



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
FACULTAD DE MEDICINA
LABORATORIO DE DOLOR
FARMACOLOGÍA**

**“INTERACCIÓN DE GABAPENTINA CON PARACETAMOL EN DOLOR
OROFACIAL EXPERIMENTAL”**

Camila Victoria Bravo Castelblanco

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Hugo Miranda G.

TUTOR ASOCIADO

Prof. Dr. Fernando A. Sierralta G.

**Santiago – Chile
2013**

Dedico este trabajo a Mónica Castelblanco, Jorge Bravo -mis padres- a Jorge Serey, a nuestras familias y amigos por el apoyo incondicional durante estos años de estudio, y en especial a nuestro hijo Diego Serey Bravo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Doctor Hugo Miranda, quien fuera fundamental en la realización de este trabajo, por su gran disposición, apoyo, paciencia, comprensión y entrega de conocimientos.

Agradezco también al laboratorio de neurofarmacología del Instituto de Ciencias Biomédicas de la facultad de medicina de la Universidad de Chile, en especial a don José López y a don Alejandro Correa, por su gran valor humano, simpatía y entrega en la labor que desempeñan, generando un excelente ambiente de trabajo.

ÍNDICE

	Página
Introducción_____	1
Marco teórico_____	3
Hipótesis_____	17
Objetivo General_____	18
Objetivos Específicos_____	19
Materiales y Método_____	20
Resultados_____	27
Discusión_____	34
Conclusiones_____	38
Sugerencias_____	39
Bibliografía_____	40
Anexo_____	48

RESUMEN

Introducción: Para el manejo del dolor orofacial de tipo neuropático se dispone de una amplia gama de medicamentos, entre estos encontramos antiinflamatorios no esteroideos (AINES), anticonvulsivantes y opioides. La analgesia multimodal es actualmente recomendada para aumentar la utilidad clínica de los analgésicos e implica la combinación de diversos fármacos con diferentes mecanismos de acción, lo que resulta en efectos aditivos o supraditivos. El objetivo del actual estudio, es evaluar el efecto analgésico de la gabapentina, paracetamol y de la combinación de ambos para el alivio del dolor orofacial de tipo neuropático.

Materiales y Métodos: Gabapentina, paracetamol y la combinación de ambos fueron administrados intraperitonealmente (i.p.) en 136 ratones machos (*Mus musculus*), a los cuales se les realizó una inyección subcutánea, en la región del labio superior, con 20 μ L de solución de formalina al 2%, midiéndose el tiempo de frotamiento del área perioral, tanto en la fase I o etapa aguda como en la fase II o etapa inflamatoria. Además se realizó un análisis isoblográfico para definir la naturaleza de la interacción entre ambos fármacos. Los resultados se miden como el promedio \pm error estándar de la media (EEM). La significancia estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t Student ($p < 0,05$).

Resultados: Gabapentina y paracetamol producen una inhibición dosis-dependiente en la primera y segunda fase del test. No obstante para ambos fármacos se observó una actividad mayor en la fase II. La combinación de las fracciones de DE_{50} de gabapentina y paracetamol producen efecto sinérgico respecto a la respuesta nociceptiva medida.

Conclusiones: La administración i.p. de gabapentina y paracetamol produce un efecto antinociceptivo dosis dependiente en ambas fases del test. El sinergismo de su combinación puede deberse a que difieren en sus mecanismos de acción, mejorando el efecto analgésico. Estos hallazgos poseen relevancia clínica, ya que la combinación de estos fármacos podría ser una nueva herramienta para el tratamiento de dolores neuropáticos.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de los últimos 50 años el dolor y su tratamiento han alcanzado reconocimiento mundial como un tema importante para la investigación científica, dentro de su indagación existen distintas áreas que lo abarcan y describen desde sus orígenes, las vías que los transmiten a centros superiores y hacia los centros integradores de dolor (Bonica, 1990).

La evaluación del paciente con dolor supone un proceso complejo, debido en gran parte a que el dolor constituye una percepción, de forma que para poder interpretar y tratarlo correctamente es necesario un enfoque individualizado.

En general, el tratamiento farmacológico mediante el empleo de fármacos analgésicos constituye la pieza fundamental en el manejo del dolor (Pelissier y cols., 2002).

Los estudios farmacológicos logran dilucidar los mecanismos moleculares que subyacen en la detección, codificación, y modulación de estímulos nocivos que generan dolor, y para ello, los modelos nociceptivos en animales son de gran utilidad (Luccarini y cols. 2006). La odontología, históricamente ligada a dolor, ha recurrido a la farmacología para subsanar las situaciones que se presentan en su desarrollo clínico.

La región orofacial es una de las áreas más densamente inervadas, siendo el nervio trigémino el principal de éste territorio. Ésta zona corresponde a un sector donde se desarrollan condiciones dolorosas con características propias, que lo diferencian del dolor del sistema nociceptivo espinal (Hargreaves, 2011). Dentro de estas dolencias se encuentra el dolor neuropático y específicamente encontramos la neuralgia paroxística de tipo glossofaríngea y trigeminal, las cefaleas trigeminales y la neuralgia post-herpética (Spencer y cols. 2007; Zakrzewska y Mc Millan, 2011). Los mecanismos asociados a estos dolores son escasamente conocidos, pues existen insuficientes investigaciones relacionadas al territorio orofacial (Luccarini y cols, 2006; Takemura y cols, 2006).

Los medicamentos utilizados actualmente para tratar el dolor neuropático corresponden a monoterapia, obteniendo en general, una eficacia limitada con efectos secundarios relacionados (Baron y cols. 2010). La combinación de dos

o más medicamentos diferentes puede mejorar la eficacia analgésica y, en algunas situaciones, reducir los efectos globales secundarios (Chaparro y Wiffen, 2012).

Por este motivo es lógico pensar que la combinación de gabapentina, un antiepiléptico utilizado recientemente para tratar el dolor neuropático (Backonja y Glanzman, 2003) con paracetamol, uno de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) mayormente utilizados a nivel mundial para tratar el dolor leve a moderado (Hinz y cols. 2008), tiene mejor eficacia y tolerancia respecto a la monoterapia. A partir de esto, en el presente estudio se evaluó la interacción de dichos fármacos utilizando el análisis isobolográfico en un modelo de dolor orofacial inducido (Luccarini y cols, 2006).

MARCO TEÓRICO

I. DOLOR

1. Definición

Dolor es definido según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) como una “desagradable experiencia sensitiva y emocional que se asocia a una lesión real o potencial de los tejidos” (Barrot, 2012)

Actualmente se entiende el dolor como la integración de tres componentes: uno sensitivo, uno cognitivo y un último componente emotivo-afectivo (Bonica, 1990; Melzack, 2006.).

2. Clasificación

a) Según evolución y duración:

Dolor agudo: sensación dolorosa de corta duración (máximo 3 meses), limitada a la resolución de la patología que lo provoca (Basbaum y cols, 2009).

Dolor Crónico: situación dolorosa cuya duración es de más de tres meses y se mantiene aún después de la lesión que la originó. Es una respuesta desadaptativa del organismo, pudiendo ser de tipo nociceptivo o neuropático (Basbaum y cols, 2009). Tiene escaso componente neurovegetativo y se acompaña de alteraciones psicológicas y conductuales.

Se considera que de persistir, el dolor agudo se transforma en dolor crónico, el cual ya se considera una enfermedad (Voscopoulos y Lema, 2010).

b) Según etiología:

Dolor Nociceptivo: dolor causado por daño potencial o real a estructuras no neurales debido a la activación de nociceptores somáticos o viscerales (Stucky y cols, 2001; Campbell y Meyer, 2006; Barrot, 2012). El *dolor somático* se origina a nivel de la piel, músculos, ligamentos, articulaciones o huesos, es bien localizado, y no se acompaña de reacciones neurovegetativas. En tanto, el *dolor visceral* se caracteriza por ser difuso, se extiende hasta otros territorios alejados del órgano lesionado (dolor referido), y tiene componente neurovegetativo (Voscopoulos y Lema, 2010).

Dolor Neuropático: dolor iniciado o causado por lesiones primarias o disfunciones en el sistema nervioso central y/o periférico (Basbaum y cols,

2009). Se caracteriza por ser espontáneo, además es continuo o intermitente, quemante o fulgurante (Iwata y cols, 2011). El dolor neuropático puede ser desencadenado por estímulos normalmente no dolorosos (alodinia), por un aumento de la respuesta frente a un estímulo doloroso (hiperalgesia), y también pueden generarse sensaciones desagradables espontáneas o provocadas (disestesia) (Campbell y Meyer, 2006).

Dolor psicógeno: es un tipo de dolor mediatizado por la angustia, el miedo y la ansiedad del enfermo. Este tipo de dolor no responde al tratamiento analgésico habitual y no existe ningún paralelismo entre dolor y lesión (Hargreaves, 2011).

C) Según discriminación espacial:

Dolor Epicrítico: la localización del dolor es precisa dentro de un campo receptivo y no es referido

Dolor Protopático corresponde a un dolor difuso, mal localizado, sordo y referido (Turk y Okifuji, 2001).

3. Fisiología del Dolor

Fisiológicamente el dolor es el resultado de varios mecanismos que se caracterizan por su complejidad, interacción e integración en todos los niveles del neuro-eje, desde la periferia hasta los más altos niveles de estructuras cerebrales (Millan, 1999).

El componente fisiológico del dolor se denomina nocicepción que corresponde a los procesos de transducción, transmisión, modulación y percepción de las señales nerviosas que se generan en respuesta a un estímulo nocivo y que son enviadas al sistema nervioso central (SNC). La *transducción* corresponde al proceso por el cual el estímulo nocivo periférico se transforma en un estímulo eléctrico, la *transmisión*: Se refiere a la propagación del impulso nervioso hasta los niveles sensoriales del SNC, la *modulación* corresponde a la capacidad que tienen los sistemas analgésicos endógenos de modificar la transmisión del impulso nervioso y por último la *percepción* se entiende como el proceso final en que los tres primeros procesos, interactuando con una serie de otros

fenómenos individuales, crean la experiencia subjetiva y emocional denominada dolor.

La manera más simple de esquematizar la vía aferente primaria del dolor es graficarla como una cadena de tres neuronas. Comienza el esquema con una neurona de primer orden, ubicada en la periferia, que recibe el estímulo (transducción) y proyecta su terminal hacia la médula espinal (transmisión). Una neurona de segundo orden asciende en el trayecto medular (modulación) y se asocia con una neurona de tercer orden la cual se proyecta a la corteza cerebral (percepción) (figura 1). En una forma más compleja del sistema, pueden existir comunicaciones con otras neuronas sensitivas y neuronas descendentes inhibitorias que provienen del cerebro medio y que son capaces de modular el estímulo doloroso (Almeida y cols. 2004).

