto.

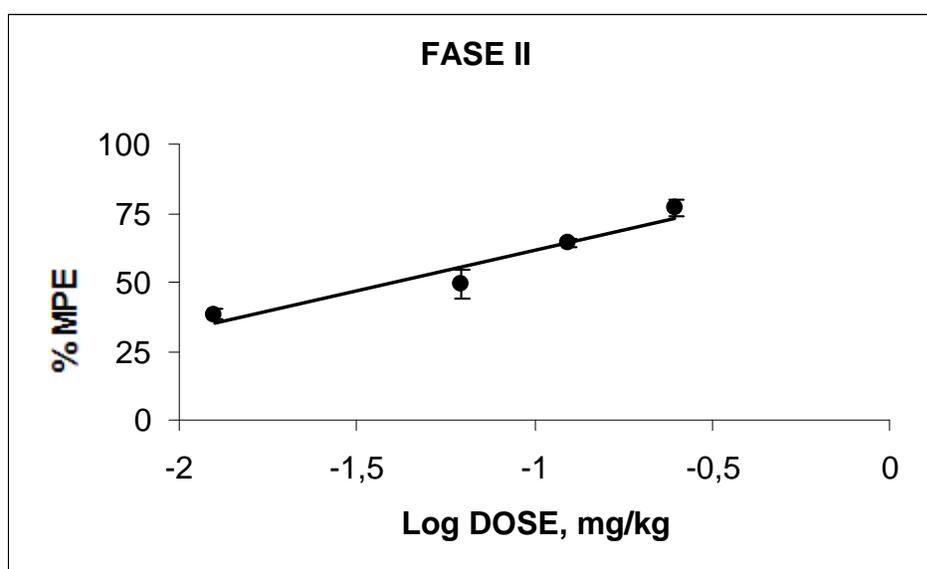


Gráfico N°6: Curva dosis-respuesta para la coadministración i.p. de las mezclas gabapentina/nortriptilina en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales. MPE: máximo posible efecto.

5. Análisis isobolográfico de la interacción entre gabapentina y nortriptilina

La actividad antinociceptiva de la administración conjunta via i.p. de las combinaciones de relación fija (1:1) de fracciones de la DE₅₀ de gabapentina y nortriptilina, se evaluó mediante el cálculo de la DE₅₀ de la mezcla (graficos N°5 y 6). La DE₅₀ teórica para esta mezcla (1:1) es $1,22 \pm 0,200$ mg/kg para la fase I. En cambio, la DE₅₀ experimental para la fase I fue $0,253 \pm 0,011$ mg/kg, y su diferencia es estadísticamente significativa ($P < 0.001$). La DE₅₀ teórica para esta mezcla (1:1) es $0,250 \pm 0,048$ mg/kg para la fase II. En tanto, la DE₅₀ experimental para la fase II fue $0,06 \pm 0,002$ mg/kg, y su diferencia es estadísticamente significativa ($P < 0.002$).

Del análisis isobolográfico de la combinación de gabapentina con nortriptilina, se obtuvo como resultado una interacción antinociceptiva de tipo supraaditiva o sinérgica, tanto para la fase I como para la fase II, con diferencias estadísticamente significativas, para ambas, entre DE₅₀ teorica y experimental.

Paralelamente el software calcula el índice de interacción de la combinación, que en la fase I resultó ser de 0,207, en tanto para la fase II resultó ser de 0,242 (ver gráficos N° 7 y 8 y tabla N°1).

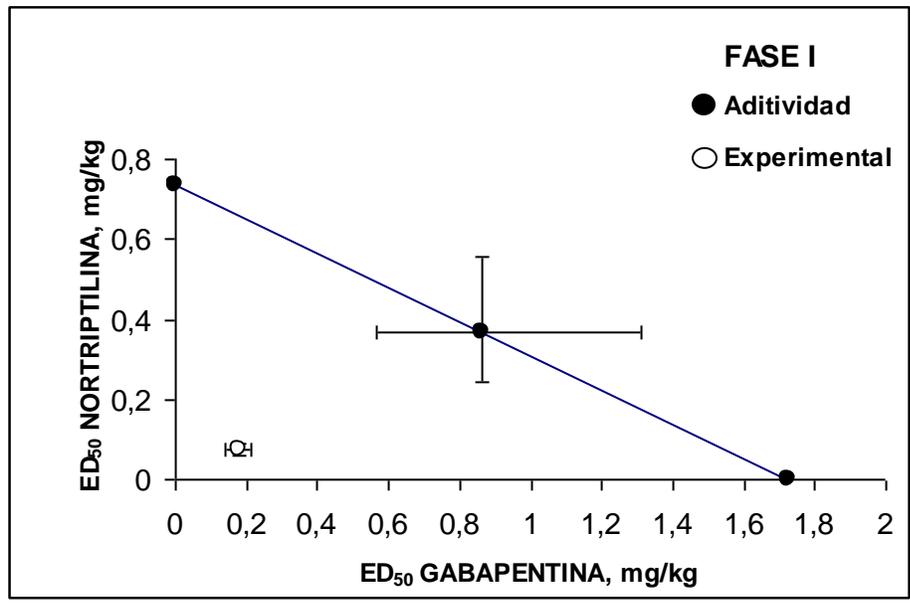


Gráfico 7: Isoblograma de la interacción entre gabapentina y nortriptilina, en el test de la formalina orofacial, en la fase I. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla. El (○) representa el punto de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

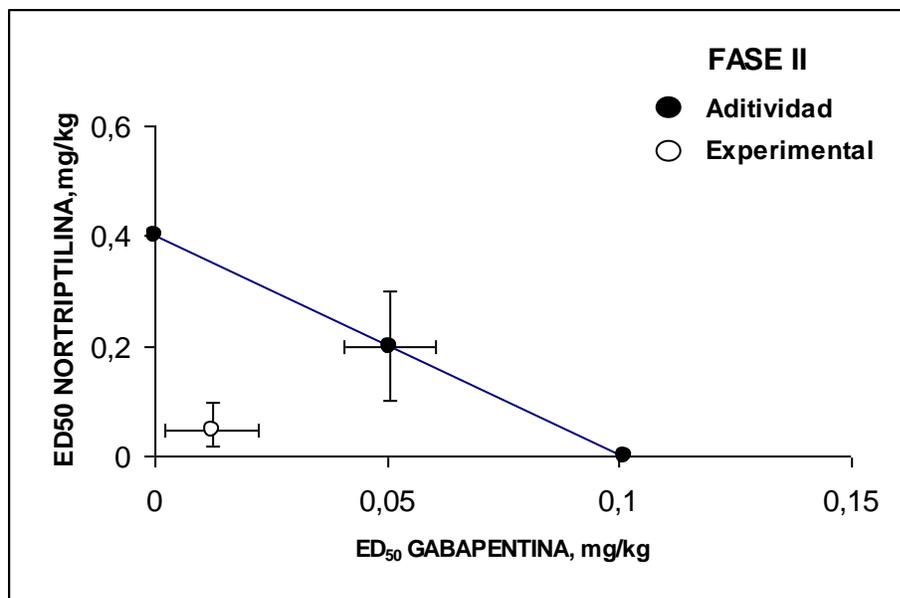


Gráfico 8: Isoblograma de la interacción entre gabapentina y nortriptilina, en el test de la formalina orofacial, en la fase II. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla. El (○) representa el punto de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

Fármacos	DE ₅₀ ± EEM (mg/kg i.p.)	
	Fase I	Fase II
Gabapentina	1,7 ± 0,22	0,4 ± 0,093
Nortriptilina	0,75 ± 0,21	0,10 ± 0,02
Gabapentina/Nortriptilina	0,25 ± 0,01	0,06 ± 0,002

Tabla 1. Valores (DE₅₀) con sus respectivos errores estandar promedio (EEM), para el efecto antinociceptivo frente a la administración intraperitoneal (i.p.) de gabapentina, nortriptilina, y de la mezcla de ambos, en la fase I y II del test de la formalina orofacial

DISCUSIÓN

En esta investigación, se analizó el efecto combinado de la gabapentina con notriptilina, así como el de cada fármaco por separado, respecto a sus propiedades antinociceptivas en un modelo de dolor animal ampliamente utilizado.

