

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD ZACATENCO
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

“Caracterización de la combinación ácido docosahexaenoico y gabapentina en un modelo murino de nocicepción”

TESIS

Que presenta:

Q.F.B. JUAN ANTONIO GABRIEL JIMÉNEZ GASCA

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS
EN LA ESPECIALIDAD DE
FARMACOLOGÍA

Directores de tesis:

Dr. Gilberto Castañeda Hernández

Dra. Aracely Evangelina Chávez Piña

Ciudad de México

Diciembre, 2017.

El presente trabajo de investigación se desarrolló bajo la dirección del Dr. Gilberto Castañeda Hernández y la Dra. Aracely Evangelina Chávez Piña. Los experimentos se realizaron en el laboratorio 34 del Departamento de Farmacología del Centro de Investigación y de estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

Dedicatoria:

A las personas que me han brindado un hogar:

Teresa Gasca García mi madre que nunca ha permitido que me rinda.

Yazmin Jiménez Zúñiga mi tía que siempre ha estado al pendiente de mi crecimiento.

Juan José Jiménez Gasca mi hermano que siempre me brinda fortaleza.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y
Tecnología (CONACYT) por la beca
otorgada para llevar a cabo este proyecto
(CVU 746290)

Agradecimientos:

Al Dr. Gilberto Castañeda Hernández por darme la oportunidad de desarrollar mi tesis de maestría en el tema de dolor y trabajar en su laboratorio junto con su equipo de trabajo. Aprecio cada consejo recibido tanto dirigido hacia mi proyecto de tesis, así como consejos profesionales ya que me han permitido crecer en distintos ámbitos, reconociendo que un científico no solo debe saber de su tema de investigación sino también es su deber conocer distintos temas y tener la capacidad de poder comunicar a las demás personas de una manera concisa y clara.

A la Dra. Aracely Chávez Piña, por asesorarme en mi proyecto de tesis, brindándome tanto conocimientos como la oportunidad de desarrollar aptitudes y actitudes para que este proyecto se llevará de manera adecuada, así mismo agradezco la oportunidad de conocer y trabajar junto con su equipo de trabajo del Posgrado en Biomedicina Molecular de la Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía del IPN.

A la Dra. Lilian Favari y al Dr. Pablo Muriel por formar parte de mi comité tutorial ya que cada uno de sus consejos y observaciones hacia mi trabajo permitieron que este se fortaleciera.

A la Q.F. B. Ma. de Lourdes González Flores, por su apoyo y asistencia técnica, consejos y la disciplina que me proporcionó para que este proyecto de maestría se realizará de buena manera.

A todos mis amigos y compañeros de laboratorio: Alan Martín por brindarme su buena amistad y consejos que me ayudaron durante el proyecto de la tesis, de igual forma agradecer a Arianna, Lorena y Suset por permitirme convivir con ellas y aprender diferentes puntos de vista tanto de la vida académica como experiencias de vida, también quiero agradecer a Aida y Bryan.

A mis compañeros y amigos de maestría en especial a Iroel García y Alan Quiroz, por su compañía y hacer más ameno el camino de la maestría.

A los amigos que hice durante el periodo de ingreso a la maestría, en especial a Amabile Velo ya que desde el inicio me dio su amistad haciendo que el periodo de los cursos de prerequisites fuera una buena etapa.

A mis amigos Lupita y Manuel que me han acompañado en distintos momentos de mi vida haciéndome sonreír por distintas causas.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	I
ÍNDICE DE TABLAS	II
ABREVIATURAS.....	III
RESUMEN	VI
ABSTRACT.....	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. DOLOR Y NOCICEPCIÓN	1
1.2. FISIOLÓGÍA DEL DOLOR.....	1
1.2.1. Transducción.....	2
1.2.2. Conducción	4
1.2.3. Transmisión.....	6
1.2.4. Percepción central.....	7
1.2.5. Modulación	8
1.3. CLASIFICACIÓN DE LOS TIPOS DE DOLOR	8
1.3.1. Clasificación por la duración del dolor	9
1.3.2. Clasificación por su intensidad	10
1.3.3. Por la región afectada o su localización.....	10
1.3.4. Por su etiología.....	10
1.3.5. Clasificación fisiopatológica.....	11
1.4. DOLOR NEUROPÁTICO.....	12
1.4.1. Epidemiología del dolor neuropático	12
1.4.2. Clasificación del dolor neuropático	13
1.4.3. Mecanismos del dolor neuropático	14
1.4.4. Mecanismos de sensibilización al dolor.....	16
1.5. TERAPEÚTICA DEL DOLOR.....	20
1.5.1. Escala analgésica de la OMS	20
1.5.2. Analgésicos no opioides.....	21
1.5.3. Analgésicos opioides.....	22
1.5.4. Fármacos coanalgésicos y coadyuvantes	23
1.5.6. Tratamientos de primera línea para el dolor neuropático.....	23
1.5.7. Tratamientos de segunda línea para el dolor neuropático	24
1.5.8. Tratamientos de tercera línea para el dolor neuropático	25

