



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

1

**“INTERACCIÓN EXPERIMENTAL DE NORTRIPTILINA Y ÁCIDO VALPROICO
EN DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL”**

Paulina Andrea Vicentelo Cáceres

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

**TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Hugo F. Miranda G.**

TUTOR ASOCIADO

Prof. Dr. Fernando Sierralta G.

Santiago – Chile

2013



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

**“INTERACCIÓN EXPERIMENTAL DE NORTRIPTILINA Y ÁCIDO VALPROICO
EN DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL”**

Paulina Andrea Vicentelo Cáceres

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

**TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Hugo F. Miranda G.**

TUTOR ASOCIADO

Prof. Dr. Fernando Sierralta G.

Santiago – Chile

2013

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por apoyarme incondicionalmente en cada decisión que he tomado en mi vida, por inculcarme valores, por nunca dejar de estar presentes en cada momento que los he necesitado, por confiar en mí, por las inmensas alegrías que me recuerdan el por qué estoy haciendo las cosas. A mi pololo por ser mi gran compañero en esta etapa de universidad lejos de mi casa, por todo lo que me ha enseñado y lo que hemos aprendido juntos, por su cariño y paciencia.

Agradezco a la facultad y sus profesores por enseñarme lo necesario para ser una profesional y darme más herramientas para continuar creciendo.

Al Dr. Hugo Miranda por su amable acogida, sus enseñanzas, su paciencia y su incondicionalidad al momento de ayudar y orientarme.

A Don José López y Don Alejandro Correa, por su colaboración, enseñanzas, simpatía y ánimo entregado durante el desarrollo del experimento.

Y gracias a todos los que fueron parte de mi vida en estos años; mis amigos, compañeros, funcionarios de la facultad y pacientes. Sin ustedes no habría sido tan ameno y gratificante mi paso por aquí.

ÍNDICE

I.	RESUMEN.....	1
II.	INTRODUCCIÓN.....	2
III.	MARCO TEÓRICO.....	5
	1. Concepto de dolor.....	5
	2. Clasificación del dolor.....	6
	2.1 Según duración.....	6
	2.2 Según característica somatosensorial.....	7
	2.3 Según etiología.....	7
	3. Vías de conducción del estímulo doloroso.....	7
	3.1 Estructuras periféricas.....	8
	3.2 Proyecciones centrales de nociceptores.....	10
	3.3 Transmisión por vías ascendentes.....	12
	3.4 Proyecciones supraespinales.....	12
	3.5 Modulación de la nocicepción.....	14
	3.6 Mecanismos de sensibilización.....	15
	4. Mecanismos del dolor orofacial.....	16
	4.1 Dolor orofacial neuropático.....	18
	4.2 Fisiopatología del dolor neuropático.....	19
	4.3 Neuropatías periféricas a nivel orofacial.....	19
	5. Control farmacológico del dolor.....	22
	5.1 Terapia de combinación.....	22
	5.2 Coanalgésicos.....	23
	6. Manejo farmacológico del dolor neuropático.....	23
	6.1 Antidepresivos tricíclicos (ATC)	25
	6.1.1 Nortriptilina.....	26
	6.1.1.1 Interacciones.....	26
	6.1.1.2 Efectos adversos.....	27
	6.2 Anticonvulsivantes.....	27
	6.2.1 Ácido Valproico.....	28
	6.2.1.1 Interacciones.....	29
	6.2.1.2 Efectos adversos.....	29

	6
7. Medición experimental del dolor.....	29
7.1 Modelos animales de dolor.....	29
7.2 Test de la formalina orofacial.....	30
IV. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	32
1. Hipótesis.....	32
2. Objetivos.....	32
2.1 Objetivo general.....	32
2.2 Objetivos específicos.....	32
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
1. Tipo de investigación.....	33
2. Animales.....	33
3. Administración de fármacos.....	34
4. Test de la formalina orofacial.....	36
5. Evaluación de la actividad antinociceptiva.....	37
6. Estudio de la interacción antinociceptiva de los fármacos.....	38
7. Análisis de los datos.....	40
VI. RESULTADOS.....	41
1. Evaluación de la analgesia.....	41
1.1 Grupo control.....	41
1.2 Efecto antinociceptivo de la nortriptilina.....	41
1.2.1 Curvas dosis-respuesta y cálculo de DE50 para nortriptilina.....	42
1.3 Efecto antinociceptivo del ácido valproico.....	44
1.3.1 Curvas dosis-respuesta y cálculo de DE50 para ácido valproico.....	45
2. Interacción entre nortriptilina y ácido valproico.....	46
2.1 Obtención de la mezcla nortriptilina/ácido valproico.....	46
2.2 Grupo tratado con la mezcla de nortriptilina y ácido valproico en fase I.....	47
2.2.1 Curva dosis-respuesta de la mezcla en fase I.....	48
2.3 Grupo tratado con la mezcla de nortriptilina y ácido valproico en fase II.....	49
2.3.1 Curva dosis-respuesta de la mezcla en fase II.....	49
2.4 Cálculo de DE50 de la mezcla.....	50

	7
3. Análisis isobolográfico.....	51
VII. DISCUSIÓN.....	53
VIII. CONCLUSIONES.....	57
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
X. ANEXOS.....	63
1. Anexo N°1: Certificado de aprobación del comité de bioética sobre investigación en animales.....	64
2. Anexo N°2: Certificado del comité de bioseguridad.....	65

I. RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El dolor es una experiencia desagradable asociada a un daño real o potencial que en su forma aguda funciona como un sistema de defensa del organismo, pero al volverse crónico se transforma en un estado patológico que debe ser tratado. El dolor neuropático constituye un tipo de dolor crónico con características propias que inclusive puede llegar a ser inhabilitante para quién lo padece. A nivel orofacial puede expresarse más comúnmente en cuadros de neuralgia trigeminal o neuralgia post-herpética. El manejo de este tipo de dolor en la actualidad no tiene resultados óptimos y se ha comprobado que la terapia de combinación de fármacos tiene mejores resultados que la monoterapia. Al ser los antidepresivos tricíclicos y anticonvulsivantes considerados como el tratamiento de primera línea ante este tipo de dolor, se han incluido en este estudio la nortriptilina y el ácido valproico para evaluar su interacción mediante el Test de la Formalina Orofacial, con el fin de generar bases científicas para futuros ensayos clínicos de analgesia multimodal ante el dolor neuropático a nivel trigeminal.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se administraron vía intraperitoneal distintas dosis de nortriptilina, ácido valproico y la combinación de ambas a ratones. Se les realizó posteriormente el test de la formalina orofacial al 2% para medir los efectos antinociceptivos de cada fármaco y de la combinación de ambos y compararlo con un grupo control. Finalmente se realizó un estudio isoblográfico para definir la naturaleza de la interacción entre ambos medicamentos.

RESULTADOS: La administración de nortriptilina, ácido valproico y la combinación de ambos, producen antinocicepción dosis-dependiente tanto en la fase algésica aguda (fase I) como en la inflamatoria (fase II) del test, siendo mayor para la fase II tanto en el grupo tratado con nortriptilina como en el de ambos fármacos combinados. La interacción producida entre nortriptilina y ácido valproico resultó ser de antinocicepción sinérgica.

CONCLUSIONES: La nortriptilina y el ácido valproico producen un efecto de antinocicepción sinérgica administrados intraperitonealmente en ratones y sugiere que esta terapia combinada mejoraría la antinocicepción en casos de dolor neuropático a nivel trigeminal. Se necesitan estudios clínicos de esta combinación para poder extrapolar los resultados a humanos.

II. INTRODUCCIÓN

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) define el dolor como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño tisular actual o potencial, o descrita en términos de tal daño”(1). Esta definición deja en evidencia la importancia del dolor para la sobrevivencia y protección del individuo, ya que actúa como un sistema de defensa natural innato que permite desencadenar respuestas adaptativas ante injurias ocurridas en el medio interno y/o externo y de esta forma prevenir o limitar tal daño. El dolor será distinto para cada individuo y estará determinado no solo por la magnitud de la injuria ocurrida sino también por experiencias personales (1, 2).

Los mecanismos implicados en la transmisión dolorosa desde el estímulo periférico hasta el procesamiento en centros superiores están a cargo de células nerviosas y neurotransmisores que mediante la generación de potenciales de acción permiten la conducción, modulación y finalmente la integración de la señal nociceptiva (3). Muchas veces este control defensivo deja de ser benéfico y se extiende por un periodo que sobrepasa la normalidad, estableciéndose un estado de dolor crónico (4) que determina una disminución de la calidad de vida del afectado (5). El dolor neuropático constituye un tipo de dolor crónico que es iniciado o causado por lesiones primarias o disfunciones en el sistema nervioso central y/o periférico (6, 7). Se caracteriza por ser espontáneo y presentarse de forma intermitente con periodos indolores y ha sido descrito como lacerante, quemante, fulgurante (7).

El dolor orofacial corresponde a los síndromes dolorosos que ocurren en la cavidad oral y sus anexos en la región facial, que corresponde a uno de los territorios más densamente inervados del cuerpo, y que debido a su alta prevalencia (8) y su gran intensidad, constituyen un problema relevante de salud pública, pues se asocian con disminución importante en la calidad de vida de quienes lo padecen (9,10). Los mecanismos asociados a estos dolores tienen características propias que lo diferencian del sistema nociceptivo espinal (8). El principal nervio en esta zona es el nervio trigémino, que tiene características motoras y sensitivas, estas últimas encargadas de desencadenar los impulsos nociceptivos en la región que comprende su inervación (11). El dolor neuropático

trigeminal puede ser definido como un dolor constante unilateral de intensidad variable y constante (12). En el territorio de inervación del nervio trigémino ocurren dolores neuropáticos únicos asociados a trastornos como: neuralgia trigeminal, neuralgia post-herpética, odontalgia atípica y cefaleas trigeminales, las cuales son consideradas como bastante inhabilitantes (8).

El manejo del dolor surge como un tema de gran importancia en la medicina, especialmente en odontología ya que el dolor orofacial constituye un tópico de trato diario en la práctica clínica. Uno de los métodos más utilizados en el manejo del dolor es la terapia farmacológica. Se dispone de una amplia gama de medicamentos entre los cuales los más importantes los constituye el grupo de analgésicos anti-inflamatorios no-esteroidales (AINEs), que a menudo no son suficientes para dolores severos ni tampoco son de mucha utilidad ante el dolor neuropático (13, 14). Para dolores más severos se cuenta con los analgésicos opioides, que no siempre logran un efecto analgésico óptimo y por sus efectos adversos se prefiere no utilizarlos como primera alternativa (15, 16).

En el caso del manejo del dolor neuropático, se ha comprobado que responde mejor a fármacos antiepilépticos y a fármacos antidepresivos, especialmente el grupo de antidepresivos tricíclicos, los cuales corresponden a la base de los coanalgésicos y son considerados como terapia de primera línea (13,17) a pesar de que la evidencia actual no afirma que exista un manejo óptimo del dolor y que muchos de los pacientes dejan estas terapias por los efectos adversos provocados por estos grupos de fármacos (18, 19). Por este mismo motivo es que las investigaciones han buscado nuevas técnicas y fármacos para lograr el manejo del dolor y mejorar la calidad de vida de los pacientes con dolores crónicos. De esta forma surge la “analgesia multimodal” o “terapia de combinación”, que mezcla dos o más fármacos con la intención ideal de lograr una relación sinérgica para alcanzar el mismo efecto con menores dosis, y por consiguiente, menores efectos adversos (20, 21). Múltiples estudios han demostrado que esta terapia muestra mejores resultados ante el dolor neuropático que el tratamiento con los mismos fármacos de forma aislada (16).

Existe evidencia que sugiere que la combinación de antiepilépticos, como el ácido valproico, con otros fármacos, por ejemplo, antidepresivos como amitriptilina

tiene beneficios claros comparados con la monoterapia ya sea con antiepilépticos o antidepresivos (22).

La nortriptilina es un fármaco antidepresivo tricíclico metabolito de la amitriptilina, ambos medicamentos tienen la mejor eficacia documentada ante el dolor neuropático. (21,22) Por otra parte en el grupo de anticonvulsivantes, el ácido valproico es un fármaco que no se encuentra entre los escogidos como terapia de primera línea, principalmente por la poca cantidad de estudios que lo validen (23) y probablemente por sus efectos adversos (24). Es lógico entonces pensar que la combinación de nortriptilina con ácido valproico pudiese tener beneficios en el caso de obtener una relación sinérgica, lo cual disminuiría los efectos adversos de cada uno (20,21) al lograr el mismo efecto analgésico con menores dosis de cada fármaco. En este estudio se evaluará la interacción de nortriptilina con ácido valproico, utilizando el análisis isobolográfico, en un modelo de dolor orofacial inducido, como lo es el test de la formalina orofacial modificado por Luccarini (25).

III. MARCO TEORICO

1. Concepto de dolor

El dolor es un proceso neurofisiológico complejo, cuya definición ampliamente aceptada es “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño” (1). A partir de esta definición se entiende que es una experiencia multidimensional que abarca: un componente sensorial, relacionado directamente con la estimulación nociceptiva desde la región donde se ha producido la injuria o alteración; un componente cognitivo, el cual tiene relación con el entorno del sujeto y su aprendizaje cultural; y un componente emocional/motivacional, predominantemente afectivo y caracterizado por la asociación emocional ante el estímulo (1). Durante el 13º Congreso Mundial en Dolor se declaró que el acceso al manejo del dolor es un derecho humano fundamental (5).

Habitualmente existe un estímulo nocivo que produce daño, pudiendo también haber sujetos que refieran dolor en ausencia de daño tisular o causa fisiopatológica conocida, para ambos casos se debe considerar como dolor pues no existe una forma de distinguirla de un daño efectivo. Debido a la multidimensionalidad se entiende que no siempre existirá una correspondencia entre el dolor y la magnitud del daño tisular (26).

Para comprender mejor el dolor, se puede dividir en tres tipos distintos. En primer lugar está el dolor como un sistema de alerta de protección fisiológica, esencial para detectar y minimizar el contacto con estímulos perjudiciales o nocivos. Debido a que se refiere a la detección de estímulos nocivos, es llamado *dolor nociceptivo*, este tiene un alto umbral que solamente se activa en presencia de estímulos intensos. El aparato neurobiológico que genera este dolor ha evolucionado desde los sistemas nerviosos más primitivos para señalar el daño tisular actual o inminente de parte de un estímulo proveniente del ambiente. Su rol protector demanda atención inmediata y activa una acción refleja. El segundo tipo de dolor es también adaptativo y protector, aumenta la sensibilidad luego de un daño tisular y asiste en la mejora del tejido dañado creando una situación que disminuye el contacto físico y el movimiento en relación a esta área. Esta hipersensibilidad dolorosa reduce el riesgo de daño y promueve la recuperación ya que estímulos normalmente inocuos ahora provocan dolor. Es causado por la

activación de células del sistema inmune ante daño tisular o infección y se llama *dolor inflamatorio*. Finalmente, está el dolor que no es protector, sino desadaptativo, resultante de un funcionamiento anormal del sistema nervioso. Se llama *dolor patológico*, que no es un síntoma de un trastorno sino más bien un estado de enfermedad del sistema nervioso, puede ocurrir tras un daño al sistema nervioso (dolor neuropático) o bien, en condiciones en las cuales no existe daño o inflamación (dolor disfuncional). Algunas condiciones que provocan dolor disfuncional incluyen: fibromialgia, síndrome de colon irritable, cistitis, entre otros síndromes en los cuales existe dolor, pero no un estímulo nocivo y ninguna, o mínima, patología inflamatoria periférica (27).

2. Clasificación del dolor

El dolor puede ser clasificado de acuerdo a varios criterios, los principales son:

2.1 Según duración: El dolor es tradicionalmente dicotomizado en “agudo” y “crónico”. (2)

- a) **Dolor agudo:** Es aquel dolor causado por estímulos nocivos o bien, una función anormal de músculos o vísceras que no necesariamente producen un daño tisular efectivo, pero que podrían provocarlo en el futuro y dura el tiempo en que los tejidos dañados sanen, esto es hasta tres meses. (4, 26)

- b) **Dolor crónico:** También llamado dolor persistente, es definido como un dolor que permanece por al menos tres meses, o que por las características de su origen sobrepasa el tiempo que habitualmente podría definir un dolor agudo semejante (2, 4). El dolor crónico tiene efectos fisiológicos, psicológicos y conductuales sobre el paciente (2, 26). Este dolor, al permanecer en mayores periodos de tiempo, puede hacerlo de forma (4):
 - Continua: el dolor permanecerá estable en su intensidad mientras dura.
 - Recurrente: el dolor tendrá periodos de alivio total o parcial, así como periodos de intensidad mayor a la basal. Además se caracteriza por

su periodicidad, es decir, que el dolor recae luego de un tiempo variable de alivio.