La formalina es una sustancia algogénica que produce inflamación y edema tras su inyección subcutánea (42). Además, produce una actividad nociceptiva, de presentación bifásica, caracterizada por respuestas de frotamiento de la zona inyectada, lo que es registrado y utilizado para medir la eficacia analgésica de diferentes fármacos (16,17). La interpretación de este modelo sugiere que la fase I es resultado de la activación directa de nociceptores que presentan receptores TRPA1, a diferencia de la fase II que es generada por inflamación tisular y sensibilización de neuronas de segundo orden, la cual se puede correlacionar con un estado de dolor crónico neuropático de origen periférico (56). El período de quietud, interfases, se atribuye a controles inhibitorios del dolor (50,51)

En el presente estudio se utilizó el test de la formalina orofacial en ratones *mus musculus* (CF/1), en los cuales las repuestas nociceptivas pueden ser distinguidas de los movimientos de acicalamiento espontáneos del animal.

En esta investigación se demostró que la administración sistémica (i.p.) de gabapentina (dosis 1,3,10,30 mg/kg) induce efectos inhibitorios dosis-dependiente, de la respuesta nociceptiva, en las fases I y II del test de la formalina orofacial en ratones. De acuerdo a los valores DE_{50} de la actividad antinociceptiva, la gabapentina resultó ser 3 veces más potente en la fase II del test, lo que implica una acción predominantemente a nivel central, aunque, su acción frente al dolor agudo es significativa. Estudios preclínicos anteriores, utilizando la prueba de formalina intraplantar presentan disparidad de resultados, pues se observa una disminución de la respuesta nociceptiva de ambas fases (50,52) o bien sólo de la fase II (51, 53). Quiñonez et al. (2009) reportó que la administración de gabapentina i.p. tuvo un efecto inhibitorio dosis-dependiente, de la respuesta nociceptiva, en ambas fases del test de formalina orofacial (58). En contraposición

Grabow et al. (2002) reportó que la administración intratecal de gabapentina produce una disminución significativa, de la respuesta nociceptiva, sólo en la fase II de la prueba de la formalina orofacial (49).

Además el presente estudio provee evidencia, según la cual, la administración i.p. de nortriptilina (dosis 1,3,10, 30 mg/kg) inhibe la actividad de frotamiento de la zona perinasal, en forma dosis-dependiente, en ambas fases del test. Según los valores DE_{50} de la actividad antinociceptiva, la nortriptilina resultó ser 4.5 veces más potente en la fase II de la prueba, al igual que la gabapentina, lo que se traduce en una acción predominantemente a nivel central. Yokagawa et al. (2002) reportó que la nortriptilina produce un efecto antinociceptivo dosis-dependiente en el test de la formalina intraplantar en ratas, sin embargo, se realizó una medición continua del comportamiento del animal, sin dividirlo entre fases (56). Rojas et al. (2003) demostró que la nortriptilina produce una disminución de la respuesta nociceptiva, en forma dosis-dependiente, en el test de la formalina intraplantar en ratones, no obstante, sólo se midió un período de 2 minutos tras la inyección de la formalina, lo que permite realizar una comparación parcial con la fase I (57).

La nortriptilina no ha sido utilizada en el test de la formalina orofacial, pero su precursor amitriptilina fue utilizado en dicha prueba, en donde se constató que la administración i.p. de ésta produce una disminución dosis-dependiente, de la respuesta nociceptiva en ratas, para ambas fases (55). Contrariamente Bomholt et al. (2005) reportó una disminución de la actividad nociceptiva sólo de la fase II del test de la formalina intraplantar en ratas, tras la administración i.p. de amitriptilina (54).

Aparentemente no existe una buena correlación entre las respuestas nociceptivas conductuales entre la prueba de la formalina orofacial e intraplantar, lo que sugiere que los fármacos pueden tener diferentes efectos en la conducta animal en uno u otro modelo. De esto se desprende que el dolor trigeminal comparado con el de origen espinal puede ser modulado por mecanismos distintos, pues ambos sistemas difieren anatómicamente y funcionalmente. El asta dorsal de la médula presenta una organización laminar, mientras que, el complejo

trigeminal posee una organización vertical ascendente (58). En contraste con las proyecciones bidireccionales de las fibras espinales a nivel de la médula espinal, las fibras del complejo trigeminal forman principalmente un sistema ascendente que une el subnúcleo caudal con las porciones más cefálicas del núcleo espinal trigeminal (58).

Diferencias con estudios previos pueden además reflejar variabilidad debido a diferencias metodológicas, como cepa del animal, comportamiento registrado, concentración de formalina, sitio de inyección de ésta, forma de administración de fármacos, estrés y temperatura ambiental (55). El comportamiento registrado correspondió al frotamiento del área perinasal, debido a que ha mostrado ser un índice confiable para cuantificar la nocicepción, principalmente porque es evocado por la inyección de formalina y no por solución salina, y está relacionado en forma positiva a la concentración de formalina (55). Según estudios previos se indica que la concentración de formalina al 1% permite evaluar con mayor sensibilidad la analgesia producida por fármacos antiepilépticos, en comparación con la formalina al 5% que es adecuada para la evaluación de medicamentos antidepresivos, para identificar controles inhibitorios moduladores (51). En este estudio se utilizó una concentración de formalina al 2%, que según resultados previos ejerce un estado nociceptivo adecuado sin generar un proceso inflamatorio excesivo en el labio del ratón (63).

El mecanismo mediante el cual la gabapentina ejerce sus efectos analgésicos han sido ampliamente estudiados. Su actividad analgésica se debe a la unión con la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 de canales de Cav tipo N (35,39). Esto altera el influjo de calcio pre-sinápticamente, disminuyendo la liberación de glutamato y por ende la excitabilidad neuronal post-sináptica (21,39,40). El efecto antinociceptivo de este fármaco se basa en la atenuación de descargas ectópicas desde aferentes primarios dañados, en los cuales se encuentra aumentada la expresión de la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 de canales de Cav, lo que explicaría la acción de dicho fármaco en la fase II del test. De acuerdo a lo anterior, la disminución de la respuesta nociceptiva de la fase I está posiblemente mediada por otros mecanismos. Harshini et al. (2012) reporta una disminución de la respuesta nociceptiva,

mediada por gabapentina, en un modelo de dolor agudo (59). Es posible que la gabapentina actúe supraespinalmente modulando la activación de vías descendentes noradrenérgicas a nivel del locus coeruleus (60), lo que podría explicar en parte los resultados obtenidos en la fase I del test.