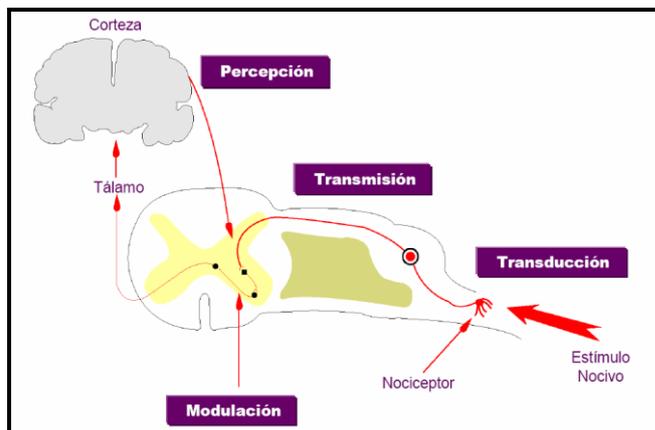


Figura 1. Representación esquemática de los eventos del proceso nociceptivo. Modificada de Curso de Neurología, IASP. Perú. 2006.

Los receptores implicados en la nocicepción, llamados nociceptores, involucran receptores sensibles a estímulos nocivos. Se define nociceptor como un terminal nervioso especializado propio de los nervios sensitivos cuya acción es transformar la energía térmica, química o mecánica de los estímulos nociceptivos en potenciales de acción capaces de migrar para llegar al SNC. Morfológicamente corresponde a la terminación periférica libre de neuronas bipolares cuyos somas se ubican en ganglios raquídeos y su axón penetra en el asta dorsal del cordón espinal (Mc Hugh y Mc Hugh, 2000). Se clasifican en tres tipos, de acuerdo al estímulo tras el cual generan potenciales de acción:

mecánicos, térmicos y polimodales, éstos últimos representan la mayoría de los nociceptores. (Benarroch, 2005; Voscopoulos y Lema, 2010)

Las fibras aferentes de primer orden se clasifican en términos de su estructura, diámetro y velocidad de conducción (Benarroch, 2005):

- a) *Fibras tipo A δ* : escasamente mielinizadas, poseen un diámetro medio, velocidad de conducción rápida. Responden a estímulos mecánicos y térmicos de alto umbral, transmitiendo dolor de tipo epicrítico.
- b) *Fibras tipo C*: amielínicas, diámetro pequeño. Su velocidad de conducción es lenta. Es el grupo más numeroso, transmiten los estímulos nociceptivos térmicos, mecánicos y químicos (nociceptores polimodales), informan sobre dolores protopáticos.
- c) *Fibras A β* : mielinizadas, de mayor diámetro. No tienen participación en la conducción dolorosa, pero participan en mecanismos de supresión segmentaria.

La médula espinal corresponde al primer gran centro de relevo para el proceso de nocicepción, es en éste lugar, específicamente en el asta dorsal de la médula, donde las fibras A δ y C hacen sinapsis con neuronas de segundo orden. Es aquí donde ocurre la modulación del proceso de nocicepción, correspondiendo al primer nivel de integración con el SNC, es en este sitio donde el impulso nervioso puede seguir vías ascendentes o descendentes a través del tracto de Lissauer (tracto postero-lateral). Las vías ascendentes recorren la médula hacia el encéfalo. Las vías descendentes harán sinapsis con interneuronas ubicadas en segmentos caudales, participando en la elaboración de respuestas reflejas, vegetativas y motoras (Sessle, 2006)

Las vías ascendentes del dolor están conformadas por tres haces, los cuales se proyectan al tálamo, y desde esta estructura se dirigen hasta distintas zonas del cerebro. Estos haces son: *haz neoespinotalámico*, cuya función es proporcionar la ubicación topográfica del dolor, *haz paleoespinotalámico* que se relaciona con una evaluación cualitativa del dolor y el *haz espinoreticulotalámico* relacionado con aspectos motivacionales y afectivos del dolor, y participar en reflejos motores somáticos y autónomos.

(Bonica, 1990; Cruciani y Nieto, 2006). Existe un sistema de regulación de la sensación dolorosa que ejerce tanto efectos facilitadores como inhibidores sobre la transmisión del dolor, y estos dos efectos involucran diferentes neuronas moduladoras (Benarroch, 2005; Ossipov y cols, 2010)

4. **Dolor y nocicepción orofacial**

Las sensaciones nociceptivas de la región orofacial se originan en los nociceptores de los siguientes pares craneales: trigémino (V par) que es principal, facial (VII par), glossofaríngeo, (IX par) del nervio vago (X par), y en la terminación nerviosa de los tres primeros nervios cervicales (Sessle, 2005).

El nervio trigémino es un nervio mixto, que nace en la superficie mediolateral del puente troncoencefálico, contiene fibras sensitivas (aférentes) y motoras (eferentes). Posee un gran ganglio desde el cual se originan 3 ramas principales; la oftálmica, maxilar y mandibular. Su porción sensorial transmite el tacto, dolor, temperatura y propiocepción de la cara, músculos faciales y masticatorios, de la articulación temporomandibular y cavidad bucal (Takemura, 2006).

En muchos aspectos, la fisiología y bioquímica de la nocicepción y vías del dolor orofacial son homólogas a las del resto del cuerpo, pero el sistema trigeminal del dolor difiere anatómicamente y funcionalmente del sistema de dolor espinal. El asta dorsal medular presenta una organización laminar mientras que el complejo trigeminal posee una organización vertical ascendente (Dallel, 2003). La primera neurona, en el caso del dolor orofacial, corresponde a la neurona bipolar o en T, cuyo cuerpo neuronal se encuentra en el ganglio trigeminal. (Sessle, 2005). Esta neurona emite dos prolongaciones, una periférica o terminación libre que recibe los estímulos nociceptivos y la segunda prolongación, que hace sinapsis con la neurona de segundo orden del complejo nuclear sensorial trigeminal (Figura 2) (Dallel, 2003). El 90% de los axones de la neurona de segundo orden decusan en la línea media, mientras que el 10% lo hace de forma ipsilateral, llegando al núcleo ventral posteromedial del tálamo, relacionado con la discriminación y localización del dolor. Desde aquí se origina la neurona de tercer orden, la cual se proyecta a la corteza

somatosensitiva y otras estructuras corticales y subcorticales (Dallel, 2003).

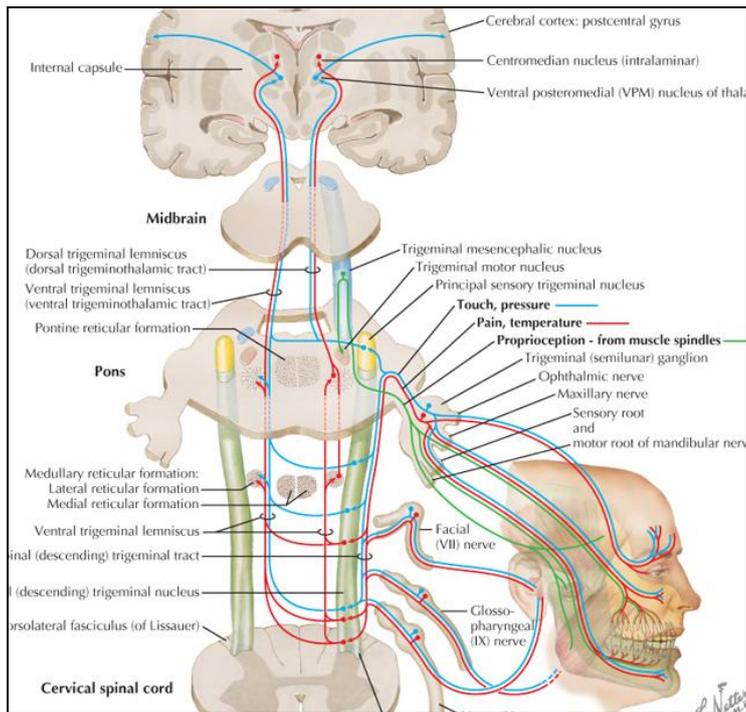


Figura 2. Vía de nocicepción trigeminal. Muestra el territorio de innervación de las 3 divisiones del nervio trigeminal, y su recorrido hasta centros superiores (Modificada de Netter, 2011).

II. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DEL DOLOR

Los fármacos más utilizados para combatir el dolor pueden dividirse en categorías según su nivel de acción en: anestésicos generales, anestésicos locales, alcoholes y fenoles de acción prolongada, analgésicos opioides o centrales, analgésicos antiinflamatorios esteroidales y no esteroidales (AINEs) y coanalgésicos. De forma general estos fármacos pueden actuar en 3 niveles; sobre la conducción del estímulo doloroso (anestésicos locales), a nivel central (analgésicos opioides) y a nivel periférico actuando en la génesis de la injuria como son los AINEs.

1. Tratamiento farmacológico del dolor neuropático

Actualmente la clasificación del dolor neuropático se basa en las múltiples entidades patológicas que lo generan, lo que explica que un mismo tratamiento no sea igualmente efectivo para los distintos tipos de éste dolor.

(Baron y cols., 2010). Se considera como tratamientos de primera línea para el dolor neuropático, los antidepresivos tricíclicos, antiepilépticos (gabapentina y pregabalina) y parches de lidocaína al 5% (O'Connor, 2009 y Attal y cols., 2010).

ANTICONVULSIVANTES:

Los anticonvulsivos son medicamentos utilizados primariamente para la prevención y tratamiento de convulsiones, y también como profilaxis en el tratamiento de migrañas. Sin embargo en el último tiempo se han utilizado para el tratamiento de condiciones dolorosas crónicas y dolor orofacial (Forouzanfar, 2011). Los medicamentos antiepilépticos pueden ser clasificados como de primera y segunda generación, siendo éste último grupo mejor tolerado, al generar menores efectos secundarios sobre el SNC (Reisner, 2001).

Gabapentina

La gabapentina (de segunda generación) consiste en una molécula de ácido gamma amino butírico (GABA) ligada a un anillo ciclohexano lipófilo (Figura 4). Fue sintetizada en la década del 60 y aprobada por la FDA en 1994, en 2002 se aprobó para el tratar la neuralgia post herpética.

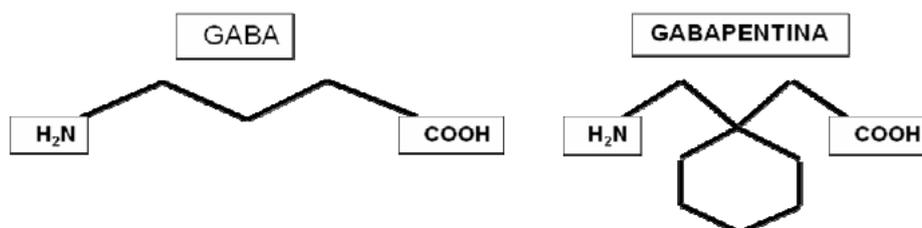


Figura 3: Estructura química de GABA y gabapentina. (Cheng, 2006).