2.2 Según característica somatosensorial (4):

- a) **Epicrítico:** es superficial, de localización precisa y bien delimitada por el paciente, también puede ser descrito como punzante, lacerante, lancinante, quemante, opresivo, fulgurante.
- b) **Protopático:** es difuso y mal localizado, se describe como dolor sordo, generalmente descrito en lugar distante al lugar donde se genera.

2.3 Según etiología:

- a) **Dolor Nociceptivo:** Dolor causado por daño potencial o real a estructuras no neurales debido a la activación de nociceptores (28, 29). Puede ser somático o visceral. El dolor somático se origina a nivel de piel, músculos, ligamentos, huesos o articulaciones, es bien localizado y no se acompaña de reacciones neurovegetativas. El dolor visceral por su parte, es difuso, puede ser referido (el dolor se extiende hasta otros territorios alejados del órgano lesionado) y tiene componente neurovegetativo (6, 30).
- b) **Dolor Neuropático:** Definido por la IASP como “dolor causado por una lesión o enfermedad de el sistema somatosensitivo”(20). Es un dolor iniciado o causado por lesiones primarias o disfunciones en el sistema nervioso central y/o periférico (6). Se caracteriza por dolor espontáneo continuo o intermitente, es descrito como quemante, urente y punzante. Puede ser provocado por estímulos que normalmente son inocuos (alodinia) y se presenta acompañado de hiperalgesia, parestesia y disestesia. (16, 31)
- c) **Dolor Psicógeno:** Corresponde al dolor atribuido a causas mentales, emocionales o factores de comportamiento (7).

3. Vías de conducción del estímulo doloroso (6, 26) (Fig. N°1)

Para percibir un estímulo doloroso es necesario:

- a) una estructura periférica que actúe como receptor.
- b) una sinapsis en la médula espinal.

- c) vías de conducción ascendentes desde la médula a centros superiores.
- d) vías de conducción descendentes, desde los centros superiores a la médula.

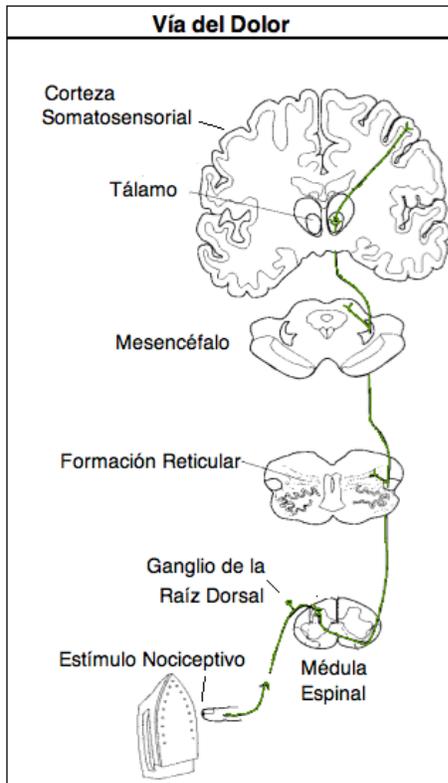


Figura N°1: Representación Esquemática de la Vía del Dolor. (Modificado de Stucky Ch., 2001) (9)

3.1 Estructuras periféricas

Las estructuras periféricas en las vías del dolor están constituidas por neuronas aferentes de primer orden llamadas nociceptores, se encuentran ubicados en piel, músculos, articulaciones y vísceras (32). Estos receptores sensitivos responden a determinados estímulos desencadenando un potencial eléctrico que transmiten desde la periferia hacia el sistema nervioso central, proceso que recibe el nombre de transducción nerviosa (30, 33). Los cuerpos celulares de estas neuronas se ubican en el ganglio de la raíz dorsal (GRD) y ganglio trigeminal, de acuerdo a si el estímulo se origina en el cuerpo o en la región de cabeza y cuello, respectivamente (1). En ellas se inicia la despolarización y la transmisión de los impulsos dolorosos hacia la medula espinal. Estas fibras tienen un carácter polimodal respecto a los estímulos

transmitidos, ya que además del estímulo nociceptivo, pueden transmitir sensaciones térmicas, táctiles o de presión (para altos umbrales) (1, 32).

Existen tres grandes clases de fibras aferentes ligadas a la transmisión de impulsos nociceptivos:

- a) **Fibras A β** : Fibras mielinizadas, de diámetro >10 [μm] y velocidad de conducción entre 30 a 100 [m/s]. No tienen relación con la conducción dolorosa, sino que están relacionadas al tacto ligero por lo que tienen bajo umbral (1, 4).
- b) **fibras A δ** : son mielinizadas, poseen un diámetro de 3 a 20 [μm], su velocidad de conducción es 4 a 30 [m/s]. Tienen que ver en la mediación del dolor agudo y bien localizado, lo cual se percibe como dolor breve agudo o punzante (1, 4). Se subdividen en(6):
 - i. Tipo I: nociceptores mecánicos de alto umbral, que responden a estímulos mecánicos, químicos y a estímulos térmicos de altas temperaturas ($>50^{\circ}\text{C}$) aunque de mantenerse este estímulo, responderán a menores temperaturas.
 - ii. Tipo II: tienen un umbral mucho más bajo ante altas temperaturas, pero su umbral ante estímulos mecánicos es elevado.
- c) **Fibras C**: fibras amielínicas, poseen un diámetro de 0,3 a 1,5 [μm], su velocidad de conducción es 0,5 a 2 [m/s], se percibe como un dolor profundo y difuso. Comprenden cerca del 70% de los nociceptores(1, 4)

Estas fibras nerviosas periféricas nociceptivas tienen una morfología única que les confiere el nombre de “pseudo-unipolares”, en el cual los terminales centrales y periféricos salen de un tallo axonal común que se bifurca, enviando un axón a inervar la periferia y otro a hacer sinapsis en la neurona de segundo orden en el asta dorsal de la médula espinal (32). La mayoría de las proteínas sintetizadas por el ganglio de la raíz dorsal o el ganglio trigeminal se distribuyen en ambos terminales, esta equivalencia bioquímica implica que el nociceptor puede enviar y recibir mensajes desde cualquiera de los extremos. Esto implica que mientras que solamente el extremo periférico puede responder a estímulos ambientales, ambos pueden ser dirigidos por una variedad de moléculas endógenas (como pH, lípidos y neurotransmisores) que regulen su sensibilidad, lo

cual explica el desarrollo terapéutico dirigido a ambos terminales para controlar el dolor. Por ejemplo, la administración espinal de morfina se dirige a los receptores opioides que se expresan en el terminal central de los nociceptores, mientras que los fármacos aplicados tópicamente, como anestésicos locales, regulan en dolor por una acción provocada en el terminal periférico (6).

3.2 Proyecciones centrales de nociceptores

Las fibras nerviosas aferentes primarias se proyectan al asta dorsal de la médula espinal, que es donde ocurre la primera sinapsis, que corresponde al primer nivel de integración en el sistema nervioso central. El asta dorsal de la médula está organizada en láminas distintas anatómica y electrofisiológicamente llamadas láminas de Rexed, numeradas de la I a la VI (1, 6) (Fig. N°2).

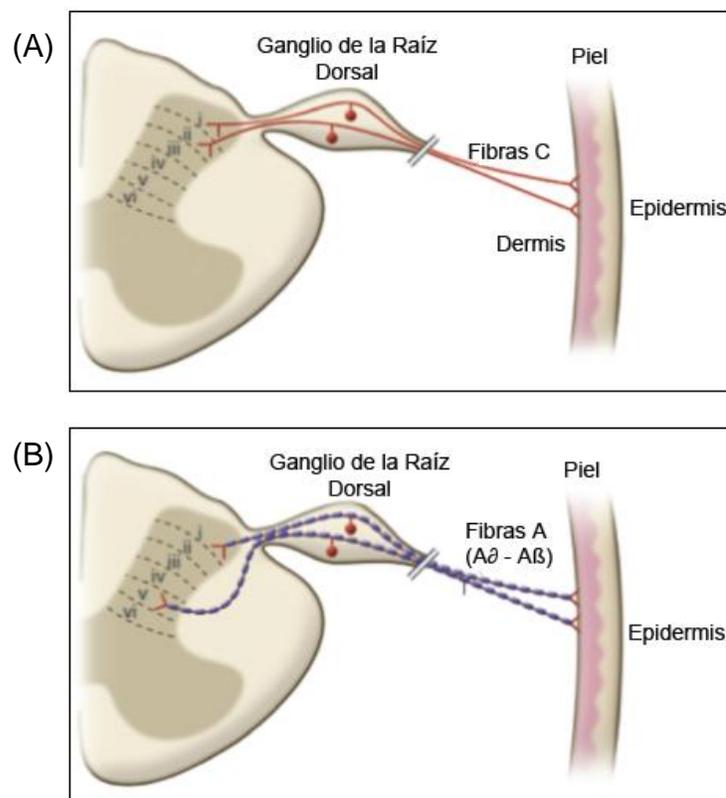


Figura N°2: Médula espinal y su organización laminar numeradas de la I a la VI. (A) Las fibras C amielínicas se dirigen a la lámina I y II. (B) Las fibras A δ y A β se dirigen a hacer sinapsis a las láminas I y V. (Modificado de Dubin A., 2010) (32)

Las neuronas del asta dorsal se clasifican en tres tipos, según el tipo de aferencia que reciben:

- a) **Neuronas nociceptivas específicas:** Estas son activadas por estímulos nociceptivos de alta intensidad provenientes de fibras A δ y C desencadenados ya sea en piel o en estructuras profundas. Están asociadas a la codificación de la localización y características físicas del estímulo nociceptivo (6, 33).
- b) **Neuronas no-nociceptivas:** Estas responden a estímulos inocuos ya sea térmicos, de presión o baja intensidad mecánica (tacto débil), provenientes de fibras A δ y A β (33).
- c) **Neuronas de amplio rango dinámico:** Conocidas como WDR por su sigla en inglés, son neuronas polimodales, por lo que responden tanto a estímulos nociceptivos, provenientes de fibras A δ y C, así como a estímulos no nociceptivos, provenientes de fibras A β (1, 18).

Los nociceptores A δ se proyectan a la lámina I y V. Por otra parte, los nociceptores C se proyectan a las láminas I y II. (Fig. N°2) (6) Las neuronas de la lámina I son de carácter nociceptivo específico. Las neuronas correspondientes a la lámina V son de carácter polimodal (WDR) (1).

La sinapsis que ocurre en el asta dorsal puede ser con dos tipos de neurona (33):

- a. **Neuronas de proyección:** Estas continúan con la transducción del impulso nociceptivo a centros superiores.
- b. **Interneuronas:** Estas neuronas, en cambio, son pequeñas y se encuentran principalmente en las láminas II y III. Existen algunas inhibitorias y otras excitatorias que facilitan la transmisión dolorosa.

La sinapsis de la segunda neurona puede ser con más de una neurona periférica, lo que se observa en neuronas WDR (1), lo que explica el dolor irradiado. Una vez ocurrida 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 (33).

Las aferencias primarias están moduladas por diversos neurotransmisores excitadores e inhibidores. Entre los excitadores se encuentra el glutamato, aspartato, sustancia P, neurocinina A, péptido regulador del gen de la calcitonina (GRP), colecistoquinina (CCK). Por otra parte, los neurotransmisores inhibidores corresponden a: GABA (que ocupa el lugar más importante entre este grupo), glicina, opioides endógenos, acetilcolina, serotonina, noradrenalina, dopamina, sustancia P y CCK. Algunos de estos neurotransmisores pueden actuar tanto como inhibidores como excitadores, ya que actúan activando interneuronas inhibitorias, ejerciendo su efecto de control del dolor a nivel central (6, 31).

3.3 Transmisión por vías ascendentes

Algunas de las neuronas de la médula espinal, específicamente las neuronas de proyección, conforman las vías ascendentes ya que hacen sinapsis con neuronas ubicadas en sitios supraespinales, como el tálamo, hipotálamo, tronco encefálico, entre otras (34).

Estas segundas neuronas, cuyos somas se encuentran en el asta posterior, dan origen a tres haces ascendentes contralaterales (6, 4):

- a. **Haz neoespinotalámico:** Estas fibras hacen sinapsis en el tálamo con los núcleos ventral posterior (VP) y ventroposterolateral (VPL), para alcanzar finalmente una tercera neurona que proyecta sobre la corteza parietal. Este otorga información de la ubicación topográfica del dolor.
- b. **Haz paleoespinotalámico:** Este se proyecta bilateralmente al núcleo posteromedial e intralaminar del tálamo. Tiene relación con aspectos afectivo-emocionales del dolor.
- c. **Haz espinoreticulotalámico:** Se proyecta y hace sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles; bulbo, protuberancia, zona mesencefálica y sustancia gris periacueductal y luego en forma bilateral se proyecta hacia los núcleos inespecíficos del tálamo. Se relaciona con el componente afectivo-motivacional de dolor y con respuestas neurovegetativas.

3.4 Proyecciones supraespinales

Una vez que el estímulo doloroso asciende al sistema nervioso central, específicamente a centros superiores corticales como: corteza sensitiva,

circunvolución del cíngulo, corteza prefrontal, amígdala e hipotálamo, esta información es procesada y adquiere una representación mental asociada a experiencias previas o actuales del individuo, estado de conciencia, estímulos sensoriales concomitantes y estado emocional que modifica la percepción del dolor (1, 35). (Fig. N°3)

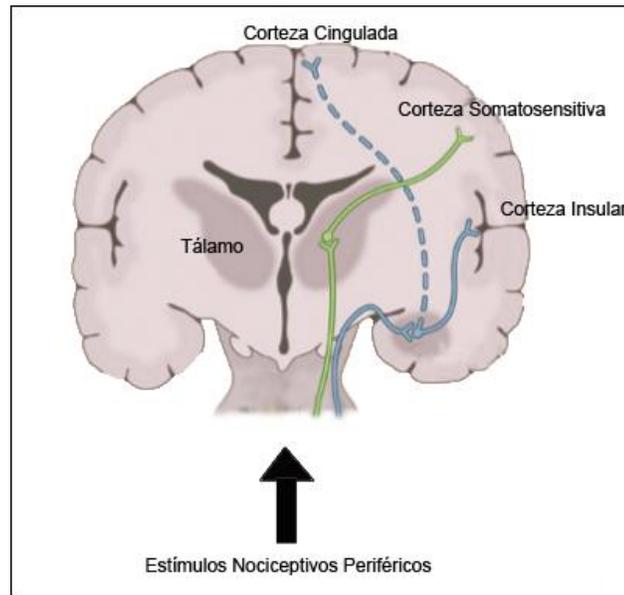


Figura N°3: Diversas áreas cerebrales involucradas en la percepción del dolor. (Modificado de Basbaum, 2009) (6)

El principal relevo a la corteza ocurre en el tálamo, el cual integra los estímulos dolorosos y los proyecta desde y hacia sus múltiples núcleos, lo cual constituye el circuito funcional del procesamiento del dolor. Los núcleos se dividen en tres grupos: lateral, posterior y medial. A su vez estos grupos se dividen en núcleos nominados de acuerdo a su ubicación y cada uno está relacionado ya sea a la localización e intensidad del dolor, aspectos emocionales o bien, respuestas psicomotoras, autonómicas y sensorio-discriminativas frente al dolor (4, 33).

En la corteza cerebral ocurre el último procesamiento de la información nociceptiva y la percepción del dolor (4, 6), tras la integración ocurrida en el tálamo, los impulsos viajan a distintas áreas corticales que responden selectivamente a los estímulos nocivos y en conjunto procesan estos estímulos. Se han identificado zonas involucradas en este proceso, como lo son: corteza sensitiva donde se codifica la intensidad y localización del estímulo, a su vez esta

está interconectada con el área postparietal y la ínsula, que se relaciona con el componente afectivo-emocional del dolor y la corteza cingulada anterior, que coordina la información de áreas parietales con regiones frontales (33).

3.5 Modulación de la nocicepción

Existen ciertos procesos que modulan los mensajes nociceptivos. Estos circuitos moduladores pueden suprimir la actividad de las neuronas nociceptivas y disminuir el dolor o bien, facilitar la transmisión dolorosa (1).

A nivel de médula espinal ocurre principalmente en el asta dorsal a través de las neuronas de la lámina II y III de Rexed, esto propuesto por Melzack y Wall como “teoría de puerta de entrada”, sosteniendo que el dolor es resultante del equilibrio de la actividad de las fibras aferentes nociceptivas ($A\delta$ y C) y no nociceptivas ($A\beta$), es decir, las fibras no nociceptivas como $A\beta$ pueden inhibir el estímulo nociceptivo desencadenado por las fibras nociceptivas, como $A\delta$, a nivel de médula espinal, reduciendo el efecto de actividad aferente. Asimismo, las fibras nociceptivas pueden causar la inhibición de las interneuronas inhibitorias de la lámina II y de esta forma, permitir la salida de información nociceptiva. Estos fenómenos son llamados “puerta cerrada” y “puerta abierta”, respectivamente (1).

