



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**IMPLEMENTACIÓN DE UN MODELO DE
DOLOR OROFACIAL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

ALMA LUISA VARELA LÓPEZ



Directora: Dra. Myrna Déciga Campos

Asesora: M. en F. Idalia Flores Gómez

México, D. F.

2014.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo se realizó en el área preclínica de la Unidad de Investigación en Farmacología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, S.S.A. bajo el convenio con la Sección de Investigación y Posgrado de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional (Convenio INER-IPN). El proyecto estuvo bajo la dirección de la Dra. Myrna Déciga Campos adscrita a la Escuela Superior de Medicina del IPN y la asesoría de la M. en F. Idalia Flores Gómez adscrita a la Facultad de Estudios superiores Zaragoza. El apoyo financiero lo otorgó el IPN con los proyectos aprobados por la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP).

ÍNDICE

	Índice	
	Índice de figuras y tablas	
	Abreviaturas	
	Resumen	1
I	Introducción	2
II	Fundamentación teórica	3
II.1	Definición de dolor	3
II.2	Clasificación de dolor	4
II.3	Nocicepción	5
II.3.1	Nociceptores	11
II.3.2	Activación de los Nociceptores	12
II.4	Neuroanatomía del dolor	14
II.5	Hiperalgnesia	17
II.6	Sensibilización	18
II.7	Sistema de modulación descendente	22
II.8	Dolor orofacial	23
II.9	Clasificación del dolor orofacial	24
II.10	Nervio trigémino	27
II.11	Medición del Dolor	31
III	Planteamiento del problema	34
IV	Hipótesis	35
V	Objetivos	35
V.1	Objetivos particulares	35
VI	Material y Método	35
VI.1	Animales	35
VI.2	Modelo de formalina	36
VI.3	Diagrama de flujo del diseño experimental	38
VI.4	Análisis de Datos y Estadística	39
VII	Resultados y Discusión	40
VIII	Conclusión	48
IX	Bibliografía	49

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1	Clasificación de los tipos de dolor (modificación de Woolf 2004)	6
Figura 2	Esquema de los procesos de percepción del dolor	10
Figura 3	Estado de hiperexcitación bajo umbral del dolor	13
Figura 4	Sistema espino reticulotalámico	15
Figura 5	Láminas de Rexed	16
Figura 6	Cascada enzimática ante un estímulo nociceptivo	21
Figura 7	Vía descendente de la nocicepción	23
Figura 8	Nervio trigémino	27
Figura 9	Nervios implicados en la transmisión del dolor en el sistema trigésimal	28
Figura 10	Área aproximada de difusión de formalina	35
Figura 11	Método de formalina	36
Figura 12	Curso temporal del efecto nociceptivo generado por la administración orofacial de vehículo seguido de la administración de Formalina 2.5%	41
Figura 13	Curso temporal del efecto nociceptivo generado por la administración orofacial de vehículo seguido de la administración de Formalina 2.5% tanto en ratones hembra como en ratones macho	43
Figura 14	Curso temporal del efecto nociceptivo generado por la administración subcutánea en la pata derecha y en el sitio orofacial de vehículo seguido de la administración de Formalina 2.5% en ratones macho	44
Figura 15	Curva concentración respuesta generada por la administración en el sitio orofacial de Diclofenaco seguido de la administración de formalina 2.5% en ratones macho	45
Figura 16	Curva concentración respuesta por la administración en el sitio orofacial de tramadol seguido de la administración de formalina 2.5% en ratones macho	46
Tabla 1	Sustancias relacionadas con hiperalgesia	8
Tabla 2	Características de algunos modelos nociceptivos	32

ABREVIATURAS

5-HT	Receptor 5-hidroxitriptamina; Serotonina
ABC	Área Bajo la Curva
AINE's	Antiinflamatorio no esteroideo
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico
ANOVA	Análisis de varianza
ASIC	Ácido Sensible a los Canales Iónicos
BK	Bradicina
Ca²⁺⁺	Ion Calcio
COX	Ciclooxigenasa
TNF alfa	Factor de Necrosis tumoral alfa
GABA	Ácido gammaaminobutírico
GRD	Ganglio de la Raíz Dorsal
H⁺	Hidrogeniones
IASP	Asociación Internacional para el Estudio del Dolor
IL	Interleucina
K⁺	Ion Potasio
Na⁺	Ion Sodio
NARD	Neuronas de Amplio Rango Dinámico
NMDA	Ácido N-metil-D-aspartato
NNE	Neuronas Nociceptivas Específicas
NS	Neuronas Específicas
ON	Óxido Nítrico
PG's	Prostaglandinas
PRGC	Péptido Relacionado al Gen de la Calcitonina
SNC	Sistema Nervioso Central
SP	Sustancia P
TrKA	Tirosina cinasa A
TRP	Receptor Transitorio Potencial
TRPV	Receptor Transitorio Potencial Vanilloide
TRPV1	Receptor Transitorio Potencial Vainilloide 1
TRPM	Receptor Transitorio Potencial

RESUMEN

El presente proyecto incide directamente en el área de Farmacología. En Farmacología los modelos experimentales en animales de investigación, tienen un papel muy importante ya que mediante éstos se determina como ocurren procesos fisiológicos y patológicos que semejan al ser humano. Una vez que ya se tiene bien caracterizada una patología en particular, es necesario evaluar tratamientos que la contrarresten.

En este proyecto de investigación se muestra la implementación de un modelo animal, que semeja el dolor orofacial de tipo inflamatorio en humano. Se determinó la concentración adecuada de formalina para obtener el estímulo algésico. Además de establecer que los ratones macho son más adecuados con respecto a las hembras. Este modelo de nocicepción, actualmente es de gran importancia para el laboratorio de Dolor de la ESM ya que se está utilizando para la evaluación de alternativas terapéuticas para el dolor inflamatorio con relevancia odontológica.

I. INTRODUCCIÓN

El dolor es una sensación que va acompañada de un fuerte componente emocional importante; por lo cual la percepción del dolor para el humano depende de factores sociales, psicológicos, culturales, económicos e incluso ambientales. Así, un mismo estímulo nocivo puede evocar diferentes respuestas en diferentes individuos. Por esta razón es muy importante utilizar modelos biológicos en animales, en los cuales se represente el componente doloroso y se excluya el componente emocional. Actualmente, para evaluar el efecto analgésico de fármacos tanto los que ya se utilizan en el mercado como las nuevas propuestas se requiere de modelos de experimentación en animales principalmente en roedores.

En México existen pocos laboratorios de investigación que realizan evaluaciones analgésicas, básicamente estos laboratorio utilizan modelos de experimentación en dolor inflamatorio y neuropático. Dentro de los modelos de dolor inflamatorio es común el empleo de la prueba de formalina en la pata. En el presente trabajo se describe la implementación de un modelo de dolor orofacial por formalina en ratón. La finalidad de establecer este modelo es darle una aplicación más directa en la evaluación de analgésicos con utilidad en odontología.

II. FUNDAMENTO TEÓRICO

II.1. Definición de dolor

El dolor ha sido la principal queja médica desde los inicios de la humanidad. A lo largo de la historia las concepciones del dolor y su tratamiento han estado muy ligadas a la cultura y a los eventos mágico-religiosos que rodeaban las antiguas civilizaciones. El término analgesia viene del griego *an* que significa privación y *algos* que traduce dolor. La analgesia es tan antigua como el dolor mismo, puesto que el hombre posee un deseo innato de felicidad y el dolor es percibido como una frustración y pena que causa incapacidad física y mental. A pesar de las diferencias entre la interpretación que han hecho del dolor las distintas culturas y civilizaciones, existe un denominador común en todas ellas: el afán de conocer la causa que lo produce y cómo eliminarlo o por lo menos, minimizarlo.

El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a daño tisular real o potencial que puede ser descrito en términos de la magnitud del daño (IASP, 1986). El dolor, aunque indeseable, representa una estrategia adaptativa que permite proteger de las agresiones del medio externo; sin la presencia de estas respuestas reflejadas ante un estímulo doloroso, tendríamos una gran desventaja en la supervivencia. El dolor que acompañan a los procesos de daño tisular, conserva una naturaleza protectora, ya que es un componente necesario para el proceso de cicatrización, pero en la medida en que esto ocurre también se espera que disminuyan las sensaciones dolorosas. Sin embargo, en algunas circunstancias el dolor pasa de una sensación benéfica para el organismo a convertirse en sí mismo en una patología que debe ser suprimida para permitirle al organismo sobrevivir (Bonica, 1990).

Hoy en día, entendemos el dolor como la integración de tres componentes: el sensitivo, que hace referencia al impulso desencadenado desde los receptores periféricos de dolor. El componente cognitivo, se relaciona con nuestro aprendizaje cultural respecto al dolor, y con las conductas que tomamos como reacción a éste: integra factores tales como el entorno social y cultural, aprendizajes previos, etc. El tercer componente es el emotivo afectivo, que hace referencia a nuestras emociones frente a un impulso doloroso y la manera como éstas puede influir en la interpretación del mismo. La percepción final del dolor es consecuencia de la integración de estos tres componentes, y dependen de la contribución relativa de uno u otro, de la persona y de la clase de dolor postoperatorio presenta un elemento nociceptivo dominante, mientras que en el dolor crónico benigno el componente afectivo, es el que predomina.

Muchas personas refieren dolor en ausencia de daño tisular o causa fisiopatológica conocida; sin embargo, esta experiencia debe ser aceptada como dolor, puesto que no hay manera de distinguirla de aquella debida a un daño tisular efectivo. Inclusive en aquellos pacientes en los cuales es imposible demostrarse potencial daño tisular, el dolor debe ser manejado, ya que está produciendo una sensación desagradable que implica sufrimiento para el paciente (Dagnino, 1994).

II.2 Clasificación del dolor

Existen diferentes clasificaciones del dolor. A continuación se describe una clasificación de acuerdo a su patogenia (Figura 1) (Woolf, 2004).

- Dolor nociceptivo: es el resultado de la activación directa de receptores específicos (nociceptores) en la piel o los tejidos blandos en respuesta a una lesión tisular, generalmente se acompaña de una inflamación, es el tipo de dolor más frecuente. La

activación de estos receptores produce una disminución en el umbral nociceptivo, este fenómeno se conoce como hiperalgesia, que se refiere a una respuesta aumentada ante cualquier estímulo doloroso. El dolor puede ser somático (piel y estructuras superficiales), el cual es bien localizado y descrito como punzante y agudo. Puede ser visceral (estructuras profundas), que no es bien localizado y generalmente se describe en un área mayor, a menudo referido a estructuras cutáneas.

- Dolor inflamatorio: es un dolor espontáneo que se presenta en respuesta a inflamación y daño tisular, que permite la liberación de mediadores químicos que activan las terminales periféricas nociceptivas. Este tipo de dolor previene el contacto o el movimiento de la región afectada al menos hasta que se restablece el tejido, favoreciendo así su reparación y la disminución del daño ya ocasionado.

- Dolor neuropático: se genera por una lesión directa, enfermedad o disfunción del sistema nervioso, que involucra a los nervios periféricos, el ganglio de la raíz dorsal, asta dorsal o el sistema nervioso central. En este tipo de dolor se presentan los fenómenos de hiperalgesia y alodinia. La alodinia es la respuesta dolorosa que se debe a un estímulo que normalmente no provoca dolor.

- Dolor funcional: se caracteriza por una hipersensibilidad al dolor que resulta de un procesamiento central alterado, sin daño aparente en los nervios. El dolor en este caso se debe a una sensibilidad o función anormal del sistema nervioso central (migraña).

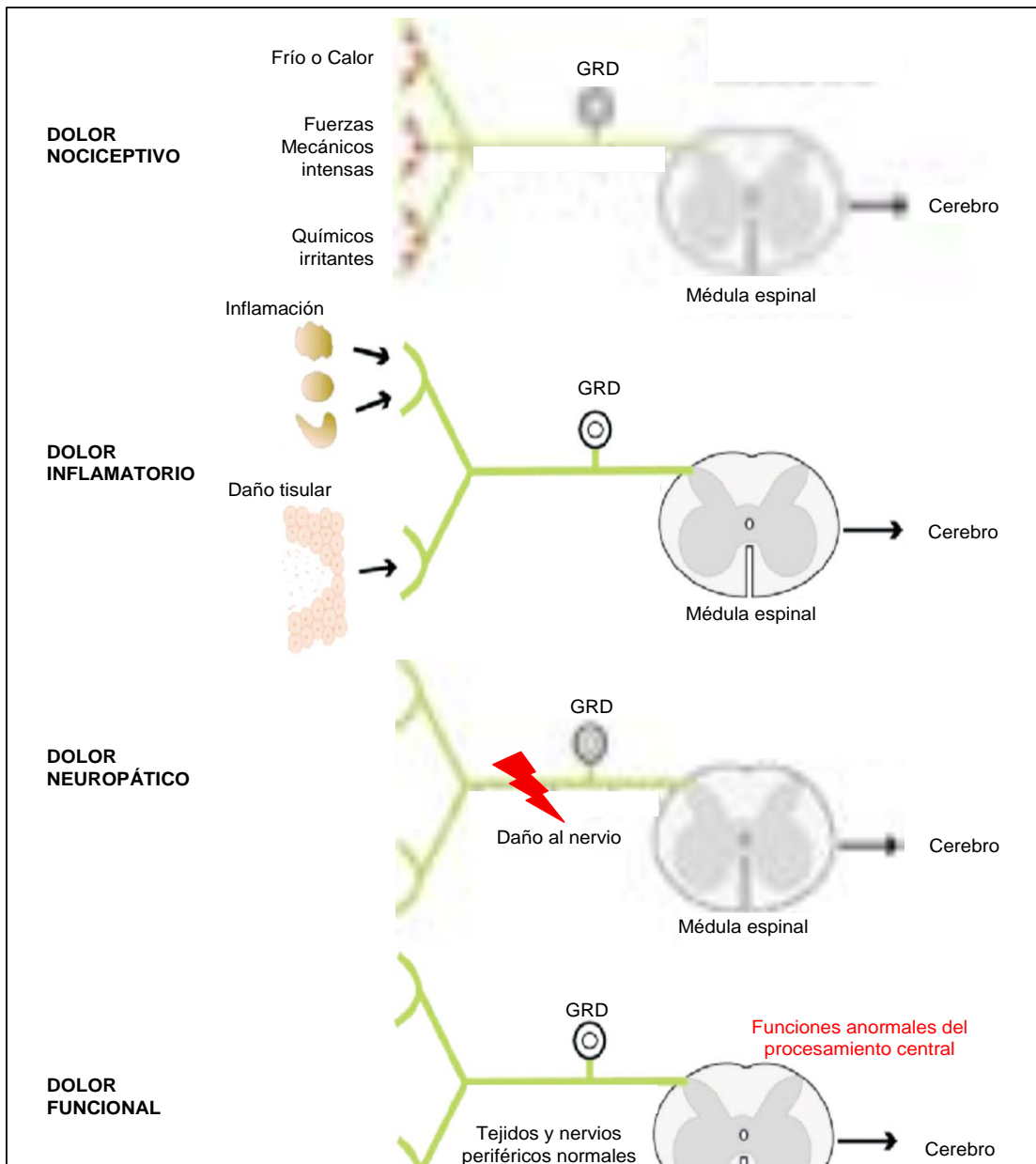


Figura 1. Clasificación de los tipos de dolor (modificación de Woolf, 2004).