1.5.9.	Gabapentina	27
1.5.9.1.	Mecanismo de acción.....	28
1.5.9.2.	Farmacocinética de la gabapentina	29
1.5.9.3.	Efectos adversos de la gabapentina.....	30
1.6.	ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES	31
1.6.1.	Ácido docosahexaenoico (DHA)	33
1.7.	INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS.....	35
1.7.1.	Interacciones farmacodinámicas	35
1.7.2.	Análisis isobolográfico	36
1.8.	MODELOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	38
1.8.1.	Modelos de dolor agudo.....	40
1.8.2.	Modelos de dolor inflamatorio.....	41
1.8.3.	Modelos de dolor neuropático.....	41
1.8.4.	Modelo de la formalina	42
2.	ANTECEDENTES	44
3.	JUSTIFICACIÓN	46
4.	HIPÓTESIS.....	47
5.	OBJETIVOS	48
5.1.	OBJETIVO GENERAL.....	48
5.2.	OBJETIVOS PARTICULARES.....	48
6.	MATERIALES Y MÉTODOS	49
6.1.	Animales	49
6.2.	Sustancias.....	49
6.3.	Materiales para la prueba de la formalina	49
6.4.	Modelo de la formalina.....	50
6.5.	Determinación de la DE ₃₀ antinociceptiva de DHA y gabapentina	50
6.6.	Determinación del efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina ..	51
6.7.	Administración repetida de DHA	52
6.8.	Análisis estadístico.....	53
7.	RESULTADOS.....	54
7.1.	Determinación de la DE ₃₀ antinociceptiva de DHA y gabapentina	54
7.2.	Determinación del efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina ..	56
7.3.	Administración repetida de DHA	58

8.	DISCUSIÓN	60
8.1.	Efecto antinociceptivo individual de la gabapentina	60
8.2.	Efecto antinociceptivo individual del DHA.....	63
8.3.	Efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina	66
8.4.	Efecto antinociceptivo de la administración repetida de DHA	67
9.	CONCLUSIONES	70
10.	PERSPECTIVAS	71
11.	BIBLIOGRAFÍA	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Circuito fisiológico de nocicepción.....	2
Figura 2. Tipos de fibras nociceptivas.	5
Figura 3. Conexiones entre neuronas aferentes primarias y médula espinal.	7
Figura 4. Sensibilización periférica.....	18
Figura 5. Sensibilización central.....	20
Figura 6. Escalera analgésica de la OMS.....	21
Figura 7. Estructura química del ácido γ -aminobutírico (GABA) y estructura química de la gabapentina.	27
Figura 8. Subunidades de los canales de calcio dependientes de voltaje.....	28
Figura 9. Mecanismo de acción de la gabapentina.	29
Figura 10. Metabolismo de los ácidos grasos esenciales en mamíferos.	32
Figura 11. Estructura química del ácido docosahexaenoico (DHA).....	33
Figura 12. Ruta del DHA desde el aceite de pescado hacia los tejidos diana.....	34
Figura 13. Representación de un isoblograma.	38
Figura 14. Curso temporal del número de sacudidas de la pata durante la prueba de la formalina.....	42
Figura 15 Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de la gabapentina durante la fase 2 de la formalina con las dosis de 10 a 100 mg kg ⁻¹	55
Figura 16. Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo del DHA durante la fase 2 de formalina con las dosis de 31.6 a 177.8 mg kg ⁻¹	56
Figura 17. Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de la combinación 1:1 DHA-gabapentina durante la fase 2 de la formalina con las dosis de 7.8, 15.6, 31.2 y 62.4 mg kg ⁻¹	57
Figura 18. Isoblograma de la combinación 1:1 DHA-gabapentina en la segunda fase de la prueba de la formalina.	58
Figura 19. Efecto antinociceptivo de la administración repetida de DHA.....	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diferencias entre dolor agudo y crónico	9
Tabla 2. Farmacoterapia disponible para el dolor neuropático	26
Tabla 3. Efecto antinociceptivo en la fase 1 de la formalina.	54