A nivel supraespinal ocurre otro fenómeno modulador. Consiste en controlar el ingreso de estímulos nociceptivos desde las estructuras centrales, a través de vías descendentes que es su mayoría son inhibitorias pero también se han descrito algunas facilitadoras. El origen de estos estímulos pueden tener lugar tanto en el tronco cerebral como en otras estructuras cerebrales, incluyen la corteza somatosensorial, el hipotálamo, el mesencéfalo, la sustancia gris periacueductal y el rafe magnus. Desde estas zonas descienden las fibras nerviosas hasta el asta posterior de la médula espinal con proyecciones a las láminas I y V, con efecto directo en la integración y el paso de la información nociceptiva (36). Esta inhibición descendente esta a cargo de tres tipos de neuronas, interrelacionados funcionalmente: neuronas serotoninérgicas, noradrenérgicas y dopaminérgicas. Pueden disminuir la descarga de neurotransmisores pronociceptivos desde fibras aferentes ($A\delta$ y tipo C) y de proyección. También lo hacen de forma indirecta activando neuronas inhibitorias o inhibiendo neuronas excitatorias en el asta dorsal de la médula espinal (36).

3.6 Mecanismos de sensibilización

El proceso de sensibilización neuronal es el aumento de la sensibilidad de los nociceptores ya sea a nivel periférico en un sitio dañado, o bien, a nivel central (1). Una lesión en la periferia produce dolor y dos tipos de hiperalgesia: primaria y secundaria. La primaria ocurre en el sitio de la noxa y es mediada en parte por la sensibilización del nociceptor aferente primario. La secundaria en tanto, ocurre en el área sana que rodea a la noxa (37).

El fenómeno de *sensibilización periférica* comienza tras una injuria en algún tejido, luego de lo cual se desarrolla una respuesta inflamatoria con liberación de mediadores en el sitio de la noxa provocando una hiperalgesia en la zona dañada (1, 38). Es por esta sensibilización que los umbrales bajan para desencadenar impulsos nociceptivos ante inclusive estímulos inocuos producidos en la zona donde ocurrió la noxa. Se han sugerido varios mecanismos implicados en esta sensibilización y se sabe que hay más de un proceso que la provoca. Se produce debido a la acción excitatoria de agentes moleculares producidos por el daño al tejido y la inflamación consecuente, estos químicos y mediadores moleculares incluyen citoquinas (factor de crecimiento neuronal), productos del metabolismo de ácido araquidónico (prostaglandinas y leucotrienos) y péptidos vasoactivos (sustancia P, bradicinina) (38).

Si el proceso inflamatorio y la actividad aferente consiguiente es de intensidad suficiente, y si ha ocurrido daño neuronal, se establece un proceso central donde la sensibilización aumenta, disminuye el umbral de respuesta, y se producen descargas ectópicas (1). La *sensibilización central* es una forma de neuroplasticidad en la cual la actividad de los nociceptores gatilla un prolongado aumento en la excitabilidad de las neuronas del asta dorsal (1). Las fibras C han demostrado ser las principales causantes del inicio de esta sensibilización y por su parte, las fibras A β comienzan a provocar estímulos dolorosos y se pierde su efecto inhibitor (1, 38). Aumenta la secreción de mediadores excitatorios a nivel central, como glutamato y óxido nítrico (NO). Todos estos cambios terminan por provocar alteraciones en el fenotipo de los nociceptores, y se genera un cambio en las aferencias nociceptivas en forma crónica, lo que determina un estado patológico. Puede que el estímulo que dio origen al dolor ya no esté, pero el procesamiento a nivel central puede ser el gatillante para la mantención del dolor.

No todos los dolores causan sensibilización a nivel central. La representación periférica de este proceso es hiperalgesia dinámica (1).

4. Mecanismos del dolor orofacial

El dolor orofacial es una condición dolorosa muy común, asociada con los tejidos duros y blandos de la cara y boca. La prevalencia en la población general es aproximadamente del 13%. Se da mayoritariamente por trastornos temporomandibulares, dolor de origen dental y en menor proporción, por neuralgia del trigémino (39).

La región orofacial es un área ampliamente inervada y los impulsos nerviosos nociceptivos originados en esta zona se vehiculizan por fibras de, principalmente, cuatro nervios craneales: Nervio trigémino (V par), nervio facial (VII par), nervio glosofaríngeo (IX par) y nervio vago (X). Además, los tres primeros pares de nervios espinales también están relacionados con el área orofacial. En muchos aspectos, la fisiología y bioquímica de la nocicepción y vías del dolor son homólogas a aquellas que participan en la transmisión de las señales dolorosas originadas en el resto del cuerpo (40).

El principal nervio de esta región es el nervio trigémino, corresponde al Vº par craneal, es un nervio mixto ya que tiene tanto un componente sensitivo como motor. Se origina en las porciones laterales de la cara ventral de la protuberancia por medio de dos raíces (11):

- a. Raíz motora: Se localiza a nivel medio de la protuberancia, sus fibras inervan los músculos masticatorios, tiene su origen en el núcleo motor del V par.
- b. Raíz Sensitiva: Se extiende a lo largo del tronco encefálico y se continúa con el ganglio trigeminal (o de Gasser), que da lugar a tres ramas; oftálmica (V1), maxilar (V2) y mandibular (V3). Esta porción sensorial transmite el tacto, dolor, temperatura y propiocepción de la cara, de músculos faciales y masticatorios, de la articulación temporomandibular y la cavidad bucal.

Los cuerpos celulares de las neuronas aferentes del trigémino se ubican en el ganglio trigeminal y los impulsos conducidos por estas entran directamente en el tronco encefálico, a nivel de la protuberancia. Estas neuronas bipolares emiten

dos prolongaciones, una periférica o terminación libre que recibe los estímulos nociceptivos ambientales, y otra que transcurre por la fosa craneal media, en dirección al tronco cerebral, donde hace sinapsis con la neurona de segundo orden del complejo nuclear sensorial trigeminal. Así como el asta dorsal medular presenta una organización en láminas, el complejo trigeminal posee una organización vertical ascendente (41).

El complejo del núcleo trigeminal troncoencefálico está formado por tres núcleos sensitivos (rostro-caudalmente): Nucleo mesencefálico, sensitivo principal y espinal trigeminal, este último dividido en los núcleos oral, interpolar y caudal (1) (Fig. N°4). Los impulsos nociceptivos del área orofacial son procesados primariamente en el núcleo oral y secundariamente en el caudal (28, 41).

Las neuronas de segundo orden alcanzan los centros superiores encefálicos, precisamente la corteza cerebral, a través de la vía espinotalámica/trigeminotalámica medial y lateral que se dirige contralateralmente al los núcleos del tálamo que serán el complejo lateral y posterior de este, para las vías lateral y medial respectivamente (28), donde hacen sinapsis con una tercera neurona que se proyecta a la corteza somatosensitiva y otras estructuras corticales y subcorticales, como la corteza insular y la circunvolución cingular que participan en la integración de aspectos cognitivos, sensorial y afectivo del dolor.

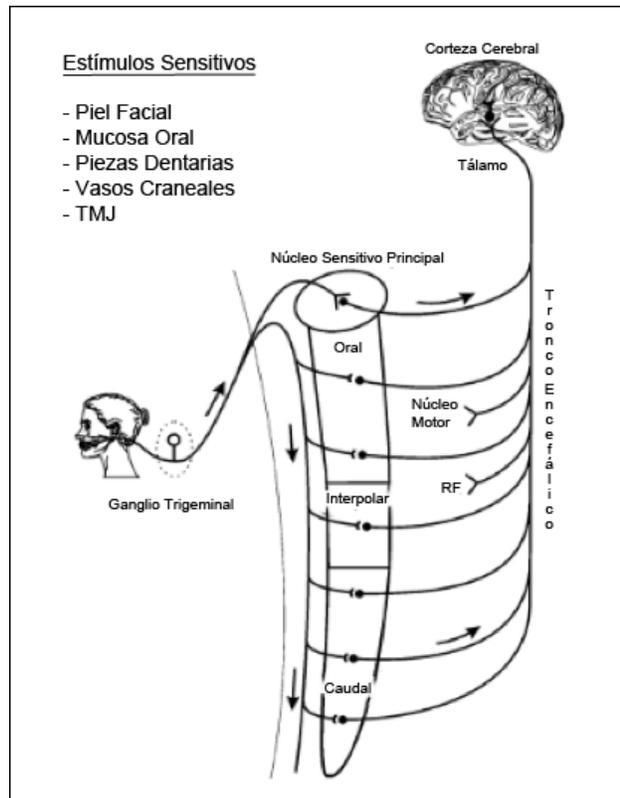


Figura N°4: Aferentes primarios trigeminales proyectan vía ganglio trigeminal hacia las neuronas de segundo orden en el complejo nuclear sensorial trigeminal, para luego proyectar a niveles más altos del SNC. (Modificada de Sessle, 2005) (42)

4.1 Dolor orofacial neuropático

Es importante distinguir entre el dolor crónico que es nociceptivo y el dolor crónico neuropático. El dolor neuropático muchas veces constituye un dolor severo e incapacitante, puede estar ocasionado por lesiones del sistema nervioso periférico, central o de ambos y casi no hay formas de predecir si un paciente desarrollará esta complicación, a diferencia del dolor nociceptivo que es resultado de una injuria o inflamación de un tejido visceral somático (13, 31). A nivel orofacial, el dolor nociceptivo es causado principalmente por injurias o inflamación de la pulpa dental, la articulación temporo-mandibular, dolor miofascial, entre otros. Por otra parte, el dolor neuropático a este nivel se representa como: neuralgia trigeminal, neuralgia glossofaríngea, neuralgia post-herpética, odontalgia atípica, síndrome de boca urente y cefaleas autonómicas trigeminales (8).

4.2 Fisiopatología del dolor neuropático

El dolor neuropático tiene su origen en un conjunto de cambios que ocurren en la transmisión normal del impulso nervioso nociceptivo. Estas alteraciones han sido detectadas en las terminaciones nerviosas periféricas, en el ganglio de raíz dorsal (GRD), en el asta posterior de la médula espinal y en la corteza somatosensorial. También se han encontrado modificaciones de las propiedades eléctricas de las neuronas normales vecinas, que pueden generar potenciales de acción dolorosos inclusive al aplicar estímulos inocuos en la periferia (alodinia). (35, 43) Los mecanismos implicados en la génesis del dolor son diversos y no dependen de la causa de la enfermedad, a su vez, en un mismo paciente pueden actuar diferentes mecanismos provocando el dolor (43). Estos mecanismos responsables de la aparición dolor se pueden clasificar en periféricos y centrales. Los mecanismos periféricos involucran, entre otros, la generación ectópica del impulso nervioso (en fibras aferentes primarias dañadas), disminución del umbral de activación de los nociceptores, interacciones entre fibras o comunicación cruzada, la sobreactividad de los canales de sodio en los nervios periféricos y la inflamación del nervio afectado. Por su parte, los mecanismos centrales incluyen la neuroplasticidad, que corresponde a modificaciones de la arquitectura neuronal que podrían inducir la activación patológica de las neuronas nociceptivas centrales. También ocurre disminución del umbral de activación de las neuronas de relevo y desinhibición (falla en los mecanismos moduladores inhibitorios) (37, 43). En general, la causa de generación de estos impulsos anómalos se debe a la desmielinización de las fibras, también puede ocurrir axotomía, que corresponde a la sección de una parte de las fibras aferentes, que es generalmente a causa de trauma (14).

4.3 Neuropatías periféricas a nivel orofacial

Existen diversas condiciones patológicas relacionadas a daños o disfunciones del nervio trigémino que provocan dolor neuropático. Aunque la neuralgia trigeminal ha sido tradicionalmente considerada la condición neurálgica primaria en el territorio facial, también se reconocen otras como neuralgia post-herpética, odontalgia atípica y síndrome de boca urente (44). A continuación se

describen brevemente las más prevalentes y mencionadas en la literatura por el dolor neuropático que generan.

a) Neuralgia Trigeminal (NT): Es una enfermedad de la edad avanzada, con mayor prevalencia entre los 50 y 60, lo cual con el envejecimiento de la población y aumento de la sobrevivencia se ha visto un aumento de pacientes de 80 años en adelante, afecta a 4,3 cada 100.000 personas a nivel mundial (45). Se han reportado pocos casos en pacientes jóvenes. Esta entidad afecta en su mayoría al género femenino (3:2). De las tres ramas del nervio, las que se ven afectadas principalmente son V2 y V3 (Fig. N°5) y la mayor parte de las veces ocurre por compresión del nervio afectado produciendo zonas focales de desmielinización (80-90% de los casos)(4, 46) que producen descargas ectópicas. El dolor en esta patología afecta de forma unilateral a la cara y/o cráneo, se describe como paroxístico e insoportable, de comienzo y término súbito, dura menos de dos minutos y presenta periodos intercríticos indoloros. Ocurre luego de estímulos normales como afeitarse, tacto suave, lavado de dientes, entre otros (45, 46).

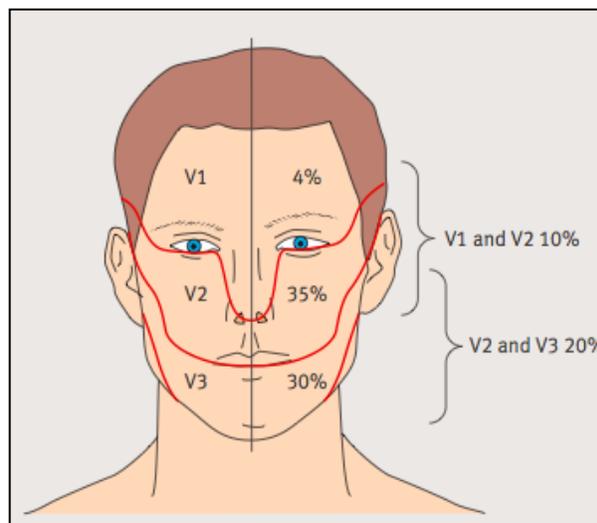


Figura N°5: Distribución de la neuralgia trigeminal en sus ramas terminales (Modificado de Benneto, 2007) (45).

b) Neuralgia post-herpética: Es una complicación de la infección por el virus herpes zóster, el cual se aloja en el ganglio de la raíz dorsal luego de un cuadro de varicela. El virus permanece en estado de latencia y se puede reactivar. Una vez que esto pasa comienzan a aparecer erupciones, que constan de ampollas que siguen la distribución del dermatoma de uno o más nervios espinales, comúnmente aparecen en cara o tronco. Estas ampollas luego de un tiempo pasan, sin embargo, el dolor puede continuar por semanas y muchas veces por meses o años. Este dolor persistente se denomina neuralgia post-herpética, el cual se mantiene por 120 días o más luego de la aparición de las erupciones (14, 37) y afecta al 25% de los pacientes que han sufrido el episodio de herpes zóster (14). Se caracteriza por alodinia, hiperestesia o parestesia (37). No existe una prevalencia clara, mas se estima que afecta a 39 de cada 100.000 personas (18).

c) Odontalgia Atípica: Es definida como “dolor facial persistente que no tiene las características de neuralgias craneales y no se atribuye a otro desorden”. A diferencia de los trastornos “típicos” dentales asociados a dolor, como afecciones a la pulpa dental o periodontitis apical, este cuadro es un dolor continuo en una pieza dentaria o en su alveolo luego de su extracción (17) o de otro evento traumático como cirugía ortognática, endodoncia, implantes o incluso un tratamiento dental simple (1), en ausencia de cualquier causa identificable clínica y radiográficamente. Se considera crónico ya que dura más de 6 meses luego de la extracción dental. Se da mayoritariamente en mujeres, y en la década de los 40. No se conoce del todo el mecanismo que provoca esta patología, pero la hipótesis de que corresponde a dolor neuropático es la más aceptada. Si bien es una condición de poca prevalencia, se estima que ocurre en un 3 a 6% de pacientes luego de tratamientos endodónticos (17).

5. Control farmacológico del dolor

En la actualidad existe una amplia gama de agentes capaces de disminuir o inhibir la neurotransmisión dolorosa, los más importantes pueden clasificarse en los siguientes grupos:

- a) Anestésicos generales
- b) Anestésicos locales
- c) Alcoholes y fenoles de acción prolongada
- d) Analgésicos opioides
- e) Analgésicos antiinflamatorios esteroidales
- f) Analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs)
- g) Coanalgésicos

El grupo de AINEs son los más utilizados en la actualidad, mas son insuficientes como analgésicos en casos de dolor severo, tampoco lo son para el dolor neuropático (13, 14, 15). El grupo de analgésicos opioides por otra parte, que sí es utilizado para dolores severos, a menudo no es suficiente para lograr una analgesia óptima, sumado a que causan tolerancia analgésica y provocan gran cantidad de efectos secundarios (15).

A medida que progresa la investigación para el control del dolor y tras conocer mejor los resultados de muchos de los fármacos actualmente disponibles, se va haciendo necesario buscar métodos nuevos para mejorar la antinocepción, así nace concepto de “analgesia multimodal”, el cual hace referencia a la administración simultánea de diferentes tipos de fármacos en reemplazo a la terapia con fármacos aislados (22, 20).