II.3 Nocicepción

La palabra nocicepción se deriva de “noci” palabra del latín para daño o lesión. Es usado para describir sólo la respuesta neural a los estímulos traumáticos o dolorosos. La nocicepción es el proceso por el cual el impulso doloroso generado en receptores periféricos es conducido hasta las porciones más elevadas del sistema nervioso central (SNC) con el fin de convertir el estímulo nociceptivo en una sensación dolorosa. La nocicepción es la única etapa que tienen todos los individuos y se divide en traducción, transmisión, modulación y percepción el estímulo (Keith et al., 1999).

- TRANSDUCCIÓN

Proceso por el cual el estímulo dañino (químico, térmico, eléctrico, mecánico), provoca una actividad eléctrica, resultado de la activación de nociceptores cutáneos, en las terminaciones nerviosas sensoriales conduciendo un estado de decodificación. La activación de estos nociceptores se realiza por medio de la liberación de sustancias algogénicas hacia el espacio extracelular como potasio, hidrogeniones, histamina, serotonina, prostaglandinas, metabolitos del ácido araquidónico, bradicinina y la sustancia P (Tabla 1) (Merskey y Bungduk, 1994; Loesser, 2001).

- TRANSMISIÓN

Es la propagación del estímulo por las vías de conducción: Sus componentes principales son:

- Los nociceptores aferentes primarios fibras A δ y C; los cuales transmiten impulsos desde el sitio de la transducción hasta la médula espinal.
- Red de neuronas que ascienden desde la médula espinal al mesencéfalo y tálamo.

- Los nociceptores aferentes fibras A δ y C algunas de sus características son: tienen en sus conexiones una capa delgada de mielina y conducen los impulsos a velocidades relativamente rápidas (12-30 m/seg). Algunas fibras A δ responden principalmente a energía mecánica y sirven para localizar con certeza el sitio del daño, este evento es conocido como “primer dolor”, por alcanzar en primer lugar las neuronas medulares segmentarias y suprasegmentarias. Otras responden a estimulación térmica o química, en proporción al grado del trauma. Algunas fibras A δ pueden ser de respuesta polimodal, las cuales disparan después de que se ha alcanzado un umbral elevado y que algún daño ocurre (Fitzgerald, 1987).

Tabla 1: Sustancias relacionadas con hiperalgesia

Sustancia	Origen	Efectos en las terminaciones nerviosas fibras A δ y C
SP, PRGC	Neuronas sensibles a capsaicina	Sensibilizan
BK	Inflamación	Activan
Histamina	Plaquetas, células cebadas	Activan
H+	Isquemia, daño tisular	Activan
PG's	Ac. Araquidónico	Sensibilizan
Leucotrienos	Ac. Araquidónico	Sensibilizan
IL	Células cebadas	Activan
TNF alfa	Células cebadas	Activan

SP = sustancia P; **PRGC** = péptido relacionado al gen calcitonina; **BK** = bradicinina; **H+** = hidrogeniones; **PG's** = prostaglandinas; **IL** = interleucinas; **TNF alfa** = factor de necrosis tumoral alfa.

Fuente: Modificada de Sorkin, LS. Farmacología y fisiología básica del proceso del dolor agudo.

A continuación aparece el “segundo dolor”, sensación que apenas de unas fracciones de tiempo después del dolor agudo inicial, que se atribuye a la transmisión de las fibras C, de tipo sordo, acompañado de disestesias en el sitio original del dolor.

- MODULACIÓN

Con los trabajos de Melzack y Wall (1965) sobre la teoría de la compuerta se sabe que la médula podía filtrar y modular la información nociceptiva. Posteriormente, otros estudios en particular los de Woolf (1992), mostraron que además de controlar la información dolorosa, la médula podía potencializar la respuesta ante un estímulo nociceptivo. Este fenómeno es conocido bajo el nombre de “sensibilización central” o “wind up”.

En la modulación del dolor, la médula espinal constituye el primer relevo a los estímulos que provienen de la periferia; su segundo relevo, es a nivel de la sustancia reticular y el tálamo; el tercero, la zona límbica y la corteza somatosensorial.

La información nociceptiva aferente hace su arribo a las láminas de la médula espinal, en las sinapsis en las neuronas medulares, que se han clasificado como: Neuronas de Amplio Rango Dinámico (NARD) y Neuronas Nociceptivas Específicas (NNE) (Price, 1977). Las NARD son aquellas que responden a estímulos no nocivos, aunque también pueden hacerlo ante estímulos nocivos, en tanto que las NNE sólo responden a estímulos nocivos.

En fibras de tipo III y IV, se puede apreciar que la estimulación repetida de intensidad nociva intermedia, sobre la pulpa dental de humanos voluntarios, produce el fenómeno de “habitación” al dolor, similar al observado en otros tipos de estímulos sensoriales (visuales o auditivos), en el que el órgano multi-estimulado disminuye su actividad o amplitud de respuesta para volver a responder, una vez “deshabitado”, en la misma forma que lo hizo previamente (Figura 2) (Condés-Lara et al., 1981).

Vías de conducción del estímulo doloroso

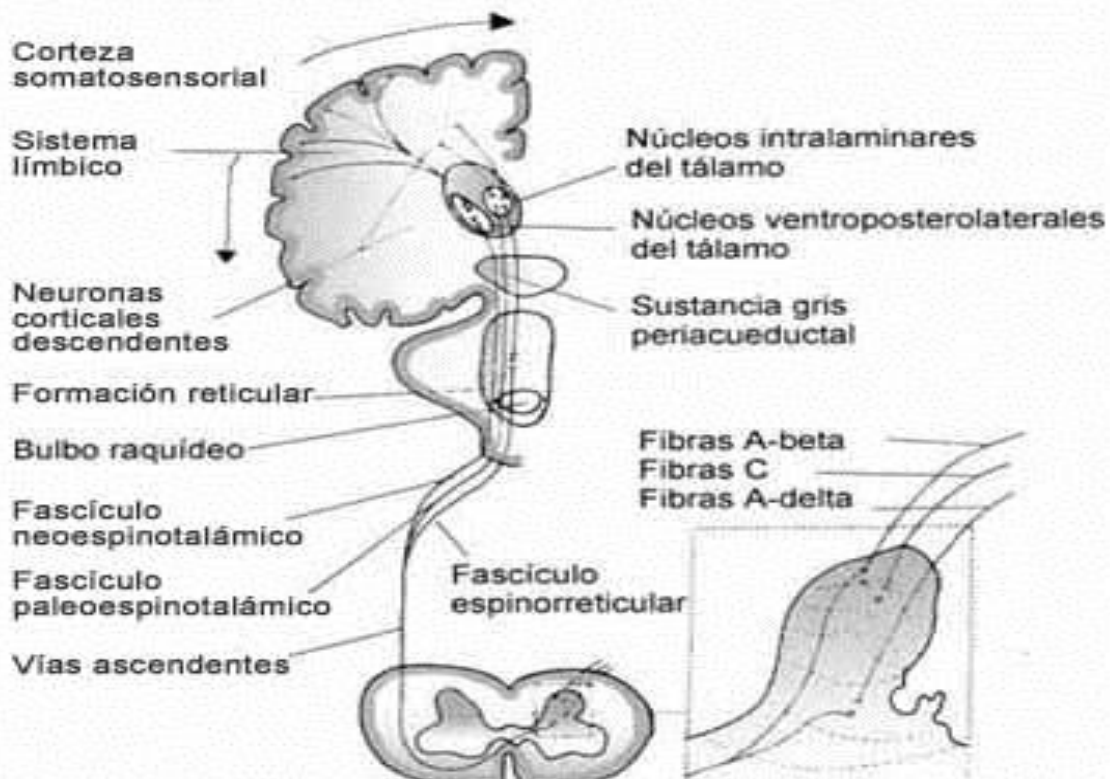


Figura 2. La conducción dolorosa viaja a través de fibras C y A delta hacia la médula espinal donde se producen neurotransmisores centrales que activan los receptores y pasan el mensaje para después continuar con la transmisión por medio del Haz espinotalámico, quien lleva la discriminación del dolor y el Haz espinoreticulotalámico encargado del aspecto emocional y autonómico del dolor para continuar con el mensaje a tálamo y por último a corteza cerebral.

- PERCEPCIÓN

La percepción, continúa en controversia, algunos autores han propuesto que el dolor es percibido más en el tálamo que a nivel cortical. La presencia de NARD y NNE en las capas intermedias de la corteza supone la integración a nivel cortical. Los campos receptivos de estas neuronas corticales nociceptivas están bien localizadas en áreas pequeñas, somatotópicamente apropiadas, de acuerdo a la extremidad contralateral. Las neuronas con frecuencia responden tanto a estímulos mecánicos fuertes y estímulos térmicos (Owens y Zhang, 1992).

II.3.1. Nociceptores

Existen tres diferentes estímulos: mecánicos, térmicos y químicos, éstos a su vez detonan diferentes sustancias que excitan a los receptores. Su principal función es diferenciar los estímulos inocuos de los nocivos, esta función la realizan ignorando los estímulos de baja intensidad y codificando el estímulo nocivo dentro de un rango de intensidades y trasmitiéndolo al SNC (Besson, 1999). Tienen tres propiedades básicas: un alto umbral para la estimulación cutánea, una capacidad de codificar la intensidad de los estímulos en el rango lesivo y una falta de actividad espontánea en ausencia de estimulación nociva previa. Las fibras nerviosas son de 2 tipos, *fibras A -(delta)* y *fibras C* (Tabla 2).

Tabla 2. Características de las fibras nociceptivas

Fibras nociceptivas	Tipo	Velocidad	Diámetro
Fibras A- δ	Mielínicas	4-30 m.sg ⁻¹	1-5 μ m
Fibras C	Amielínicas	0.4-2m.sg ⁻¹	0.3-1.5 μ m

Fibras A (delta): Son Fibras mielínicas, su diámetro es de 1-5 μ m. La velocidad de conducción es rápida, entre 4 a 30 milisegundos, conducen señales de dolor de corta latencia que precisan de respuestas rápidas.

Fibras C: Son Fibras amielínicas, su diámetro es de 0,3 a 1,5 μ m, la velocidad de conducción es lenta, entre 0.4 a 2 milisegundos, es el grupo más numeroso, transmiten los estímulos nociceptivos térmicos, mecánicos, químicos e informan sobre sensaciones de dolor quemante y de latencia más larga, son nociceptores polimodales, es decir, responden a múltiples estímulos, térmicos, mecánicos y químicos (Besson, 1999).

II.3.2. Activación de los nociceptores

Los nociceptores son muy importantes porque de ellos depende que se presente una activación fisiológica ante los estímulos nocivos o bien un proceso de sensibilización. La mayoría de los nociceptores son quimiorreceptores, que son activados por mediadores químicos como la bradisinina, las citocinas, los eicosanoides, los neurotransmisores (serotonina, noradrenalina), los iones de potasio (K^+) e hidrógeno (H^+), el ácido láctico, la histamina, L-aspartato, L-homocisteína, L-glutamato diversos péptidos (la sustancia P, Neuroquininas (NK), opioides, péptido relacionado con el Gen de la Calcitonina), ciertas sustancias como las prostaglandinas y los leucotrienos que disminuyen la activación de los nociceptores (Withe y Helme 1985; Keith et al., 1999; Loesser, 2001).

Los receptores centrales actúan en el área sináptica, donde terminan las fibras C y A. propagan el mensaje de estas fibras a través de la activación de receptores específicos como los receptores de las taquicininas (NK1, NK2, NK3), receptores NMDA (ácido N-metil-D-aspartato) y receptores AMPA, éstos últimos son sensibles al glutamato, responsables de la producción de diferentes mediadores intracelulares como el ácido araquidónico (Keith et a., 1999; Woolf y Mannion, 1999; Loesser, 2001).

Los receptores NK, NMDA y AMPA son activados por los diferentes mediadores periféricos mediante estimulaciones repetidas de potencial bajo y participan en el fenómeno de sensibilización central de las neuronas del asta posterior de la médula espinal. La suma de los potenciales lentos producirá progresivamente una despolarización de las neuronas medulares que se volverán cada vez más excitables, produciendo el fenómeno denominado *WIND-UP*. Ante la presencia de un bombardeo de potenciales lentos provenientes de la periferia, cada receptor NMDA se vuelve susceptible de ser activado. La membrana es despolarizada por un neuropéptido y el bloqueador de magnesio salta. Los iones de sodio y calcio penetran, prolongando la despolarización. La entrada de calcio, incluso a baja cantidad, provoca la activación de un sistema enzimático

intracelular por una proteína quinasa cuya acción mantiene la despolarización (mediante segundos mensajeros). Entre más activados sean los receptores NMDA, el asta posterior se vuelve más excitable y más sensible a los estímulos periféricos (Figura 3) (Loesser, 2001; Keith et al., 1999; Woolf y Mannion, 1999).