Inicialmente se sintetizó como agonista del neurotransmisor GABA, dada su homología estructural con dicho neurotransmisor, se pensó que ejercía su acción sobre receptores GABA-A y GABA-B, sin embargo a concentraciones terapéuticas muestra escasa afinidad por dichos receptores. Finalmente las últimas investigaciones han demostrado que el mecanismo de acción de los gabapentinoideos (gabapentina y pregabalina) implica el bloqueo de canales calcio voltaje dependientes (Ca^{2+}V), específicamente de la subunidad $\alpha 2\delta\text{-1}$ (Taylor, 2009; Uchitel, 2010). Los Ca^{2+}V son proteínas de transmembrana, que

se componen de subunidades α -1, α 2 δ y β , las dos últimas son consideradas como auxiliares y modifican la apertura del canal. Existen cuatro subtipos de unidades α 2 δ , de las cuales solo α 2 δ -1 y α 2 δ -2 se unen a gabapentinoides (Uchitel, 2010). La unión de la gabapentina a la subunidad α 2 δ -1 de Ca^{2+} V altera el influjo de calcio pre-sinápticamente, disminuyendo la liberación de neurotransmisores (glutamato) y por ende la excitabilidad neuronal post-sináptica. En condiciones de dolor crónico se encuentra aumentada la expresión de esta subunidad en neuronas sensitivas del asta dorsal, lo que explica la acción de la gabapentina en dolor inflamatorio o neuropático pero no en dolor agudo (Taylor, 2009).

ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES (AINEs):

Los AINEs son un grupo de agentes de estructura química diferente que tienen un efecto común, que implica impedir la síntesis de prostaglandinas a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COXs). Son el grupo farmacológico más utilizado en la actualidad a nivel mundial y sus principales acciones son actuar como antiinflamatorios, analgésicos y/o antipiréticos (Warner y Mitchell, 2004). La utilización de AINEs, en general, es ampliamente reportada para tratar dolores leves a moderados, cuadros febriles e inflamación.

Los AINEs actúan inhibiendo de manera competitiva y reversible a las COXs, estas enzimas son las responsables de la transformación de ácido araquidónico en prostanoïdes. Para que ocurra la síntesis de prostaglandinas (PGs) debe existir daño a nivel de la membrana celular, con esto la enzima fosfolipasa A2 es activada por citoquinas inflamatorias produciendo degradación de los fosfolípidos de la membrana, generando ácido araquidónico. Este último al metabolizarse forma por una parte leucotrienos mediante la acción de lipooxigenasa, y por otra PGs y tromboxano a través de enzimas COXs (Simmons, 2004). Las COXs convierten mediante oxigenación el ácido araquidónico en prostaglandina G2 (PGG2) y prostaglandina H2 (PGH2). Estas prostaglandinas posteriormente son transformadas por enzimas isomerasas, las que convierten PgH2 en diferentes prostaglandinas

biológicamente activas: prostaciclina, tromboxano A2 y prostaglandinas D2, E2 y F2, llamados genéricamente prostanoides (Figura 4) (Warner y Mitchell, 2004).

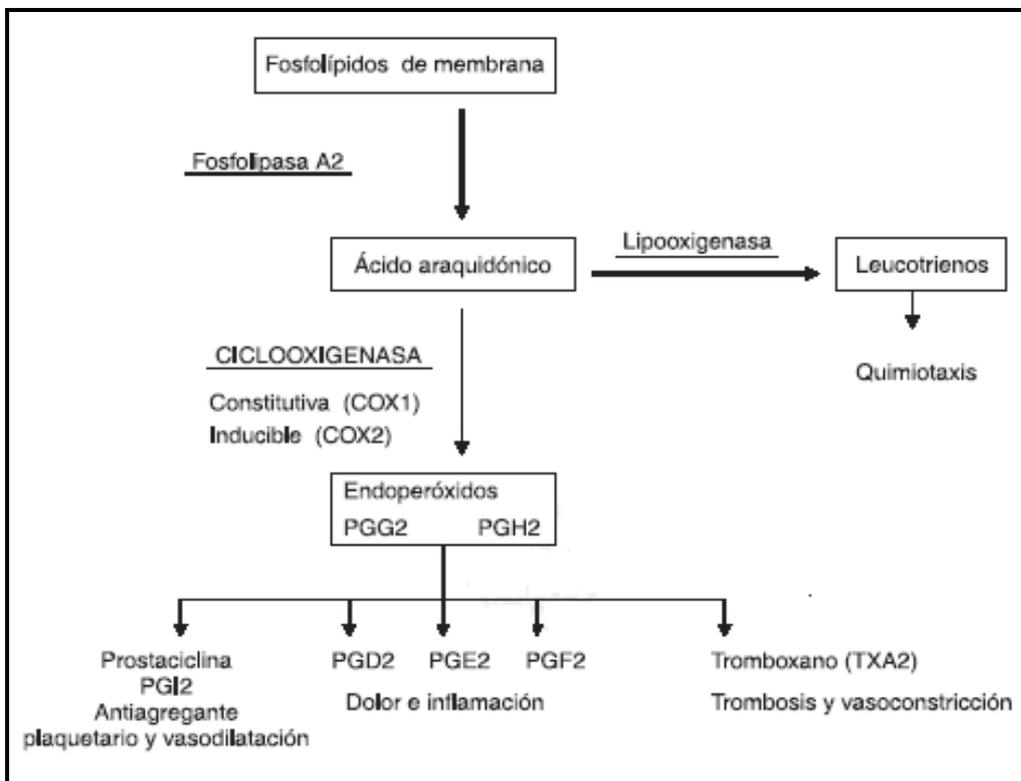


Figura 4. Secuencia de la síntesis de eicosanoides. Modificada de Warner y Mitchell, 2004.

Existen tres isoformas de las COXs codificadas por distintos genes, COX-1, COX-2 y COX-3. La COX-1 es definida como una enzima constitutiva, está presente en casi todos los tejidos cumpliendo diferentes funciones, como la síntesis de PGs citoprotectoras de la mucosa gástrica, contracción de musculatura lisa, homeostasis vascular y función renal (Warner y Mitchell, 2004). La COX-2 es principalmente expresada por células que están comprometidas en el proceso inflamatorio, no obstante, esta enzima cumple un rol fisiológico importante expresándose en riñón, cerebro, huesos y endotelio vascular. La COX-3 es muy similar a COX-1, su función exacta aún no está totalmente definida, pero se relaciona con el dolor, la fiebre e inflamación. Se encuentra principalmente en pulmón, corazón, sistema nervioso central y en algunos tejidos periféricos (Chandrasekharan, 2002).

La mayoría de los AINEs inhiben de manera no selectiva COX-1 como COX-2. La inhibición de la COX-2, es la principal responsable de las reacciones antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas de los AINEs y por la inhibición simultánea de la COX-1, se sumarían las reacciones adversas. Estos potenciales efectos secundarios, llevaron al desarrollo de los inhibidores selectivos de la COX-2 (coxibs).

Los AINEs tienen una serie de efectos indeseados como consecuencia de acciones farmacodinámicas expresadas por todos aquellos sistemas en los que las prostaglandinas cumplen funciones fisiológicas. (Smecuol y cols, 2001; Chandrasekharan, 2002; Flórez y cols., 2003)

Los AINEs se pueden clasificar de la siguiente forma:

Clase estructural	Miembros	
	COX-1-no selectivo	COX-2-selectivo
Alcanonas	Nabumetona	
Ácidos antranílicos	Ácido meclofenámico, Ácido mefenámico	Meclofenamato ésteres y amidas
Ácidos arilpropiónicos	Ibuprofeno, Flurbiprofeno, Ketoprofeno, Naproxeno,	
Diarylheterocycles	SC560	Celecoxib, Etoricoxib, Parecoxib, Rofecoxib, Valdecoxib
Di-terc-butil fenoles		Darbufelone
Ácidos enólicos	Piroxicam, Tenoxicam, Fenilbutazona	Meloxicam
Ácidos heteroaril acéticos	Diclofenaco, Ketorolaco, Tolmetina	Lumiracoxib
Ácidos indol e indeno acéticos	Indometacina, Sulindac	Etodolac, Indometacina amidas (y ésteres)
Derivados de para-aminofenol	Acetaminofén	

Clase estructural	Miembros	
	COX-1-no selectivo	COX-2-selectivo
Derivados del ácido salicílico	Aspirina, Diflunisal, Sulfasalazina	o-(acetoxifenil) hept-2-inil sulfuro (SSPA)
Sulfanilides		Nimesulida, Flosulida

Tabla 1. Clasificación de AINEs según estructura química y acción (Warner y Mitchell, 2002)

Paracetamol

El acetaminofén o paracetamol es uno de los antipiréticos y analgésicos de venta libre más ampliamente utilizado en todo el mundo (Hinz y cols, 2008).

Corresponde al metabolito activo de la fenacetina, un analgésico derivado de la anilina fenacetina (Scott y Fossum, 2011). Se clasifica dentro del grupo de los paraaminofenoles, su nombre IUPAC corresponde a N-4-hidroxifeniletanamida (Figura 5).

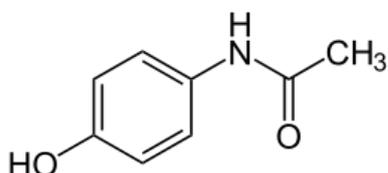


Figura 5. Estructura química de Paracetamol (Scott y Fossum, 2011)

Aunque fue descubierto hace más de 100 años, su mecanismo de acción no está aún del todo claro (Graham y Scott, 2005; Hinz y cols, 2008; Scott y Fossum, 2011). Es generalmente considerado como un inhibidor débil de la síntesis de PGs. Sin embargo, los efectos *in vivo* de paracetamol son similares a los inhibidores selectivos de COX-2. El paracetamol es un inhibidor débil de la síntesis de PGs de la COX-1 y COX-2 en sistemas de células rotas, pero por el contrario, las concentraciones terapéuticas de paracetamol inhiben la síntesis de PGs en células intactas *in vitro* cuando los niveles de sustrato de ácido araquidónico son bajos. Cuando esto ocurre, las PGs se sintetizan en gran medida por la COX-2, por lo tanto, la selectividad aparente de paracetamol puede ser debido a la inhibición de la COX-2. Esta hipótesis es

consistente con los efectos farmacológicos similares de paracetamol y los inhibidores selectivos de la COX-2 (Hinz y cols, 2008).

El paracetamol es un fármaco eficaz como analgésico y antipirético. Respecto al dolor neuropático, se pensaba que el paracetamol no tenía un efecto significativo para tratarlo, sin embargo los últimos estudios en ratas abren una puerta para tratarlo, ya que se demostró que la administración por vía intraperitoneal de paracetamol tiene un efecto antialodínico dosis dependiente y un efecto antihiperálgico en un modelo de dolor neuropático en rata (Kyong-Shil, 2012).