Por otra parte, la nortriptilina inhibe la recaptación de noradrenalina, y en forma más débil la de serotonina (28,29). Esto último produce un incremento en la concentración de monoaminas en el espacio sináptico, las cuales se unen a sus receptores, potenciando los mecanismos de supresión descendentes (30). Se ha reportado que los receptores β 2-adrenérgicos tienen un rol importantísimo para la acción analgésica de este fármaco, y se ha identificado que los receptores DOR-opioides participan de cierta forma en este mecanismo (30,31). Más aún, la interacción entre amitriptilina y morfina es de tipo sinérgica en el test de la formalina orofacial (55).

Este estudio provee el primer análisis isoblográfico de gabapentina y nortriptilina en el test de la formalina. El isoblograma indica que la interacción entre ambos, administrados i.p., es de tipo supraaditiva o sinérgica. Según los valores de DE_{50} , la combinación de los medicamentos fue 3.8 veces más potente en la fase II respecto de la fase I, lo que confirma la mayor potencia observada de cada fármaco por separado en dicha fase.

A la fecha se ha realizado sólo un estudio clínico evaluando la efectividad de ambos fármacos frente al tratamiento del dolor neuropático, incluyendo pacientes con polineuropatía diabética y neuralgia post-herpética (61). Dicho estudio, se basa en la suposición de una acción sinérgica, esto derivado de lo reportado por Heughan et al. (2002) en cuyo estudio pre-clínico, mediante el test de la formalina intraplantar en ratas, establece una relación de sinergismo entre gabapentina y amitriptilina (53). Sin embargo, el ensayo clínico mezcla dos entidades etiológica y patológicamente distintas. La polineuropatía diabética sigue un patrón de presentación asociado al dolor espinal, en tanto la neuralgia post-herpética se puede presentar en una localización asociada al territorio trigeminal, pero en tal estudio sólo se incluyen tres personas con neuralgia post-herpética de localización

orofacial. Más aún, los resultados de la terapia combinada de ambos fármacos, en relación a la neuralgia post-herpética resultó ser no significativa (61). La escasa representatividad del dolor neuropático orofacial en dicho estudio, sumado a las diferencias fisiológicas, patológicas y farmacológicas entre los dolores de origen espinal y trigeminal, implican que dicho estudio no permite evaluar de forma adecuada la eficacia antinociceptiva de ambos fármacos en el dolor neuropático del área trigeminal. A pesar de lo anterior, Gilron et al. (61) discute la insuficiente evidencia preclínica respecto al uso de estos fármacos, y en términos globales indica que posiblemente la interacción de ambos fármacos puede ser sinérgica, lo cual es consistente con los resultados encontrados en el presente estudio.

Los mecanismos responsables de este tipo de interacción, son escasamente conocidos, pero varias hipótesis se han desarrollado para explicar estos efectos. Estas incluyen mecanismos farmacocinéticos, mediante los cuales un medicamento incrementa los niveles del otro, disminuyendo la tasa de eliminación o alterando su metabolismo. No obstante, tal interacción es poco probable, pues los niveles plasmáticos de ambos fármacos, administrados conjuntamente comparado con los niveles plasmáticos de la monoterapia son similares (61). Por otra parte, la interacción puede explicarse por mecanismos farmacodinámicos, en la cual la activación paralela de diferentes sistemas puede modular una vía común, o bien un compuesto puede aumentar la afinidad y/o unión del otro. Esta parece ser la explicación más plausible acerca de su interacción, pues a raíz de los resultados actuales y los obtenidos en estudios anteriores con metodología similar, ambos fármacos actúan a nivel periférico y central, a pesar que, su acción pareciera estar relacionada a la activación de vías descendentes inhibitorias noradrenérgicas, las que provienen principalmente del locus coeruleus y núcleos adyacentes (60,62). Se requerirán futuros estudios para elucidar el mecanismo de dicha interacción.

En síntesis, el presente estudio muestra que la administración i.p. de gabapentina y nortriptilina tiene efectos antinociceptivos en el test de la formalina orofacial en ratones. Además, la combinación de ambos fármacos, produce antinocicepción de tipo sinérgica con mayor potencia en la fase II de este modelo de dolor animal.

CONCLUSIONES

- La coadministración de gabapentina y nortriptilina, vía intraperitoneal, produce una interacción de tipo sinérgico o supraditivo en el test de la formalina orofacial.
- La administración de gabapentina o nortriptilina y su combinación, vía intraperitoneal, produce efecto antinociceptivo dosis-dependiente, en el test de la formalina orofacial, tanto en la fase algésica aguda (fase I) como en la fase algésica-inflamatoria (fase II).
- La gabapentina posee mayor potencia analgésica en la fase algésica-inflamatoria (fase II).
- La nortriptilina posee mayor potencia analgésica en la fase fase algésica-inflamatoria (fase II).
- La nortriptilina posee mayor potencia analgésica que la gabapentina en ambas fases.
- La administración conjunta de gabapentina y nortriptilina tiene mayor potencia en la fase algésica-inflamatoria (fase II).
- La analgesia multimodal obtenida puede explicarse en forma hipotética por mecanismos farmacodinámicos, que activando paralelamente diferentes sistemas modulan una vía común, como el sistema noradrenérgico inhibitorio.
- Los hallazgos obtenidos no pueden ser extrapolados clínicamente, no obstante, respaldan futuras investigaciones clínicas que utilicen la combinación de ambos fármacos, para el mejor control del dolor neuropático y reducción de efectos adversos.

SUGERENCIAS

- Evaluar la interacción analgésica de nortriptilina y gabapentina con bloqueadores α -adrenérgicos, en el test de la formalina orofacial, para determinar la participación del sistema noadrenérgico descendente en la modulación analgésica de ambos fármacos.
- Estudiar la interacción antinociceptiva de la nortriptilina con agonistas y antagonistas β 2-adrenérgicos, en el test de la formalina orofacial, para dilucidar la participación de dicho receptor en la acción analgésica de este medicamento.
- Evaluar la interacción analgésica de la nortriptilina y analgésicos opioides, así como también con fármacos bloqueadores DOR-opioides, en la prueba de la formalina orofacial, para determinar la participación del sistema opioide en la mediación de la acción analgésica de la nortriptilina.
- Evaluar los mecanismos de analgesia local, de gabapentina y nortriptilina, a partir de la administración subcutánea y en forma conjunta con formalina, de ambos fármacos por separado y en conjunto.
- Evaluar la antinocicepción de la gabapentina y nortriptilina, y su combinación frente a otros ensayos algesiométricos asociados al dolor neuropático orofacial, tales como la constricción del nervio infraorbitario o alveolar inferior.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Barrot M. 2012. Tests and models of nociception and pain in rodents; Neuroscience; doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.12.041.
- 2.- Ronald Melzack. 2006. Gate control theory: on the evolution of pain concepts; Pain Forum; 5 (2), pp. 128-138.
- 3.-BasbaumAI, BautistaDM, ScherrerG, JuliusD.2009. Cellular and molecular mechanisms of pain; Cell;139(2), pp. 267-84.
- 4.- Voscopoulos C, Lema M.2010. When does acute pain become chronic?. British Journal of Anaesthesia; 105 (1), pp. 69-85.
- 5.-Baron R, Binder A, Wasner G. 2010. Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. The Lancet Neurology; 9(8), pp. 807-19.
- 6.- Stucky CL, Gold MS, Zhang X. 2001. Mechanisms of pain. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA; 98(21), pp.11845-6.
- 7.- Hargreaves KM. 2011. Orofacial Pain Review; Pain, 152(3), pp. 25-32.
- 8.-Takemura M, Sugiyo S, Moritani M, Kobayashi M, Yonehara N. 2006 . Mechanisms of orofacial pain control in the central nervous system. Archives of Histology and Cytology; 69(2), pp. 79-100.
- 9.- Dallel R, Villanueva L, Woda A, Voisin D. 2003. Neurobiology of trigeminal pain; Médecine/sciences; 19 (5), pp. 567-74.
- 10.-CostiganM, ScholzJ, WoolfCJ.2009.Neuropathicpain: a maladaptive response of the nervous system to damage. Annual Review of Neuroscience; 32, pp.1-32.