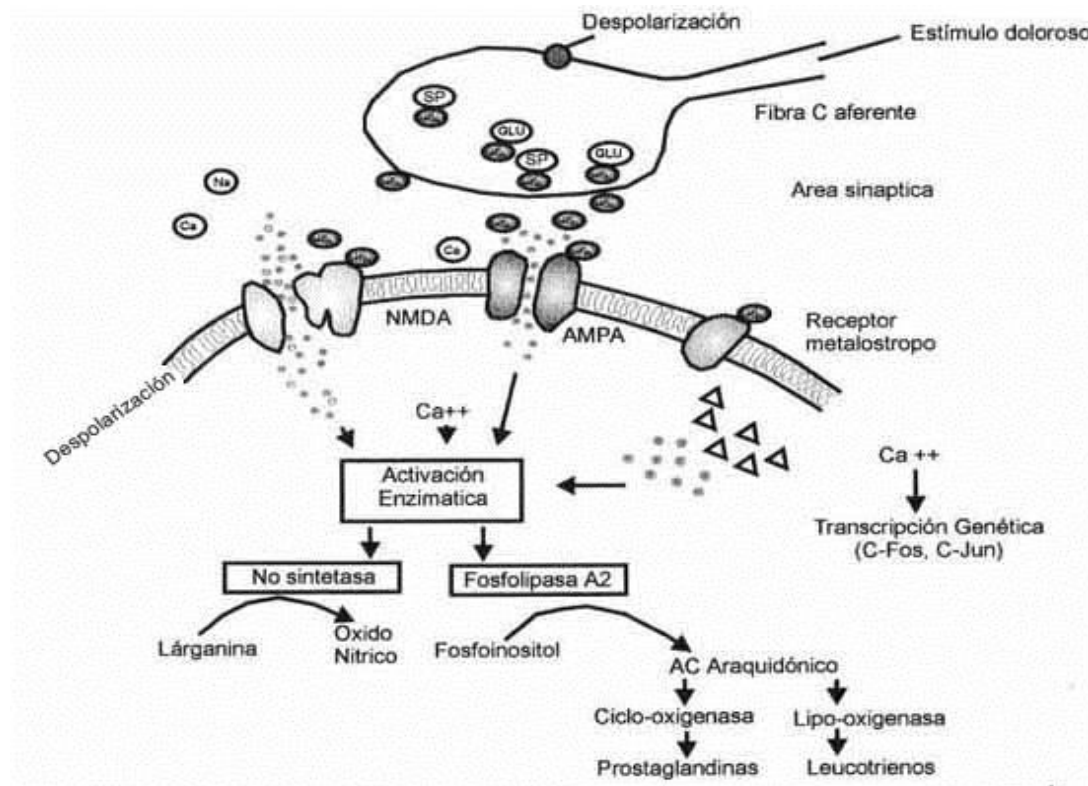


Figura 3. Estado de hiperexcitación bajo umbral del dolor. Ante la presencia de un estímulo nociceptivo se activan los receptores NMDA y AMPA quienes ocasionan la liberación de calcio y mediante la activación de segundos mensajeros y producción de óxido nítrico, aumentando la expresión de genes (C-fos, C-Jun) y activación de las cascadas enzimáticas (fosfolipasas, sintetasa de óxido nítrico), todo lo cual contribuye a la amplificación de la respuesta de las neuronas de orden secundario del asta posterior. Este fenómeno puede explicar la hiperexcitación y la disminución del umbral del dolor.

II.4. Neuroanatomía del dolor

Los axones de las neuronas nociceptivas del asta posterior forman los tractos espinotalámico que terminan en varios núcleos del tallo cerebral y del tálamo. Se puede distinguir un sistema espinotalámico directo que lleva información sensorial discriminativa hasta el tálamo y un sistema espinorreticulotalámico que termina de manera más difusa en núcleos reticulares del tallo cerebral como lo es el núcleo ventral posterolateral de tálamo y puede ser de importancia para la percepción consciente de sensaciones nociceptivas, en especial la percepción de los aspectos discriminativos del dolor, como localización, naturaleza e intensidad del estímulo doloroso (Figura 4) (Benneett y Nishikawa 1985; Willis et al., 1988). Las células del núcleo ventral posterolateral se proyectan principalmente a la corteza primaria somatosensorial (post-central). Las vías aferentes del trigémino, cuya organización, aunque presenta diferencias en comparación con el asta posterior, tienen también similitudes que explican el perfil típico del dolor neuropático en la neuralgia del trigémino. El glutamato es el principal neurotransmisor excitatorio de los tractos espinotalámico y trigémino-talámico, así como de la vía tálamo-cortical. También participa la sustancia P y probablemente otros péptidos (Meyer, 1976).

La otra parte del tracto espinotalámico es el sistema espinorreticulotalámico, el cual, es más difuso y puede ser mediador de los componentes autonómico y afectivo del dolor. Las fibras espinorreticulotalámicas ascendentes terminan a varios niveles de la formación reticular del tallo cerebral, formando parte de un sistema polisináptico que termina en los núcleos intralaminares del tálamo. Las células de éste sistema probablemente no participan en la discriminación o la localización del dolor; es más probable que sean importantes para llamar la atención u orientar hacia un estímulo doloroso (Benneett y Nishikawa 1985; Willis et al., 1988).

Neuroanatomía del dolor

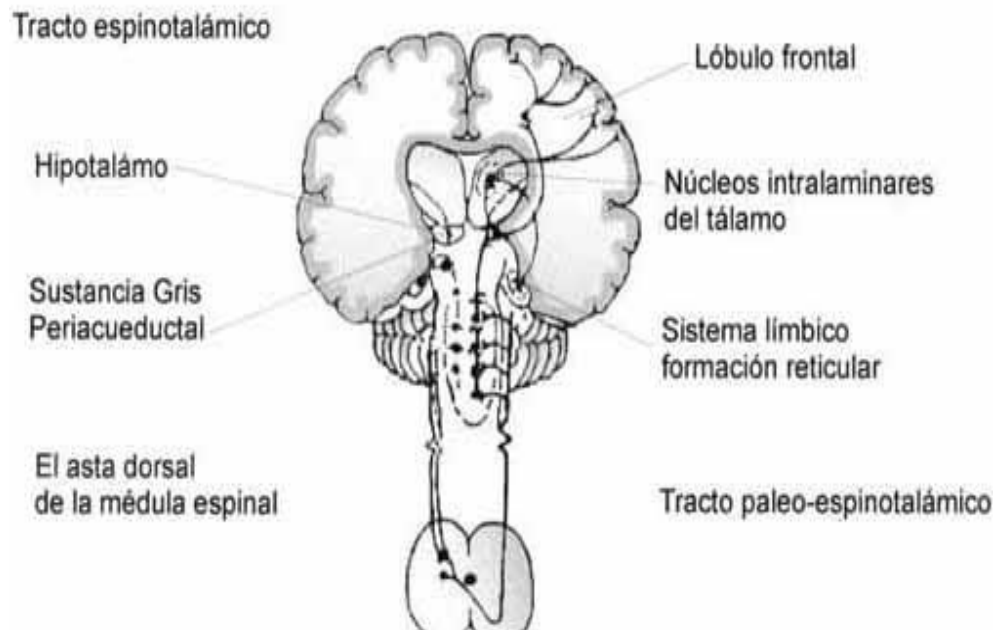


Figura 4. Sistema espino-reticulotalámico. Sistema que lleva el impulso nociceptivo de la periferia al sistema nervioso central.

Muchas fibras nociceptivas, antes de su ingreso a la sustancia gris, emiten colaterales descendentes y ascendentes, constituyendo parte del haz de Lissauer. Estas colaterales tienen la posibilidad de formar sinapsis hasta dos segmentos medulares inferiores o superiores al del ingreso, lo que significa que la transmisión de una neurona primaria puede propagarse a varias raíces vecinas. El soma de la segunda neurona de esta vía se puede encontrar en la lámina I de Rexed o en las láminas IV, V y VI. La sustancia gris de la médula espinal es una estructura laminada compleja en las neuronas de tamaño y densidades específicas predominan en la lámina o divisiones diferentes. El esquema anatómico más aceptado es el de Rexed que dividió la sustancia gris de la médula espinal en 10 láminas, basado en el tipo celular, conexiones aferentes y características histoquímicas (Loesser, 2001). Las láminas I a VI conforman el asta dorsal (Figura 5).

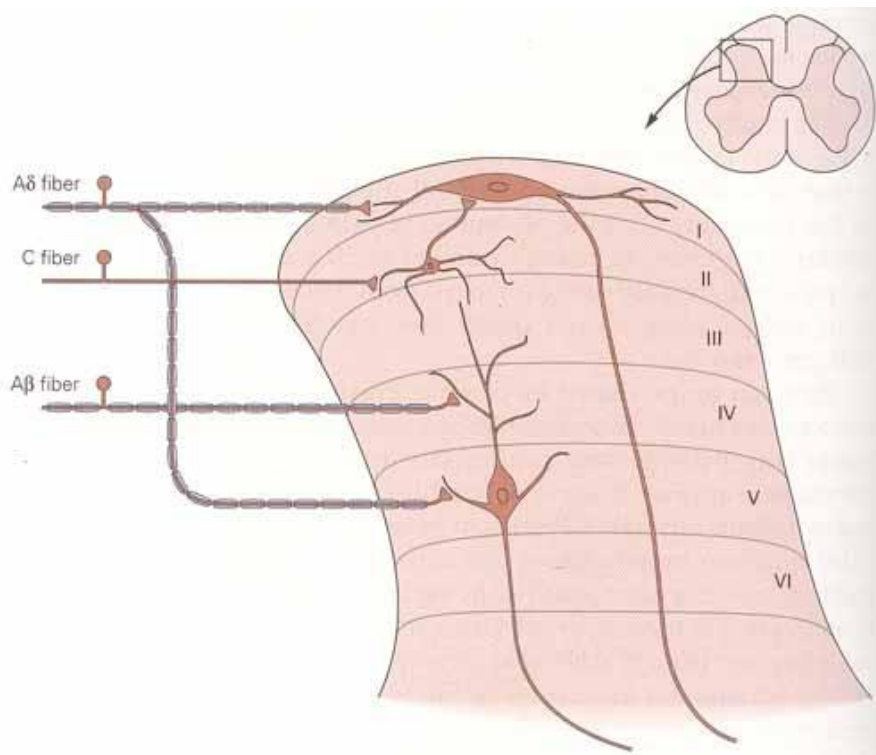


Figura 5. Láminas de Rexed y la relación con las fibras nerviosas involucradas en dolor (Loesser, 2001).

La lámina I (zona marginal), recibe predominantemente fibras A-delta que se proyectan hacia el tracto espinotalámico contralateral. Los haces contralaterales de las fibras aferentes primarias conforman el tracto superior de Lissauer, el cual conduce información nociceptiva en una distancia de varios segmentos espinales (Loesser, 2001).

La lámina II (sustancia gelatinosa) contiene una alta densidad de pequeñas interneuronas, recibiendo también el impulso de aferencias primarias nociceptivas. Las numerosas conexiones entre este tracto del asta posterior y los demás son responsables en parte de la modulación inicial entre la señal aferente (Loesser, 2001).

Las láminas III a V (núcleo propio), reciben tanto impulsos nociceptivos como no nociceptivos y reciben conexiones tanto de la sustancia gelatinosa como de centros

superiores y son el origen de la mayoría de las células que originan el tracto espinotalámico (Loesser, 2001).

El impulso proveniente de la periferia se distribuye en la médula espinal de acuerdo al tamaño de las fibras. Las fibras A-alfa establecen sinapsis con células de las láminas II y III. Las fibras A-delta penetran a través de la parte medial del tracto de Lissauer, donde se bifurcan en segmentos ascendentes y descendentes, estableciendo posteriormente sinapsis con las láminas II y III. Las dendritas de las neuronas marginales (lámina I) hacen contacto con las neuronas de las láminas II (Loesser, 2001).

II.5. Hiperalgnesia

Hiperalgnesia primaria: Es caracterizada por la presencia de un incremento elevado al dolor producido por estímulos térmicos y mecánicos. Ante este estímulo se activan los nociceptores de mayor umbral de la región y envían la información muy rápidamente a cerebro por las fibras C aferentes. Cuando el estímulo inicial es severo o prolongado se liberan sustancias proinflamatorias en el tejido lesionado, prostaglandinas, citoquinas (IL-1), al igual que un cierto número de factores humorales como la de la sustancia P, histamina, serotonina que activarán o sensibilizarán los receptores del dolor en el punto de lesión (Loesser, 2001).

Hiperalgnesia secundaria: Se caracteriza por un dolor evocado solo por estímulos mecánicos. La gran cantidad de mediadores químicos (sopa inflamatoria), reduce el umbral de sensibilidad y aumenta la excitabilidad de las terminaciones nerviosas vecinas, este proceso crea un estado de hiperalgnesia que se extiende cada vez más a las regiones no implicadas por el estímulo nociceptivo inicial. Así los estímulos que normalmente son pocos o no dolorosos, desencadenarán por lo general dolor por un efecto de alteración de la respuesta de los receptores situados sobre las fibras aferentes que se han vuelto sensibles a estímulos de baja intensidad como el tacto, por lo tanto todo aquello que

genere dolor en un sitio lejano a donde se originó el daño se conoce como hiperalgesia secundaria (Loesser, 2001).

II.6. Sensibilización

Sensibilización periférica: En el proceso nociceptivo, que va de los nervios periféricos a la médula espinal y subsecuentemente al cerebro, participan diversos neurotransmisores como mediadores químicos que se liberan y estimulan este proceso (Millan, 2002). En la periferia participan principalmente la bradicinina, las prostaglandinas, la serotonina, la sustancia P, los protones (H^+), el óxido nítrico, factores de crecimiento, la adenosina trifosfato, los aminoácidos excitatorios (como el glutamato), así como los iones de sodio (Na^+), potasio (K^+) y calcio (Ca^{2+}) (Millan, 2002). Las especies reactivas del oxígeno también son mediadores muy importantes en los procesos nociceptivos (Haque et al., 1994; Chung, 2004) como el ion superóxido (Wang et al., 2004) y el óxido nítrico (Salter et al., 1996; Aley et al., 1998; Levy y Zochodne, 2004).

A nivel espinal hay participación de aminoácidos excitatorios, péptidos como las taquicininas, el péptido relacionado al gen de la calcitonina, la somatostatina, la galanina, la bombesina, el polipéptido intestinal vasoactivo, la neurotensina, algunas monoaminas (adrenalina y serotonina), el óxido nítrico y la adenosina (Besson, 1999; Millan, 2002). Algunos tipos de receptores también están implicados en las vías del dolor a nivel espinal como el receptor NMDA y AMPA (Besson, 1999).

En las terminales periféricas de la neurona nociceptiva se encuentran diferentes receptores altamente especializados y canales iónicos que responden a los estímulos nocivos (Woolf, 2004). Por ejemplo, se tiene conocimiento de que los estímulos térmicos ($>42^{\circ}C$ y $<10^{\circ}C$) y químicos (por ejemplo la capsaicina) activan los receptores vanilloides

(TRP), los cuales son canales catiónicos no selectivos (Caterina et al., 1997; Lee et al., 2005). El receptor TRPM es sensible a estímulos de bajas temperaturas (Lee et al., 2005). Los estímulos mecánicos pueden ser detectados por receptores P2X₃ y sensibles a ácido (ASIC), los cuáles son activados por adenosina trifosfato extracelular y protones, respectivamente (Julius y Basbaum, 2001; Wood, 2004). Por otra parte, la nocicepción también inicia con el estímulo nocivo que se presenta en las terminales periféricas de los nociceptores con la activación de receptores que producen la apertura de canales iónicos (Na⁺, K⁺ y Ca²⁺) que permiten generar el potencial de acción y la excitación de las neuronas sensoriales (Lee et al., 2005).

En el mecanismo de la sensibilización periférica los mediadores inflamatorios activan cinasas intracelulares en las terminaciones periféricas que fosforilan canales de sodio (Na_v1.8/1.9) para incrementar la excitabilidad de la neurona (Woolf, 2004). De esta manera, el factor del crecimiento neural y la prostaglandina E₂ se unen al receptor tirosina cinasa A (TrkA) y al receptor EP acoplado a proteína G, respectivamente, para modificar la sensibilidad de la terminal nociceptiva sin producir la activación de los nociceptores (Shu y Mendell, 1999) y el receptor EP activa la proteína cinasa A (Wang et al., 2006). Por su parte, la bradicinina también produce la excitación en las terminales por medio de la apertura de los canales de sodio vía la activación de la proteína cinasa C, lo cual sucede después de la activación del receptor B₁ (Wang et al., 2006).