5.1 Terapia de Combinación

Es la terapia combinada de dos o más fármacos, generalmente con diferente mecanismo de acción, pero con similar efecto.

Múltiples estudios han demostrado que esta terapia muestra mejores resultados ante el dolor neuropático que el tratamiento con los mismos fármacos de forma aislada (16). Al ser administrados se espera una interacción con resultados (47):

- a) **Aditivos:** Corresponde a la suma de los efectos que producen cada uno de ellos separadamente.
- b) **Subaditivos o antagónicos:** Corresponde a un efecto menor que la suma de cada agente por separado.
- c) **Sinérgicos o supraaditivos:** Se produce un efecto mayor que la suma de los efectos por separado.

En general, la farmacología al combinar medicamentos de eficacia probada busca producir interacciones sinérgicas, ya que esta asociación permitiría utilizar dosis más pequeñas de cada analgésico que conforma la combinación y de así disminuir la incidencia de sus efectos adversos individuales, sin minimizar el efecto deseado, lo cual facilitaría el apego al tratamiento (20).

5.2 Coanalgésicos

Es un grupo de fármacos cuyo propósito principal era otro distinto a eliminar el dolor pero se ha comprobado que son capaces de ayudar a su alivio en ciertas condiciones. Por sus características, son importantes en el dolor neuropático ya que muchas veces los pacientes no responden a los AINEs y hasta cierto punto, este tipo de dolor es resistente a los opioides. Los coanalgésicos brindan analgesia ya sea por sí mismos, o bien, potenciando a los fármacos analgésicos propiamente tales (35).

Los principales grupos de fármacos incluidos en esta categoría son (35, 15):

- a) Antidepresivos
- b) Anticonvulsivantes
- c) Ansiolíticos
- d) Neurolépticos
- e) Corticoesteroides
- f) Bloqueadores adrenérgicos

6. Manejo farmacológico del dolor neuropático

Los fármacos disponibles para el dolor neuropático comprenden una amplia gama, pueden ser orales o tópicos. Los mecanismos de acción son variados: así

como algunos pueden disminuir la excitabilidad del nervio afectado y la conducción en axones sensitivos, otros en tanto pueden tener efecto en los cambios sinápticos que se producen al existir daño neural. Sin embargo, no se ha logrado un conocimiento a cabalidad de estos mecanismos en algunos casos (22).

Actualmente se habla de cuatro líneas de tratamiento farmacológico, los agentes recomendados como tratamiento se clasificaron considerando la eficacia analgésica, seguridad, facilidad de uso y costo-efectividad (13).

- i. **Tratamientos de primera línea:** Dos clases de medicamentos se recomiendan para el tratamiento de primera línea: El grupo de antidepresivos tricíclicos, que proveen la mejor evidencia de eficacia en el manejo del dolor neuropático y un grupo determinado de anticonvulsivantes.
- ii. **Tratamiento de segunda línea:** Incluyen inhibidores de recaptación de serotonina y noradrenalina (venlafaxina y duloxetina) y lidocaína tópica. Los parches de lidocaína al 5% han mostrado ser útiles en el manejo de una variedad de síndromes dolor neuropático.
- iii. **Tratamiento de tercera línea:** Tramadol y analgésicos opioides de liberación controlada, para el dolor moderado a severo. En promedio, estudios demuestran un 20 a 30% en reducción de la intensidad del dolor.
- iv. **Tratamiento de cuarta línea:** Incluyen los cannabinoides, metadona, Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (citalopram y paroxetina) y otros anticonvulsivantes como la lamotrigina, topiramato y ácido valproico.

Considerando los escasos conocimientos de los mecanismos de acción de los medicamentos disponibles para el tratamiento del dolor neuropático, se recomiendan terapias combinadas para alcanzar el alivio adecuado del dolor y una menor cantidad de efectos adversos puesto que la monoterapia, si bien ha sido efectiva, no ha demostrado ser suficiente (13,20).

6.1 Antidepresivos tricíclicos (ATC)

El grupo de fármacos de antidepresivos tricíclicos, como lo dice su nombre, son antidepresivos utilizados principalmente para tratar trastornos de estados de ánimo, pero su utilidad no se remite solamente a eso. Durante muchos años los fármacos antidepresivos han sido utilizados para tratar el dolor neuropático. Ya en el año 1960, solo dos años después de descubrir el efecto antidepresivo de la imipramina, se observó un efecto analgésico simultáneo (4). Luego, en 1964 se publicó el primer estudio controlado con amitriptilina, donde se concluyó que efectivamente había un efecto analgésico y era independiente de su efecto antidepresivo (18). Actualmente se considera que tiene un efecto analgésico genuino, que además, se logra a menores dosis y de manera más rápida que la aparición de su efecto antidepresivo. Este doble efecto en los pacientes es importante en el dolor neuropático debido a que muchas veces este dolor va acompañado de depresión (14, 18).

El mecanismo preciso por el cual estos fármacos alivian el dolor neuropático aún no se logra comprender del todo bien. Se cree que afectan la transmisión del dolor en la médula espinal por inhibir la recaptación de noradrenalina y serotonina, aumentando las concentraciones extracelulares de estos, ambos de los cuales influyen las vías descendentes del dolor, bloquean la hiperalgesia inducida por agonistas de NMDA y también tienen propiedades de bloqueo de canales de sodio. Adicionalmente, la afinidad de la histamina al receptor H1 (asociado a la sedación) también puede estar relacionada con su efecto analgésico (31,15).

Los antidepresivos tricíclicos pueden ser categorizados como aminas secundarias o terciarias. Las aminas secundarias como la nortriptilina y desipramina muestran inhibición selectiva de recaptación de noradrenalina. Las aminas terciarias como la amitriptilina e imipramina muestran inhibición balanceada de la recaptación presináptica de noradrenalina y serotonina, también tienen mayor efectos colaterales anticolinérgicos (13). Se ha demostrado que los antidepresivos tricíclicos con receptores mixtos o actividad noradrenérgica parecieran tener mejores efectos analgésicos en pacientes con dolor neuropático. La amitriptilina y su metabolito nortriptilina tienen la mejor eficacia en este tipo de dolor (31).

6.1.1 Nortriptilina

La nortriptilina es el principal metabolito activo de la amitriptilina, también se utiliza como agente antidepresivo y en casos de dolor neuropático como primera línea de tratamiento ya que junto con la amitriptilina tienen la mejor eficacia documentada (31, 22).

Los mecanismos de acción incluyen la inhibición balanceada de la recaptación de noradrenalina y débilmente de serotonina, también producen bloqueo post-sináptico de receptores de histamina (H1), receptores muscarínicos y de canales iónicos voltaje-dependientes (Ca, Na, K) (15, 21). Además, estudios demuestran que los receptores β 2-adrenérgicos son críticos para la acción analgésica de este fármaco (15). Este fármaco entonces, determina un incremento en la concentración de monoaminas en el espacio sináptico, que finalmente se unen a sus receptores a nivel de asta dorsal de la médula espinal, generando una potenciación de los mecanismos descendentes de supresión (15).

La nortriptilina tiene una absorción rápida luego de la administración oral y se une a la albúmina plasmática en un 90 a 95% en dosis terapéuticas y su biodisponibilidad es del 50-80%. Tiene una mayor concentración en los tejidos y en eritrocitos que los demás ATC. El *peak* plasmático se logra entre 8 y 12 horas luego de su administración oral y su vida media es extensa pudiendo ser desde 16 a 90 horas. Se metaboliza en el hígado por el sistema citocromo P450 y finalmente es excretada por la orina y por la vía biliar (48).

6.1.1.1 Interacciones

Los antidepresivos tricíclicos pueden causar reacciones adversas al administrarlos conjuntamente con otros tipos de fármacos definidos. Producen efectos secundarios con antihipertensivos y anticoagulantes orales. Si se combinan con inhibidores de la MAO pueden provocar hipertensión e hiperpirexia. Se ha observado una interacción con el alcohol en la cual se potencian los efectos de ambos, causando incluso depresión respiratoria. Potencia el efecto y la toxicidad de anticolinérgicos. Los barbitúricos y la carbamazepina inhiben el efecto de la nortriptilina (18, 21), y los β -bloqueadores no selectivos determinan en una disminución de los efectos analgésicos de esta (15).

6.1.1.2 Efectos adversos

Los antidepresivos tricíclicos tienen un número de efectos adversos que puede hacerlos difícil de tolerar para muchos pacientes. Aproximadamente un quinto de los pacientes que reciben este tratamiento lo interrumpen debido a sus efectos adversos, lo que limita su administración (48).

Los efectos adversos más graves de los ATC ocurren en el sistema cardiovascular, como la hipotensión postural, el bloqueo cardíaco, taquicardia, hipertensión y las arritmias. Los efectos adversos más frecuentes son la somnolencia, confusión e incoordinación motora, que ocurren los primeros días de su administración y tienden a disminuir la primera o segunda semana después de iniciado el tratamiento y, finalmente, los efectos anticolinérgicos, como sequedad bucal, visión borrosa, estreñimiento y retención urinaria. Los efectos adversos de los ATC están bien documentados a partir de la experiencia clínica en el tratamiento de la depresión (18, 49).

8.2 Anticonvulsivantes

Los anticonvulsivantes corresponden a un grupo de fármacos de composición heterogénea indicados principalmente para el tratamiento y prevención de convulsiones asociadas con trastornos como la epilepsia. Con el paso de los años, la investigación ha señalado que no solo sirven para las convulsiones sino que también tienen efecto en el tratamiento de condiciones dolorosas crónicas en forma de coanalgésicos. En relación al dolor neuropático han mostrado ser eficaces en el tratamiento de la neuropatía diabética, neuralgia post-herpética, neuralgia trigeminal y odontalgia atípica (22, 14). Los fármacos anticonvulsivantes más comúnmente usados para la modulación del dolor neuropático son: carbamazepina, clonazepam, gabapentina, lamotrigina, oxcarbazepina, fenitoína, topiramato y ácido valproico. Existen dos generaciones de este tipo de fármacos: primera y segunda generación. Los anticonvulsivantes de segunda generación resultan ser mejor tolerados pues sus efectos secundarios son menores (23).

Estos fármacos actúan en diferentes sitios que pueden tener relevancia en el dolor, pero el mecanismo preciso de antinocicepción no está claro (22, 31). Se piensa que limitan la excitación y mejoran la inhibición de las neuronas dañadas

actuando a nivel de canales de calcio activados por voltaje en la médula espinal, resultando en la disminución en la liberación de neurotransmisores excitatorios como el glutamato y sustancia P (13, 22), canales iónicos activados por ligando, receptores excitatorios para glutamato y NMDA y receptores para GABA y glicina (22).

Se presume que los anticonvulsivantes son efectivos ante el dolor neuropático debido a que existen similitudes entre los mecanismos fisiopatológicos y bioquímicos producidos en la epilepsia y este tipo de dolor (22).

8.2.1 Ácido Valproico

El ácido valproico es un ácido graso ramificado, estructuralmente relacionado con el ácido gamma-aminobutírico (GABA) (49), que ha sido utilizado por más de 40 años como un fármaco antiepiléptico y estabilizador de ánimo con resultados efectivos documentados (19, 23). Además de su uso primario para la epilepsia y las fases maniáticas en el trastorno bipolar, se ha utilizado en el tratamiento del dolor neuropático cuando las terapias de primera línea fallan. Esto debido a que en la actualidad no existe evidencia suficiente para afirmar que el ácido valproico constituye un fármaco de primera línea para el dolor neuropático (23) posiblemente por sus efectos adversos (24).

El mecanismo de acción es incierto y se cree que actúa con una combinación de mecanismos (24), se piensa que inhibe la enzima GABA transaminasa aumentando de esta forma los niveles de GABA a nivel cerebral. También se piensa que bloquea los canales de sodio y calcio (23). Otras teorías dicen que aumenta la inhibición serotoninérgica y reduce la excitación neuronal mediada por glutamato en los receptores NMDA (19, 24).

La absorción del ácido valproico es rápida y casi completa por vía oral, por lo que su biodisponibilidad es cercana al 100%. La concentración plasmática máxima se alcanza en cerca de 90 minutos. Se liga a las proteínas del plasma en un 85-95% y atraviesa la barrera hematoencefálica con un mecanismo de transporte activo que se satura a dosis altas. Se metaboliza en el hígado con un resultado de al menos treinta metabolitos, los cuales pueden estar relacionados con algunos de sus efectos adversos. Su vida media es de 4 a 12 horas (19, 49).

6.2.1.1 Interacciones

Se producen principalmente tras la administración conjunta de otros fármacos anticonvulsivantes. Fenitoina, fenobarbital, primidona y carbamazepina disminuyen los niveles plasmáticos del ácido valproico incluso al 50%. A su vez, este, al ser un inhibidor enzimático, aumenta los niveles de diazepam, fenobarbital, fenitoína y lamotrigina. Los citotóxicos adriamicina y cisplatino disminuyen la absorción del ácido valproico. Naproxeno, fenilbutazona y ácido acetilsalicílico desplazan al ácido valproico de las proteínas plasmáticas, por lo que puede aumentar la toxicidad de este fármaco (49).

6.2.1.2 Efectos adversos

Causa defectos en el nacimiento, por lo que están contraindicados en el embarazo. Produce toxicidad hepática, desórdenes sanguíneos o hepáticos, pancreatitis, somnolencia, aumento de peso en un 30% de los pacientes, temblor, náuseas, vómitos, diarrea y pérdida de pelo (49).

7. Medición experimental del dolor

A lo largo de los años se ha tratado de combatir el dolor con fármacos y otros métodos que cada vez están siendo más efectivos, sin embargo, no se ha logrado un manejo total para todo tipo de dolores e individuos, ni tampoco el conocimiento a fondo de los mecanismos implicados en la nocicepción. Los avances alcanzados en la actualidad se deben casi en su totalidad a los estudios experimentales que, en su mayoría, se realizan en animales debido a las múltiples razones éticas que hacen imposible la experimentación con humanos (4, 25).

7.1 Modelos animales de dolor

El dolor se entiende como un mecanismo complejo que integra experiencias conscientes que requieren integración cortical, con componentes afectivos, sensorio-discriminativos, autonómicos y cognitivos (1, 27), por lo mismo, se hace imposible asociar esta definición a animales pues al no existir una comunicación verbal, es imposible evaluar el dolor. Es por lo anterior, que la medición en animales no es de dolor, sino de reacciones a diversos tipos de estimulación nociceptiva (50).

La Asociación Americana de Medicina Veterinaria (AVMA) ha definido el dolor en animales como “una experiencia sensorial y emocional aversiva, que evoca acciones motoras protectoras, las que resultan en evitación aprendida y que pueden modificar rasgos de conducta especie-específicos, incluyendo el comportamiento social”. Son estas conductas las que permitirán evaluar el fenómeno de inhibición parcial o total de la respuesta nociceptiva llamado antinocicepción, el cual es estudiado como una forma de predecir la capacidad de algún procedimiento, ya sea la administración de un fármaco, una técnica quirúrgica u otros métodos, para producir analgesia en clínica (4).

La experimentación en animales implica la realización de estímulos nocivos de distinta naturaleza, ya sean químicos, mecánicos, eléctricos o térmicos, que producen dolor o sufrimiento de estos, por lo cual, no está exento de una normativa ética regida por el Comité para la Investigación y la Ética de la IASP, que regula que las investigaciones con modelos de dolor tienen que tener una adecuada planificación con la intención de minimizar al máximo el sufrimiento del animal. El investigador debe asegurarse de que los animales son expuestos al mínimo dolor necesario para alcanzar los objetivos del experimento y que la duración de este sea lo más corta posible así como que el número de animales utilizados sea el mínimo necesario, además debe estar convencido de que la justificación en que basa la realización de sus experimentos es ética (4).

Algunas de las pruebas realizadas son el *tail-flick test* y el *hot-plate test* que miden el tiempo que el animal demora el reaccionar tras un estímulo térmico, el test de Randall-Selitto que mide el umbral de fuerza necesario a aplicar para provocar una respuesta en el animal y el test de la formalina, entre otros (4, 51).

7.2 Test de la formalina orofacial

El Test de Formalina corresponde a una prueba asociada a la aplicación de un estímulo químico irritante que produce una respuesta inflamatoria que induce alodinia e hiperalgesia. Esta prueba no mide umbral sino que se observa y puntúa el comportamiento específico del animal, definido previamente. Es una de las pruebas más ampliamente usada en ratones y se considera de mayor relevancia respecto del dolor clínico comparado con otras pruebas como el *tail-flick* y *hot-plate* (25, 51).

La prueba consiste en la inyección de una solución de formalina, generalmente en el espacio subcutáneo de la cara plantar de la pata de la rata o ratón. Tras la aplicación aparecen respuestas conductuales específicas dirigidas a la extremidad que ha recibido la injuria (4). Este test fue adaptado para el estudio de la región trigeminal con el nombre de “Test de la Formalina Orofacial” (4, 51).