2. Analgesia Multimodal

Cuando dos drogas se administran en forma conjunta sus efectos pueden ser (Tallarida, 2001):

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

Combinar productos farmacológicos con diferentes mecanismos de acción provee la cobertura de un amplio espectro de tipos de dolor, al tiempo que ofrece la posibilidad de que la acción de los fármacos se presente de manera sinérgica. Además, al ser empleadas dosis más pequeñas de cada analgésico que conforma la combinación, puede resultar en una menor incidencia de sus efectos adversos individuales, mejorando los perfiles de seguridad. El sinergismo puede ocurrir en combinaciones en las que uno de los constituyentes carece de eficacia como agente individual (Tallarida y cols, 2003).

III. MODELOS DE DOLOR EN ANIMALES

Se han diseñado diferentes modelos algesiométricos animales, especialmente ratones, los que intentan reproducir situaciones clínicas o fisiopatológicas que permitan el estudio de alternativas terapéuticas aplicables a la clínica humana o el mejor conocimiento de las mismas (González, 2000).

Existen modelos de dolor agudo y crónico. Dentro de los modelos de dolor agudo se encuentran los modelos que utilizan un estímulo físico o químico que tienen como objetivo determinar una latencia de respuesta por parte del animal ante dicho estímulo y tienen un desarrollo temporal breve. En los modelos de dolor crónico es necesario inducir una lesión, ya sea inflamatoria o neural que dé lugar a la aparición de una situación patológica que ofrezca la posibilidad de objetivar el dolor en el animal (González, 2000). Dentro de la categoría de modelos de dolor nociceptivos, la prueba de la formalina es una de las más utilizadas (Raboisson y Dallel, 2004).

1. Prueba de la formalina en la pata del ratón:(Raboisson y Dallel, 2004; González, 2000) El test consiste en la inyección de una solución de formalina, generalmente en el espacio subcutáneo de la cara dorsal de la pata del ratón. Se encuentra entre los modelos agudos y crónicos, y tiene la particularidad de dar una respuesta bifásica.

- Fase I: fase algésica o dolor agudo, los nociceptores perciben la irritación química provocada por la formalina, estaría mediada por la actividad de las fibras C. Comienza en el minuto 0 (inmediatamente después de realizada la inyección) y termina al minuto 5 de realizada la punción.
- Fase II: fase inflamatoria o dolor crónico, ocurre debido a la organización de un foco inflamatorio en el sitio de la injuria con liberación de sustancias algógenas y la sensibilización central y periférica que conlleva. Se produce tras un periodo de latencia de 15 minutos. Comienza al minuto 20 de realizada la inyección y termina al minuto 30 posterior a ésta.

El tiempo comprendido entre ambas fases, es decir, desde el minuto 5 al 20 posteriores a la inyección, denominado periodo de latencia, no se contabiliza debido a que el ratón se encuentra en una etapa de quietud.

Este test tiene la ventaja que durante él se producen una serie de signos que se pueden contabilizar y son una medida del dolor que puede ser aliviado por la acción de analgésicos. Se puede valorar desde un parámetro postural que comprende diferentes posiciones protectoras de la extremidad afectada, pasando por un trabajo activo para aliviarlo, como puede ser el lamido de la

zona o un parámetro reflejo, como son las sacudidas de la extremidad. Además, el modelo tiene una gran coherencia interna y está validado por múltiples estudios, reuniendo además la mayor parte de los requerimientos éticos. Finalmente ésta prueba reúne 2 criterios básicos: el estímulo aplicado debe ser nociceptivo y la respuesta debe estar directamente relacionada con el estímulo

La cuantificación de la nocicepción está relacionado en forma positiva a la concentración de formalina (Luccarini y cols, 2004). Una concentración de formalina al 2% ejerce un estado nociceptivo adecuado, sin ocasionar un proceso inflamatorio excesivo. Con una concentración de un 8%, la amplitud de las dos fases se estabiliza, provocándose un efecto “techo”. Una explicación es que la formalina en una concentración elevada puede desensibilizar nociceptores periféricos, resultando en un menor nivel de estimulación.

2. Prueba de la formalina orofacial: (Luccarini, 2006; Raboisson y Dallel, 2004) Con el fin de medir el dolor originado en la estimulación del nervio trigémino, la prueba de la formalina en la pata de ratón fue adaptada para el estudio del dolor orofacial en ratones. En este caso, la inyección intradérmica de formalina se realiza en el labio superior del ratón, lateral al ala de la nariz.

Este método permite discriminar con menor daño tisular el efecto de la administración de formalina, observándose tras la aplicación del irritante un aumento en el acicalamiento facial, expresado por parte del ratón como frotamiento o rascado de la zona perinasal. El curso temporal de la respuesta es similar a lo que se observa después de la inyección de formalina en la pata del ratón, es decir, bifásica. Este ensayo tiene una duración de 30 minutos.

Una de las ventajas de este test, es que representa el único modelo animal de nocicepción persistente en la región del trigémino, ya que evalúa la magnitud de las sensaciones nociceptivas provocadas por un estímulo químico de larga duración.

Mediante la utilización de dicho modelo de nocicepción se pudo evaluar el efecto analgésico de gabapentina y de paracetamol por separado y luego el efecto de ambos fármacos en conjunto, combinación de fármacos que hasta la revisión de la literatura actual no se ha realizado.

HIPOTESIS

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

OBJETIVO GENERAL

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

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal de gabapentina y de paracetamol, por separado, en el test de la formalina orofacial.
- Calcular, a partir de la curva dosis-respuesta de gabapentina y de paracetamol, la dosis que produce el 50 % del efecto máximo (DE_{50} del E_{max}).
- Evaluar la naturaleza e intensidad de la interacción farmacológica de la asociación de gabapentina con paracetamol, a través de la determinación de la razón $DE_{50}Experimental/DE_{50}Teórico$.

MATERIALES Y MÉTODOS

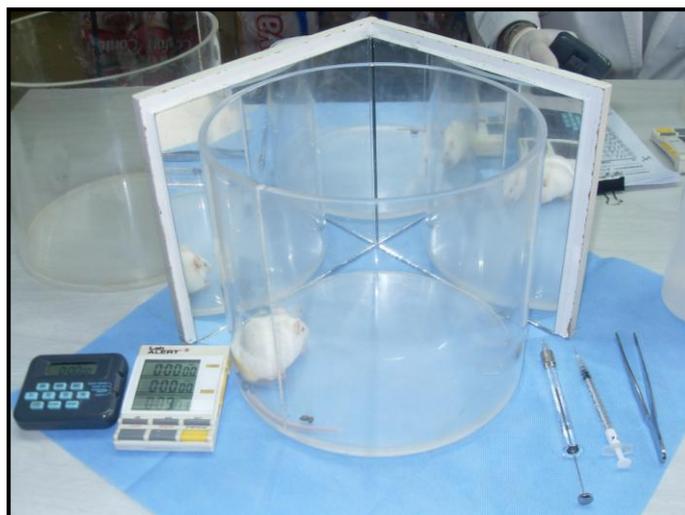
1. Animales

Se utilizaron 136 ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1 de 25 a 36 g de peso (Fotografía 1), habituados al ambiente del laboratorio (22° a 24° C) al menos dos horas antes del experimento. Los ratones se mantuvieron en cajas plásticas previos a la experimentación. El horario utilizado para el experimento fue entre las 8:00 a.m. y las 12:30 a.m.



Fotografía 1. Ratón de cepa CF/1 (*Mus musculus*)

Para la observación del experimento se utilizó un cilindro de acrílico transparente con un espejo doble para facilitar el registro (Fotografía 2).



Fotografía 2. Elementos utilizados para experimentación.

Los 136 ratones (tamaño muestral) fueron separados en grupos de 8 ratones para cada una de las dosis de gabapentina, paracetamol y la combinación de ambas, más un grupo control compuesto por 8 ratones (Tabla 2). La selección de los animales para ser asignados a sus respectivos grupos se realizó de forma aleatoria.

FÁRMACO	DOSIS (mg/kg)	Nº RATONES (n)
Salino (control)	0,9 %	8
Gabapentina	0,1, 0,3, 1 y 3	32
Paracetamol	10, 30, 100, 200	32
Gabapentina con	(fase I)	32
Paracetamol	(fase II)	32
TOTAL		136

Tabla 2. Resumen de los grupos experimentales utilizados.

Cada animal recibió solamente una dosis de las drogas. Los animales fueron sacrificados después del experimento mediante dislocación cervical, lo cual fue efectuado por personal experimentado.

Ésta experimentación se realizó de acuerdo al protocolo CBA Nº 0554 FMUCH aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (Anexo 1).

2. Administración de Fármacos

Los fármacos se administraron intraperitonealmente (i.p.) (Fotografía 3) en un volumen constante, de 10 mL/kg, 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, pues existe evidencia que demuestra que es el tiempo en que se alcanza el efecto analgésico máximo (Raboisson y Dallel, 2004).

Los animales usados como grupo control fueron tratados con una solución salina al 0,9% administrada por vía i.p., para lo cual se utilizó un ejemplar por cada grupo experimental.

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva de gabapentina, se administró por vía i.p. 4 dosis de: 0,1, 0,3, 1 y 3 mg/kg.

En el caso del paracetamol las dosis utilizadas fueron de 10, 30,100 y 200 mg/kg.

Cada una de las dosis fue disuelta en solución salina en un volumen constante de 10 mL/Kg para ambos fármacos empleados, al igual que para el grupo control.

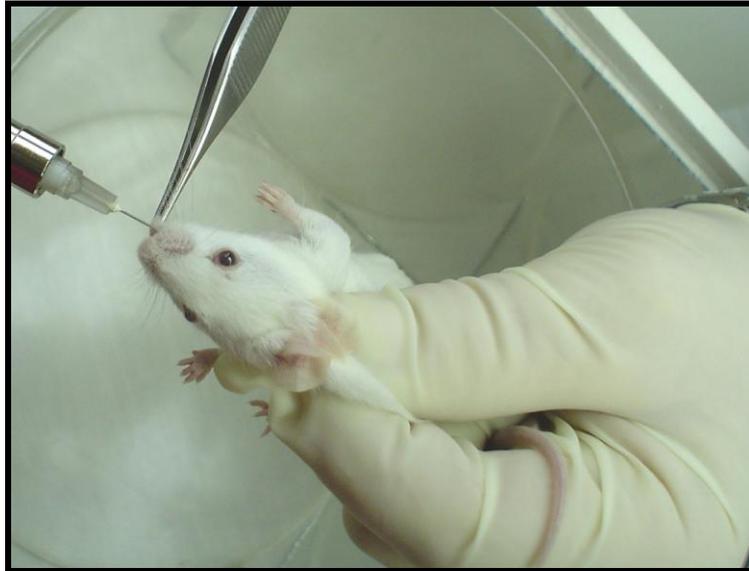


Fotografía 3. Inyección i.p. de fármacos.

3. Test de la formalina orofacial

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó usando, una modificación del test algiesiométrico orofacial de la formalina, (Luccarini y cols, 2006) que permite medir el dolor originado por la estimulación del nervio trigémino.