A nivel de médula espinal, mediadores como la sustancia P, el glutamato y el factor del crecimiento neural facilitan el proceso de transmisión nociceptiva por medio de la activación de receptores AMPA, NMDA y NK, que producen la expresión de proteínas cinasas activadoras del mitógeno p38, cinasas C-Jun y cinasas reguladoras de la actividad extracelular (Woolf, 2004; Ji et al., 2007).

Sensibilización central: Se caracteriza por una disminución del umbral nociceptivo, es una respuesta elevada a estímulos supra-umbrales con actividad espontánea. Es el resultado de un incremento en las señales enviadas en estados neuropáticos, produce un elevado estado patológico de respuestas, sensibilizando a los mecano-termoreceptores, fenómeno llamado sensibilización central. Se induce o desencadena por estímulos nociceptivos intensos y prolongados conducidos por las fibras aferentes desde la periferia al asta posterior de la médula.

Las vías aferentes, fibras C y A delta, tienen la capacidad de inducir potenciales sinápticos lentos en las neuronas del asta dorsal. Estos potenciales débiles repetidos, a los cuales se ajustan los neuromediadores, van a contribuir a la despolarización prolongada de las neuronas medulares y al paso del mensaje doloroso y a su integración a nivel cerebral (Loesser, 2001).

La lesión de un nervio periférico, el que se torna de espontáneamente activo en mecánicamente sensitivo a neuromoduladores, como la noradrenalina; originándose una extensa reorganización llamada neuroplasticidad (Cervero, 1993). La lesión de las vías nerviosas produce cambios en la nocicepción, pudiendo evocarse el dolor con una respuesta que no responde al estímulo (alodinia) o dolor de intensidad aumentada (hiperalgesia), ambos eventos pueden provocarse por la sensibilización de los receptores periféricos, como por la excitabilidad de las neuronas centrales (Woolf, 1992). Los protooncogenes, llamados también genes tempranos inmediatos, tienen importancia fundamental en la neuroplasticidad, estos genes se vuelven activos rápidamente (minutos), cuando la célula se expone a estímulos iónicos Ca^{++} , hormonales o humorales, a aminoácidos excitatorios, neuropéptidos o proteínas cinasas (Sonnenberg et al., 1989). Los protooncogénos (C-Fos y C-Jun) son la versión espacial y temporal de los oncogenes, experimentalmente se han podido evidenciar después de la estimulación aguda, de los nociceptores periféricos, de la lesión de nervios periféricos o las lesiones inflamatorias

articulares y las lesiones subcutáneas (Woolf, 1992). La proteína C-Fos, sintetizada a partir de la expresión de los protooncogénos, C-Fos es una nucleoproteína con funciones reguladoras sobre los genes de la neurona (genes maestros). El C-Fos sería un tercer mensajero que permitiría la codificación genética de un modelo, alterando el aumento y la capacidad de respuesta de las neuronas del asta dorsal (Sonnenberg et al., 1989).

El C-Fos está relacionado con el control de la transcripción de los genes de dinorfina y encefalina; y su expresión después de una estimulación nociva es un aumento de la síntesis de dinorfinas y probablemente de encefalinas. Las encefalinas y otros agonistas opiáceos delta producen efectos inhibitorios o antinociceptivos, disminuyendo la neuroplasticidad medular (Up-regulation), Wind up “La estimulación periférica repetida da como resultado un progresivo aumento de la respuesta de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal” y la hiperalgesia (Ren K, 1994).

Las dinorfinas producen una acción dual, por un lado efectos excitatorios directos sobre las neuronas de proyección espinal, además de producir inhibición mediante un mecanismo de retroalimentación negativo sobre neuronas que contienen dinorfinas, por eso se ha dicho que la dinorfina puede tener efectos complejos sobre la plasticidad neuronal y la hiperalgesia en varios sentidos (Figura 6).

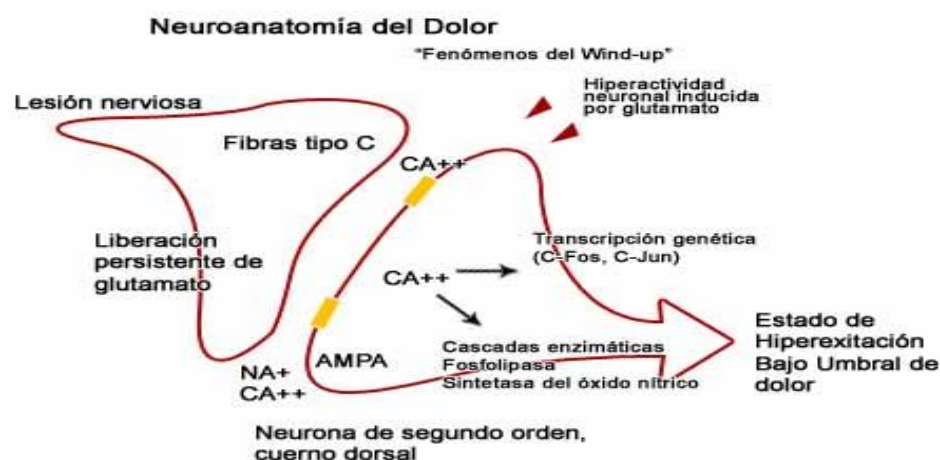


Figura 6. Cascada enzimático ante un estímulo nociceptivo.

Características de la sensibilización central:

- Aumento espontáneo en el impulso de las descargas
- Aumento en la capacidad de respuesta a los estímulos nocivos, hiperalgesia, y a los estímulos no nocivos, alodinia.
- La expansión de los campos receptivos de las neuronas nociceptivas del asta dorsal de la médula espinal.

II.7. Sistema de modulación descendente

El sistema nervioso central contiene poderosos circuitos descendentes que suprimen los estímulos dolorosos. La estimulación de la sustancia gris periventricular próxima a la periacueductal hace sinapsis en los núcleos del Rafe Magno de la línea media del bulbo raquídeo, a su vez, las neuronas del rafe se proyectan a la médula espinal donde se inhiben las respuestas nociceptoras de las neuronas del asta posterior (Figura 7). Existe además, una vía inhibitoria separada que desciende desde el Locus Coeruleus de la protuberancia y también terminan directamente en el asta posterior (Loesser, 2001). Muchas neuronas del rafe bulbar que terminan en el asta posterior liberan serotonina y las que descienden del locus coeruleus producen noradrenalina. La serotonina excita a las interneuronas de la médula espinal que utilizan opiáceos como su neurotransmisor y son inhibitorias. Por otro lado, la acción inhibitoria de ambas vías descendentes requiere que la actividad del GABA en las astas posteriores sea normal, lo cual indica la relación directa entre las vías descendentes inhibitorias del proceso nociceptivo y las vías gabaérgicas (Loesser, 2001).

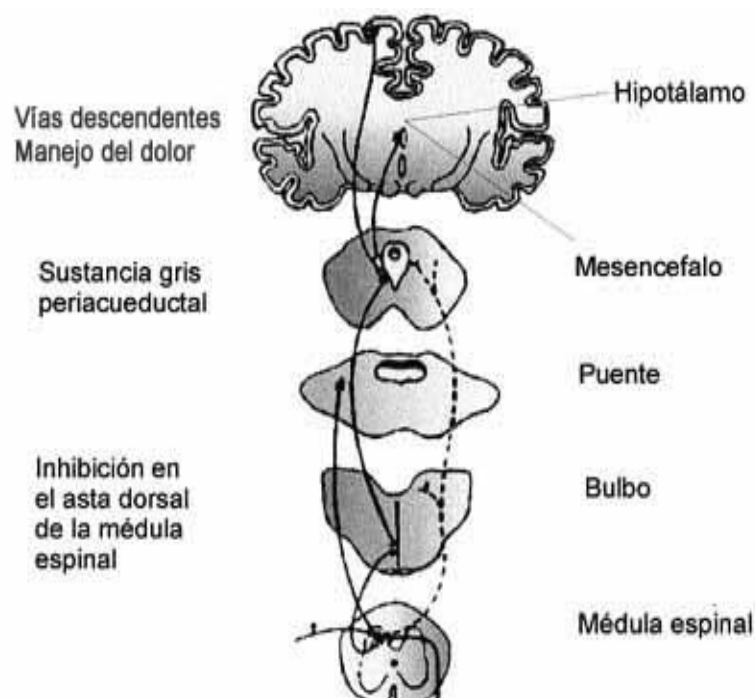


Figura 7. Vía descendente de la nocicepción. Sustancia gris periventricular, núcleo del rafe magnus y núcleo del locus coeruleus.

II.8. Dolor orofacial

La cara y la boca son partes muy complejas y expresivas para el ser humano. Poseen una gran sensibilidad al dolor, tienen una rica inervación periférica y una extensa representación en la corteza cerebral sensitiva y son áreas de interés central para las ciencias de la salud. El diagnóstico y tratamiento del dolor orofacial es complicado debido a la densidad de estructuras anatómicas de la zona, los mecanismos de dolor referido y el importante significado psicológico atribuido a la cara y a la cavidad oral. La complejidad de la anatomía de la cabeza y el cuello así como los mecanismos psicológicos implicados en el dolor requieren de una aproximación multidisciplinaria (Donlon et al., 1990). El dolor orofacial es importante por su frecuencia y trascendencia, debido a la complejidad organizativa de los nervios orofaciales encargados de recibir la sensibilidad orofacial (Peñarroca, 1997).

Los principales pares craneales responsables de la conducción nociceptiva de la cavidad oral son el trigémino o par craneal V (el más voluminoso y responsable de la inervación sensitiva de la totalidad de la cara, la mitad anterior de la cabeza, las mucosas ocular, nasal, sinusal, bucal, de los dientes y de una gran superficie de la duramadre craneal), así como los nervios VII (Facial), IX (Glosofaríngeo) y X (Vago). La amplia representación a nivel de la corteza cerebral sensitivo de la zona orofacial. La gran densidad de inervación por unidad de superficie existente en las estructuras orofaciales derivan en una amplia representación en el área cortical primaria del análisis sensitivo o corteza somestésica (Peñarroca, 1997). El especial significado emocional de la boca y la cara para los humanos, hace que la nocicepción sea más percibida que otras partes del cuerpo (Bell, 1985). Así los dolores de cabeza, cara y boca tienen un especial significado para el paciente, tanto a nivel biológico como a nivel psicológico (Donlon et al., 1990).

El dolor orofacial es de gran importancia debido a la alta prevalencia de enfermedades orales, dentales y periodontales entre la población en general, y a la elevada frecuencia con la que se efectúan tratamientos médico-quirúrgicos sobre las estructuras orofaciales, y que pueden dejar secuelas a nivel de los nervios periféricos.

II.9. Clasificación de dolor orofacial

Siguiendo la definición dada por la IASP, el dolor orofacial puede ser crónico o dolor agudo, en función de si su duración es superior o no a los 6 meses. En el caso de la esfera orofacial, el dolor agudo rara vez presenta problemas, pues los síntomas desaparecen rápidamente con un tratamiento farmacológico. El dolor crónico, por el contrario, es de presentación frecuente en las clínicas de odontología y estomatología, su persistencia suele acarrear consecuencias físicas, psíquicas, sociales y económicas para el enfermo que las padece. Su diagnóstico suele presentar serias dificultades y el éxito del

tratamiento es limitado. El paciente con dolor crónico orofacial rara vez cura, y el objetivo de los diferentes tratamientos disponibles es el conseguir una calidad de vida digna para el enfermo (Mathews y Sessle, 2001).

Se distinguen tres tipos de dolor orofacial: el dolor somático, el masticatorio y el neurógeno. El dolor somático es el resultado de la estimulación de los receptores nerviosos que perciben una información nociceptiva de un área determinada, como consecuencia de una alteración física o química de sus estructuras tisulares. Estos impulsos son recibidos y transmitidos por componentes normales del sistema nervioso sensitivo (Bell, 1985). Los dolores somáticos a nivel orofacial pueden tener un origen local, un origen vascular y un origen masticatorio. El dolor de origen local está constituido por el dolor dental y periodontal, o las alteraciones de los senos maxilares. Las algias orofaciales vasculares engloban las cefaleas de origen vascular y otros cuadros clínicos relacionados con alteraciones en la vascularización. Finalmente, el dolor masticatorio se define como el dolor orofacial que se origina o se recibe en las estructura músculo esqueléticas masticatorias, a consecuencia de alteraciones en la articulación temporomandibular o de la musculatura masticatoria. Podríamos incorporar como un cuarto origen del dolor orofacial somático, el dolor posquirúrgico que aparece tras la cirugía oral, como consecuencia de los fenómenos inflamatorios que acompañan a la lesión tisular ocasionada (Mathews y Sessle, 2001).

El dolor masticatorio, tiene su origen en músculos, huesos, articulaciones, tendones, ligamentos y tejidos conectivos blandos, todos ellos tejidos derivados del mesoderma, tiene unas características profundas y que guarda una estrecha relación con las demandas de función biomecánica.

El dolor neurógeno está asociado a lesiones del sistema nervioso, especialmente con el sistema aferente, ocasionado por la alteración de los fibras nerviosas que inervan

una determinada zona afectada, sin que existan anomalías en los componentes tisulares de tal área que produzcan la estimulación nociceptiva del receptor. También puede ser secundario a anomalías en la modulación nerviosa de la zona afectada. A este tipo de trastornos se les conoce como neuralgias. Representan un problema muy importante puesto que los dolores suelen ser prolongados pudiendo durar años o toda la vida del enfermo y se incluyen en esta categoría las neuralgias del trigémino, las del nervio intermediario del facial y las del glosofaríngeo (Lazar et al., 1980; Mínguez y Bonet 1983)

Los dolores no-somáticos y no-neurógeno también llamados algias psíquicas o funcionales no resultan de una estimulación nociceptiva directa como el dolor somático, ni de una alteración neural como el neurógeno, su origen se atribuye a causas psíquicas. Los dolores funcionales craneofaciales representan casi un tercio de los dolores funcionales del ser humano y, junto a la patología lumbar funcional, son los más frecuentes del organismo (Hernández y Villar, 1990).

Cabe aquí diferenciar el uso que se da del término “funcional” en relación al dolor orofacial, frente al uso que se efectúa de manera habitual dentro de la Fisioterapia, para hacer referencia a dolores con un origen mecánico. Los odontólogos y los estomatólogos son los profesionales sobre los que normalmente recae la responsabilidad del manejo de los dolores localizados en la esfera orofacial, al ser a los que primero se dirige el paciente con algias a este nivel.