En el test de formalina orofacial, la inyección se realiza en el labio superior de roedores, lateral a la nariz del animal, observándose una reacción de aumento de frotamiento del área perinasal con la pata delantera y trasera ipsilateral, lo cual es contabilizado. Esta respuesta tiene la particularidad de ser bifásica, con un periodo de relativa quietud entre ellas. Las dos fases son (4, 51):

- Fase I: Corresponde a la fase algésica o de dolor agudo, dura entre 3 a 5 minutos comenzando inmediatamente después de la inyección y se debe a la activación directa de nociceptores.
- Fase II: Es la fase inflamatoria o de dolor crónico. Ocurre entre los 20 y 30 minutos posterior a la inyección y se debe a la organización de un foco inflamatorio en el sitio de injuria y la sensibilización central y periférica que eso conlleva.

La concentración de la formalina inyectada es importante para el resultado de la prueba ya que la respuesta será distinta para cada porcentaje de formalina en la inyección. Se sabe que con concentraciones de hasta 5% la respuesta nociceptiva inducida será creciente, a concentraciones superiores dejará de existir esta relación lineal positiva por lo que no se asociará a una mayor expresividad de la respuesta, sino que se alcanza un efecto “techo”. Concentraciones más altas pueden inclusive inducir una conducta de inmovilidad del roedor, también llamada *freezing*, lo cual puede llevar a una interpretación errónea de la conducta nociceptiva (4).

IV. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. Hipótesis

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

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Establecer el tipo de interacción antinociceptiva de la coadministración intraperitoneal de nortriptilina con ácido valproico en la prueba de la formalina orofacial en ratones.

2.1 Objetivos específicos

- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal (i.p.) de nortriptilina y de ácido valproico en el test de la formalina orofacial.
- Calcular la DE50 (la dosis que produce el 50% del efecto máximo) de cada uno de los fármacos a partir de las respectivas curvas dosis-respuesta.
- Evaluar la naturaleza e intensidad de la interacción farmacológica de nortriptilina con ácido valproico en el ensayo de la formalina antes mencionado.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Tipo de investigación

La investigación realizada corresponde a un estudio de tipo explicativo, con un diseño experimental de laboratorio que realiza únicamente post-prueba y posee grupo control.

Los experimentos se realizaron según el protocolo CBA N°515 aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina (Anexo N°1) y se llevó a cabo en el Laboratorio de Neurofarmacología del Dolor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

2. Animales

Se utilizó una muestra de 136 ratones (*Mus musculus*) machos, de la cepa CF/1 de 28 a 30 gramos de peso. Los ratones se mantuvieron en cajas plásticas con acceso libre a comida y agua (Fig. N°6), se habituaron al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes del experimento. Cada animal recibió solamente una dosis de las drogas, las observaciones fueron efectuadas en forma ciega, aleatoria y controladas con solución salina. Se deja constancia que, basándose en las normas éticas internacionales que rigen este tipo de experimentación, el número de animales utilizados fue el mínimo estrictamente necesario, para un correcto análisis estadístico.

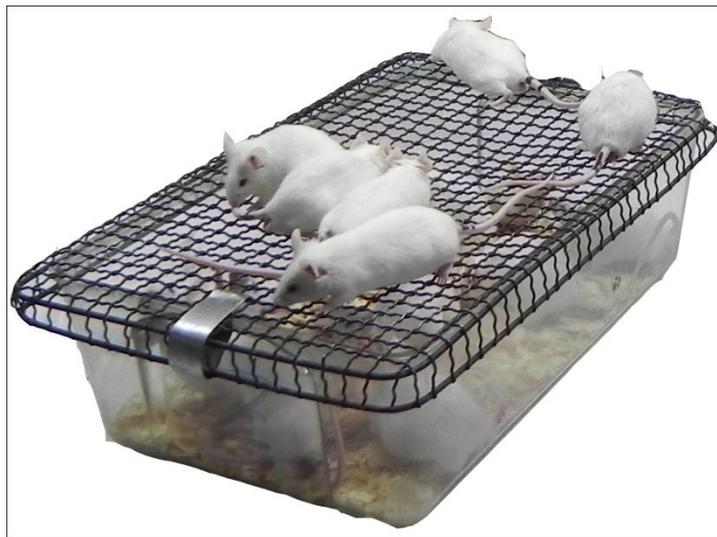


Figura N°6: Caja de ambientación.

Para la observación del experimento se utilizó un cilindro de acrílico transparente abierto en su parte superior de altura y diámetro 20 centímetros y un espejo doble ubicado alrededor de este cilindro para tener visión de todos los ángulos por parte del observador (Fig. N°7). Cada animal fue habituado al cilindro de experimentación por 10 minutos para minimizar el estrés. Estos no tuvieron acceso a agua ni comida dentro del cilindro. Los animales se sacrificaron inmediatamente después del experimento mediante dislocación cervical, por personal experimentado.



Figura N°7: Cilindro de observación.

3. Administración de fármacos

Los fármacos se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) en un volumen constante, de 10 mL/kg (Fig. N°8). Esto se realizó 30 minutos antes del test algiesiométrico pues es el tiempo necesario para lograr el efecto máximo de cada droga (52). Por su parte, los animales del grupo control recibieron una solución salina administrada por vía i.p. y se utilizó un ejemplar por cada grupo experimental.



Figura N°8: Inyección intraperitoneal del fármaco.

Las dosis utilizadas para la nortriptilina fueron 0.1, 0.3, 1 y 3 [mg/kg]. Las dosis utilizadas para el ácido valproico fueron 25, 50, 100 y 200 [mg/kg]. 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 un animal control por cada grupo experimental (n=8) a los que se le inyectó solución salina al 0.9%. (Tabla N°1)

Fármaco	Dosis (mg/kg)	N° de Ratones (n)
Solución salina	0,9%	8
Nortriptilina	0,1	8
	0,3	8
	1	8
	3	8
Ácido Valproico	25	8
	50	8
	100	8
	200	8

Tabla N°1: Número de ratones para cada dosis de fármaco.

4. Test de la formalina orofacial

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó utilizando una modificación del test algésiométrico orofacial de la formalina de Luccarini (26), que permite medir dolor originado tras estimulación nociceptiva del nervio trigémino en ratones. Para ello se realizó una inyección subcutánea de 20 μ L de solución de formalina al 2% en el labio superior del animal (Fig. N°9 y N°10). Ello induce un sostenido frotamiento de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal con la extremidad delantera y trasera ipsilateral y en menor proporción, con la extremidad delantera contralateral (Fig. N°11). Los ratones se colocaron en el cilindro de observación y con un cronómetro digital se midió el tiempo total que se frotaron el área perinasal durante los 5 minutos inmediatos a la inyección y que corresponde a la fase I. Luego se registró por 10 minutos, a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30 minutos, el tiempo durante el cual los animales se frotaron el labio comprometido y que corresponde a la fase II. No se contabilizó el tiempo entre la fase algésica y la inflamatoria, debido a que el ratón se encuentra en un período de quietud (26).

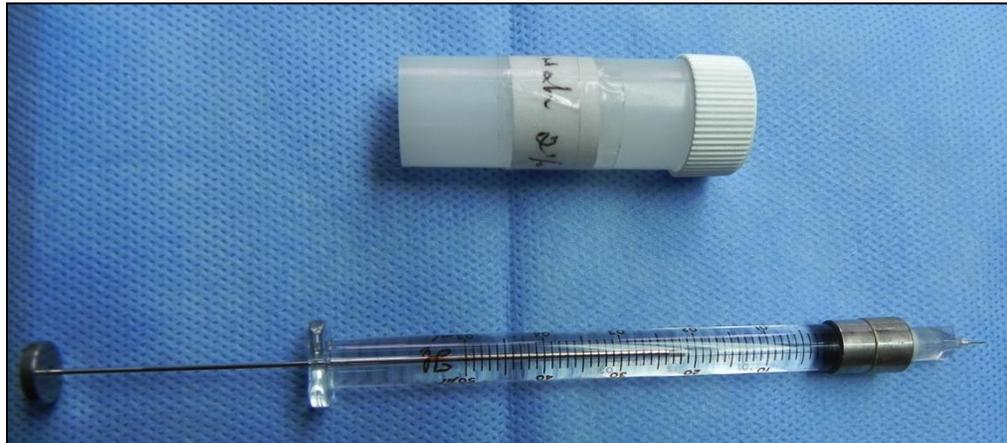
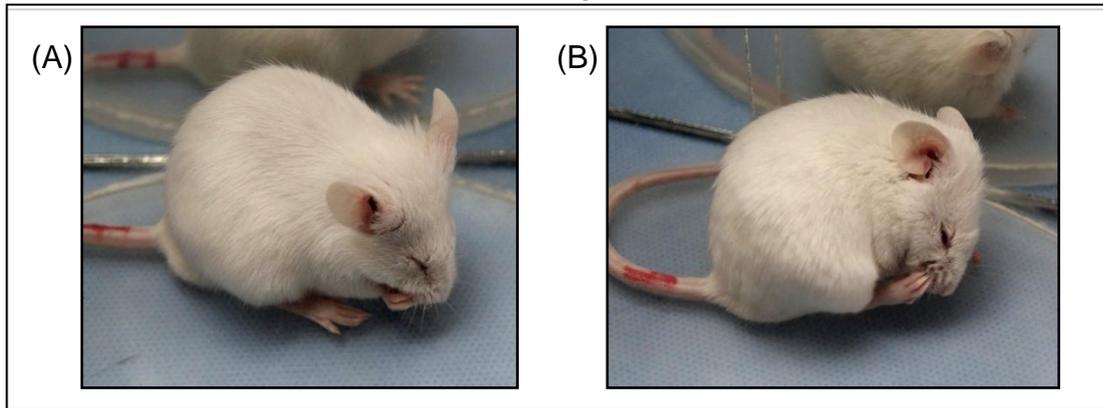


Figura N°9: Jeringa Hamilton 50 μ L para inyección subcutánea y recipiente contenedor de formalina al 2%



Figura N°10: Inyección de formalina al 2% en labio superior derecho del animal

5. Evaluación de la actividad antinociceptiva



Se construyó una curva dosis-respuesta para establecer la relación entre la concentración (dosis) del fármaco y la respuesta en ambas fases, en escala logarítmica. El efecto máximo posible de antinocicepción (MPE) fue calculado de la siguiente forma:

$$\%MPE = 100 - \left(\frac{TRF}{TRC} \right) \times 100$$

Donde:

%MPE = Máximo efecto posible.

TRF = Tiempo de rascado luego de inyectar el fármaco.

TRC = Tiempo de rascado de los controles.

En este cálculo, un valor cercano a 0% indica que el tiempo de rascado es igual al grupo control, es decir, no existe un efecto antinociceptivo y 100% significa que los animales no realizaron el rascado de la zona.

Luego se calculó la dosis efectiva que produce un 50% del efecto máximo posible (MPE) que en adelante se denominará DE50. El DE50 de cada uno de los fármacos y en cada una de las fases se calculó mediante análisis de regresión lineal por cuadrados mínimos de la curva obtenida.

6. Estudio de la interacción antinociceptiva de los fármacos

Para determinar la naturaleza y magnitud de la interacción entre nortriptilina y ácido valproico se utilizará el método isobolográfico de Tallarida (53). Esto se logra a través de representaciones gráficas de dosis isoefectivas de cada fármaco utilizado de forma individual y combinados. Para ello, se administró vía i.p. ambos fármacos de forma conjunta, en proporciones de 1:1 y en mezclas de fracciones 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de la correspondiente suma de DE50 de nortriptilina y DE50 de ácido valproico, tanto como para fase I como para fase II (Tabla N°2). Con esto se obtienen curvas dosis-respuesta de cada combinación, las cuales se analizan mediante regresión lineal por cuadrados mínimos para calcular las DE50 de cada una de estas mezclas.

Fármaco	Dosis (mg/kg)	Nº de Ratones (n)
Mezcla de DE50 nortriptilina + DE50 ácido valproico (Fase I)	1/2 Mezcla	8
	1/4 Mezcla	8
	1/8 Mezcla	8
	1/16 Mezcla	8
Mezcla de DE50 nortriptilina + DE50 ácido valproico (Fase I)	1/2 Mezcla	8
	1/4 Mezcla	8
	1/8 Mezcla	8
	1/16 Mezcla	8

Tabla Nº2: Número de ratones para cada dosis de fármacos combinados (mezcla).

Esta dosis se compara estadísticamente con la dosis que representa teóricamente la adición simple de efectos, que se obtiene según la siguiente fórmula:

$$DE50 \text{ aditividad teórica} = \frac{DE50 \text{ nortriptilina}}{(P1 + R \times P2)}$$

Donde:

- R: relación de potencia entre los fármacos administrados por separado
- P1: proporción de nortriptilina en la mezcla.
- P2: proporción de ácido valproico en la mezcla.

Según el método isoblográfico de Tallarida, el punto experimental resultante se grafica en un sistema de coordenadas cartesianas que contienen una línea que conecta la DE50 de nortriptilina en la abscisa con la DE50 de ácido valproico en la ordenada (línea de aditividad simple o teórica). La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. Si la interacción es sinérgica (supraditiva), el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso de una interacción antagónica, el punto se ubica 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 (47). Al mismo tiempo, se calcula el índice de interacción entre las drogas, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Interacción} = \frac{DE50 \text{ experimental}}{DE50 \text{ teórico}}$$

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

7. Análisis de los datos

Los resultados se expresarán como promedio \pm error estándar del promedio (EEM). Los datos obtenidos se expresaron en curvas logarítmicas dosis – respuestas construidas mediante regresión lineal por cuadrados mínimos y a partir de ellas se determinó las DE50. Los parámetros estadísticos fueron calculados en el programa Pharm Tools Pro, versión 1.27 (McCary Groups, Inc., PA, USA) y la significancia estadística se determinará por análisis de varianza y pruebas t de Student, considerando un nivel del 5% ($p < 0,05$).

VI. RESULTADOS

1. Evaluación de la analgesia

1.1 Grupo control

Al grupo control se le administró una solución salina al 0,9% vía i.p. y luego de 30 minutos se inyectó formalina al 2% en el labio superior derecho de cada animal. El tiempo de frotamiento de la zona labial y perinasal se detalla en la Tabla N°3.

Tiempo promedio de frotado en grupo control (segundos)	
Fase I	Fase II
92,38 ± 1,44	95,25 ± 3,18

Tabla N°3: Tiempos de frotado grupo control. Tiempo promedio ± EEM de 8 animales para Fase I y II del test de formalina orofacial.

1.2 Efecto antinociceptivo de nortriptilina

La respuesta al test de la formalina orofacial de los grupos tratados con nortriptilina, la cual fue administrada i.p. 30 minutos antes, resultó en una disminución en el tiempo de frotamiento dosis-dependiente respecto al grupo control tanto en la fase I (Gráfico N°1) como en la fase II (Gráfico N°2). Al promedio de las mediciones y sus EEM se les aplicó t-student con respecto al control, cumpliendo con $p < 0,05$.

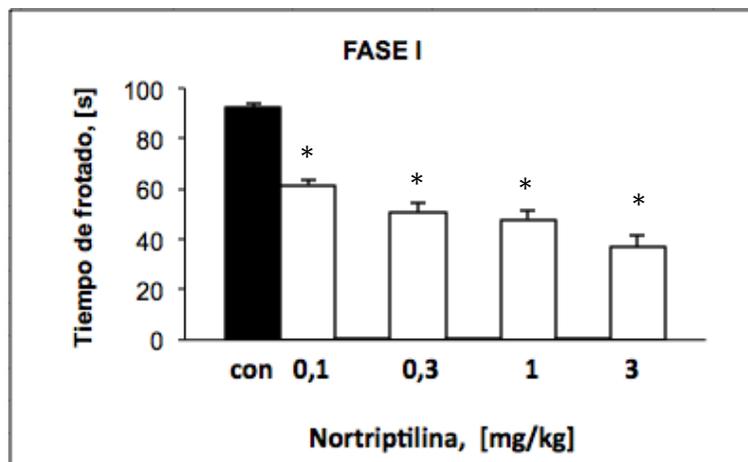


Gráfico N°1: Relación dosis-respuesta de la administración de nortriptilina i.p. en fase I del test de la formalina orofacial respecto al grupo control (con). Las barras corresponden al promedio ± EEM de 8 animales para cada dosis. * = $p < 0,05$ comparado con el grupo control.