Se realizó una inyección subcutánea de 20 μ L de solución de formalina al 2 % en el labio superior derecho del animal (Fotografía 4), utilizando jeringa Hamilton y aguja de 27 Gauge.



Fotografía 4. Inyección de Formalina 2% en labio superior derecho del animal.

Éste procedimiento induce un sostenido rascado de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal por el animal (Fotografía 5).



Fotografía 5. Rascado de área perinasal tras inyección de formalina 2%.

Inmediatamente después de la inyección el ratón fue colocado en el cilindro de observación y con cronómetro digital se midió el tiempo total, en segundos, que el animal se rasca el área perinasal durante los primeros 5 minutos, tiempo que corresponde a la fase algésica aguda (fase I). Luego se esperó 15 minutos, en los cuáles el ratón se encuentra en período de quietud, por lo que no se contabiliza (Raboisson y Dallel, 2004). Y finalmente se midió

el tiempo de rascado durante 10 minutos, los cuales corresponden a la fase inflamatoria (fase II). El tiempo de experimentación total por ratón fue de 30 minutos, las mediciones son los primeros 5 minutos (fase I) y los últimos 10 minutos (fase II).

4. Evaluación de la Analgesia.

El tiempo total de rascado en cada período (en segundos), se convirtió a % del máximo efecto posible de analgesia (MEP). El valor del MEP se obtuvo de acuerdo a la siguiente fórmula:

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

Luego, se determinó la dosis efectiva 50 (DE₅₀) de paracetamol y gabapentina, que es la dosis que produce el 50% del efecto máximo posible. La DE₅₀ de cada fármaco, tanto para fase I como fase II, se calculó mediante el análisis de regresión lineal de las curvas dosis-respuesta, que fueron construidas utilizando el logaritmo de las dosis en la abscisa versus el máximo efecto posible (% MEP) en la ordenada.

5. Estudio de la interacción antinociceptiva

Para la evaluación de la interacción antinociceptiva de paracetamol y gabapentina se construyeron curvas dosis-respuesta de la coadministración de paracetamol con gabapentina, en dosis combinadas de: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 de sus correspondientes valores de DE₅₀, obtenidos en la fase I como en la fase II de cada fármaco, en proporción fija 1:1. Las dosis combinadas fueron denominadas A, B, C y D respectivamente. Luego se calculó la DE₅₀ experimental de paracetamol mas gabapentina, por análisis de regresión lineal de la curva obtenida por el trazado del logaritmo de la dosis versus %MEP.

En la evaluación de las interacciones se utilizó el método isoblográfico (Tallarida, 2001), que corresponde a representaciones gráficas de las curvas

isoeffectivas para un efecto determinado de cada uno de los fármacos utilizados individualmente y combinados. Este tipo de análisis permite conocer si existe interacción, de qué tipo y cuál es su magnitud.

La DE_{50} (experimental) de la mezcla se compara estadísticamente con la DE_{50} , (teórica) que representa teóricamente la adición simple de efectos, mediante un programa computacional elaborado en el laboratorio de dolor de farmacología de la Universidad de Chile (Miranda, 2006).

La DE_{50} teórica se obtiene según la siguiente fórmula:

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

Dónde:

- R: relación de potencia entre paracetamol y gabapentina administradas aisladamente.
- P1: proporción de paracetamol en la mezcla
- P2: proporción de gabapentina en la mezcla.

El punto experimental resultante se graficó en un sistema de coordenadas cartesianas, que contiene una línea que conecta la DE_{50} de paracetamol en la ordenada con la DE_{50} de gabapentina en la abscisa (línea de aditividad simple o teórica) (Miranda y cols., 2001). La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción.

En el caso de que la interacción sea sinérgica (supraaditiva), el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso contrario, si resultase una interacción antagónica, el punto se ubicará sobre la línea de aditividad, y por último, si el punto se ubica en un sector cercano a la línea de aditividad, la interacción será de simple aditividad.

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

$$\text{Índice de interacción} = \frac{DE50 \text{ experimental}}{DE50 \text{ teórica}}$$

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 (Tallarida, 2001; Chou, 2006).

6. Análisis Estadístico

Los resultados fueron expresados como porcentaje del promedio \pm error estándar de la media (EEM).

El análisis estadístico de los datos obtenidos de las curvas logaritmo dosis respuestas, se analizaron mediante regresión lineal por cuadrados mínimos para determinar las DE_{50} , ya sea, de los fármacos administrados en forma aislada como de sus combinaciones.

Todos los parámetros estadísticos se calcularon con un programa computacional del laboratorio de dolor de farmacología de la Universidad de Chile (Pham Tools Pro versión 1.2 McCary Group, U.S.A.), la significancia estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

1. Grupo Control

Los ratones que formaron parte del grupo control salino (n=8), arrojaron un tiempo de frotamiento de la región estimulada de $85,25 \pm 3,35$ segundos durante la fase I y un tiempo frotamiento de $99,88 \pm 4,14$ segundos durante la fase II.

2. Grupo tratado con gabapentina.

La administración i.p. de gabapentina, resultó en una disminución dosis-dependiente, de la respuesta nociceptiva en la fase I y II, comparado con el grupo control.

La reducción de la amplitud de la respuesta de frotamiento para la fase I fue de $27,41 \pm 3\%$ ($P < 0.05$), $39,59 \pm 5\%$ ($P < 0.05$), $56,15 \pm 7\%$ ($P < 0.05$) y $63,34 \pm 9\%$ ($P < 0,05$) tras la administración de 0,1, 0,3, 1 y 3 mg/kg, respectivamente (Gráfico 1).

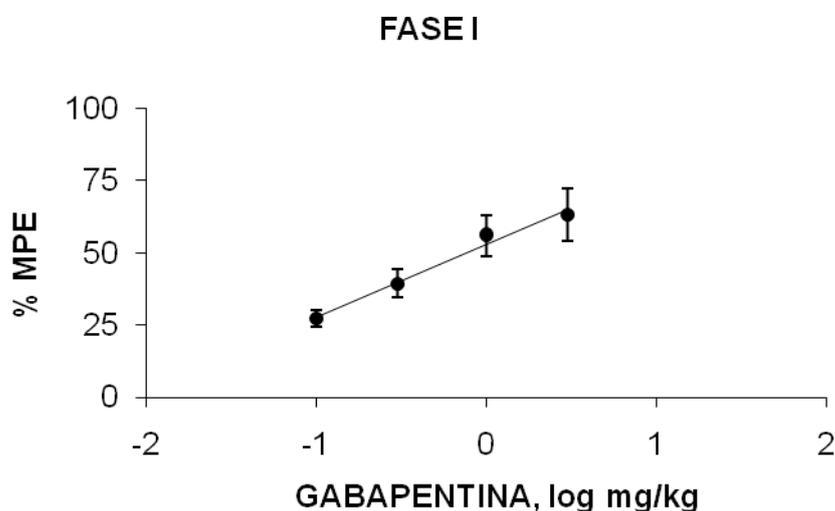


Gráfico 1. Curva dosis-respuesta para la administración i. p. de gabapentina en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 ratones. MEP: máximo efecto posible.

En tanto la reducción para la fase II fue de $49,19 \pm 6,3\%$ ($P < 0,05$), $59,57 \pm 4,6\%$ ($P < 0,05$), $69,7 \pm 2,2\%$ ($P < 0,05$) y $75 \pm 3\%$ ($P < 0,05$) tras la administración de 0,1, 0,3, 1 y 3 mg/kg (Gráfico 2).

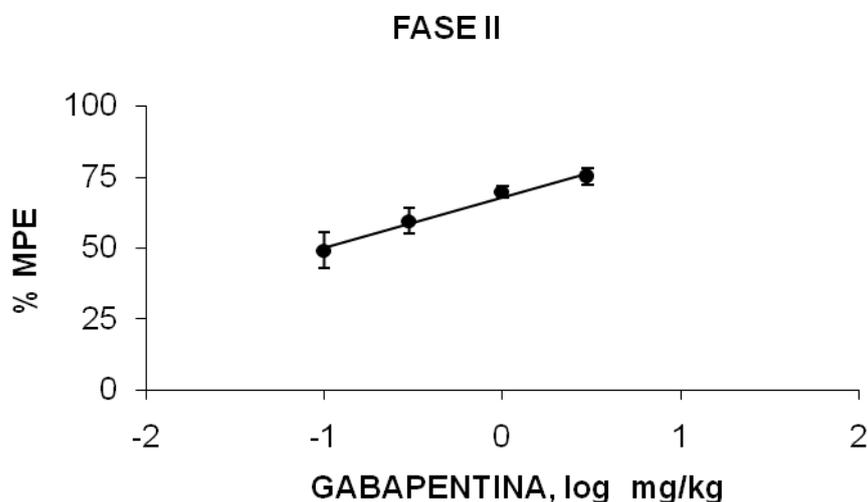


Gráfico 2. Curva dosis-respuesta para la administración i. p. de gabapentina en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 ratones. MEP: máximo efecto posible.

La DE_{50} resultó ser de $0,74 \pm 0,08$ mg/kg para la fase I ($n=32$), mientras en la fase II resultó ser $0,09 \pm 0,02$ mg/kg ($n=32$) (Tabla 3).

3. Grupo tratado con paracetamol.

La administración intraperitoneal de paracetamol, resultó en una disminución dosis-dependiente, de la respuesta nociceptiva en la fase I y II.

La reducción de la amplitud de la respuesta de frotamiento para la fase I fue de $41,49 \pm 2\%$ ($P < 0,05$), $50,73 \pm 1\%$ ($P < 0,05$), $70,09 \pm 3\%$ ($P < 0,05$) y $82,4 \pm 1\%$ ($P < 0,05$) tras la administración de 10, 30, 100 y 200 mg/kg respectivamente (Gráfico 3).

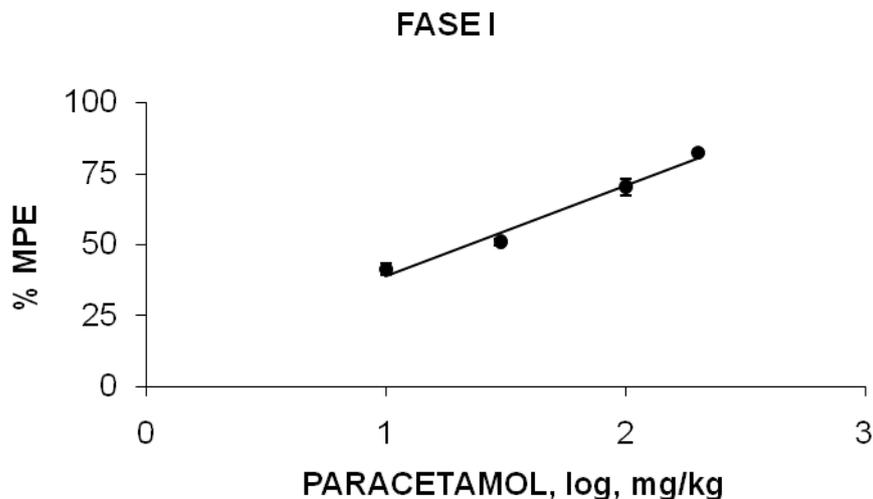


Gráfico 3. Curva dosis-respuesta para la administración i. p. de paracetamol en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 ratones. MEP: máximo efecto posible.