II.10. Nervio trigémino

El nombre trigémino (literalmente, tres mellizos) se refiere a que el quinto nervio craneano tiene tres ramas principales: **oftálmica, maxilar y mandibular** (Figura 8). Es el nervio sensitivo más importante de la cara y el primero del arco branquial. En sus tres ramas: oftálmica (V1), maxilar (V2) y mandibular (V3), que reciben la sensibilidad de casi toda la cara. La tercera rama lleva, además fibras motoras para los músculos de la masticación. Las ramas V2 y V3 son las que se afectan con más frecuencia (Katusic, 1990). La raíz motora del nervio trigémino se origina a nivel del núcleo motor. Al salir del cráneo, la raíz motora se une con la raíz sensitiva de la rama de nervio mandibular para formar un solo tronco nervioso (Testut y Latarjet, 1985; Stanley y Malamed, 1997). Las fibras inervan los músculos de la masticación, el milohideo, el vientre del digástrico, el tensor, el tensor del velo del paladar y el tensor del tímpano (Quiroz, 1996; Stanley y Malamed, 1997; Testut y Latarjet, 1985).

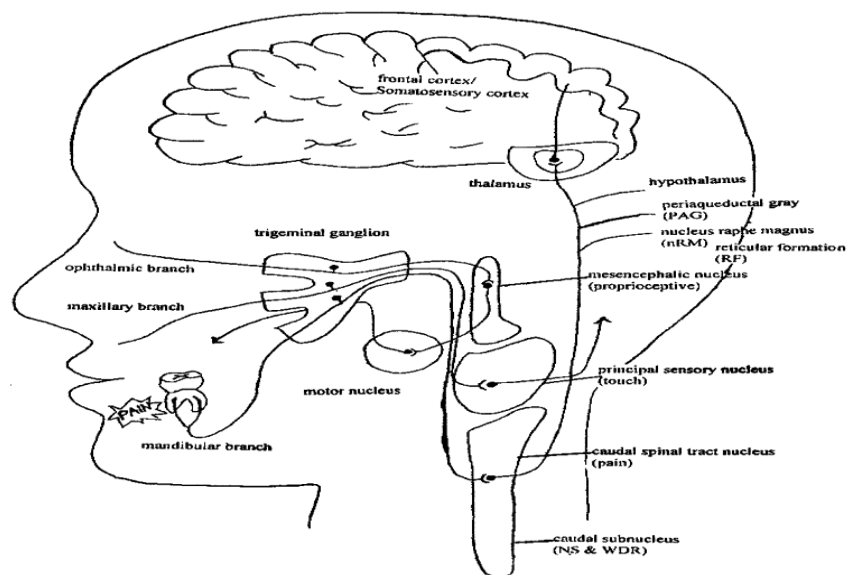


Figura 8. Nervio trigémino. El sistema del nervio trigémino tiene su origen en el ganglio de Gasser, en la región inferior de éste se localizan las fibras sensitivas. Existen dos ganglios, uno para cada lado de la cara.

La sensación de dolor de las estructuras intraorales y extraorales de la cabeza y la cara se realizan en el sistema nervioso central por el sistema trigeminal (Okenson, 1995; American Academy of Orofacial, 1997). En lugar de una sola vía nerviosa, el término "sistema trigeminal" se refiere a una compleja disposición de las fibras de la transmisión nerviosa, interneuronas y las conexiones sinápticas que procesan la información recibida de las tres divisiones del nervio trigémino. El nervio trigémino es un nervio mixto que contiene fibras sensoriales y motoras. Las fibras sensitivas inervan la parte anterior de la cara, los dientes, las membranas mucosas de las cavidades orales y nasales, la conjuntiva, la duramadre del cerebro y los vasos intra y extra craneales. Las fibras motoras inervan los músculos de la masticación. La información sensitiva de la cara y la boca (con excepción de la propiocepción) llevado por las neuronas sensoriales primarias a través del ganglio del trigémino para hacer sinapsis con las neuronas de segundo orden en el cerebro (Figura 9).

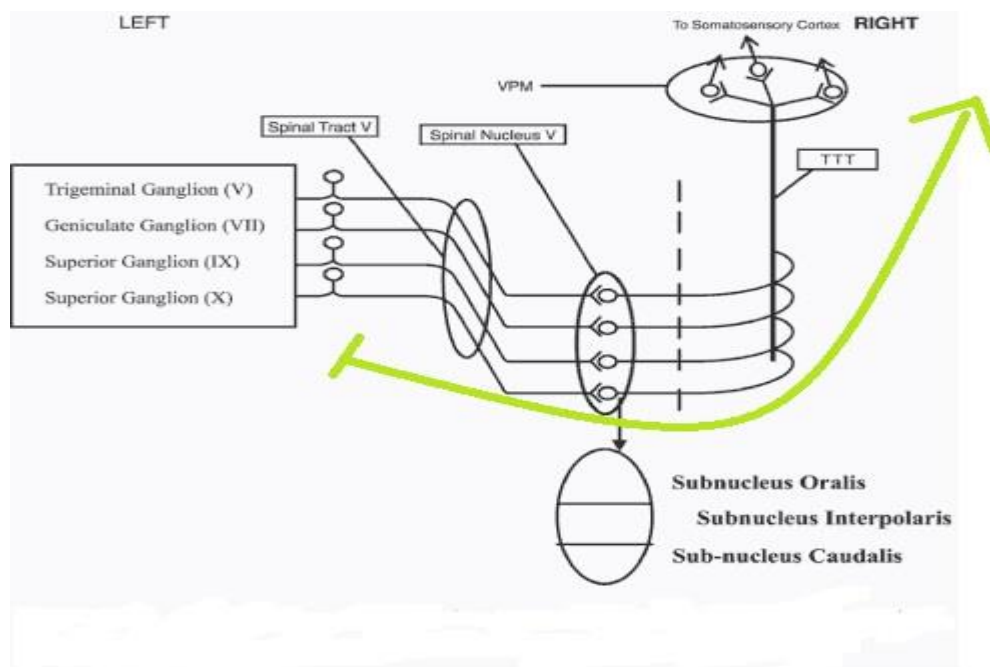


Figura 9. Nervios implicados en la transmisión del dolor en el sistema trigeminal.

Este complejo recibe aferencias principalmente del nervio trigémino, que también recibe los axones aferentes de los nervios faciales, glossofaríngeo vago y el cervical superior (C-2, C-3). La conexión entre los nervios cervicales superiores y el núcleo del haz espinal del trigémino es uno de los mecanismos implicados en el dolor facial y de cabeza (Okenson, 1996).

El tronco trigémino cerebral, es un complejo nuclear sensorial que puede ser separado en el núcleo sensitivo del trigémino y el núcleo principal del trigémino, también conocido como el núcleo del tracto descendente del nervio craneal V (Cooper y Sessle, 1992).

El núcleo del tracto espinal se compone de tres núcleos separados en un procedimiento rostral (superior) a caudal (inferior) dirección: subnúcleo oral, subnúcleo interpolar y subnúcleo caudal. El subnúcleo caudal, se encuentra en la médula, a veces se extiende hasta el nivel de C-2 o C-3 y es el sitio del cerebro principal en la que llega la información nociceptiva se derivan de la región orofacial.

Debido a que el caudal se continúa con el núcleo, y estructuralmente similar a la bocina de la médula espinal dorsal, y porque también se extiende hacia la médula, a menudo es mencionado como, asta dorsal medular (Merril, 1997). Tanto las señales de entrada nociceptiva a la subnúcleo caudal y la proyección de las señales nociceptivas en su camino hacia el tálamo puede ser modificada (modulada) por las fibras nerviosas descendentes de los niveles superiores del sistema nervioso central o por los medicamentos.

Las fibras nerviosas de diferentes áreas en la boca, pueden hacer sinapsis en otra neurona en la médula espinal, enviando así una señal al cerebro. En muchos casos, el cerebro es incapaz de interpretar la ubicación exacta de la fase oral del estímulo original

(Travel, 1983). Un ejemplo común de esto en la práctica dental es el dolor pulpar temprano. El tejido pulpar puede ser clasificado como "tejido visceral", de manera similar al tejido renal. En un proceso inflamatorio o de dolor, se envía una señal sólo cuando un cierto nivel crítico del estímulo que se llegó, por ejemplo, caries profunda o una pulpitis temprana. Este cerebro puede apreciar que hay un dolor de muelas en alguna parte, pero no puede localizar, y, debido a factores de convergencia, el cerebro puede experimentar más dificultad en la localización del dolor (Okenson, 1996).

Neuronas de segundo orden: El trigemino está constituido de neuronas de segundo orden nociceptivas en el subnúcleo caudal, se pueden clasificar en dos grupos principales; nociceptivas específicas (NS) y neuronas de amplio rango dinámico (WDR). Las neuronas NS responden exclusivamente a estímulos nocivos como el calor y la presión. Sus campos receptivos son pequeños y pueden incluir la piel y el músculo. Las neuronas WDR perciben estímulos táctiles no nocivos sobre una amplia gama de intensidades. Los campos receptivos de las neuronas WDR son considerablemente mayores que los campos receptivos de las neuronas NS. Además, el núcleo caudal contiene mecanorreceptores de bajo umbral, que se activan por la luz de estímulos táctiles. Estas neuronas tienen axones que forman las vías ascendentes que realizan las señales nociceptivas a los niveles superiores del cerebro para su procesamiento posterior (Alvares, 1999).

Neuronas de tercer orden: La próxima conexión importante en la transmisión sináptica del dolor se presenta en el tálamo, donde los axones que participan en la sinapsis del tracto trigéminotalámico son neuronas de tercer orden. Toda la información sensorial de la médula espinal y el tronco cerebral pasa a través del tálamo por lo que es una de las estaciones de relevo principal entre el tronco cerebral y las diferentes partes de la corteza cerebral somatosensorial. A través de las vías nerviosas del tálamo a la corteza cerebral, existen conexiones recíprocas de la corteza al tálamo (Alvares, 1999).

La información sensorial alcanza el tálamo donde es transmitida a varios núcleos bien diferenciados en este sitio. El potencial de acción se presenta a través de interacciones entre sus distintos núcleos y las interconexiones con las regiones límbicas, hipotalámicos y corticales del cerebro (Alvares, 1999).

II.11. Medición del dolor

El género humano puede distinguir y verbalizar gran cantidad de sensaciones dolorosas, debido a que en la integración de las sensaciones se ven involucrados factores psicológicos, culturales y sociales entre otros. Los animales solo presentan respuestas neurofisiológicas, en donde solo se ven involucrados los neurotransmisores que participan en la percepción de las sensaciones y se excluye el componente afectivo.

En los animales la valoración de la acción analgésica se suelen medir mediante respuestas somatomotoras, bien de tipo monosináptico, como la retirada de la cola o polisináptico, como la vocalización, el salto y la contractura de la musculatura abdominal; éstos últimos implican un alto nivel de coordinación entre las vías de la sensibilidad y las motoras.

Al momento de realizar las pruebas nociceptivas se puede observar un amplio espectro de reacciones. En las pruebas de dolor físico, las reacciones son evocadas por estímulos térmicos (*retiro de cola y placa caliente [tail-flick y hot-plate]*), mecánico o eléctrico (pruebas de vocalización y salto [*flinch-jump*]). La prueba del dolor tónico con la utilización de inyecciones de agentes algogénicos intradérmicos (prueba de formalina) o intraperitoneal (prueba de estiramiento abdominal). En el cuadro 1 se presentan las características particulares de cada uno de los modelos nociceptivos y una comparación de las ventajas de desventajas de cada uno de ellos (Le Bars et al., 2001 a y b).

Cuadro 1. Características de algunos modelos nociceptivos.

Modelo	Ventajas	Desventajas	Comentarios
Térmico			
Plancha caliente	No se requiere entrenamiento	Puede desarrollar hiperalgesia Conductas que dependen de otras	El lamido o levantamiento de la pata son conductas propias. El salto ocurre después de otras conductas válidas. El contacto de la pata con la orina puede confundir al animal. Sensible a la temperatura ambiental.
Retiro de la pata (Hargreaves)	No se requiere entrenamiento. Aplicación precisa del estímulo (pata derecha vs pata izquierda).	Respuesta inestable Laborioso Consume tiempo	Sensible al lugar. Sensible a la temperatura del equipo. Locomoción incompatible con la prueba.
Retiro de la cola (calor radiante)	Simplicidad Respuesta estable.	Requiere de entrenamiento.	Sensible al lugar. Sensible a la temperatura ambiental. La pigmentación de la cola afecta la absorción del calor.
Mecánico			
Presión sobre la pata (Randall y Selito)	Aplicación precisa del estímulo (pata derecha vs pata izquierda).	Requiere entrenamiento	El umbral de vocalización puede no reflejar con precisión el umbral nociceptivo.
Filamentos de von Frey	No se requiere entrenamiento	Respuesta inestable. Laborioso	Los filamentos se deben calibrar periódicamente. Sensible a la colocación precisa del filamento.
PIFIR	Mide objetivamente el dolor No crea una conducta de aprendizaje Se puede observar la conducta dolorosa iniciando antes	Requiere de entrenamiento para ligar el nervio ciático	Se requiere de la colocación de electrodos en cada una de las patas traseras. El tiempo de contacto de los electrodos se registra en un sistema de computo.

	de colocar el farmaco		
Químico			
Contorsión abdominal	Sensible a los analgésicos débiles.	Sensible a no analgésicos	Las contracciones tienen algún grado de subjetividad.
Formalina	Sensible a analgésicos opiáceos y nos opiáceos. Curso temporal bifásico.	Laborioso Consume tiempo	Sensible a la habituación. Sensible a la temperatura ambiental.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El desarrollo de fármacos nuevos es una actividad necesaria para mejorar el efecto terapéutico de los medicamentos que ya se comercializan, además de buscar seguridad farmacológica y disminución al máximo de reacciones adversas. A nivel preclínico la evaluación de analgésicos nuevos se realiza seleccionando un modelo de nocicepción adecuado al tipo de dolor al que se quiera dirigir el nuevo tratamiento. Para el dolor inflamatorio se utiliza comúnmente la prueba de la formalina, principalmente se utiliza la inyección de formalina en la pata de animales de experimentación. En el presente proyecto se pretende implementar un modelo de nocicepción por formalina inyectado en cara de los ratones de experimentación. Este modelo ya ha sido reportado ampliamente en la literatura; sin embargo, se requiere implementar este modelo específicamente en nuestro laboratorio. La finalidad de cambiar el área de inyección radica en que se requiere estimular al sistema trigémino y observar directamente el efecto de analgésicos que puedan ser de utilidad en el área odontológica o bien para la neuropatía del trigémino.

IV. HIPÓTESIS

La administración de formalina al 2.5% orofacial en ratón genera una conducta nociceptiva, esta conducta es de utilidad para evaluar nuevos compuestos con utilidad analgésica.