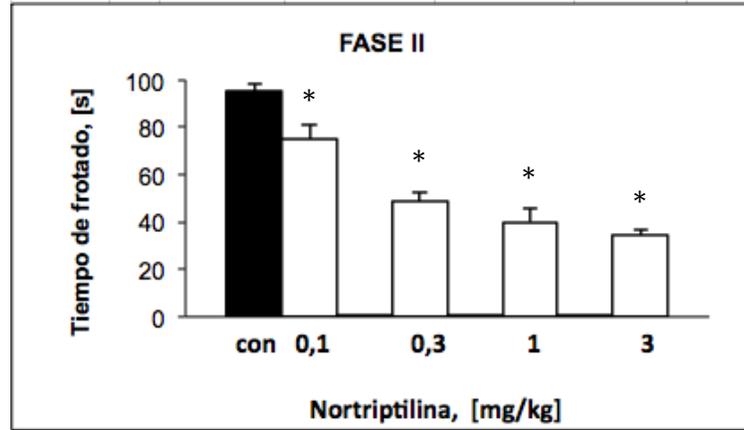


Gráfico N°2: Relación dosis-respuesta de la administración de nortriptilina i.p. en fase II del test de la formalina orofacial respecto al grupo control (con). Las barras corresponden al promedio \pm EEM de 8 animales para cada dosis. * = $p < 0,05$ comparado con el grupo control.

1.2.1 Curvas dosis-respuesta y cálculo de DE50 para nortriptilina

Se construyeron curvas dosis-respuesta para establecer la relación entre la dosis de nortriptilina y su respuesta antinociceptiva para ambas fases. La abscisa, en escala logarítmica, representa las concentraciones de nortriptilina. La ordenada, el %MPE (efecto máximo posible de antinocicepción). (Gráficos N°3 y N°4)

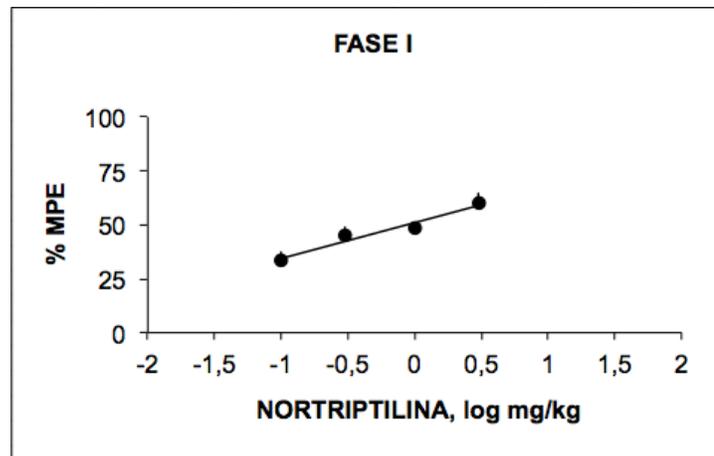


Gráfico N°3: Curva dosis-respuesta para la administración i.p. de nortriptilina en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales para cada dosis.

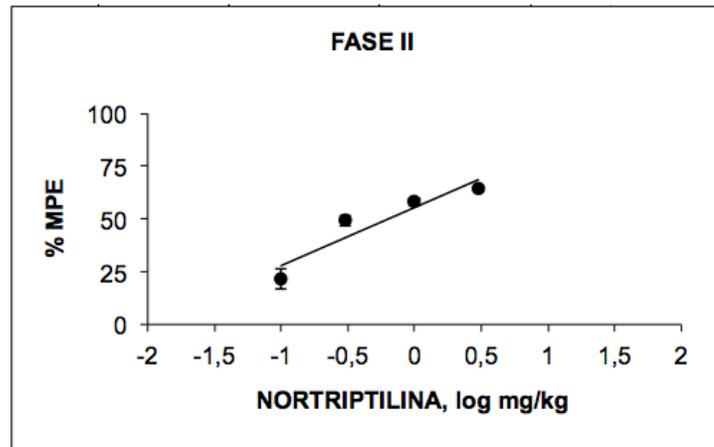


Gráfico N°4: Curva dosis-respuesta para la administración i.p. de nortriptilina en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales para cada dosis.

Mediante el análisis de regresión lineal por cuadrados mínimos de los gráficos N°3 y N°4, se obtiene la ecuación para cada fase (Tabla N°4). Una vez despejada la ecuación fijando $y = 50\%MPE$ se puede obtener la DE50. Aplicando el método de estimación del programa Pharm Tools Pro se obtiene el DE50 y su EEM para la nortriptilina en fase I y II con límite de confianza del 95% (95%CL) (Tabla N°4).

	FASE I	FASE II
Nortriptilina	$y = 16,601 * x + 50,993$	$y = 27,563 * x + 55,431$
	DE50: 0,871 \pm 0,190 [mg/kg]	DE50: 0,635 \pm 0,218 [mg/kg]

Donde,
 y: %MPE
 x: log D_F
 D_F : Dosis de nortriptilina

Tabla N°4: DE50 de nortriptilina obtenido a partir de su respectiva ecuación de la recta para fase I y fase II del test de la formalina orofacial.

1.3 Efecto antinociceptivo del ácido valproico

La respuesta al test de la formalina orofacial de los grupos tratados con ácido valproico, el cual fue administrado i.p. 30 minutos antes, resultó en una disminución en el tiempo de frotamiento dosis-dependiente respecto al grupo control tanto en la fase I (Gráfico N°5) como en la fase II (Gráfico N°6). Al promedio de las mediciones y sus EEM se les aplicó t-student con respecto al control, cumpliendo con $p < 0,05$.

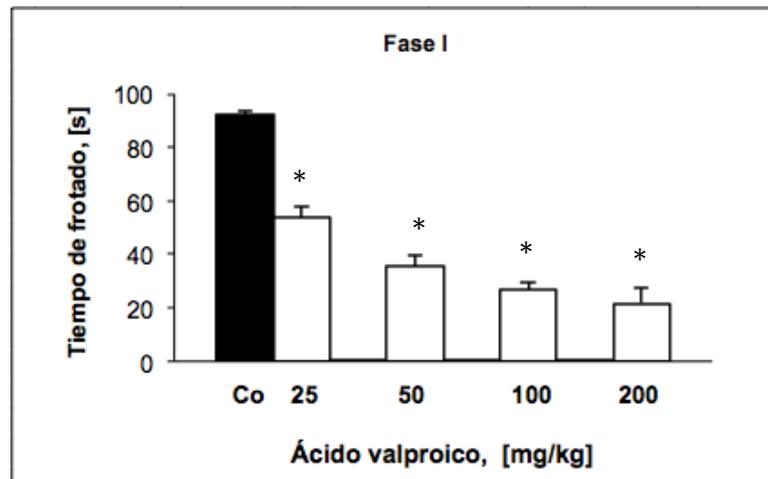
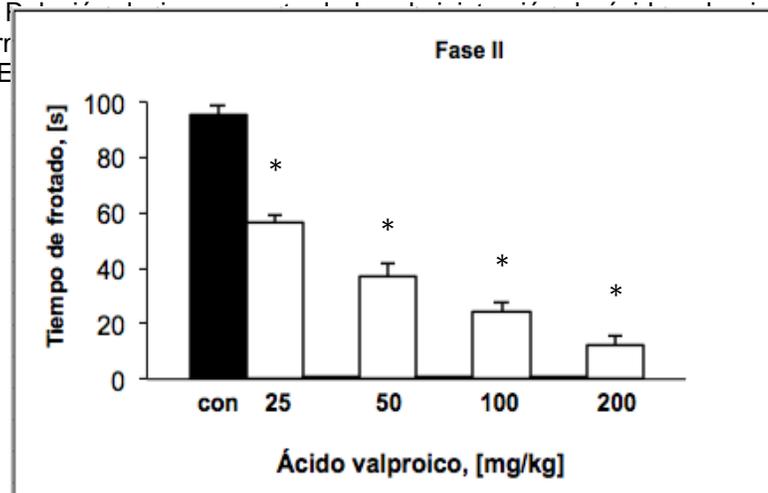


Gráfico N°5: Relación dosis-respuesta de la administración de ácido valproico en fase I del test de la formalina orofacial respecto al grupo control (con). Las barras corresponden al promedio \pm EE



en fase I del test de la formalina orofacial respecto al grupo control.

Gráfico N°6: Relación dosis-respuesta de la administración de ácido valproico en fase II del test de la formalina orofacial respecto al grupo control (con). Las barras corresponden al promedio \pm EE de 8 repeticiones por grupo con $p < 0,05$ con respecto al grupo control.

1.3.1 Curvas dosis-respuesta y cálculo de DE50 para ácido valproico

Se construyeron curvas dosis-respuesta para establecer la relación entre la dosis de ácido valproico y su respuesta antinociceptiva para ambas fases. La abscisa, en escala logarítmica, representa las concentraciones de ácido valproico.

La ordenada, el %MPE (efecto máximo posible de nocicepción). (Gráficos N°7 y N°8)

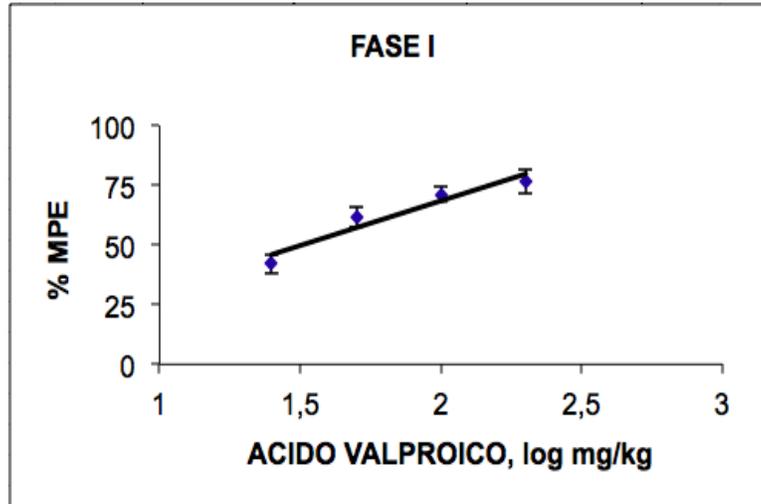


Gráfico N°7: Curva dosis-respuesta para la administración i.p. de ácido valproico en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales para cada dosis.

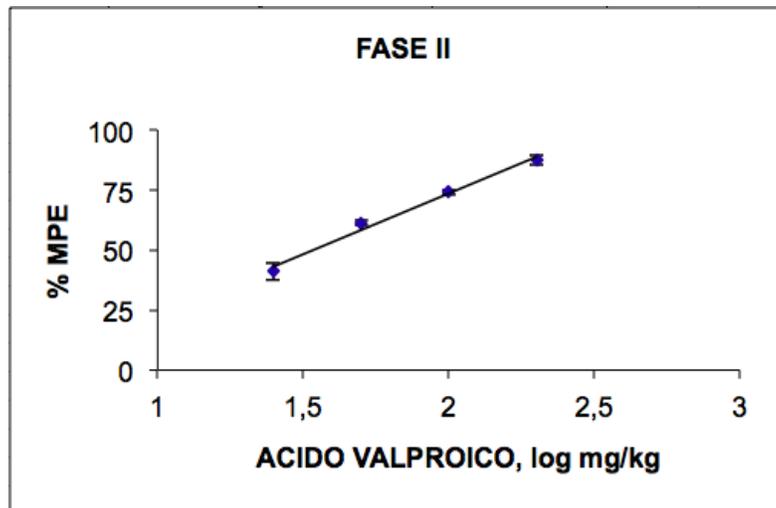


Gráfico N°8: Curva dosis-respuesta para la administración i.p. de ácido valproico en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales para cada dosis.

Mediante el análisis de regresión lineal por cuadrados mínimos de los gráficos N°7 y N°8, se obtiene la ecuación para cada fase (Tabla N°5).

Aplicando el método de estimación del programa Pharm Tools Pro se obtiene el DE50 y su EEM para ácido valproico en fase I y II con límite de confianza del 95% (95%CL) (Tabla N°5).

	FASE I	FASE II
Ácido Valproico	$y = 37,441 * x - 6,425$	$y = 50,583 * x - 27,675$
	DE50: $32,138 \pm 7,173$ [mg/kg]	DE50: $34,324 \pm 2,936$ [mg/kg]

Donde,
 y: %MPE
 x: $\log D_F$
 D_F : Dosis de ácido valproico

Tabla N°5: DE50 de ácido valproico obtenido a partir de su respectiva ecuación de la recta para fase I y fase II del test de la formalina orofacial.

2. Interacción entre nortriptilina y ácido valproico

2.1 Obtención de la mezcla nortriptilina/ácido valproico

Tras la obtención de los DE50 de ambos fármacos, se sumaron en proporción 1:1 para obtener la mezcla nortriptilina/ácido valproico a administrar vía i.p. en sus fracciones 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 tanto para fase I como para fase II (Tabla N°6 y N°7).

	DE50 nortriptilina + DE50 ácido valproico en fase I [mg/kg]	1/2 [mg/kg]	1/4 [mg/kg]	1/8 [mg/kg]	1/16 [mg/kg]
Mezcla nortriptilina/ácido valproico para Fase I	33,01	16,505	8,253	4,126	2,063

Tabla N°6: Suma de DE50 de ambos fármacos y fracciones de esta mezcla a administrar vía i.p., para el cálculo de DE50 experimental en fase I del test de la formalina orofacial.

	DE50 nortriptilina + DE50 ácido valproico en fase II [mg/kg]	1/2 [mg/kg]	1/4 [mg/kg]	1/8 [mg/kg]	1/16 [mg/kg]
Mezcla nortriptilina/ácido valproico para fase II	34,95	17,47	8,73	4,36	2,18

Tabla N°7: Suma de DE50 de ambos fármacos y fracciones de esta mezcla a administrar vía i.p., para el cálculo de DE50 experimental en fase II del test de la formalina orofacial.

2.2 Grupo tratado con mezcla de nortriptilina y ácido valproico en fase I

Al coadministrar por vía i.p. nortriptilina y ácido valproico en proporción 1:1 cada una de sus correspondientes mezclas de DE50 (1/2, 1/4, 1/8 y 1/16) resultó en una disminución dosis-dependiente de la respuesta nociceptiva con respecto al grupo control durante la fase I (Gráfico N°8). Al promedio de las mediciones y sus EEM se les aplicó t-student con respecto al control, cumpliendo con $p < 0,05$.

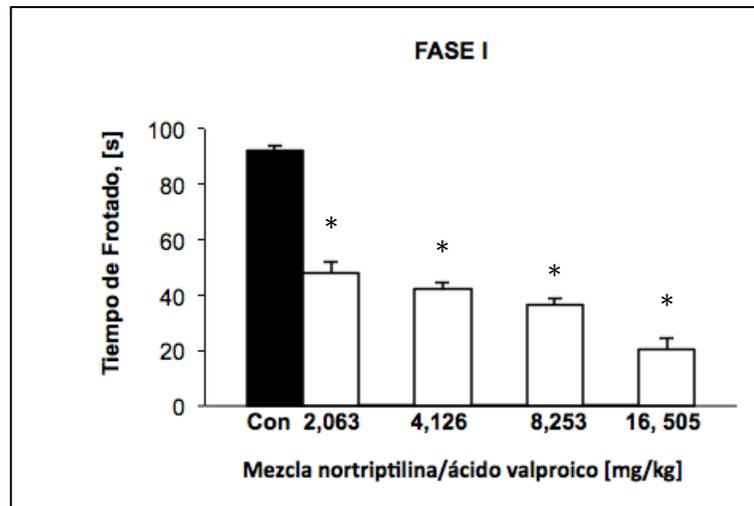


Gráfico N°8: Relación dosis-respuesta de la administración i.p. de la mezcla nortriptilina/ácido valproico durante la fase I del test de la formalina orofacial respecto al grupo control (Con). Las barras corresponden al promedio \pm EEM de 8 animales para cada dosis. * = $p < 0,05$ comparado con el grupo control.

2.2.1 Curva dosis-respuesta de la mezcla en fase I

Para el cálculo de la DE50 experimental de la mezcla de nortriptilina con ácido valproico durante la fase I se realizó una curva dosis-respuesta de la acción antinociceptiva. La abscisa, en escala logarítmica, representa la dosis de la mezcla. La ordenada, el %MPE. (Gráfico N°9)

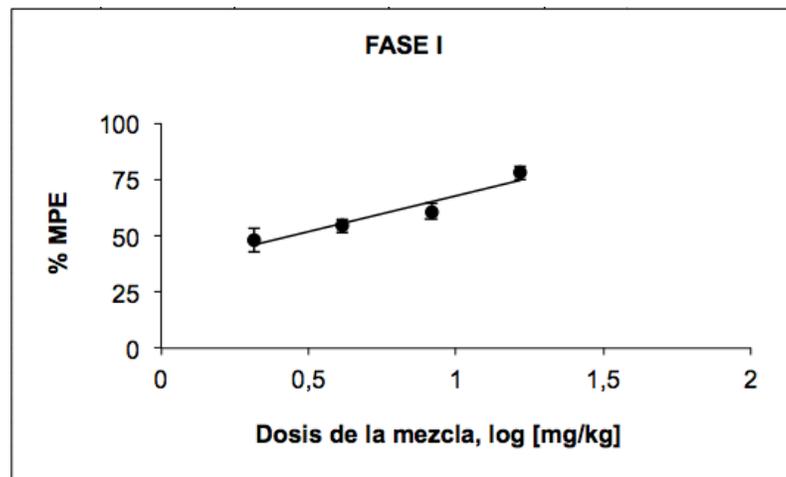


Gráfico N°9: Curva dosis-respuesta de la administración i.p. de la mezcla nortriptilina/ácido valproico en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 animales para cada dosis.