En tanto la reducción para la fase II fue de $51,56 \pm 2\%$ ($P < 0,05$), $66,96 \pm 0,2\%$ ($P < 0,05$), $76,09 \pm 1\%$ ($P < 0,05$) y $83,85 \pm 2,5\%$ ($P < 0,05$) tras la administración de 10, 30, 100 y 200 mg/kg respectivamente (Gráfico 4).

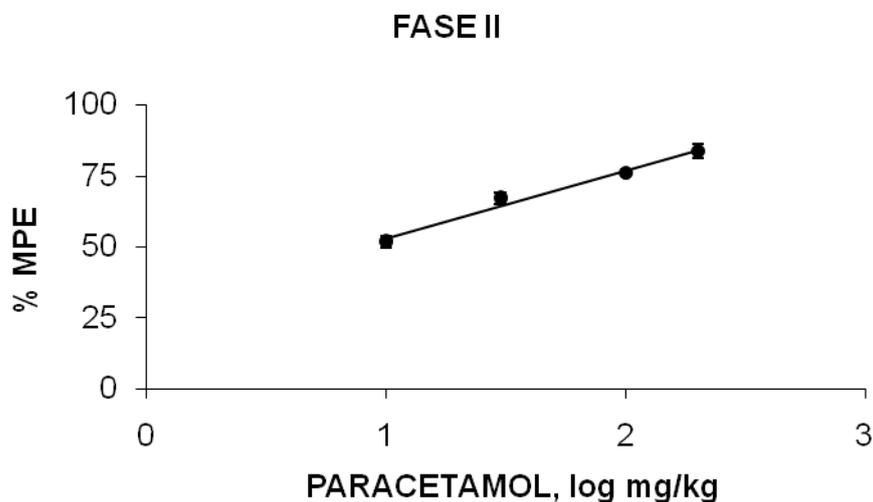


Gráfico 4. Curva dosis-respuesta para la administración i. p. de paracetamol en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de 8 ratones. MEP: máximo efecto posible.

La DE_{50} resultó ser de $22,04 \pm 3,27$ mg/kg para la fase I ($n=32$), mientras en la

fase II resultó ser $7,5 \pm 1,49$ mg/kg (n=32) (Tabla 3).

Fármacos	DE ₅₀ ± EEM (mg/kg i.p.)		Razón fase I/ fase II
	Fase I	Fase II	
Gabapentina	0,74 ± 0,08	0,09 ± 0,02	8,22
Paracetamol	22,04 ± 3,27	7,50 ± 1,49	2,94
Gabapentina/Paracetamol	1,81 ± 0,08	0,57 ± 0,04	3,18

Tabla 3: Valores dosis efectiva 50 (DE₅₀) con sus respectivos errores estandar de la media (EEM), para el efecto nociceptivo de la administración intraperitoneal (i.p.) de: gabapentina, paracetamol, y de la mezcla gabapentina/paracetamol; en la fase I y II del test de la formalina orofacial. Razón de Fase I sobre fase II.

4. Interacción entre gabapentina y paracetamol

La coadministración sistémica de gabapentina con paracetamol en proporción 1:1 de sus correspondientes DE₅₀ resultó en una disminución dosis-dependiente, de la respuesta nociceptiva en la fase I y II.

La reducción de la amplitud de la respuesta de frotamiento para la fase I fue de $45,6 \pm 1,46$ % (P<0,05), $57,48 \pm 1,43$ % (P<0,05), $72,28 \pm 0,56$ % (P< 0,05) y $82,99 \pm 0,25$ % (P<0,05), tras la administración de las fracciones de DE₅₀ 1/16, 1/8, 1/4, 1/2, respectivamente (Gráfico 5).

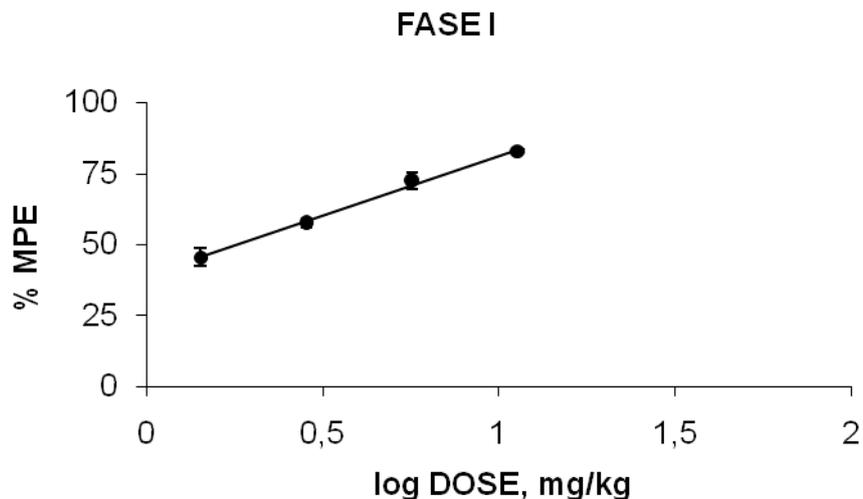


Gráfico 5: Curva dosis respuesta para la coadministración i.p. de las mezclas gabapentina/paracetamol en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 8 animales. MEP: máximo efecto posible.

En tanto la reducción para la fase II fue de $46,81 \pm 2,18\%$ ($P < 0,05$), $58,32 \pm 1,60\%$ ($P < 0,05$), $65,46 \pm 0,55\%$ ($P < 0,05$) y $75,84\% \pm 0,59\%$ ($P < 0,05$) de las fracciones de DE_{50} 1/16, 1/8, 1/4, 1/2, respectivamente (Gráfico 6).

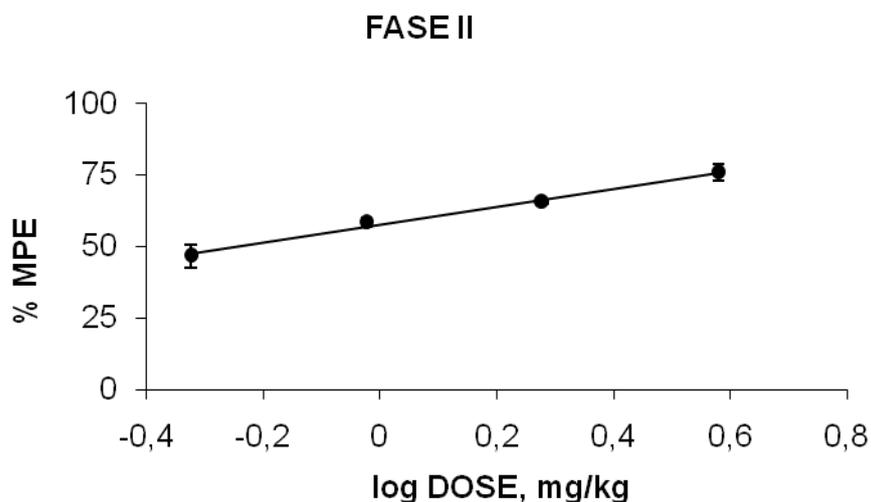


Gráfico 6: Curva dosis respuesta para la coadministración i.p. de las mezclas gabapentina/paracetamol en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 8 animales. MEP: máximo efecto posible.

La DE_{50} fue de $1,81 \pm 0,08$ mg/kg para la fase I (n=32), y de $0,57 \pm 0,04$ mg/kg para la fase II (n=32) (Tabla 3).

5. Análisis isoblográfico de la interacción entre gabapentina y paracetamol

La actividad antinociceptiva de la administración conjunta via i.p. de combinaciones de relación fija (1:1) de fracciones de la DE_{50} de gabapentina y paracetamol, se evaluó mediante el cálculo de la DE_{50} de la mezcla.

Del análisis isoblográfico de la combinación gabapentina con paracetamol, se obtuvo como resultado una interacción antinociceptiva de tipo supraaditiva o sinérgica, tanto para la fase I como la fase II, esto se concluye por la ubicación del punto experimental, bajo la línea de aditividad, y con los índices de interacción (I.I.) estadísticamente menores a 1 en ambas fases: Fase I, I.I.= 0.159 y fase II, I.I.: = 0.151.

En la fase I se obtuvo un índice de interacción de 0.159, en tanto para la fase II 0.151 (Gráfico 7 y 8).

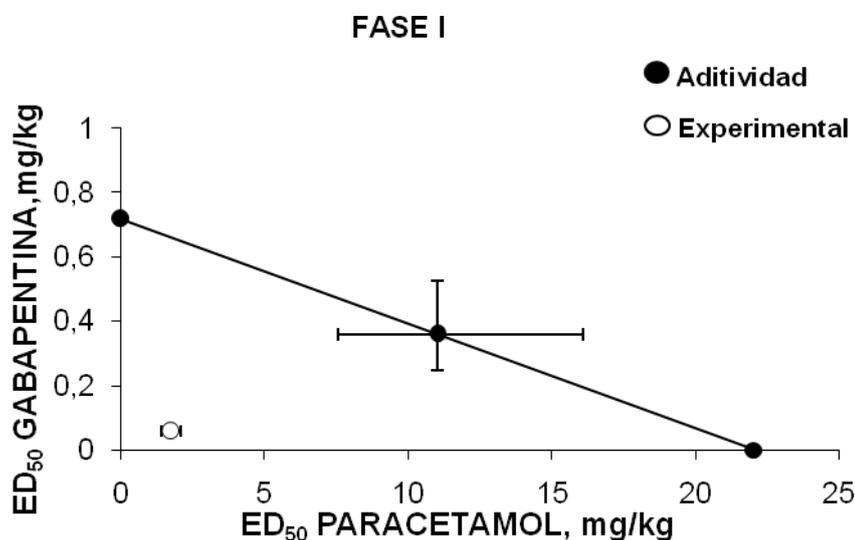


Gráfico 7: Isoblograma de la interacción entre gabapentina y paracetamol, en el test de la formalina orofacial, en la fase I. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de aditividad experimental.