V. OBJETIVO GENERAL

Implementar un modelo de dolor orofacial con formalina en ratón

V.1. Objetivos particulares

- 1.- Evaluar el efecto nociceptivo de la administración de formalina orofacial en ratón.
- 2.- Comparar el efecto nociceptivo orofacial en ratón ICR tanto en macho como en hembra.
- 3.- Comparar la administración de formalina en la pata y en la zona orofacial de ratón.
- 4.- Evaluar el efecto antinociceptivo de la administración de diclofenaco y tramadol administrados localmente en el sitio orofacial.

VI. MATERIAL Y MÉTODO

VI.1. Animales

Se utilizaron ratones de la cepa ICR machos y hembras con un peso de 28-30 g. Los animales tuvieron libre acceso al agua y alimento antes del inicio de los experimentos. Todos los experimentos se realizaron a una temperatura ambiente de 25-27°C entre las 7:00 AM y 13:00 PM. Los animales se utilizaron una vez y al término del experimento se

sacrificaron en una cámara de CO₂. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las guías sobre aspectos éticos para la investigación del dolor experimental en animales (IASP, 1986).

VI.2. Modelo de Formalina

Los animales tuvieron un periodo de ambientación de 30 min antes de cada prueba. Se colocó al ratón en un cilindro de acrílico transparente, con la finalidad de que se adecuara a sus alrededores, disminuyendo así el estrés que pudiera producir un nuevo ambiente. El animal solo se retiró para la administración de los fármacos al tiempo correspondiente o la administración del estímulo nociceptivo.

Administración. Se inyectaron en el área orofacial 20µl de vehículo (solución salina 0.9%), diclofenaco (10, 30, 100 y 300 µg/sitio orofacial) y tramadol (10, 30, 100 y 300 µg/sitio orofacial). 15 minutos después se administraron 20 µL de formalina al 2.5% en el mismo sitio. En la figura 10 se muestra el sitio orofacial.

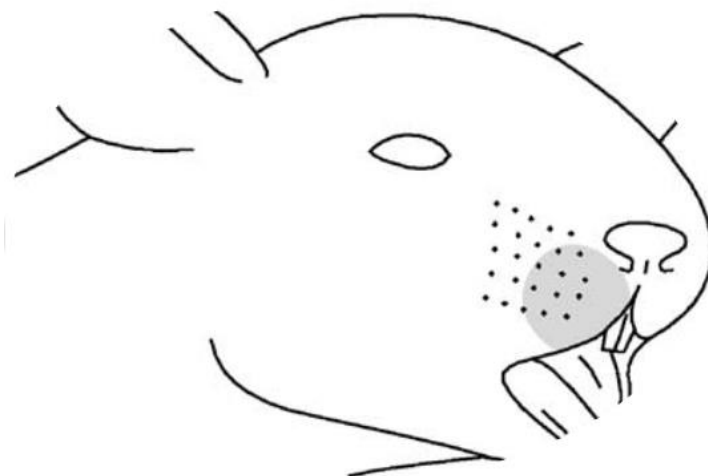


Figura 10. Área aproximada de difusión de formalina orofacial

En la evaluación de formalina en pata solo se administró 20 μ l de vehículo (solución salina 0.9%) y 15 min después se administró 20 μ L de formalina al 2.5%.

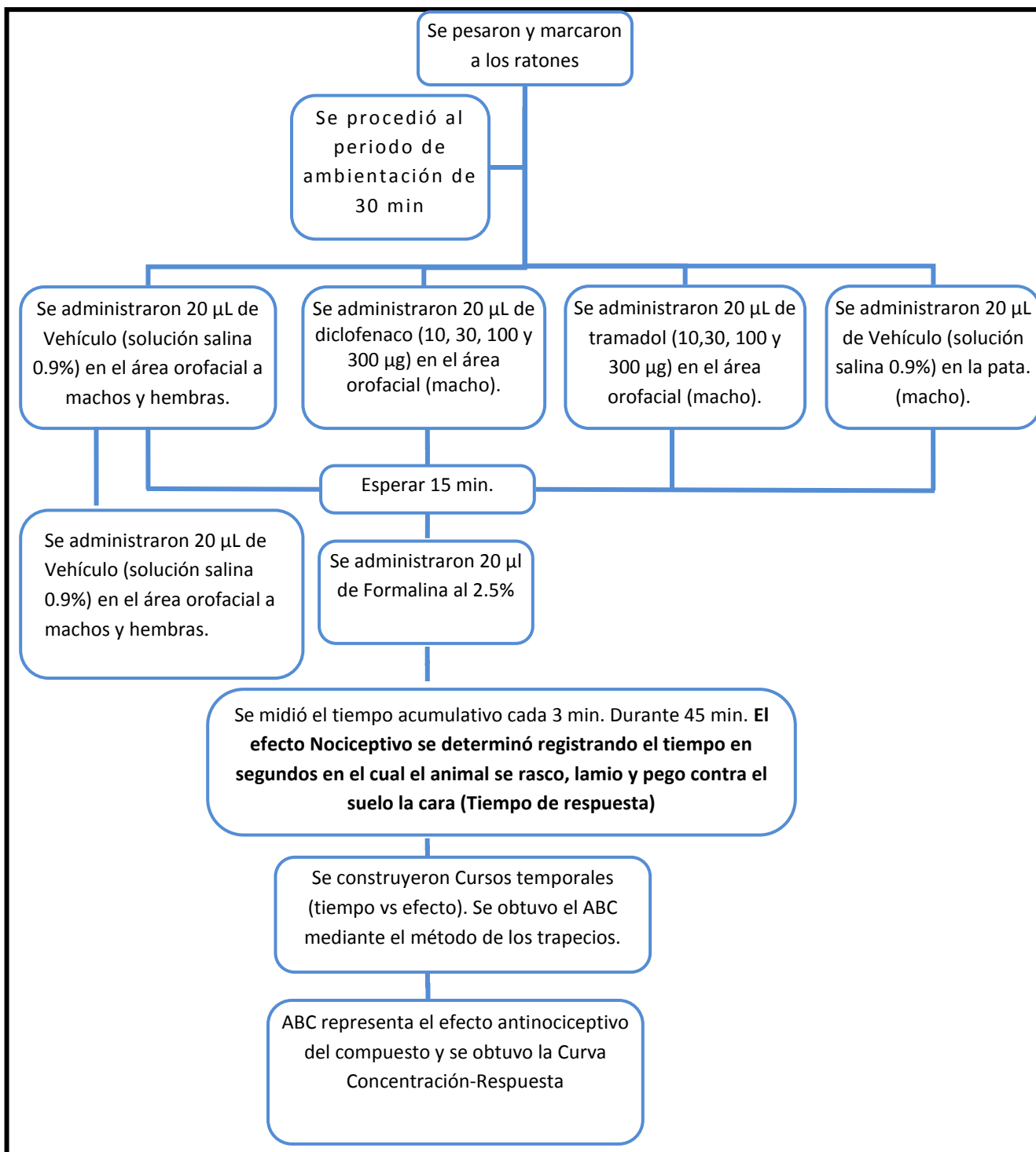


Figura 11. Área aproximada de difusión de formalina en la pata

Medición. Una vez administrada la formalina se midió el tiempo acumulativo cada 3 minutos durante 45 minutos, las veces que se rasco, lamio y pego contra el suelo su cara. En el caso de la formalina en la pata solo se cuenta el tiempo acumulado de lamida de la pata administrada.

Datos: Se construyeron cursos temporales (tiempo vs efecto), de los cuales se obtuvo el Área Bajo la Curva (ABC) mediante el método de los trapecios. El ABC representa el efecto antinociceptivo del compuesto y sirve para realizar la respectiva Curva concentración respuesta.

VI.3. DIAGRAMA DE FLUJO DEL DISEÑO EXPERIMENTAL



NOTA: Cada grupo experimental está formado con 6 animales

VI.4. ANÁLISIS DE DATOS Y ESTADÍSTICA

Se construyeron cursos temporales graficando en el eje X el tiempo de evaluación y en el eje Y el efecto Nociceptivo (tiempo en segundos en que rasco, lamio o pego contra el suelo la cara). De estos cursos temporales se obtuvo el área bajo la curva (ABC) utilizando la regla de los trapezoides, método que permite aproximar una integral definida (Tallarida y Murray, 1981). La disminución del ABC de cada grupo en tratamiento en comparación con el vehículo representa el efecto antinociceptivo de los fármacos evaluados. Cada dato en las gráficas representa el promedio \pm error estándar medio (EEM) de 6 animales por grupo.

Las curvas concentración respuesta se expresan como el porcentaje de inhibición de sacudidas (representando el área bajo la curva) con respecto al grupo vehículo. El porcentaje de efecto antinociceptivo (% Efecto) se cálculo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Efecto antinociceptivo} = \frac{X - x_i}{X} \times 100$$

X = promedio de sacudidas registradas en el grupo que solo recibió el vehículo

x_i = Número de acumulativo de veces en que el ratón se rasca, lame o pega su cara contra el suelo, de cada uno de los animales bajo el grupo de tratamiento respectivo.

Para el análisis de los datos se realizó una comparación múltiple de los diferentes grupos contra el grupo que solo recibió vehículo. Se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y seguida por una prueba de Dunnett. Para comparar dos grupos experimentales se utilizó una prueba t'Student. Los resultados con una $P \leq 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos (*).

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se sabe que la formalina, es un irritante químico cuya administración se asocia con la aparición de lesión tisular (Clavelou et al., 1995), inflamación (Rosland, 1990; Wheeler-Aceto et al., 1990) y dolor (Wheeler-Aceto y Cowan, 1991; Luccarini et al., 2004); ha sido extensamente utilizada como estímulo nocivo en varias especies de animales, tales como la rata, el gato (Dubuisson y Dennis, 1977), el ratón (Hole y Tjolsen 1993) y el cobayo (Wheeler-Aceto y Cowan, 1991; Wheeler-Aceto et al., 1990).

En el presente proyecto se utilizó al ratón como especie de estudio. Para demostrar el efecto nociceptivo generado por la administración de formalina orofacial; se comparó la conducta de la administración de formalina con respecto a la administración de solución salina.

La inyección subcutánea de formalina constituye un modelo experimental animal de dolor inflamatorio moderado y persistente conocido como el modelo de la formalina (Dubuisson y Dennis, 1977; Tjolsen et al., 1992). Dicha prueba ha sido ampliamente utilizada para estudiar diversos estados dolorosos y sus patofisiologías subyacentes (Coderre y Melzack, 1992 a y b) así como para evaluar acciones antinociceptivas de fármacos analgésicos (Luccarini y col., 2004), dado que imita algunas de las características del dolor inflamatorio en humanos (Clavelou et al., 1995), lo que le convierte en un modelo clínicamente más adecuado que otras pruebas que inducen un dolor bifásico (Tjolsen et al., 1992).

En la Figura 12 se observa la conducta normal de los animales cuando no tienen el estímulo nocivo; se presenta una ligera respuesta pero esta se mantiene durante los 45 minutos de evaluación. Se puede apreciar también la presencia clara de las dos fases conductuales que se obtienen al administrar formalina. La fase I que se presenta desde la

punción de formalina y hasta los primeros 10 minutos de evaluación, la conducta disminuye hasta casi 0, periodo que se conoce como de quiescencia y posteriormente la fase II en donde se observa un incremento y una disminución paulatina desde los 30 minutos después de administrar la formalina.

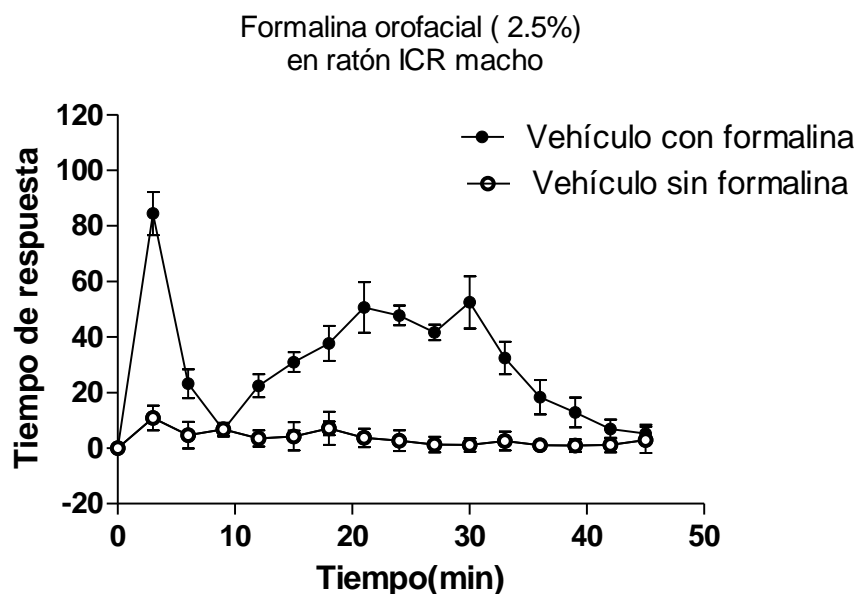


Figura 12. Curso temporal del efecto nociceptivo generado por la administración orofacial de vehículo seguido de la administración de formalina 2.5%. Cada grupo representa la media \pm E.E.M. de 6 animales. **El efecto Nociceptivo se determinó registrando el tiempo en segundos en el cual el animal se rasco, lamio y pego contra el suelo la cara (Tiempo de respuesta).**

Los resultados obtenidos muestran la conducta bifásica como previamente se ha documentado (Coderre y Melzack, 1992; Tjolsen et al., 1992; Cadet et al., 1998). Cuando la formalina es inyectada subcutáneamente en la pata posterior de animales de experimentación así como en la zona orofacial (Clavelou et al., 1989, 1995; Eisenberb y col., 1996; Cadet et al., 1998). La conducta se caracteriza por la presencia de una conducta bifásica motora presentándose un periodo de actividad inmediato (a los pocos segundos) y de corta duración (3-5 minutos) lo que se conoce como fase I, luego una fase de inactividad (5-10 min) y posteriormente una fase prolongada de aproximadamente 20 a 40

minutos (segunda fase) (Dubuisson y Dennis, 1977; Clavelou et al., 1989; Coderre y Melzack, 1992b). Estos dos componentes de la respuesta inducida por la formalina se ha visto que están relacionados con las dos modalidades de sensibilidad nociceptiva: aguda/fásica y crónica/tónica, respectivamente (Dennis y Melzack, 1979; Eisenberg y col., 1996).

La fase temprana y transitoria que se produce inmediatamente tras las inyecciones de formalina, se debe a una activación directa de los nociceptores periféricos mielinizados y no mielinizados (Dubuisson y Dennis, 1977). La fase tónica tardía depende también de la conducción en fibras aferentes primarias, especialmente fibras C, así como de la inflamación tisular periférica que se desarrolla en el lugar de la inyección (Dubuisson y Dennis, 1977; Tjolsen et al., 1992; Eisenberg et al., 1996) y de cambios inducidos por la actividad neuronal generada en la primera fase en el sistema nervioso central (es decir, sensibilización central) (Dickenson y Sullivan, 1987; Coderre et al., 1990, 1993) y en los cuales están implicados amino ácidos excitadores, la sustancia P y los receptores correspondientes (He ley y col; 1990; Coderre, y Melzack, 1992). El periodo inactivo es el resultado de una inhibición de la transmisión nociceptiva mediada por la activación de los receptores del ácido gamma-aminobutírico (GABA) el cual es liberado 10 minutos tras de la inyección de formalina (Hammond, 1989).