2.3 Grupo tratado con la mezcla de nortriptilina y ácido valproico en fase II

Al coadministrar por vía i.p. nortriptilina y ácido valproico en proporción 1:1 cada una de sus correspondientes mezclas de DE50 (1/2, 1/4, 1/8 y 1/16) resultó en una disminución dosis-dependiente de la respuesta nociceptiva con respecto al grupo control durante la fase II (Gráfico N°10). Al promedio de las mediciones y sus EEM se les aplicó t-student con respecto al control, cumpliendo con $p < 0,05$.

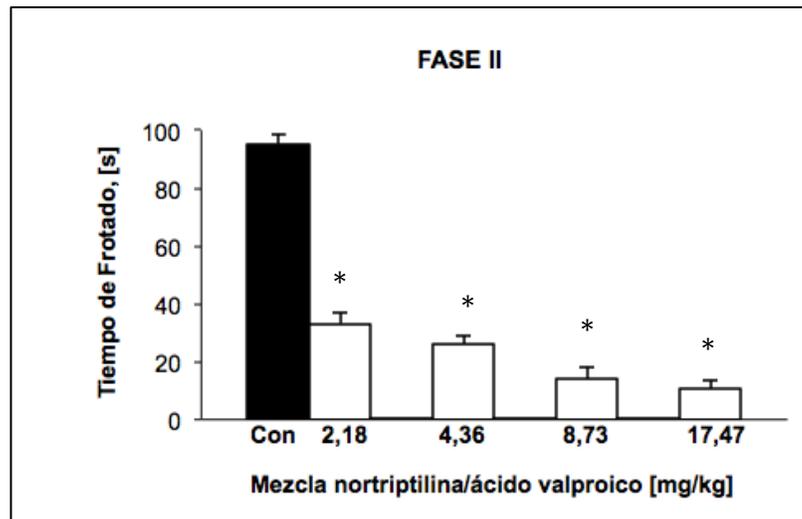


Gráfico N°10: Relación dosis-respuesta de la administración i.p. de la mezcla nortriptilina/ácido valproico durante la fase II del test de la formalina orofacial respecto al grupo control (Con). Las barras corresponden al promedio \pm EEM de 8 animales para cada dosis. * = $p < 0,05$ comparado con el grupo control.

2.3.1 Curva dosis-respuesta de la mezcla en fase II

Para el cálculo de la DE50 experimental de la mezcla de nortriptilina con ácido valproico durante la fase II se realizó una curva dosis-respuesta de la acción antinociceptiva. La abscisa, en escala logarítmica, representa la dosis de la mezcla. La ordenada, el %MPE. (Gráfico N°11)

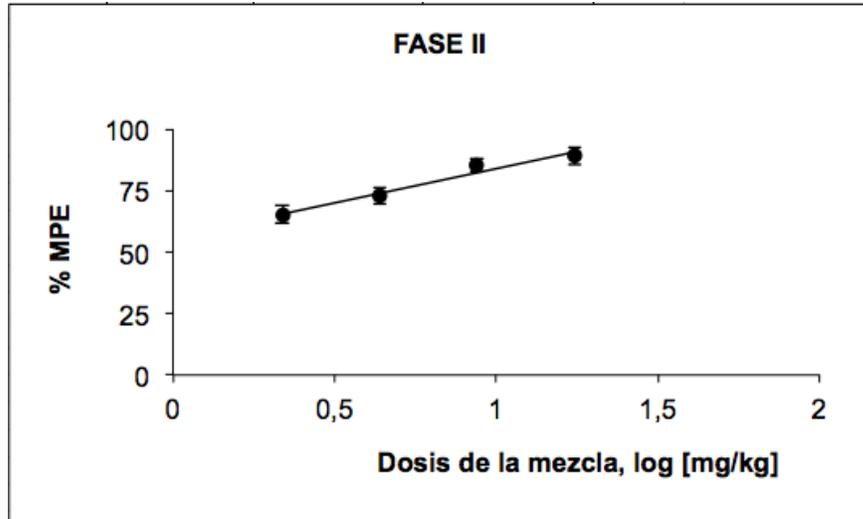


Gráfico N°11: Curva dosis-respuesta de la administración i.p. de la mezcla nortriptilina/ácido valproico en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio de 8 animales para cada dosis.

Mediante el análisis de regresión lineal por cuadrados mínimos de los gráficos N°9 y N°11, se obtiene la ecuación para cada fase (Tabla N°8). Una vez despejada la ecuación fijando $y = 50\%MPE$ se puede obtener la DE50. Aplicando el método de estimación del programa Pharm Tools Pro se obtiene el DE50 y su EEM para la mezcla nortriptilina/ácido valproico (DE50 experimental) en fase I y II con límite de confianza del 95% (95%CL) (Tabla N°8).

	FASE I	FASE II
Mezcla nortriptilina/ácido valproico	$y = 31,781 * x + 35,906$ DE50: 2,605 ± 0,541 [mg/kg]	$y = 27,864 * x + 56,037$ DE50: 0,607 ± 0,205 [mg/kg]

Donde,
 y: %MPE
 x: $\log D_F$
 D_F : Dosis de nortriptilina/ácido valproico

Tabla N°8: DE50 de la mezcla nortriptilina/ácido valproico obtenido a partir de su respectiva ecuación de la recta para fase I y fase II del test de la formalina orofacial.

3.

Análisis isoblográfico

Los valores DE50 para la mezcla nortriptilina/ácido valproico en cada una de sus fases calculados anteriormente en Tablas N°7 y N°8 se utilizarán para el análisis isobolográfico. Para comparar el DE50 experimental de la mezcla es necesario calcular el DE50 de aditividad teórica para cada fase, de este modo se tiene para la fase I:

$$DE50 \text{ de aditividad teórica fase I} = \frac{DE50 \text{ nortriptilina en fase I}}{(P1 + R \times P2)}$$

$$DE50 \text{ de aditividad teórica fase I} = \frac{0,871}{\left(\frac{0,871}{33,01}\right) + \left(\frac{0,871}{32,138}\right) \times \left(\frac{32,138}{33,01}\right)} [mg/kg]$$

$$DE50 \text{ de aditividad teórica fase I} = 16,505 [mg/kg]$$

Mientras que para fase II, se tiene que:

$$DE50 \text{ de aditividad teórica fase II} = \frac{DE50 \text{ nortriptilina en fase II}}{(P1 + R \times P2)}$$

$$DE50 \text{ de aditividad teórica fase II} = \frac{0,635}{\left(\frac{0,635}{34,95}\right) + \left(\frac{0,635}{34,324}\right) \times \left(\frac{34,324}{34,95}\right)} [mg/kg]$$

$$DE50 \text{ de aditividad teórica fase II} = 17,475 [mg/kg]$$

Se realizó el análisis isobolográfico de la asociación de nortriptilina con ácido valproico, dando como resultado una interacción de tipo sinérgica tanto para fase I como para fase II, con diferencias estadísticamente significativas para ambas, entre DE50 teórico y experimental. Esto se concluye a partir de la ubicación del punto experimental bajo la línea de aditividad teórica, con índices de interacción menores a 1 en ambas fases. (Gráfico N° 11 y N°12)

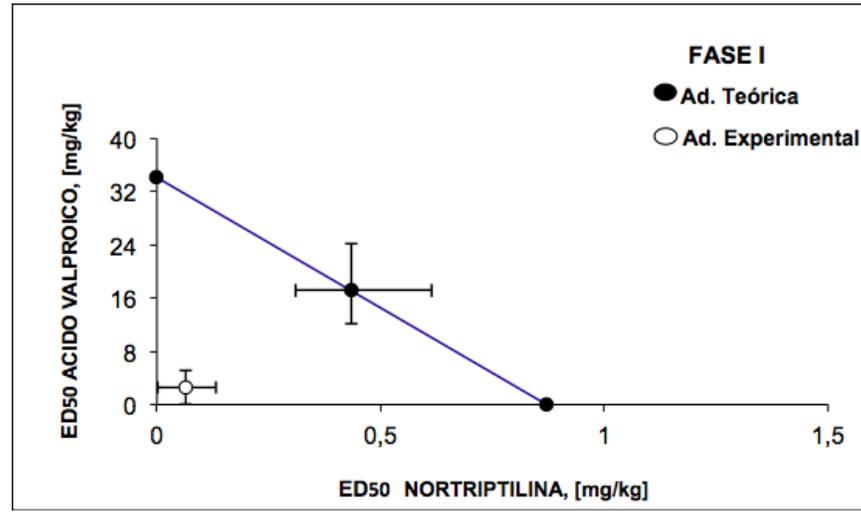


Gráfico 11: Isoblograma de la interacción entre nortriptilina y ácido valproico para la fase I en el Test de la Formalina Orofacial. El punto (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla. El punto (○) representa el punto de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes límites de confianza (LC) al 95%

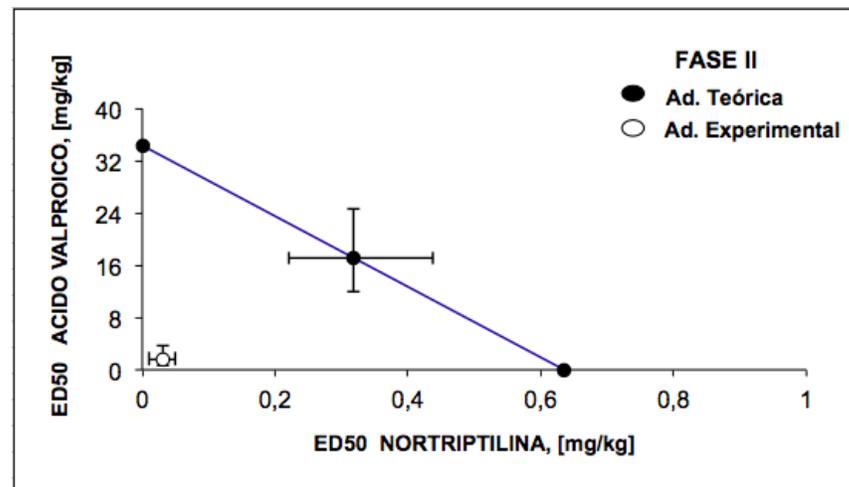


Gráfico 12: Isoblograma de la interacción entre nortriptilina y ácido valproico para la fase II en el Test de la Formalina Orofacial. El punto (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla. El punto (○) representa el punto de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes límites de confianza (LC) al 95%

VII. DISCUSIÓN

En esta investigación se utilizó el test de la formalina orofacial para inducir la nocicepción en ratones con administración previa de nortriptilina (0.1, 0.3, 1 y 3 [mg/kg]), ácido valproico (25, 50, 100 y 200 [mg/kg]) y la combinación 1:1 de la DE50 de ambos. El test de la formalina orofacial muestra un comportamiento bifásico de la respuesta nociceptiva del animal, para lo cual se asocia la fase I a dolor agudo relacionado con la activación directa de nociceptores a nivel periférico y la fase II, por su parte, corresponde a la fase inflamatoria, y se puede asociar al dolor crónico neuropático de origen periférico (4,51).

Este estudio demostró que tanto la nortriptilina como el ácido valproico producen la disminución de la nocicepción de forma dosis-dependiente, tanto en la fase I como en la fase II de este test algesiométrico.

La nortriptilina demostró ser 1,3 veces más efectiva en la fase inflamatoria (fase II) que en la fase aguda (fase I) del test de la formalina orofacial en ratones. Se entiende a partir de esto que la nortriptilina podría tener una acción ligeramente más marcada a nivel central en los procesos de sensibilización relacionados con la fase inflamatoria.

Estudios similares han reportado que la nortriptilina produce un efecto antinociceptivo dosis-dependiente en el test de la formalina intraplantar en ratas, pero no se estudió el efecto para cada fase, sino un efecto continuo (54). Por otra parte, en ratones también se ha probado la nortriptilina en el test de la formalina intraplantar dando un resultado de antinocicepción dosis-dependiente, pero no es comparable pues solamente se contabilizaron dos minutos luego de la inyección de formalina (55). En cuanto a test de formalina orofacial, se puede comparar con estudios de su precursor amitriptilina, ya que no hay estudios disponibles en esta región para nortriptilina, Luccarini et. al. (2004) estudió la actividad antinociceptiva de amitriptilina en ratas, donde llegó a la conclusión que existe una disminución de la respuesta dosis-dependiente en ambas fases del test de la formalina orofacial (56).

El ácido valproico administrado vía i.p. en ratones demostró tener efectividad antinociceptiva dosis-dependiente en ambas fases del test de la

formalina orofacial, que arroja una relación de 1,06 veces mayor efecto en la fase I o aguda del test que en la fase II. La efectividad antinociceptiva del ácido valproico está relacionada con el aumento de las concentraciones de GABA en el sistema nervioso central, así como el bloqueo de la descarga en neuronas, lo cual puede tener relación con su acción en la fase aguda del test. Para la fase II se puede deber a la sensibilización central provocada por mecanismos GABAérgicos (57).

Otros estudios han medido la efectividad de ácido valproico en modelos animales de dolor. Czuczwar M. et. al. (2001) experimentaron con ratones en un test de formalina intraplantar, llegando a la conclusión que este fármaco produce una acción antinociceptiva dosis-dependiente en ambas fases del test, sin constatar diferencias significativas entre fase I y II, midiendo la fase II entre el minuto 10 y el minuto 30 (57). Contrariamente, Shannon H. et. al. (2005) realizaron el test de la formalina intraplantar a ratas, administrando previamente ácido valproico vía i.p., y no reportaron un efecto antinociceptivo significativo de este fármaco en ninguna de las dos fases del test (58). Piovesan EJ. et. al. (2008) realizaron el test de la formalina orofacial en ratas previamente inyectadas i.p. con divalproex, que corresponde a un compuesto del valproato de sodio con ácido valproico en proporción 1:1, obteniendo como resultado que este fármaco era solamente efectivo en la fase II del estudio, que se consideró desde el minuto 12 al 30 luego de la inyección de formalina (59).

Se desprende de los resultados variados de ambos fármacos, que no existe una buena correlación entre las respuestas a las pruebas nociceptivas de la formalina intraplantar con la orofacial, lo que sugiere que los fármacos pueden tener diferentes efectos en la conducta de los animales en uno u otro modelo nociceptivo, pues se sabe que los mecanismos nociceptivos tienen diferencias de acuerdo a si se producen en el área trigeminal o en el resto del cuerpo (1). Además se debe tener en consideración las diferencias metodológicas, el tipo de animal utilizado, su cepa, la concentración de formalina, entre otros (56).

No existen estudios en la literatura sobre combinación de estos fármacos y su efecto antinociceptivo en animales ni en humanos. En el presente estudio, la combinación de nortriptilina con ácido valproico igualmente logró mejorar la antinocicepción de forma dosis-dependiente en ambas fases, sobretodo en la fase

II del test en la cual fue 3,4 veces más potente que en la fase I, y se logró mayor antinocicepción que la producida por cada fármaco por sí solo.

Los resultados obtenidos de la combinación y su mayor efecto en fase II que en fase I del test de la formalina orofacial, hacen pensar que ambos fármacos tienen marcada actividad a nivel central, ya que el proceso de sensibilización central ocurre en la médula espinal (1) donde se presume que tanto la nortriptilina como el ácido valproico tienen mecanismos de acción que siguen una vía en común, como lo es la inhibición serotoninérgica (más marcada en la actividad del ácido valproico), inhibición común de canales de sodio y calcio, entre otros mecanismos de acción que comparten el fin común de aumentar la inhibición de los impulsos nociceptivos a nivel de la médula espinal, lo que parecería estar provocando esta interacción sinérgica entre ambos (24, 21). Se requerirán futuros estudios para comprender el mecanismo implicado en esta interacción.

La interacción entre ambos fármacos como antinociceptivos dosis-dependiente, resultó ser fuertemente sinérgica, tal como se planteó al inicio de este trabajo, lo que significa que para lograr el mismo efecto de analgesia se deben administrar dosis inferiores de cada fármaco (20).

Este estudio entrega una base para continuar la investigación al respecto, con el fin de dilucidar en el futuro la relación de ambos fármacos ya utilizados desde hace años como analgésicos, en terapia de combinación en humanos. Se sabe que la nortriptilina se utiliza actualmente para el manejo de dolor neuropático en humanos como terapia de primera línea (22), sin embargo, por sus efectos adversos compartidos con otros antidepresivos tricíclicos, muchos pacientes dejan el tratamiento (48). Por otra parte, el ácido valproico, si bien está considerado en el tratamiento del dolor neuropático (31), se postula como elección de cuarta línea (13) pues existen pocos estudios que midan la efectividad de este fármaco ante este tipo de dolor y de esta forma puedan validarlo, menos aún a nivel orofacial, probablemente por sus efectos adversos (24). Es por esto que hoy en día se considera en las líneas de tratamiento, pero se deja para pacientes que fracasan en las terapias con los otros fármacos recomendados o bien, no pueden acceder a estos (23).