- 11.-IwataK, ImamuraY, HondaK, ShinodaM.2011.
Physiological mechanisms of neuropathic pain: the orofacial region. *International Review of Neurobiology*; 97, pp. 227-50.
- 12.- ACHED. Guías para la Definición y Manejo del Dolor neuropático localizado: Consenso Chileno. [En línea]. Santiago, Chile <http://www.ached.cl/guia_dolor/> [consulta: Mayo 2012].
- 13.-Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S. 2004. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review; *Brain Research*; 1000 (1-2), pp. 40-56.
- 14.-RenK, DubnerR.2011.The role of trigeminal interpolaris-caudalis transition zone in persistent orofacial pain; *International Review of Neurobiology*; 97, pp. 207-25.
- 15.-LatremoliereA, WoolfCJ.2009.Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity; *Journal of pain*; 10(9), pp. 895-926.
- 16.- Luccarini P, Childeric A, Gaydier AM, Voisin D, Dallel R. 2006 . The orofacial formalin test in the mouse: a behavioural model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception.*The Journal of Pain*;7(12), pp. 908-14.
- 17.- Raboisson P, Dallel R. 2004 .The orofacial formalin test. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*; 28 (2), pp. 219-26.
- 18.- Spencer CJ, Gremillion HA. 2007 . Neuropathic orofacial pain: proposed mechanisms, diagnosis, and treatment considerations. *Dental Clinics of North America*; 51(1), pp. 209-24.
- 19.-MooreRA, WiffenPJ, DerryS, McQuayHJ.2011.
Gabapentin for chronic neuropathic pain and fibromyalgia in adults; *Cochrane Database Systematic Reviews*; 16 (3):CD007938.

- 20.- Nash PG, Macefield VG, Klineberg IJ, Gustin SM, Murray GM, Henderson LA. 2010. Bilateral activation of trigeminothalamic tract by acute orofacial cutaneous and muscle pain in humans; *Pain*; 151(2), pp. 384-93.
- 21.- Singh D, Kennedy DH. 2003. The use of gabapentin for the treatment of postherpetic neuralgia; *Clinical Therapeutics*; 25(3), pp. 852-89.
- 22.- Saarto T, Wiffen PJ. 2007. Antidepressants for neuropathic pain; *Cochrane Database Systematic Reviews*.; (4):CD005454.
- 23.- Baad-Hansen L. 2008. Atypical odontalgia pathophysiology and clinical management; *Journal of Oral Rehabilitation*; 35(1), pp. 1-11.
- 24.- Attal N, Cruccu G, Baron R, Haanpaa M, Hansson P, Jensen TS, Nurmikko T. 2010. EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision. *European Journal of Neurology*; 17(9), pp. 1113–1188.
- 25.- Cruccu G, Gronseth G, Alksne J, Argoff C, Brainin M, Burchiel K, Nurmikko T, Zakrzewska JM; American Academy of Neurology Society; European Federation of Neurological Society. 2008. AAN-EFNS guidelines on trigeminal neuralgia management; *European Journal of Neurology*; 15(10), pp. 1013-28.
- 26.- O'Connor AB, Dworkin RH. 2009. Treatment of neuropathic pain: an overview of recent guidelines; *American Journal of Medicine*; 122(10), pp. 22-32.
- 27.- Maizels M, McCarberg B. 2005. Antidepressants and antiepileptic drugs for chronic non-cancer pain; *American Family Physician*; 71(3), pp. 483-90.
- 28.- FDA. Pamelor® (nortriptyline HCl). [En línea]. Missouri, U.S.A. <http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2007/018013s58lbl.pdf> [Consulta Mayo 2012].
- 29.- Sindrup SH, Otto M, Finnerup NB, Jensen TS. 2005. Antidepressants in the treatment of neuropathic pain. *Pharmacology & Toxicology*; 96(6), pp. 399-409.

- 30.- Yalcin I, Choucair-Jaafar N, Benbouzid M, Tessier LH, Muller A, Hein L, Freund-Mercier MJ, Barrot M. 2009. Beta(2)-adrenoceptors are critical for antidepressant treatment of neuropathic pain; *Annals of Neurology*; 65(2), pp. 218-25.
- 31.- Yalcin I, Tessier L, Petit-Demoulière N, Waltisperger E, Hein L, Freund-Mercier M, Barrot M. 2010. Chronic treatment with agonists of β 2-adrenergic receptors in neuropathic pain; *Experimental Neurology*; 221 (1), pp. 115-121.
- 32.- Benbouzid M, Gavériaux-Ruff C, Yalcin I, Waltisperger E, Tessier LH, Muller A, Kieffer BL, Freund-Mercier MJ, Barrot M. 2008. Delta-opioid receptors are critical for tricyclic antidepressant treatment of neuropathic allodynia; *Biological Psychiatry*; 63(6), pp. 633-6.
- 33.- Edelsberg JS, Lord C, Oster G. 2011. Systematic review and meta-analysis of efficacy, safety, and tolerability data from randomized controlled trials of drugs used to treat postherpetic neuralgia; *The Annals of Pharmacotherapy*; 45 (12), pp. 1483-90.
- 34.- Reisner L, Pettengill CA. 2001. The use of anticonvulsants in orofacial pain. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics*; 91 (1), pp. 2–7.
- 35.- Cheng JK, Chiou LC. 2006. Mechanisms of the antinociceptive action of gabapentin; *Journal of Pharmacological Sciences*; 100(5), pp. 471-86.
- 36.- FDA. Neurontin® (gabapentin). [En línea]. New York, U.S.A. <http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/020235s050,020882s035,021129s033lbl.pdf> [Consulta: Mayo 2012].
- 37.- Uchitel OD, Di Guilmi M, Urbano FJ, Gonzalez Inchauspe C. 2010. Acute modulation of calcium currents and synaptic transmission by gabapentinoids. *Channels*; 4 (6), pp. 490–496.