Por otra parte, se tiene conocimiento que la conducta nociceptiva inducida por formalina es sensible a los cambios en la temperatura ambiente (Rosland et al., 1991; Hole y Tjosen, 1993; Abbott y col., 1995), a la edad, a determinados anestésicos (Wheeler-Aceto y Cowan, 1991) y a sus nuevas situaciones medio ambientales y/o de evaluación. Además, el nivel de estrés del animal (Abbott y col; 1986) y el lugar de inyección (Raboisson et al., 1991,1995 y 1996). La especie (Wheeler-Aceto y Cowan, 1991) e incluso el linaje (Abbott, 1995) pueden influir dichas respuestas pese a que la prueba de la formalina es un modelo fiable para el estudio de la nocicepción, especialmente si se

emplea una combinación de varios comportamientos antes que cualquier reacción individual (Tjolsen et al., 1992).

Por lo anterior, se comparó el efecto entre género. Se administró la misma concentración de formalina a ratones hembra y ratones macho ICR. Como se puede observar en la Figura 12 y Figura 13 la conducta nociceptiva en ratones hembra es menor con respecto a la conducta que muestra el ratón macho. Aún cuando la fase I es mayor en las hembras la fase II disminuye ligeramente con respecto a la conducta generada en fase II por los ratones macho. Una observación interesante es que los ratones hembra tienen una conducta muy variable, la cual no se observa en el ratón macho, esto se puede visualizar en el grupo de ratones que no tiene formalina, incluso la conducta de lamida podría interferir en el estímulo por formalina. Por lo anterior, se recomienda que en este modelo se utilice ratón macho para la evaluación de fármacos analgésicos ya que la respuesta antinociceptiva se podrá observar mejor con menor variabilidad y mejor reproducibilidad.

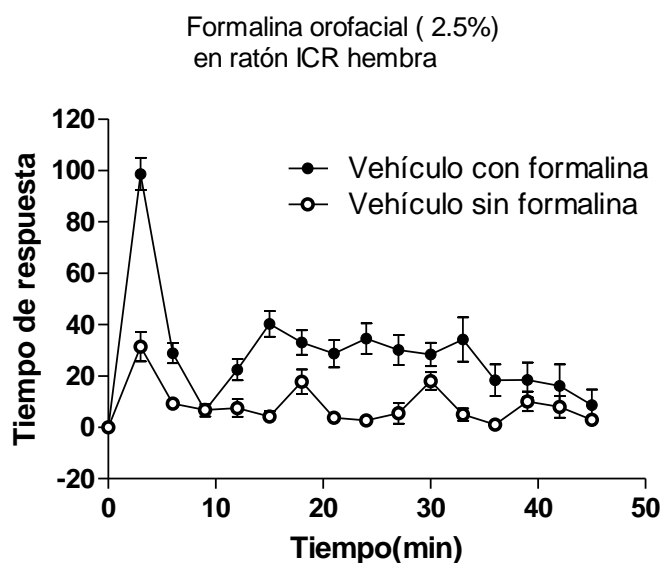


Figura 13. Curso temporal del efecto nociceptivo generado por la administración orofacial de vehículo seguido de la administración de formalina 2.5% tanto en ratones hembra como en ratones macho. Cada grupo representa la media \pm EEM de 6 animales. **El efecto Nociceptivo se determinó registrando el tiempo en segundos en el cual el animal se rasco, lamio y pego contra el suelo la cara (Tiempo de respuesta).**

La administración de formalina en la pata de rata o ratón es utilizada comúnmente; se considera que los fármacos que tienen efecto antinociceptivo en este modelo pueden ser utilizados en el área odontológica y en dolor del nervio trigémino. Sin embargo, la administración específica de formalina en el sitio orofacial refleja una mayor aplicación de los fármacos que presentan efecto antinociceptivo en esta zona. En la Figura 14 se muestra la comparación de la administración de formalina en la pata y en el sitio orofacial.

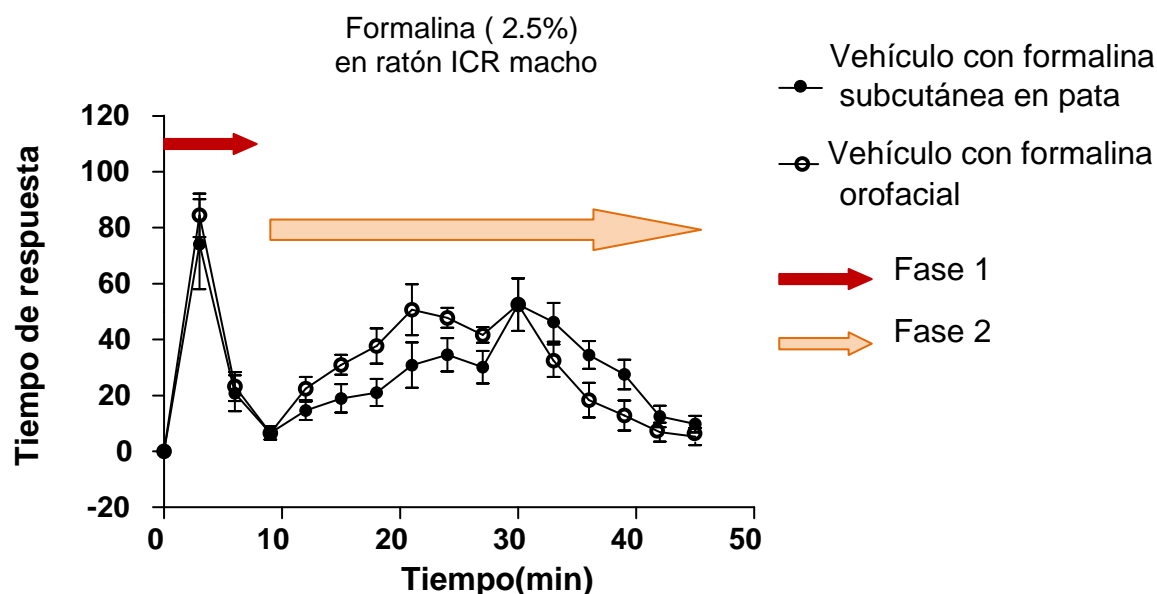


Figura 14. Curso temporal del efecto nociceptivo generado por la administración subcutánea en la pata derecha y en el sitio orofacial de vehículo seguido de la administración de formalina 2.5% en ratones macho. Cada grupo representa la media \pm EEM de 6 animales. **El efecto Nociceptivo se determinó registrando el tiempo en segundos en el cual el animal se rasco, lamio y pego contra el suelo la cara (Tiempo de respuesta).**

Aun cuando no hay diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, la conducta que generaron es diferente, sobretodo en la fase II cuando se administra en el sitio orofacial y disminuye a los 30 minutos. Cuando la formalina se administra en la pata tarda más en presentarse la máxima conducta dolorosa y es junto a los 30 minutos cuando

se alcanza el máximo y comienza a descender. Aun cuando el área bajo la curva es muy semejante, el comportamiento es diferente. Por lo que si se requiere de un analgésico que actúe rápidamente en el sitio afectado, es este caso, particularmente después de una extracción del tercer molar, es de interés conocer si el fármaco a analizar presenta su efecto tempranamente.

Por otra parte, para el tratamiento del dolor inflamatorio se emplean comúnmente los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) y si el dolor es muy intenso se utilizan opioides menores. Por lo anterior, se seleccionó al diclofenaco como fármaco representativo de los AINE's y al tramadol como fármaco característico de los opioides débiles. Se realizó una curva concentración respuesta de diclofenaco (Figura 15) y tramadol (Figura 16). En ambos casos la respuesta fue dependiente de la concentración.

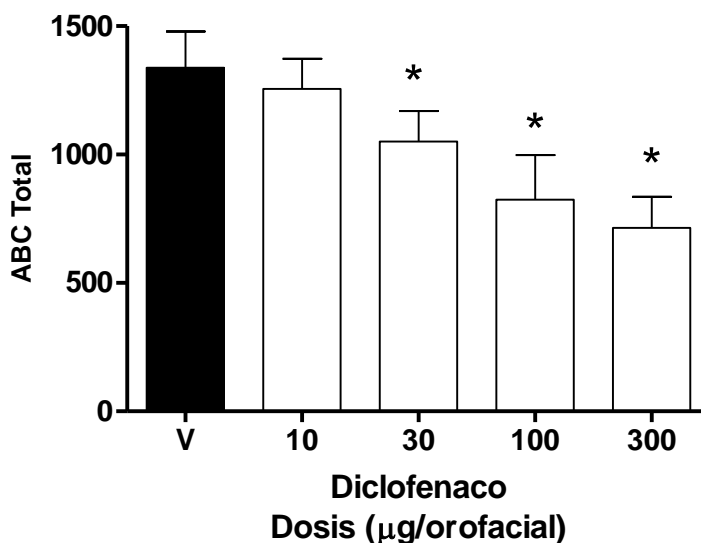


Figura 15. Curva concentración respuesta generada por la administración en el sitio orofacial de Diclofenaco seguido de la administración de formalina 2.5% en ratones macho. Cada grupo representa la media \pm EEM de 6 animales. Diferencia significativa con respecto al vehículo, ANOVA de una vía seguida de la prueba de Dunnet (* $P < 0.05$).

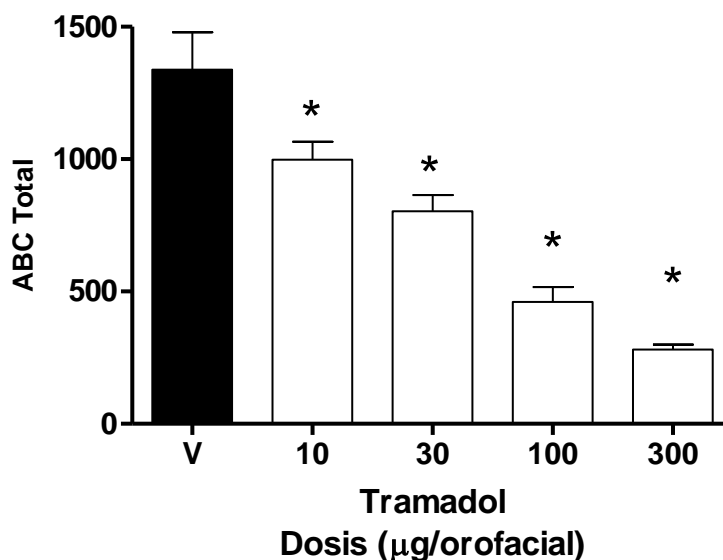


Figura 16. Curva concentración respuesta generada por la administración en el sitio orofacial de Tramadol seguido de la administración de formalina 2.5% en ratones macho. Cada grupo representa la media \pm EEM de 6 animales. Diferencia significativa con respecto al vehículo, ANOVA de una vía seguida de la prueba de Dunnet (* $P < 0.05$).

Consideraciones del estudio

La prueba de formalina es ampliamente utilizada para evaluar el proceso nociceptivo agudo, el cual semeja un dolor de tipo inflamatorio en humanos; la inyección intraplantar de una solución diluida de formalina genera una conducta bifásica, caracterizada por la presencia de sacudidas y lamida de la extremidad inyectada, en el primer tiempo se presenta una respuesta nociceptiva, posteriormente un punto de quiescencia (no hay conducta) y un comportamiento reflejado por el proceso nociceptivo inflamatorio dado por la sensibilización espinal. Se ha demostrado que esta prueba es adecuada para evaluar fármacos analgésicos antiinflamatorios (Castelo et al., 2010), los cuales disminuyen la presencia de sacudidas y lamida de la pata inyectada con formalina. Por tanto, el modelo de formalina es considerado un excelente modelo de prolongada nocicepción de moderada intensidad.

El proceso inflamatorio depende en la activación secuencial de diversos mediadores y se ha correlacionado con el incremento en la producción de PG's (Prostaglandinas) vía COX (Ciclooxigenasa), ON (Óxido Nítrico), 5-HT (Receptor 5-hidroxitriptamina), BK (Bradicininas), e iones entre otros (LeBars et al., 2001, Hamma et al. 2001). Está completamente establecido que ambas fases de la prueba de formalina pueden ser inhibidas por fármacos de acción central como los opioides, mientras que los fármacos con acción periférica, tal como el ácido acetil salicílico, solo inhiben la segunda fase (Silveira et al., 2010).

Se tiene conocimiento de que el daño tisular generado por la inyección de formalina está asociado con la liberación de mediadores químicos. Uno de los posibles mecanismos involucrados en la respuesta nociceptiva es el receptor transitorio potencial vanilloide 1 (TRPV1), un canal catiónico no selectivo, conocido por tener un papel importante en la transmisión y modulación de la nocicepción, además por la integración de varios estímulos dolorosos (Cui et al., 2006; Boleskei et al., 2005). Con el tejido dañado por formalina y la consecuente inflamación, los mediadores inflamatorios liberados aumentan la sensibilidad de TRPV1 hacia el estímulo nocivo. Los antagonistas de los receptores TRPV1 bloquean el proceso nociceptivo inducido en modelos de nocicepción inflamatoria y nocicepción de tipo neuropático (Jhaveri et al., 2005).

Específicamente en el ámbito del dolor orofacial, la mayoría de los estímulos nocivos utilizados en experimentos con animales producen solo dolor fásico; se han empleado la estimulación eléctrica de la pulpa dental (Dallel et al., 1995; Rajaona et al., 1996; Young et al., 1981), empleo de calor radiante (Dubner et al., 1975; Rosenfeld et al., 1978; Mc Haffie, 2002) o la estimulación mecánica (Young et al., 1981; Ca Husac, 1990). Una de las desventajas de estos modelos es que los animales estén más o menos restringidos durante el período de prueba, y es bien sabido que el estrés provocado por

tales restricciones puede alterar la sensibilidad al dolor (Dubuisson y Dennis 1977; Hill et al., 1952).

La prueba de la formalina orofacial ha sido estandarizada en rata, ratón y el gato (Dubuisson y Dennis, 1977; Hunskar y Hole, 1987; Alreja et al., 1984; Clavelou y col., 1989) este modelo implica un mínimo de restricciones. El dolor se parece bastante al dolor clínico provocado por un estímulo transitorio (Rajaona et al., 1996; Dubuisson y Dennis 1977; Hunskar y Hole, 1997), se asocia con daño tisular y es sensible a los analgésicos suaves (Rajaona, 1996; Dubuisson y Dennis 1977; Hunskar y Hole, 1987).