En este estudio se observó una marcada actividad antinociceptiva dosis-dependiente en fase II de la mezcla de los fármacos, que podría asociarse a los

mecanismos de dolor neuropático a nivel orofacial, lo que hace pensar que probablemente a este nivel, el ácido valproico en conjunto con la nortriptilina obtengan buenos resultados en clínica para la modulación de este tipo de dolor, pues su interacción sinérgica permitiría disminuir las dosis de cada uno para lograr satisfactorios resultados antinociceptivos, y consiguientemente, disminuir los efectos adversos que provocan en dosis más altas, lo cual facilitaría el apego al tratamiento (20).

El estudio realizado entrega una base para futuras investigaciones de laboratorio o clínicas sobre la combinación de nortriptilina y ácido valproico con el fin de otorgar alivio en pacientes que sufren de dolor neuropático a nivel orofacial, principalmente en patologías de prevalencia importante como lo son neuralgia del trigémino, neuralgia post-herpética u odontalgia atípica, ya que aún no existe un adecuado manejo de este tipo de dolor (20) y se hace necesario avanzar con nuevas terapias farmacológicas como lo es la terapia de combinación de fármacos, que permite reducir los efectos adversos que muchas veces son la causa principal de abandono del tratamiento por parte de los pacientes.

Generalmente las pruebas de los fármacos a utilizar se realizan en zonas distintas del cuerpo del animal de experimentación, como lo es en la zona plantar, por lo que urge en el ámbito odontológico darle cabida a pruebas nociceptivas en el territorio orofacial que, como ya es sabido, constituye un territorio con una inervación y organización distinta al resto del cuerpo (1) y donde se producen dolores con características únicas.

La futura validación clínica de este estudio en animales será crítica para confirmar la validez de esta combinación de fármacos para la modulación del dolor neuropático a nivel orofacial.

VIII. CONCLUSIONES

- La coadministración de nortriptilina y ácido valproico, vía intraperitoneal, produce una interacción de tipo sinérgica entre ambos fármacos, en el test de la formalina orofacial.
- La administración intraperitoneal de nortriptilina o ácido valproico, así como la combinación de ambos, posee acción antinociceptiva dosis-dependiente tanto en la fase aguda (fase I) como en la fase inflamatoria del dolor (fase II) del test de la formalina orofacial.
- La nortriptilina tiene mayor efecto antinociceptivo en la fase inflamatoria del dolor (fase II) que en la aguda (fase I).
- El ácido valproico tiene un efecto antinociceptivo similar en la fase inflamatoria del dolor (fase II) y en la aguda (fase I).
- La mezcla nortriptilina/ácido valproico tiene mayor efecto antinociceptivo en la fase inflamatoria del dolor (fase II) en el test de la formalina orofacial.
- La sinergia obtenida tras la administración de nortriptilina y ácido valproico podría explicarse por que ambos modulan una vía común relacionado con la antinocicepción, como lo es el sistema inhibitorio a nivel central.
- La importancia de los resultados obtenidos es que dan las bases para la futura investigación clínica respecto a la analgesia multimodal con estos dos fármacos con el fin de lograr avances en la modulación del dolor neuropático a nivel orofacial.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Merrill R. (2007) Central Mechanisms of Orofacial Pain. *Dent Clin North Am.* 2007 Jan;51(1):45-59.
- (2) Lumley MA, Cohen JL, Borszcz GS, Cano A, Radcliffe AM, Porter LS, Schubiner H, Keefe FJ. (2011) Pain and Emotion: A Biopsychosocial Review of Recent Research. *J Clin Psychol.* 2011 Sep;67(9):942-68.
- (3) Barrot M. (2012). Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience.* 2012 Jun 1;211:39-50.
- (4) Paeile C., Bilbeny N. El dolor: de lo molecular a lo clínico, 3ª edición, Editorial Mediterráneo, Chile, 2005. p. 25-51. Cap. 1 – 2. / p. 189-198. Cap. 12. / p. 271-281. Cap. 19.
- (5) Allegri M, Clark MR, De Andrés J, Jensen TS. (2012) Acute and chronic pain: Where we are and where we have to go. *Minerva Anesthesiol.* 2012 Feb;78(2):222-35.
- (6) Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. (2009) Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell.* 2009 Oct 16;139(2):267-84.
- (7) Costigan M., Scholz J., Woolf CJ. (2009) Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annu Rev of Neurosci;* 2009;32:1-32.
- (8) Hargreaves KM. (2011). Orofacial Pain; *Pain*, 2011 Mar;152(3):S25-32.
- (9) Stucky Ch., Golg M., Zhang X. (2001) Mechanisms of pain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001 October 9; 98(21): 11845–11846.
- (10) Zepgi C, Miranda J, Letelier C, Contador R, Jaque J, Ramírez H. (2008) Prevalence of orofacial pain in the Pain and Palliative Care Unit, Hospital Clínico de la Universidad de Chile. R. *El Dolor.* 49:16-18.
- (11) Manns A, Díaz G. Sistema Estomatognático, Primera Edición, Editorial Empigraf, Chile, 1983.250 p. P 101-104. Cap. 3
- (12) Burchiel KJ. (1993) Trigeminal neuropathic pain. *Acta Neurochir Suppl (Wien).* 1993;58:145-9.
- (13) Moulin DE., Clark AJ., Gilron I., Ware MA., Watson CP., Sessle BJ., Coderre T., Morley-Forster PK., Stinson J., Boulanger A., Peng P., Finley GA.,

- Taenzer P., Squire P., Dion D., Cholkan A., Gilani A., Gordon A., Henry J., Jovey R., Lynch M., Mailis-Gagnon A., Panju A., Rollman GB., Velly A.; Canadian Pain Society. (2007) Pharmacological management of chronic neuropathic pain—Consensus statement and guidelines from the Canadian Pain Society. *Pain Res Manag.* 2007 Spring;12(1):13-21.
- (14) Baron R., Binder A., Wasner G.. (2010) Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *Lancet Neurol.* 2010 Aug;9(8):807-19.
- (15) Yalcin I., Choucair-Jaafar N., Benbouzid M., Tessier LH., Muller A., Hein L., Freund-Mercier MJ., Barrot M. (2009) β 2-adrenoceptors are critical for antidepressant treatment of neuropathic pain. *Ann Neurol.* 2009 Feb;65(2):218-25.
- (16) 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. *Ann Pharmacother.* 2011 Dec;45(12):1483-90.
- (17) Baad-Hansen L. (2008). Atypical odontalgia pathophysiology and clinical management; *J of Oral Rehab*; 35(1), pp. 1-11.
- (18) Saarto T., Wiffen PJ. (2012) Antidepressants for neuropathic pain: a Cochrane review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012 Dec;81(12):1372-3.
- (19) Zuloaga L. (2005) Farmacología básica del valproato. *J Clin Psychol*, 2005.
- (20) Chaparro LE., Wiffen PJ., Moore RA., Gilron I. (2012) Combination pharmacotherapy for the treatment of neuropathic pain in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 Jul 11;7:CD008943.
- (21) 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, randomized controlled crossover trial. *Lancet.* 2009 Oct 10;374(9697):1252-61.
- (22) Selph S., Carson S., Fu R., Thakurta S., Low A., McDonagh M, PharmD. (2011) Drug Class Review: Neuropathic Pain. *Portland (OR): Oregon Health & Science University*; 2011 Jun.
- (23) Gill D., Derry S., Wiffen PJ., Moore RA. (2011) Valproic acid and sodium valproate for neuropathic pain and fibromyalgia in adults. *Cochrane Database*

Syst Rev. 2011 Oct 5;(10):CD009183.

- (24) Winkler I., Blotnik S., Shimshoni J., Yagen B., Devor M., Bialer M. (2005) Efficacy of antiepileptic isomers of valproic acid and valpromide in a rat model of neuropathic pain. *Br J Pharmacol*; 2005 Sep;146(2): 198-208.
- (25) 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 J of Pain*;7(12), pp. 908-14.
- (26) Torregrosa S. (1994) Mecanismos y Vías del Dolor. *Boletín Esc. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile* 1994; 23: 202-206
- (27) Clifford J. Woolf (2010). What is this thing called pain?. *J Clin Invest.* 2010;120(11):3742–3744.
- (28) 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.
- (29) 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.
- (30) Voscopoulos C., Lema M. (2010) When does acute pain become chronic?. *Br J Anaest.* 2010 Dec; 105 (1):i69-85.
- (31) Maizels M., McCarberg B. (2005) Antidepressants and antiepileptic drugs for chronic non-cancer pain. *Am Fam Physician.* 2005 Feb 1;71(3):483-90.
- (32) Dubin A., Patapoutian A. (2010) Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest.* 2010;120(11):3760–3772.
- (33) Almeida TF., Roizenblatt S., Tufik S. (2004). Afferent pain pathways: a neuroanatomical review; *Brain Res.* 2004 Mar 12; 1000 (1-2):40-56.
- (34) Zhuo M. (2007) Neuronal mechanism for neuropathic pain. *Mol Pain.* 2007 Jun 6;3:14.
- (35) Nieto MJ., Cruciani RA. (2006) Fisiopatología y tratamiento del dolor neuropático: avances más recientes. *Rev Soc Esp Dolor* 13 (2006);5 :312-327.
- (36) Serrano-Atero M., Peramo F., Cañas A., García-Saura P., Serrano-Álvarez C., Caballero J. (2002) Modulación descendente de la información

- nociceptiva. *Rev. Soc. Esp. Dolor*. 2001;9: 382-390.
- (37) Campbell J., Meyer R. (2006) Mechanisms of Neuropathic Pain. *Neuron*. 2006 October 5; 52(1): 77–92.
- (38) Perl ER. (2011) Pain mechanisms: a commentary on concepts and issues. *Prog Neurobiol*. 2011 Jun;94(1):20-38.
- (39) Rollman A., Visscher C., Gorter R., Naeije M. (2012) Care Seeking for Orofacial pain. *J Orofac Pain* 2012;26(3):206-214.
- (40) Dallel R., Villanueva L., Woda A., Voisin D. (2003). Neurobiology of trigeminal pain; *Med Sci*. 2003 May; 19(5):567-74.
- (41) Okesson J. Tratamiento de Oclusión y afecciones Temporomandibulares. 5ª Edición, Editorial Elsevier. 2003. P. 32-39 Cap. 2.
- (42) Sessle BJ. (2005). Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates. *Minerva Anesthesiol*. 2005 Apr;71:117-136.
- (43) Gómez-Barros J., Tortorici V. (2009). Mecanismos del dolor neuropático: del laboratorio a la clínica. *Arch Ven Farm Ter* ;Volumen 28, número 1, 2009.
- (44) Zakrzewska JM. (2010) Medical management of trigeminal neuropathic pains. *Expert Opin Pharmacother*. 2010 Jun;11(8):1239-54.
- (45) Bennetto L., Patel N., Fuller G. (2007). Trigeminal Neuralgia and its management. *BMJ*. 2007 January 27; 334(7586): 201–205.
- (46) Dietrich E., Papamitsou T., Dermentzopoulou-Theodoridou M. (2010) Neuropathic Orofacial Pain: Pathology, Management and Differential Diagnosis. *Res. J Med Sci* 4(2): 68-74, 2010.
- (47) Tallarida RJ. (2001) Drug Synergism: its detection and applications. *J Pharmacol Exp Ther*, 298(3):865-872.
- (48) Gillman P. (2007) Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. *Br J Pharmacol*. 2007 July; 151(6): 737–748.
- (49) Salas-Puis J. (2005) Farmacología del valproato sódico. *Emerg* 2005;17:S79-82.
- (50) 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. *J Pain*. 2011 Jun;12(6):633-9.
- (51) Le Bars D., Gozariu M., Cadden SW. (2001) Animals Models of Nociception. *Pharmacol Rev*. 2001 Dec;53(4):597-652.

- (52) Raboisson P., Dallel R. (2004) The orofacial formalin test. *Neurosci Biobehav Rev*, 2004 Apr;28(2):219-26.
- (53) Tallarida RJ. (2000). Drug synergism and dose-effect data analysis. *Chapman and Hall/CRC*, New York.
- (54) 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; *Anesth Analg*. 2002 Jul; 95(1):163-8.
- (55) Rojas-Corrales MO., Casas J., Moreno-Brea MR., Gilbert-Rahola J., Micó JA. (2003) Antinociceptive effects of tricyclic antidepressants and their noradrenergic metabolites; *Eur Neuropsychopharmacol*. 2003 Oct;13 (5):355-63.
- (56) 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*. 2004 Mar; 100(3):690-6.
- (57) Czuczwar M., Kis J., Swiader M., Turski WA., Przesmycki K. (2001) Evaluation of interaction between valproate and baclofen in the formalin test in mice. *Pol J Pharmacol*. 2001 Jan-Feb;53(1):51-4.
- (58) Shannon H., Eberle EL., Peters SC. (2005) Comparison of the effects of anticonvulsant drugs with diverse mechanisms of action in the formalin test in rats. *Neuropharmacology*. 2005 Jun;48(7):1012-20.
- (59) Piovesan EJ., Randunz V., Utiumi M., Lange MC., Kowacs PA., Mulinari RA., Oshinsky M., Vital M., Sereniki A., Fernandes AF., Silva LL., Werneck LC. (2008) Influence of NMDA and non-NMDA antagonists on acute and inflammatory pain in the trigeminal territory: a placebo control study. *Arq Neuropsiquiatr*. 2008 Dec;66(4):837-43.

X. ANEXOS

Se adjunta a continuación:

- Anexo N°1: Certificado de Aprobación del comité de bioética sobre investigación en animales.
- Anexo N°2: Certificado de Aprobación de Bioseguridad



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

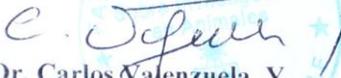
CERTIFICACIÓN

Este Comité, certifica que en el Proyecto de Investigación titulado: ***“Interacción experimental de Nortriptilina y Ácido valproico en dolor orofacial experimental”*** cuyo investigador responsable es el **Dr. Hugo Miranda**, no se plantean acciones que contravengan las normas Bioéticas básicas de Manejo y Cuidados de los animales a utilizar en los procedimientos experimentales planificados (Protocolo CBA# 0515 FMUCH).

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

Se otorga la presente certificación por el tiempo que dure la realización del proyecto de tesis de Pregrado de la **Srta. Paulina Vicentelo** para obtener el título de Odontóloga.

El Comité de Bioética sobre Investigación en Animales de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile está constituido por nueve miembros con experiencia en el manejo y mantención de animales: 2 veterinarios, 6 académicos de diversas disciplinas y una periodista de esta Facultad. El certificado que emite el Comité procede de la aprobación del “PROTOCOLO DE MANEJO Y CUIDADOS DE ANIMALES DE LABORATORIO” después de un estudio acucioso por todos sus miembros y de la acogida de los investigadores o jefes de Bioterios, de las observaciones exigidas por el Comité.


 Dr. Carlos Valenzuela Y.
 Presidente

Santiago, 26 de Junio de 2012.

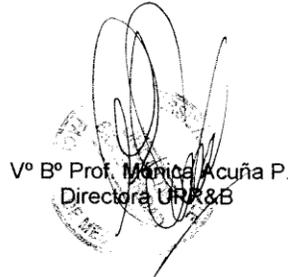
CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD

Yo Dr. Juan Carlos Prieto Domínguez, cédula de identidad 7.899.639-0, Jefe Laboratorio de Neurofarmacología del Dolor, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, certifico que la alumna pregrado Paulina Andrea Vicentelo Cáceres, trabajará en su tema tesis **"INTERACCIÓN EXPERIMENTAL DE NORTRIPTILINA Y ÁCIDO VALPROICO EN DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL"** bajo las dependencias del laboratorio que yo dirijo. No obstante, que esta alumna pregrado no pertenece a la Facultad de Medicina me haré responsable que la alumna cumpla con toda la normativa de Prevención de Riesgos y bioseguridad

Además la Unidad de Prevención de Riesgos & Bioseguridad, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, certifica que el laboratorio cumple con los requerimientos básicos de Bioseguridad para ser desarrollado, además se adecúa a las exigencias establecidas por los manuales: CONICYT " Bioseguridad 1^{ra} edición, 1994" y " Manual de Normas de Bioseguridad, 2^{da} edición 2008, Centro de Control y Prevención de Enfermedades, CDC, 4^o edición, Manual Bioseguridad en laboratorios , Organización Mundial de la Salud OMS, Ginebra 2005, por tal motivo nuestra Unidad da el visto bueno para su realización.



Juan Carlos Prieto Domínguez
Jefe Laboratorio de Neurofarmacología del Dolor
C.I. 7.899.639-0



Vº Bº Prof. Mónica Acuña P.
Directora UPR&B

Santiago, 18 de Marzo 2013