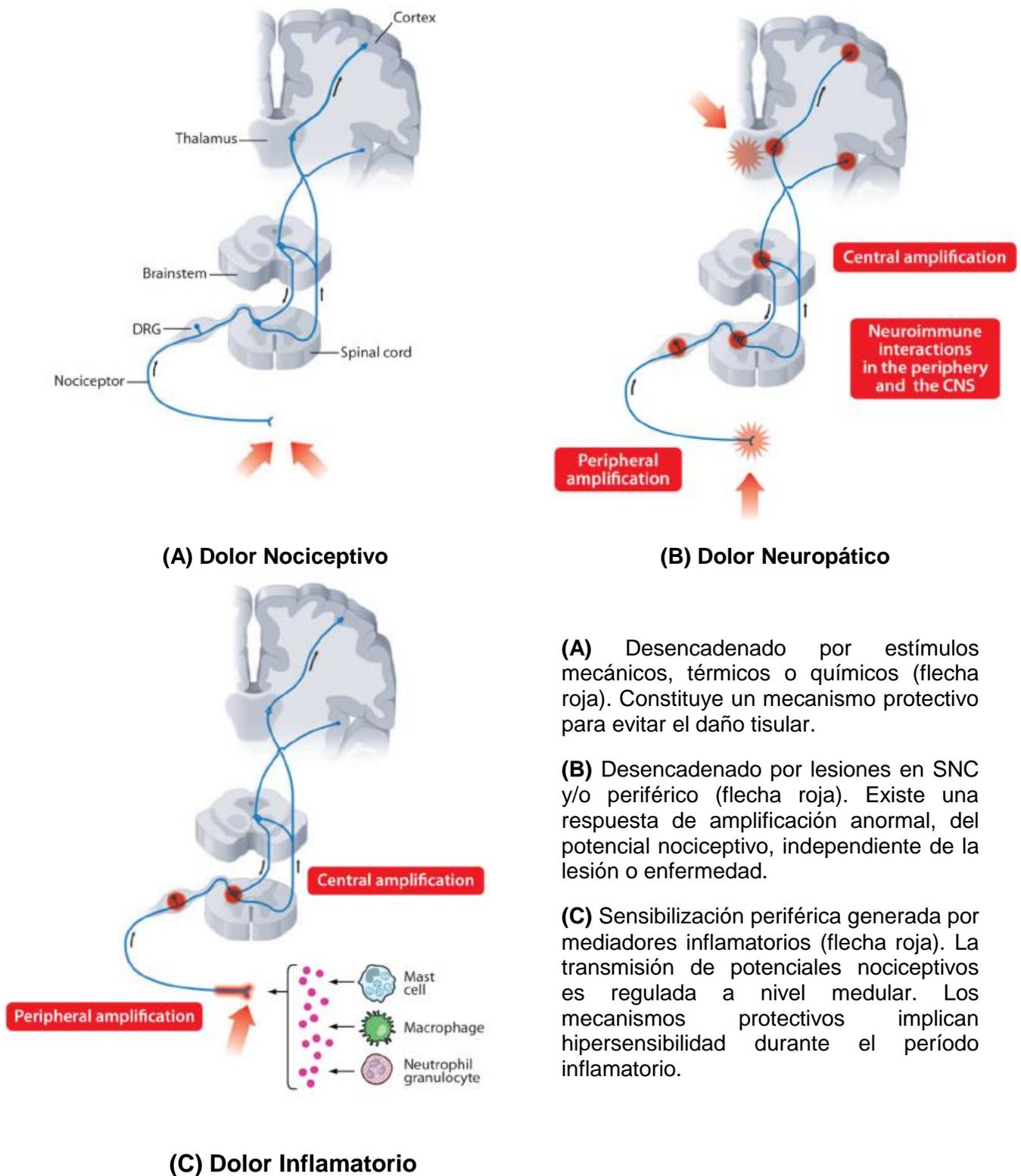
- 38.-Maneuf YP, Luo ZD, Lee K.2006. Alpha2delta and the mechanism of action of gabapentin in the treatment of pain; *Seminars in Cell and Developmental Biology*;17 (5), pp. 565-70.
- 39.- Taylor CP.2009. Mechanisms of analgesia by gabapentin and pregabalin-calcium channel alpha2-delta [Cavalpha2-delta] ligands; *Pain*; 142 (1-2), pp. 13-6.
- 40.-Tzellos TG, Papazisis G, Toulis KA, Sardeli Ch, Kouvelas D. 2010. A2delta ligands gabapentin and pregabalin: future implications in daily clinical practice; *Hippokratia.*; 14(2), pp. 71-5.
41. Martin WJ, Forouzanfar T. 2011.The efficacy of anticonvulsants on orofacial pain: a systematic review. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics*; 111(5), pp. 627-33.
- 42.-Bornhof M, Ihmsen H, Schwilden H, Yeomans DC, Tzabazis A. 2011. The orofacial formalin test in mice revisited-effects of formalin concentration, age, morphine and analysis method; *Journal of Pain*;12 (6), pp. 633-9.
- 43.- McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista DM, Siemens J, Deranian KL, Zhao M, Hayward NJ, Chong JA, Julius D, Moran MM, Fanger CM. 2007. TRPA1 mediates formalin-induced pain; *Proceedings of the National Academy of Sciences*;104 (33), pp. 13525-30.
- 44.-ChichorroJG, LorenzettiBB, ZampronioAR.2004. Involvement of bradykinin, cytokines, sympathetic amines and prostaglandins in formalin-induced orofacial nociception in rats; *British Journal of Pharmacology*; 141(7), pp. 1175-84.
- 45.- Bauer CS, Tran-Van-Minh A, Kadurin I, Dolphin AC. 2010. A new look at calcium channel $\alpha_2\delta$ subunits; *Current Opinion in Neurobiology*; 20(5), pp. 563-71.
- 46.- Nash PG, Macefield VG, Klineberg IJ, Murray GM, Henderson LA. 2009. Differential activation of the human trigeminal nuclear complex by noxious and non-noxious orofacial stimulation; *Human Brain Mapping*; 30(11), pp. 3772-82.

- 47.- Directive 86/609/EEC, European Economic Community, November 24, 1986
- 48.- Tallarida RJ. 2006. An overview of drug combination analysis with isobolograms; *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*; 319(1), pp. 1-7.
- 49.- Grabow TS, Dougherty PM. 2002. Gabapentin produces dose-dependent antinociception in the orofacial formalin test in the rat; *Regional Anesthesia and Pain Medicine*; 27(3), pp. 277-83.
- 50.- Shannon HE, Eberle EL, Peters SC. 2005. Comparison of the effects of anticonvulsant drugs with diverse mechanisms of action in the formalin test in rats; *Neuropharmacology*; 48(7), pp. 1012-20.
- 51.-MunroG.2009.Pharmacological assessment of the rat formalin test utilizing the clinically used analgesic drugs gabapentin, lamotrigine, morphine, duloxetine, tramadol and ibuprofen: influence of low and high formalin concentrations; *European Journal of Pharmacology*; 605 (1-3), pp.95-102.
- 52.-PaudelKR, BhattacharyaS, RauniarG, DasB.2011. Comparison of antinociceptive effect of the antiepileptic drug gabapentin to that of various dosage combinations of gabapentin with lamotrigine and topiramate in mice and rats; *Journal of Neurosciences in Rural Practice*; 2(2), pp.130-6.
- 53.-HeughanCE, SawynokJ.2002. The interaction between gabapentin and amitriptyline in the rat formalin test after systemic administration; *Anesthesia & Analgesia*; 94(4), pp. 975-80
- 54.-BomholtSF, MikkelsenJD, Blackburn-MunroG.2005. Antinociceptive effects of antidepressants amitriptyline, duloxetine, mirtazapine and citalopram in animal model of acute, persistent and neuropathic pain; *Neuropharmacology*; 48(2), pp. 252-63.
- 55.-Luccarini P, Perrier L, Dégoulange C, Gaydier AM, Dallel R. 2004. Synergistic antinociceptive effect of amitriptyline and morphine in the rat orofacial formalin test; *Anesthesiology*; 100(3), pp. 690-6.