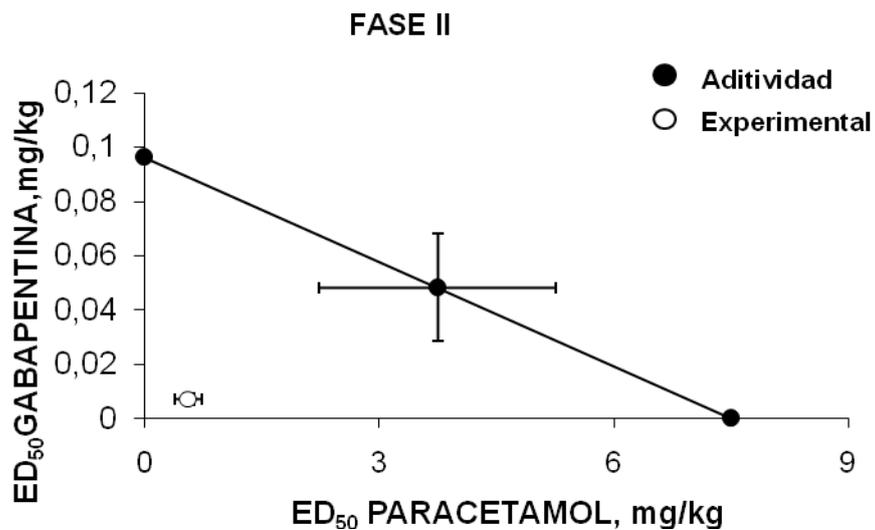


Gráfico 8: Isoblograma de la interacción entre gabapentina y paracetamol, en el test de la formalina orofacial, en la fase II. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de actividad experimental.

DISCUSIÓN

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

La formalina al 2% utilizada en el presente estudio es una sustancia algogénica que produce inflamación y edema tras su inyección subcutánea. Además produce una actividad nociceptiva, de presentación bifásica, caracterizada por inducir respuestas de rascado en la zona inyectada, lo que es registrado y utilizado para medir la eficacia analgésica de diferentes fármacos (Luccarini y cols., 2006). La interpretación de este modelo sugiere que la fase I es el resultado de la activación directa de nociceptores periféricos, en tanto la fase II es generada por inflamación tisular y sensibilización de neuronas de segundo orden, que se puede correlacionar con un estado de dolor crónico neuropático de origen periférico (Yokogawa y cols., 2002). El periodo de quietud, interfase, se atribuye a controles inhibitorios del dolor (Shannon y cols. 2005). El patrón de respuesta dolorosa a la inyección de formalina en la región orofacial observado en éste trabajo, es similar al reportado por otros autores (Raboisson, 2004; Luccarini y cols., 2006), ya que los animales desplegaron la típica respuesta bifásica de frotamiento facial.

En esta investigación se demostró que la administración i.p. de gabapentina (dosis 0,1,0,3, 1 y 3 mg/kg) induce efectos inhibitorios dosis-dependiente, de la respuesta nociceptiva, en las fases I y II del test de la formalina orofacial en ratones, ello queda claramente establecido en los gráficos 1 y 2 donde se aprecia que al aumentar la dosis de gabapentina, aumenta la analgesia representada por %MPE. De acuerdo a los valores DE_{50} de la actividad antinociceptiva, la gabapentina resultó ser 8, 22 veces más potente en la fase II del test, lo que implica una acción predominantemente a nivel central, aunque su acción frente al dolor agudo es significativa. Estudios preclínicos anteriores similares, presentan disparidad de resultados, pues se observa una disminución de la respuesta nociceptiva de ambas fases (Shannon y cols. 2005) o bien sólo de la fase II (Grabow y Dougherty, 2002; Yoon, 2003; Munro,

2009).

Además el presente estudio provee evidencia, según la cual, la administración i.p. de paracetamol (dosis 10, 30, 100 y 200 mg/kg) inhibe la actividad de rascado de la zona perinasal en forma dosis-dependiente, en ambas fases del test, quedando señalado en los gráficos 3 y 4, donde se aprecia que al aumentar la dosis de paracetamol, aumenta la analgesia representada por %MPE. Según los valores DE_{50} de la actividad antinociceptiva, el paracetamol resultó ser 2,94 veces más potente en la fase II de la prueba, al igual que la gabapentina. Esto último concuerda con las recientes investigaciones que señalan que el paracetamol tiene un efecto antiinflamatorio importante (Loken y cols, 1980; Hinz y cols, 2008) y serviría para tratar el dolor neuropático (Kyong-Shil, 2012).

El mecanismo mediante el cual la gabapentina ejerce su efecto analgésico ha sido ampliamente estudiado. Su actividad analgésica se debe a la unión con la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 de canales de $Ca^{+2}V$ (Taylor, 2009; Uchitel, 2010). Esto altera el influjo de calcio pre-sinápticamente, disminuyendo la liberación de glutamato y por ende la excitabilidad neuronal post-sináptica. El efecto antinociceptivo de este fármaco se basa en la atenuación de descargas ectópicas desde aferentes primarios dañados, en los cuales se encuentra aumentada la expresión de la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 de $Ca^{+2}V$ (Uchitel, 2010), lo que explicaría la acción de dicho fármaco en la fase II del test. De acuerdo a lo anterior, la disminución de la respuesta nociceptiva de la fase I está posiblemente mediada por otros mecanismos. En la literatura se reporta una disminución de la respuesta nociceptiva, mediada por gabapentina, en un modelo de dolor agudo (Harshini y cols., 2012).

Según los últimos estudios sobre el mecanismo de acción del paracetamol, se señala que éste actuaría inhibiendo de manera débil la COX-1 y con mayor actividad sobre la COX-2 (Hinz y cols., 2008), de hecho se habla que actuaría como un inhibidor selectivo de la COX-2, esto último cambia radicalmente el conocimiento que se tenía sobre el paracetamol hasta hace poco tiempo, ya que se pensaba que éste fármaco actuaba sólo como analgésico y antipirético, descartando de plano su acción antiinflamatoria. Se ha visto que el paracetamol disminuye la inflamación post cirugía oral en seres humanos, con

efectos muy similares al ibuprofeno (Bjornsson y cols., 2003), también disminuye la inflamación en modelos de roedores y animales de experimentación (Graham y Scott, 2005). Esto último se asocia directamente con lo ocurrido en el presente estudio donde la potencia relativa de paracetamol fue mayor en la fase II del test. Por último cabe destacar que como es el caso de otros AINEs, incluidos los inhibidores selectivos de la COX - 2, los efectos analgésicos de paracetamol se potencian por los inhibidores de muchos sistemas de neurotransmisores endógenos, incluidos los sistemas serotoninérgicos, opioide y cannabinoide a los que se ha adjudicado ser sitios de acción secundarios del paracetamol (Graham y cols., 2013).

Este estudio provee el primer análisis isobolográfico de gabapentina y paracetamol en el test de la formalina orofacial. El isoblograma indica que la interacción entre ambos, administrados i.p., es de tipo supraaditiva o sinérgica, ello queda establecido en los gráficos 7 y 8 donde se observa la ubicación del punto experimental, el cuál se encuentra por debajo de la línea de aditividad teórica lo que implica el tipo de interacción obtenida (Tallarida y cols., 2001; Chou, 2006). Según los valores de DE_{50} , la combinación de los medicamentos fue 3,18 veces más potente en la fase II respecto de la fase I, lo que confirma la mayor potencia observada de cada fármaco por separado.

Los mecanismos responsables de este tipo de interacción, son escasamente conocidos, pero varias hipótesis se han desarrollado para explicar estos efectos. Estas incluyen mecanismos farmacocinéticos, mediante los cuales un medicamento incrementa los niveles del otro, disminuyendo la tasa de eliminación o alterando su metabolismo, o por mecanismos farmacodinámicos, en la cual la activación paralela de diferentes sistemas puede modular una vía común, o bien un compuesto puede aumentar la afinidad y/o unión del otro (Tallarida, 2001; Tallarida y cols., 2003). Se requerirán futuros estudios para dilucidar el mecanismo de dicha interacción.

Es importante destacar que el efecto sinérgico de gabapentina asociada con paracetamol, determinado en la presente investigación, representa un antecedente relevante en el estudio del tratamiento farmacológica del dolor orofacial, en especial el de tipo neuropático, donde se ha observado una

inadecuada eficacia y tolerancia de las terapias utilizadas en la actualidad y una alta prevalencia e intensidad de dicho dolor, implicando una disminución en la calidad de vida de quienes lo padecen y alta tasa de deserción laboral (Takemura, 2006; Hargreaves, 2011).

CONCLUSIONES

- La administración de gabapentina o paracetamol y su combinación, vía intraperitoneal, produce efecto antinociceptivo dosis-dependiente, en el test de la formalina orofacial, tanto en la fase algésica aguda (fase I) como en la fase algésica-inflamatoria (fase II).
- La gabapentina posee mayor potencia analgésica en la fase algésica-inflamatoria (fase II).
- El paracetamol posee mayor potencia analgésica en la fase algésica-inflamatoria (fase II).
- La gabapentina posee mayor potencia analgésica que el paracetamol en ambas fases.
- La administración conjunta de gabapentina y paracetamol tiene mayor potencia en la fase algésica-inflamatoria (fase II).
- La coadministración de gabapentina y paracetamol, vía intraperitoneal, produce una interacción de tipo sinérgico o supraditivo en el test de la formalina orofacial.
- La sinergia obtenida se explica por ser fármacos que poseen diferentes mecanismos de acción.
- Los hallazgos obtenidos no pueden ser extrapolados clínicamente, no obstante, respaldan futuras investigaciones clínicas que utilicen la combinación de ambos fármacos en su terapéutica, para el mejor control del dolor neuropático y reducción de efectos adversos.

SUGERENCIAS

- Se sugiere evaluar en estudios posteriores, la capacidad antinociceptiva e interacción entre gabapentina y paracetamol mediante otras vías de administración.
- Evaluar la capacidad antinociceptiva e interacción entre gabapentina y paracetamol, utilizando otros tipos de ensayos algesiométricos asociados al dolor neuropático orofacial.
- Estudiar si la administración asociada de gabapentina y paracetamol produce disminución real de reacciones adversas.
- Evaluar la interacción entre gabapentina y otros fármacos analgésicos, ya sea convencionales o coanalgésicos.
- Evaluar la interacción entre paracetamol y otros fármacos anticonvulsivantes utilizados para tratamiento de dolor neuropático.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S. 2004. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review; *Brain Research*: 1000; 40-56.

Anderson BJ. 2008. Paracetamol (Acetaminophen): mechanism of action. *Paediatr Anaesth*: 18; 915-921

Attal N, Cruccu G, Baron R, Haanpaa M, Hansson P, Jensen TS, Nurmikko T. 2010. EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain. *European Journal of Neurology*: 17; 1113–1188.

Backonja M, Glanzman RL. 2003. Gabapentin dosing for neuropathic pain: evidence from randomized, placebo-controlled clinical trials. *Review Clin Ther*: 25; 81-104.

Baron R, Binder A, Wasner G. 2010. Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *The Lancet Neurology*: 9; 807-819.

Barrot M. 2012. Tests and models of nociception and pain in rodents, *Neuroscience*: 211; 39-50.

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

Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. 2009. Cellular and molecular mechanisms of pain; *Cell*: 139; 267-284.

Benarroch E. 2005. Dolor: Conceptos emergentes en fisiología y fisiopatología. *Rev Neurol Argentina*: 30; 70-82.