VIII. CONCLUSIÓN

- En el presente trabajo se implementó el modelo de nocicepción orofacial en el laboratorio de dolor y analgesia de la Dra. Myrna Déciga Campos.
- Se determinó que la especie adecuada para este modelo son los ratones macho.
- Este modelo puede ser utilizado específicamente si se desea evaluar fármacos que se quieran utilizar en el área odontológica y en daño del nervio trigémino.

BIBLIOGRAFÍA

- Aley K.O., McCarter G., Levine J.D. 1998. Nitric oxide signaling in pain and nociceptor sensitization in the rat. *J Neurosci*, 18 (17): 7008-7014.
- Alreja, M., Mutatik, P., Nayar, U. and Manchanda, S.K. 1984. The formalin test: a tonic pain model in the primate, *Pain* 20; 97-105.
- Alvares D, 1999. Fitzgerald M. Building blocks of pain: the regulation of key molecules in spinal sensory neurones during development and following peripheral axotomy. *Pain* 56: S71-S85.
- American Academy of Orofacial Pain. 1997. The scope of TMD/orofacial pain (head and neck pain management) in contemporary dental practice. Dental Practice Act Committee of the American Academy of Orofacial Pain. *J Orofacial Pain* 11(1):78-83.
- Bell W.E. 1985. Orofacial pains. Classification, Diagnosis, Management. Chicago: Year Book Medical Publishers.
- Benneett L., Nishikawa 1985. Spinal neurons with branched axons traveling in both the dorsal and dorsolateral funiculi. *Exp. Neurol* 87: 571.
- Besson J.M. 1999 The neurobiology of pain. *Lancet* 353: 1610-1615.
- Bonica J.J. 1990. Anatomic and physiology basics of nociception and pain. 2d Ed, Pennsylvania, Lea & Febiger; 28-94.
- Cadet R., Pajot J., Papon A., Woda A. 1998. Is there a correlation between scores of nociceptive behavioral responses to formalin injections given at different body sites in the rat? *Neurosci Lett*; 242:123-126.
- Castelo LM, Lima V, Lima M, Goes P, Arièviló J, Pereira ME, Barros NM. 2010 Antinociceptive and anti-inflammatory activities of lecithin from marine red alga *Pterocladia capillacea*. *Biol Pharm Bull*; 30(5):830-5.

- Caterina M.J., Schumacher M.A., Tominaga M., Rosen T.A., Levine J.D., Julius D. 1997. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*; 389 (6653): 783-784.
- Cervero F. 1993. Patophysiology of referred pain hyperalgesia. Ed. Vec-chiet; D. Albefessard. Pain research and clinical management. Elsevier science Publishers B.V.; 7:35-46.
- Chung J.M. 2004. The role of reactive oxygen species (ROS) in persistent pain. *Mol Interv*, 4 (5); 248-250.
- Clavelou P., Dallel R., Orliaguet T, Woda A, Raboisson P. 1995. The orofacial formalin test in rats: effects of different formalin concentrations. *Pain* 62:295–301.
- Clavelou P., Dallel R., Woda A. 1989. Effects of tractotomy on nociceptive reactions induced by tooth pulp stimulation in the rat. *Exp Neurol* 106:78–84.
- Clavelou P., Pajot J., Dallel R., Raboisson P. 1995. Application of the formalin test to the study of orofacial pain in the rat. *Neurosci Lett*; 103:349-353.
- Coderre T.J., Fundytus M.E., McKenna J.E., Dalal S., Melzack R. 1993. The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioural pain rating. *Pain* 54:43–50.
- Coderre T.J., Melzack R. 1992. The contribution of excitatory amino acids to central sensitization and persistent nociception after formalin-induced tissue injury. *J Neurosci* 12:3665–70.
- Coderre T.J., Melzack R. 1992. The role of NMDA receptor-operated calcium channels in persistent nociception after formalin-induced tissue injury. *J Neurosci* 12:3671–5.
- Condés-Lara M, Calvo JM, Fernández-Guardiola A, 1981. Habituation to be arable experimental pain elicited by tooth pulp electrical stimulation. *Pain* 185-200.
- Cooper B.Y, Sessle BJ. 1992. Anatomy, physiology and pathophysiology of trigeminal system paresthesias and dysesthesias. *Oral Maxillofac Surg Clin N Amer* 4 (2):297-322.

- Cui M, Honore P, Zhong C, Gauvin D, Mikusa J, Hernandez G, Chandran P, Gomtsyan A, Brown B, Bayburt EK, Marsh K, Bianchi B, McDonald H, Niforatos W, Neelands TR, Moreland RB, Decker MW, Lee CH, Sullivan JP, Faltynek CR. 2006. TRPV1 receptors in the CNS play a key role in broad-spectrum analgesia of TRPV1 antagonists *J Neurosci*. Sep 13;26(37):9385-93.
- Dagnino J. 1994 Definiciones y clasificaciones del dolor. *Bol Escuela de Medicina Univ. Católica Chile* 23:148-151.
- Dallel R., Raboisson P., Clavelou P, Saade M., Woda A. 1995. Evidence for a peripheral origin of the tonic nociceptive response to subcutaneous formalin. *Pain* 61:11–16.
- Dickenson A., Sullivan A. 1987. Subcutaneous formalin induced activity of dorsal horns neurons pre or post formalin *pain* 30: 349-360.
- Donlon WC, Kaplan H, Javid B. 1990. Multifactorial facial pain-differential diagnosis: a case report. *JADA* 120:315-20.
- Dubner, R., Sumino, R. and Wood, W.I., 1975. A peripheral 'cold' fiber population responsive to innocuous and noxious thermal stimuli applied to monkey's face, *J. Neurophysiol.*, 38; 1373-1389.
- Dubuisson D., Dennis S.G. 1977 The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 4:161–74.
- Eisenberg E., Vos B.P., Strassman AM. 1996. The peripheral antinociceptive effect of morphine in a rat model of facial pain. *Neuroscience* 72:519–25.
- Fitzgerald M, Lynn B. 1977. The sensibilization of high threshold mechanoreceptors with myelinated axons by repeating heating. *J. Physiol (London)* 365-549-51.
- Hamma A. Frédérique Menzaghi. Antagonist of nicotinic acetylcholine receptors (nAChR) enhances formalin-induced nociception in rats: tonic role of nAChRs in the control of pain following injury. *Brain Research Volume 888, Issue 1, 5 January 2001, Pages 102–106*

- Hammond D.L. 1989. Inference of pain and its modulation from simple behaviors. In: Chapman CR, Loesser JD, editors. *Issues in Pain Measurement*. New York: Raven Press 69–91.
- Haque M.F., Aghabeighi B., Wasil M., Hodges S., Harris M. 1994. Oxygen free radicals in idiopathic facial pain. *Bangladesh Med Res Counc Bull*, 20 (3); 104-116.
- Hernández J., Villar J. 1990. El lenguaje del dolor: diagnóstico diferencial del dolor orofacial. *Med Clin* 95:224-7.
- Hill, H.E., Kornetsky, H.G., Flanary, A. and Wikler, A., 1952. Effects of anxiety and morphine on discrimination of intensities of painful stimuli. *J. Clin. Invest.* (31) 473-480.
- Hole K., Tjolsen A. 1993. The tail-flick and formalin tests in rodents: changes in skin temperature as a confounding factor. *Pain* 53:247–54.
- Hunskaar, S. and Hole, K., 1987. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and noninflammatory pain, *Pain*, (30) 103-114.
- International Association for the Study of Pain. 1986. Subcommittee on Taxonomy. Classification of chronic pain. *Pain* 3: 53-225.
- Jhaveri MD, Elmes SJ, Kendall DA, Chapman V. 2005. Inhibition of peripheral vanilloid TRPV1 receptors reduces noxious heat-evoked responses of dorsal horn neurons in naïve, carrageenan-inflamed and neuropathic rats. *Eur J Neurosci*. Jul;22(2):361-70.
- Ji R.R., Kawasaki Y., Zhuang Z.Y., We Y.R., Zhang Y.Q. 2007. Protein kinases as potential targets for the treatment of pathological pain. *Handb Exp Pharmacol*, 177: 359-389.
- Julius D., Basbaum A. 2001. Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, 413: 203-210.
- Keith P. Kittelberg y David Borsook. 1999. Bases neurológicas del dolor. Libro: Tratamiento del dolor Massachusetts General Hospital. Ed. Marban libros, S.L. 8-25.

- Lazar M.L, Greenlee RG, Naarden AL. 1980. Facial pain of neurologic mimicking oral pathologic conditions: Some current concepts and treatment. *JADA* 100:884-8.
- Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. 2001a. Critical analysis of animal models of acute pain. Part II. *Ann Fr Anesth Reanim.* 20(5):452-70.
- LeBars D, Gonzarriu M, Cadden SW. 2001b. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 53(4):597-652.
- Lee Y., Lee C.H., Oh U. 2005. Painful channels in sensory neurons. *Mol Cells*, 20 (3) : 315-324.
- Levy D., Zochodne D.W. 2004. NO pain: potential roles of nitric oxide in neuropathic pain. *Pain Prac*, 4 (1):11-18.
- Loesser J. D. 2001 Bonica's Management of pain, 26-196.
- Luccarini P., Cadet R., Saade M, Woda A. 2004. Antinociceptive effect of morphine microinjections into the spinal trigeminal subnucleus oralis. *Neuroreport* 6:365-8.
- Mathews B, Sessle BJ. 2001. Peripheral mechanisms of orofacial pain. In JR Lund, GJ Lavigne, R Dubner, BJ Sessle (eds.). *Orofacial pain: from basic science to clinical management*. Carol Stream, Quintessence Publishing Co. 37-46.
- Merskey H. Bungduk N. 1994. Classification of chronic Pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms, 2nded. Seattle, WA: IASP Press seattle, 209-214.
- Millan M.J. 2002 Descending control of pain. *Prog Neurobiol*, 66: 355-474.
- Mínguez J.M., Bonet J. 1983. Algas faciales de interés en Estomatología. Boletín Informativo del Colegio Oficial de Odontólogos y Estomatólogos de la Tercera Región 157:33-76.
- Owens C.M., Zhang D., 1992. Willis WD: changes in the response states of primate spinothalamic tracts cells caused by mechanical damage of the skin or activation of descending controls. *J. Neurophysiol* 67: 1509-57.
- Peñarroca M. 1997. Dolor orofacial. Etología, diagnóstico y tratamiento. Barcelona: Masson.

- Price DD, 1977. Dubner; Neurons that subserve the sensory discriminative aspects of pain. *Pain* 3: 307-338.
- Quiroz, F. 1996. *Anatomía Humana* 30 ed. México: Editorial Porrúa 123-128.
- Raboisson P., Bourdiol P., Dallel R., Clavelou P., Woda A. 1991. Responses of trigeminal subnucleus oralis nociceptive neurons to subcutaneous formalin in the rat. *Neurosci Lett* 125:179–82.
- Raboisson P., Dallel R., Clavelou P., Sessle B.J., Woda A. 1995. Effects of subcutaneous formalin on the activity of trigeminal brain stem nociceptive neurons in the rat. *J Neurophysiol* 73:496–505.
- Raboisson P., Størkson R., Berge O-G. 1996. Analysis of behavior in the formalin test: analgesic and non-analgesic effects of morphine. [Abstract] 8th World Congress on Pain.
- Rajaona, J., Dallel, R. and Woda, A., 1996. Is electrical stimulation of the rat incisor an appropriate experimental nociceptive stimulus? *Exp. Neurol.*, (93) 291-299.
- Rosenfeld J.P., Broton JG, Clavier RM. 1978. A reliable, facial nociception device for unrestrained, awake animals: effects of morphine and trigeminal complex lesions. *Physiol Behav* 21:287–90.
- Rosland J.H. 1991. The formalin test in mice: the influence of ambient temperature. *Pain* 45:211–6.
- Rosland J.H., Tjolsen A, Mæhle B, Hole K. 1990. The formalin test in mice: effect of formalin concentration. *Pain* 42:235–42.
- Salter M., Strijbos P.J., Neale S., Duffy C., Follenfant R.L., Garthwaite J. 1996. The nitric oxide-cyclic GMP pathway is required for nociceptive signalling at specific loci within the somatosensory pathway. *Neuroscien*, 73 (3): 645-655.
- Shu X., Mendell L.M. 1999. Nerve growth factor acutely sensitizes the response of adult rat sensory neurons to capsaicin. *Neurosci Lett*, 274: 159-162.

- Sonnenberg J.L. Mitchelmore C, Macgregor P.F. y cols. 1989. Glutamate receptor Agonist increase the expression Fos, Fra and AP-1 DNA binding activity in mammalian. *Brain Journal of Neurociencias Research* 24: 72-80.
- Stanley, Malamed. 1997. *Handbook of local Anesthesia*. 5ta. Ed. St Louis, Missouri: Mosby Yearbook Inc.
- Tallarida R.J., Murray R.B. 1981. *Manual of pharmacologic calculations with computer programs*. Springer-Verlag, Nueva York; Heidelberg, Berlin.
- Testut, L. y A. Latarjet 1985. *Compendio de Anatomía Descriptiva*. España: Salvat editores, S. A. 450-456.
- Tjolsen A., Berge O.G., Hunnskaar S., Rosland J.H., Hole K. 1992. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 51: 5-17.
- Wang H., Ehnert C., Brenner G.J., Woolf C.J. 2006. Bradykinin and peripheral sensitization. *Biol Chem*, 387: 11-14.
- Wang Z.Q., Porreca F., Cozzocrea S. 2004. A newly identified role for superoxide in inflammatory pain. *J Pharmacology Exp Ther*, 309: 869-878.
- Wheeler-Aceto H., Cowan A. 1991. Standardization of the rat paw formalin test for the evaluation of analgesics. *Psychopharmacol (Berl)* 104:35-44.
- Wheeler-Aceto H., Porreca F, Cowan A. 1990. The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. *Pain* 40:229-38.
- Willis, Kenslao, Leonard. 1988. The cells of origin of the primate spinothalamic neurons based on cutaneous stimulation: physiological and anatomical features. *J Neurophysiol*. 59:833.
- Withe DM, Helme RD. 1985. Release of substance P from peripheral terminal nerve terminals following electrical stimulation of the sciatic nerve *Brain. Res* 336: 27-31.
- Wood J.N. 2004. Recent advances in understanding molecular mechanisms of primary afferent activation. *Gut*, 53: 9-12.
- Woolf C.J. 2004 Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Ann Intern Med.* 140 (6): 441-451.

- Woolf C.J., Mannion R.J. 1999. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, Mechanisms, and management. *Lancet* 353:1959-64.
- Woolf F. 1992. Pheripheal nerve injury triggers Central Sprouting of myelinated afferents *Nature* 355: 75-77.
- Young R.F., Oleson T.D., Perryman K.M. 1981. Effect of trigeminal tractotomy on behavioral response to dental pulp stimulation in the monkey. *J Neurosurg* 55:420–3.