- 56.-Yokogawa F, Kiuchi Y, Ishikawa Y, Otsuka N, Masuda Y, Oguchi K, Hosoyamada A. 2002. An investigation of monoamine receptors involved in antinociceptive effects of antidepressants; *Anesthesia & Analgesia*; 95(1), pp. 163-8.
- 57.- Rojas-Corrales MO, Casas J, Moreno-Brea MR, Gibert-Rahola J, Micó JA. 2003. Antinociceptive effects of tricyclic antidepressants and their noradrenergic metabolites; *European Neuropsychopharmacology*; 13 (5), pp. 355-63.
- 58.- Quiñónez B, Silva E, González LE, Hernández L. 2009. Interaction between gabapentin and D-serin in the formalin orofacial test; *Investigación Clínica*; 50(4), pp. 479-89.
- 59.- Neelakantan, H., Walker, E.A. 2012. Temperature-dependent enhancement of the antinociceptive effects of opioids in combination with gabapentin in mice. *European Journal of Pharmacology*; doi:10.1016/j.ejphar.2012.04.042.
- 60.-Hayashida K, Obata H, Nakajima K, Eisenach JC. 2008. Gabapentin acts within the locus coeruleus to alleviate neuropathic pain; *Anesthesiology*; 109(6), pp. 1077-84.
- 61.- Gilron I, Bailey JM, Tu D, Holden RR, Jackson AC, Houlden RL. 2009. Nortriptyline and gabapentin, alone and in combination for neuropathic pain: a double-blind, randomised controlled crossover trial; *The Lancet*; 374 (9697), pp. 1252-61.
- 62.- Alba-Delgado C, Mico JA, Sánchez-Blázquez P, Berrocoso E. 2012. Analgesic antidepressants promote the responsiveness of locus coeruleus neurons to noxious stimulation: Implications for neuropathic pain. *Pain*; <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2012.03.034>
- 63.- Miranda HF, Sierralta F, Prieto JC. 2009. Synergism between NSAIDs in the orofacial formalin test in mice; *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 92(2), pp. 314-8.

Anexo N°1.

Figura N°1. Tipos de dolor según etiología. Adaptado de Costigan et al. (10).



(A) Desencadenado por estímulos mecánicos, térmicos o químicos (flecha roja). Constituye un mecanismo protectoro para evitar el daño tisular.

(B) Desencadenado por lesiones en SNC y/o periférico (flecha roja). Existe una respuesta de amplificación anormal, del potencial nociceptivo, independiente de la lesión o enfermedad.

(C) Sensibilización periférica generada por mediadores inflamatorios (flecha roja). La transmisión de potenciales nociceptivos es regulada a nivel medular. Los mecanismos protectivos implican hipersensibilidad durante el período inflamatorio.

Figura N°2. Mediadores de inflamación periféricos, el daño tisular genera liberación de mediadores que se unen a receptores de superficie localizados en terminal periférico del nociceptor. Los receptores incluyen receptores acoplados a proteína G (GPCR), canales TRP, canales iónicos sensibles a ácidos (ASIC), entre otros. Adaptado de Basbaum et al. (2).

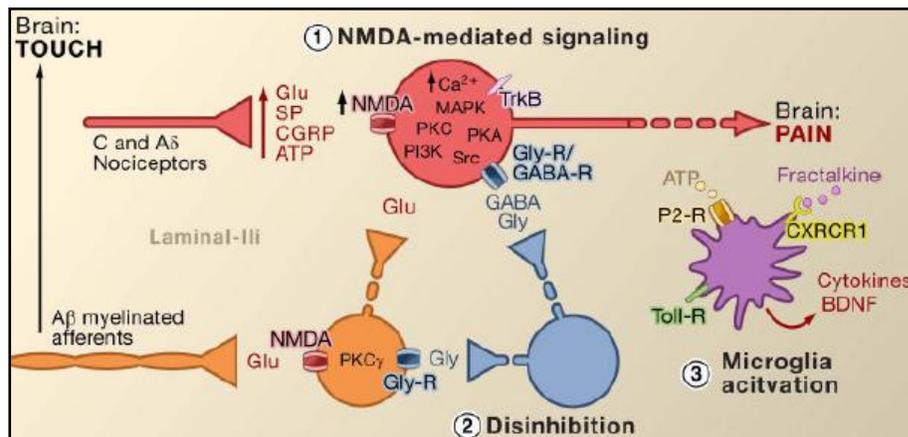
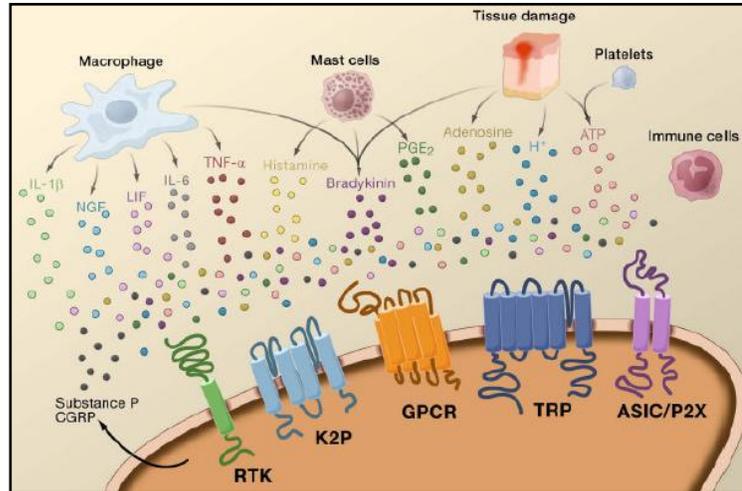
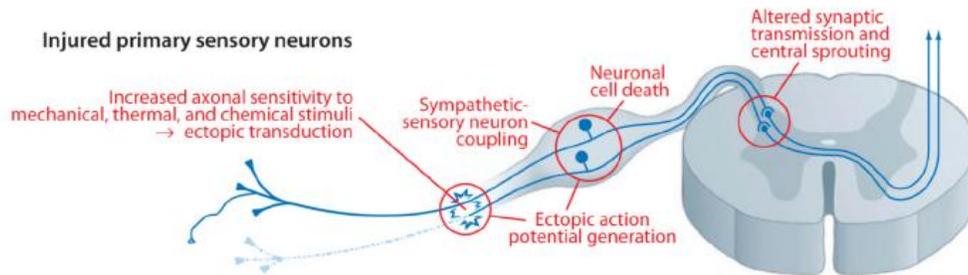
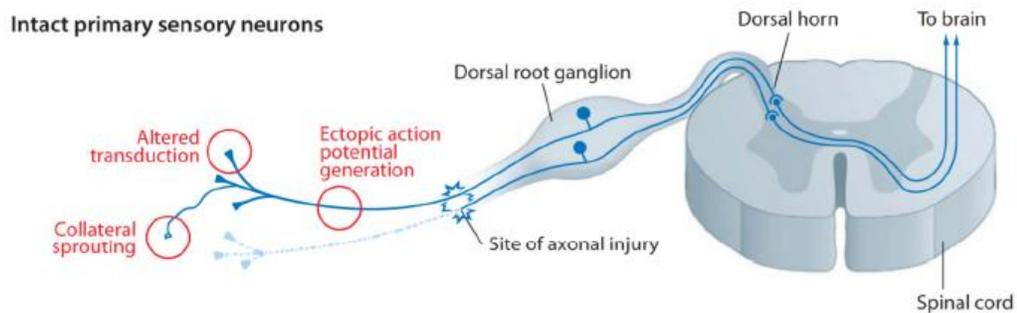