Bjornsson, G, Haanaes H, Skoglund L. 2003. A randomized, double-blind crossover trial of paracetamol 1000 mg four times daily vs ibuprofen 600 mg: effect on swelling and other postoperative events after third molar surgery. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 55; 405–412.

Bonica JJ. 1990. Anatomic and physiology basics of nociception and pain. In: Bonica JJ (Ed). *The management of pain*. 2Ed, Pennsylvania, Lea&Febiger: 28-94.

Bonnefont J, Courade JP, Alloui A, Eschalier A. 2003. Antinociceptive mechanism of action of paracetamol. *Drugs*:63; 1-4.

Campbell JN, Meyer RA. 2006. Mechanisms of Neuropathic Pain *Rev. Neuron*: 52; 77-92.

Costigan M, Scholz J, Woolf CJ. 2009. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annual Review of Neuroscience*: 32; 1-32.

Chaparro LE, Wiffen PJ. 2012 Combination pharmacotherapy for the treatment of neuropathic pain in adults (Review). *The Cochrane Collaboration*: 7; 1-59.

Chandrasekharan N.V., Dai H., Roos L.T., Evanson N.K., Tomsik J., Elton T.S., Simmons D.L. 2002. COX-3, a cyclooxygenase -1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression. *Proc Natl Acad Sci, USA*: 99; 13926-13931.

Cheng JK, Chiou LC. 2006. Mechanisms of the antinociceptive action of gabapentin; *Journal of Pharmacological Sciences*: 100; 471-486.

Chou TC. 2006, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies. *Pharmacol Rev*: 58; 621-681.

Dallel R, Villanueva L, Woda A, Voisin D. 2003. Neurobiology of trigeminal pain. *Med Sci*: 19; 567-574.

Dagnino J. 1994. Definiciones y clasificaciones de dolor. *Bol Escuela Medicina Universidad Católica Chile*: 23; 148-151.

Duggan ST, Scott LJ. 2009. Intravenous paracetamol (acetaminophen). *Drugs*: 69; 101-113.

González JM .2000. Animal pain models and ethical issues regarding animal experimentation. *Rev Soc Esp Dolor*: 7; 313-318.

Graham GG, Scott KF 2005. Mechanism of action of paracetamol. *Am J. Ther*: 12; 46-55.

Graham GG, Davies MJ, Day RO, Mohamudally A, Scott KF. 2013. The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. *Inflammopharmacology*. 21; 201-232.

Grabow TS, Dougherty PM. 2002. Gabapentin produces dose-dependent antinociception in the orofacial formalin test in the rat. *Reg Anesth Pain Med*: 27; 277-283.

Guirimand F. 2003. Recent data on the physiology of pain. *Nephrologie*: 7; 401-407.

Hargreaves KM. 2011. Orofacial Pain Review; *Pain*: 152; 25-32.

Hinz B, Olga CH, Kay B. 2008. Acetaminophen (paracetamol) is a selective cyclooxygenase-2 inhibitor in man *The FASEB Journal*: 22; 383-390.

Iwata K, Imamura Y, Honda K, Shinoda M. 2011. Physiological mechanisms of neuropathic pain: the orofacial region. *International Review of Neurobiology*: 97;

227-250.

Kilic FS, Sirmagul B, Yildirim E, Oner S, Erol K. 2012. Antinociceptive effects of gabapentin & its mechanism of action in experimental animal studies. *Indian J Med Res*: 135; 630-635.

Kyong-Shil Im, Hyun-Ju Jung. 2012. The antinociceptive effect of acetaminophen in a rat model of neuropathic pain. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*: 28; 251-258.

Latremoliere A, Woolf CJ. 2009. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity; *Journal of pain*: 10; 895-926.

Luccarini P, Childeric A, Gaydier A, Voisin D, Dallel R. 2006. The Orofacial Formalin Test in the Mouse: A Behavioral Model for Studying Physiology and Modulation of Trigeminal Nociception. *The Journal of Pain*: 7; 908-914.

Lokken P. Skjelbred 1980. Analgesic and anti-inflammatory effects of paracetamol evaluated by bilateral oral surgery *Br J Clin Pharmacol*: 10; 253–260.

Maizels M, McCarberg B. 2005. Antidepressants and antiepileptic drugs for chronic non-cancer pain; *American Family Physician*: 71; 483-490.

Mallet C, Daulhac L, Bonnefont J, Ledent C, Etienne M, Chapuy E, Libert F, Eschalier A. 2008. Endocannabinoid and serotonergic systems are needed for acetaminophen-induced analgesia. *Pain*: 139;190-200.

Martin WJ, Forouzanfar T. 2011. The efficacy of anticonvulsants on orofacial pain: a systematic review. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics*: 111; 627-633.

Maneuf YP, Luo ZD, Lee K. 2006. Alpha2delta and the mechanism of action of gabapentin in the treatment of pain; *Seminars in Cell and Developmental Biology*: 17;.565-570.

Mc Hugh JM, Mc Hugh WB. 2000. Pain:neuroanatomy, chemical mediators,and clinicals implications. *AACN Clinical Issues*: 11; 168-178.

Millan M. 1999.The Induction of Pain: An Integrative Review.*Neurobiology*: 57; 1-164.

Miranda H, Sierralta F, Pinardi G. 2001. An Isobolographic Analysis of the Adrenergic Modulation of Diclofenac Antinociception. *Anesth Analg*: 93; 430–500.

Miranda H, Puig M, Prieto J, Pinardi G. 2006. Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experiemntal acute pain. *Pain* 121; 22-28.

Melzack Ronald. 2006. Gate control theory: on the evolution of pain concepts; *Pain Forum*: 5;.128-138.

Moore RA, Wiffen PJ, Derry S, McQuay HJ, 2011. Gabapentin for chronic neuropathic pain and fibromyalgia in adults; *Cochrane Database Systematic Reviews*; 16.

Munro G. 2009. Pharmacological assessment of the rat formalin test utilizing the clinically used analgesic drugs gabapentin, lamotrigine, morphine, duloxetine, tramadol and ibuprofen: influence of low and high formalin concentrations. *European Journal of Pharmacology*: 605; 95-102.

Munro G, Dyhr H, Grunnet M. 2010. Selective potentiation of gabapentin mediated antinociception in the rat formalin test by the nicotinic acetylcholine receptor agonist ABT-594. *Neuropharmacology*: 59; 208-217.

O'Connor AB, Dworkin RH. 2009. Treatment of neuropathic pain: an overview of recent guidelines; *American Journal of Medicine*: 122; 22-32.

Ossipov MH, Dussor GO, Porreca F. 2010. Central modulation of pain. *J Clin Invest*: 120 ; 3779-3787

Pelissier T, Pajot J, Dallel R, 2002. The orofacial capsaicin test in rats: effects of different capsaicin concentrations and morphine. *Pain*: 96; 81-87.

Poveda-Roda R., Bagan J.V., Jiménez-Soriano Y., Gallud-Romero L. 2007. Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs in dental practice. Review. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal*: 12; 10-18

Raboisson P, Dallel R. 2004. The orofacial formalin test. *Neurosci Biobehav Rev*: 28.; 219-260.

Reichling DB, Levine JD. 2009. Critical role of nociceptor plasticity in chronic pain. *Trends in Neurosciences*: 32; 611-618.

Reisner L, Pettengill CA. 2001. The use of anticonvulsants in orofacial pain. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics*: 91; 2–7.

Scott Groudine, MD, Susan Fossum. 2011. Use of Intravenous Acetaminophen in the Treatment of Postoperative Pain. *Journal of PeriAnesthesia Nursing*: 26; 74-80.

Sessle, B.J. 2006. Mechanisms of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates. *J. Oral Rehabil*: 33; 243–261.

Sessle B.J. 2005. Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates. *Minerva Anestesiol*: 71; 117-136.

Shannon HE, Eberle EL, Peters SC. 2005. Comparison of the effects of anticonvulsant drugs with diverse mechanisms of action in the formalin test in rats. *Neuropharmacology*; 48; 1012-1020.

Smecuol E, Bai J C, Sugai E, Vazquez H, Niveloni S, Pedreira S, Mauriño E, Meddings J. 2001. Acute gastrointestinal permeability responses to different non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Gut*: 49; 650–655.

Spencer CJ, Gremillion HA. 2007. Neuropathic orofacial pain: proposed mechanisms, diagnosis, and treatment considerations. *Dental Clinics of North America*: 51; 209-224.

Simmons D.L., Botting R.M., Hla T. 2004. Cyclooxygenase isoenzymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol. Rev*: 56; 387-437.

Singh D, Kennedy DH. 2003. The use of gabapentin for treatment of postherpetic neuralgia; *Clinical Therapeutics*: 25; 852-889.

Tallarida RJ. 2001. Drug synergism: its detection and applications. *J Pharmacol Exp Ther*: 289; 865-872.

Tallarida RJ, Cowan A., Raffa R. B. 2003. Antinociceptive Synergy, Additivity, and Subadditivity with Combinations of Oral Glucosamine Plus Nonopioid Analgesics in Mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*: 307; 699–704.

Taylor CP. 2009. Mechanisms of analgesia by gabapentin and pregabalin-calcium channel alpha2-delta [Cavalpha2-delta] ligands; *Pain*: 142; 13-16.

Takemura M., Sugiyo S., Moritani M. 2006. Mechanism of orofacial pain control in the central nervous system. *Arch Histol Cytol*: 69; 79-100.

Turk, DE. Okifuji A. 2001 Pain terms and taxonomies of Pain. En: Loeser, JD, Butler, SH. *Bonica's Management of Pain*. 3Ed: 25-56.

Uchitel OD, Di Guilmi M, Urbano FJ, Gonzalez Inchauspe C. 2010. Acute modulation of calcium currents and synaptic transmission by gabapentinoids. *Channels*: 4; 490–496.

Voscopoulos C, Lema M, 2010. When does acute pain become chronic?. *British Journal of Anaesthesia*: 105; 69-85.

Warner T., Mitchell j. 2004. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors and lessons from the clinic. *The FASEB journal*: 18; 790-804.

Yokogawa F, Kiuchi Y, Ishikawa Y, Otsuka N, Masuda Y, Oguchi K, Hosoyamada A. 2002. An investigation of monoamine receptors involved in antinociceptive effects of antidepressants; *Anesthesia & Analgesia*; 95; 163-168.

Yoon, J.I. Choi, S.W. Jeong. 2003. Spinal. Gabapentin and antinociception: Mechanisms of Action *J Korean Med*: 18; 255-261.

Zakrzewska JM, McMillan R. 2011. Trigeminal neuralgia: the diagnosis and management of this excruciating and poorly understood facial pain. *Postgraduate Medical Journal*: 87; 410-416.

Zimmermann M. 1986. Behavioural investigations of pain in animals. In: Duncan IJH, Molony Y, eds. *Assessing pain in farm animals*. Bruxelles: Office for Official Publications of the European Communities; 16–29.