Figura N°3. Sensibilización central. (1) Tras injuria persistente las fibras Aδ y C liberan neurotransmisores (SP, CGRP, glutamato, ATP), cuya acción da lugar al aumento del calcio intracelular lo que activa una serie de vías de señalización (MAPK, PKC, PKA, Src) que incrementan la excitabilidad de las neuronas de proyección. (2) Bajo condiciones de normalidad las interneuronas (azules) liberan glicina y GABA para disminuir la excitabilidad de las neuronas de proyección. La pérdida de la inhibición determina que los estímulos conducidos por fibras Aβ sean percibidos como dolorosos. (3) Injuria en nervios periféricos genera liberación de ATP y quimioquinas que estimulan microglías, las que liberan factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y otras citoquinas que actúan en neuronas de proyección aumentando su excitabilidad. Adaptado de Basbaum et al. (2).

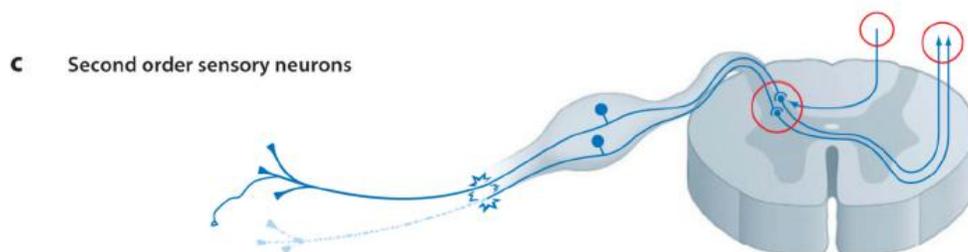
Figura N°4. Mecanismos del dolor neuropático periférico. Adaptado de Costigan et al. (10).



(A) La amplificación periférica y central, de potenciales nociceptivos, son mediados por cambios en síntesis de neurotransmisores, incremento en excitabilidad de membrana y crecimiento axonal. Cambios desencadenados por pérdida de factores neurotróficos periféricos, actividad espontánea y mediada por receptores, señales desde células inmunes y células de Schwann denervadas.



(B) Amplificación periférica y actividad espontánea mediada por alteración en la expresión y transporte de receptores y canales iónicos, cambios en umbrales de canales iónicos y crecimiento axonal colateral. Cambios desencadenados por factores neurotróficos y células de Schwann denervadas.



(C) Amplificación central mediada por facilitación homo y heterosináptica, pérdida de controles inhibitorios, alteración en conexiones sinápticas y cambios en circuitos nociceptivos centrales. Cambios desencadenados por aferentes primarios dañados, vías descendentes y cambios periféricos inducidos por células inmunes y gliales.

Figura N°5. Representación esquemática de la vía trigeminotalámica. Además de las proyecciones trigeminotalámicas contralaterales (línea roja), se hipotetiza que la activación bilateral de la corteza SI se debe a la activación del subnúcleo oral (SpVo) que recibe aferencias indirectas (línea verde) desde el subnúcleo caudal (SpVc). Adaptado de Nash et al. (20).

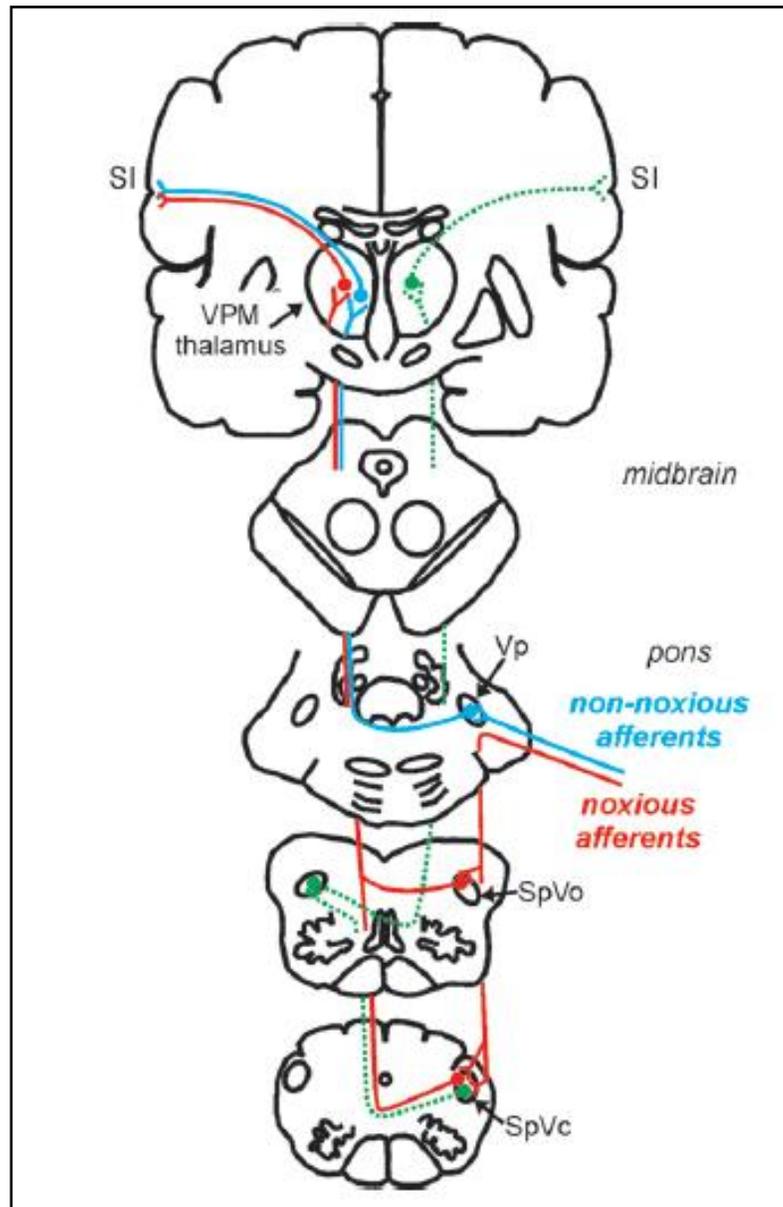
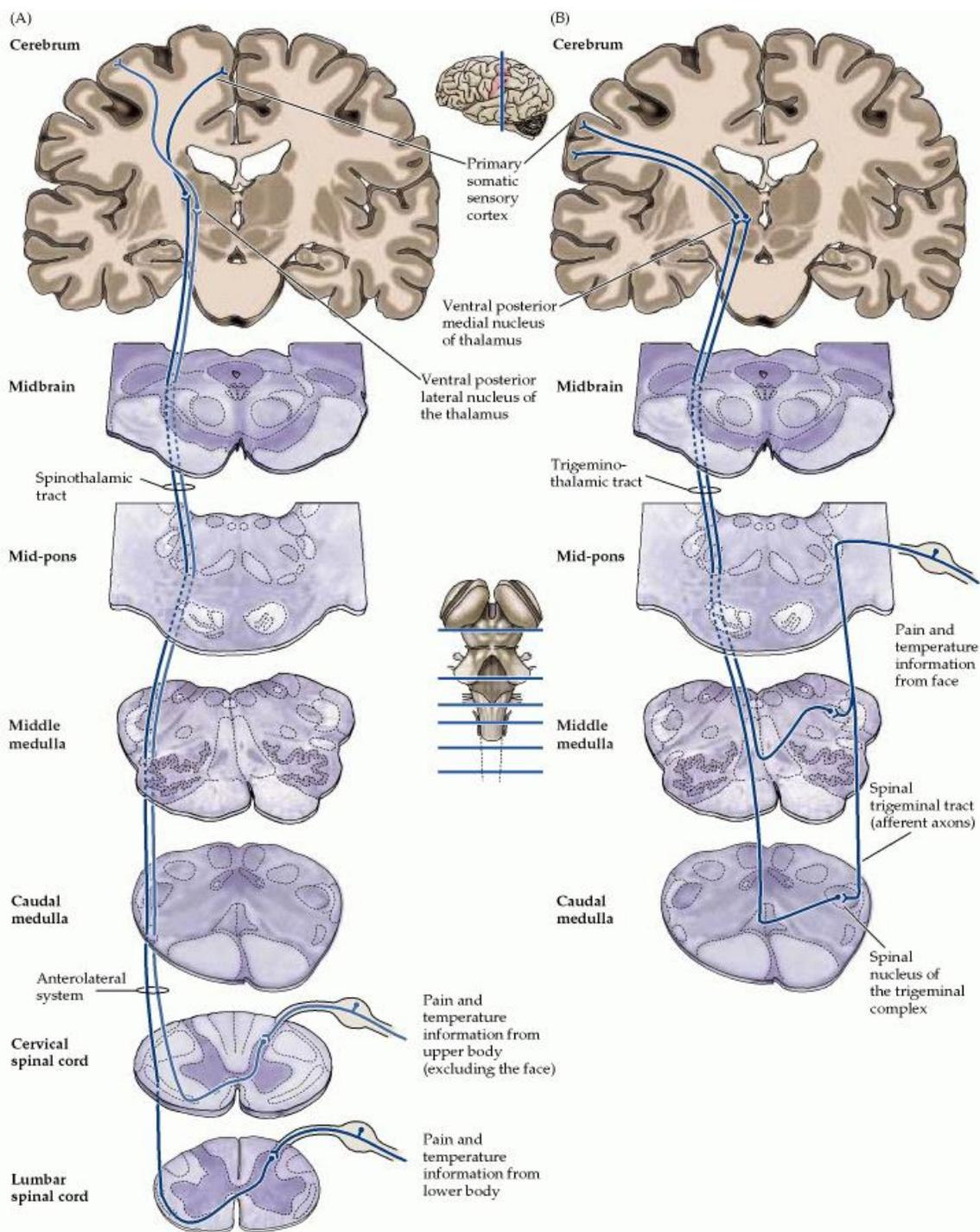


Figura N°6. Comparación vías espinotalámica y trigeminotalámica.



Adaptado de Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, et al., editors. Neuroscience. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001. Central Pain Pathways: The Spinothalamic Tract.

Figura N° 7. Diagrama de la estructura heterodimérica de canales de Cav con organización de dominios de transmembrana. Adaptado de Bauer et al. (45).

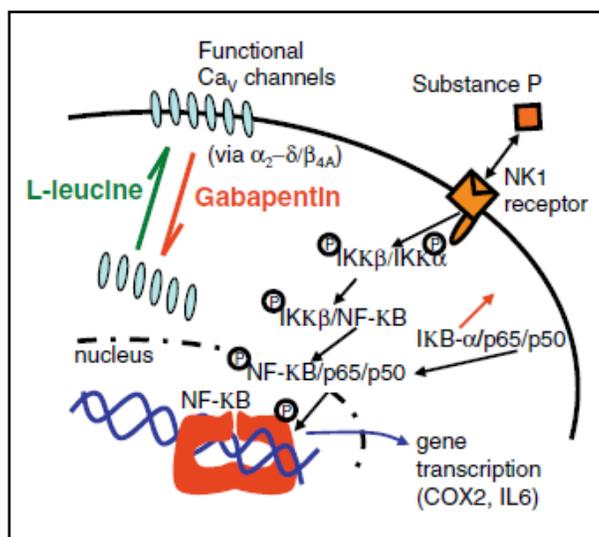
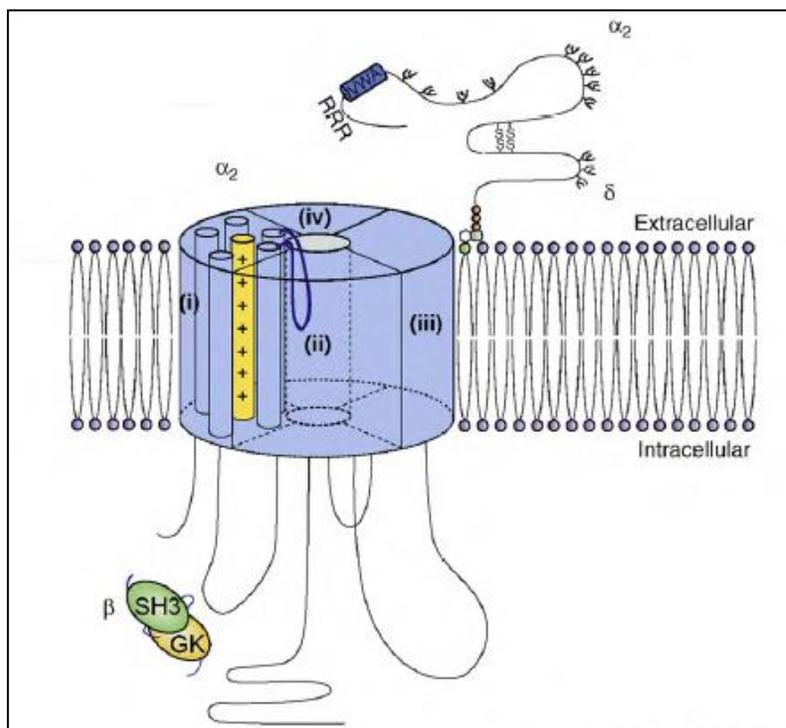


Figura N°8. La unión de L-leucina con subunidad $\alpha_2\delta$ determina el transporte de los complejos proteicos constituyentes de canales de Cav hacia la superficie celular, mientras que la unión con gabapentina determina su movilización hacia el citosol. Además la gabapentina inhibe la activación del factor de transcripción NF- κ B, lo que implica una disminución en la transcripción genética de COX-2 e IL-6. Adaptado de Taylor et al. (39).