ABREVIATURAS

AA	Ácido araquidónico
ABC	Área Bajo la Curva
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
AL	Ácido linoleico
ALA	Ácido alfa linolénico
AMPA	Canales iónicos con ligando a glutamato (α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico),
ANOVA	Análisis de varianza (Analysis of Variance)
ATC	Antidepresivos tricíclicos
ATP	Adenosín trifosfato (adenosine triphosphate)
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
°C	Grados Celsius
Ca_v	Canal de calcio dependientes de voltaje
CDR	Curva Dosis respuesta
CGPR	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina (Calcitonin gene-related peptide)
CISA	Canales iónicos sensibles a ácido
cm	Centímetros
COX	Ciclooxigenasa
d	Día
DE₃₀	Dosis efectiva treinta
DE_{30exp}	Dosis efectiva treinta experimental
DE_{30t}	Dosis efectiva treinta teórica
DHA	Ácido docosahexaenoico (Docosahexaenoic acid)
EPA	Ácido eicosapentaenoico
EVA	Escala visual análoga

FDA	Administración de alimentos y medicamentos (Food and drugs administration)
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GBP	Gabapentina
GPC	Guía de práctica clínica
GPCR	Receptor acoplado a proteínas G (G-protein-coupled receptor)
g	Gramos
h	Hora
IASP	Asociación internacional para el estudio del dolor (International Association for the study of pain)
ISRSN	Inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina y noradrenalina
kg	Kilogramo
Kv	Canales de potasio dependientes de voltaje
LOX	Lipoxigenasa
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógenos
min	Minutos
mg	Miligramo
mmol	Mili mol
Nav	Canales de sodio dependientes de voltaje
NGF	Factor de crecimiento neuronal
NMDA	Receptor a glutamato (N-metil-D-aspartato),
NOM	Norma Oficial Mexicana
OMS	Organización Mundial de la Salud
PD	Proteína de la serie D
PG	Prostaglandina
pH	Potencial de hidrogeno
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C

p.o.	Vía oral
PUFAs	Ácido graso poliinsaturado (polyunsaturated fatty acid)
RGD	Raíza del ganglio dorsal
RvD1	Resolvina de la serie D1
s	Segundo
S.E.M	Error estándar de la media (Standard error of the mean)
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico
TRPA	Receptor de potencial transitorio, receptor a anquirina (Transient receptor potential cation channel, Ankyrin receptor)
TRPM	Receptor de potencial transitorio, receptor a mentol (Transient receptor potential cation channel, menthol receptor)
TRPV	Receptor de potencial transitorio, receptor a vaniloide (Transient receptor potential cation channel, vanilloid receptor)
VEH	Vehículo
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
μL	Micro litro
γ	Índice de interacción
5-HT	Serotonina o 5-hidroxitriptamina

RESUMEN

La gabapentina es un neuromodulador indicado como tratamiento de primera línea para tratar padecimientos como el dolor neuropático o procesos dolorosos que cursan con sensibilización, sin embargo, se utiliza a dosis elevadas que pueden provocar la aparición de distintos efectos adversos como mareos, ataxia, edema periférico y confusión. Dentro de las estrategias utilizadas en el tratamiento del dolor se contempla la combinación de distintos fármacos, el fin de esta estrategia es combinar fármacos que tengan un mismo fin terapéutico pero que varíen en su mecanismo de acción con el propósito de administrar menores dosis de cada uno y disminuir la aparición de efectos adversos. Además, actualmente el DHA es un ácido graso que ha mostrado tener efecto antinociceptivo y no se ha reportado que tenga efectos adversos, por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo consistió en caracterizar la combinación de ácido docosahexaenoico y gabapentina en el modelo de la formalina. Se administró por vía oral DHA (31.6, 56.2, 100 y 177.8 mg kg⁻¹) o gabapentina (10, 31.6, 56.2 y 100 mg kg⁻¹) y se construyó una curva dosis respuesta individual en la prueba de la formalina y se determinó la DE₃₀, para la gabapentina fue de 25.61 ± 5.35 mg kg⁻¹ y para el DHA fue de 99.33 ± 11.42 mg kg⁻¹, el siguiente paso fue evaluar la combinación 1:1 DHA-gabapentina, la DE₃₀ teórica se determinó con un valor de 62.4 mg kg⁻¹ y con la evaluación experimental se obtuvo una DE₃₀ de la combinación con un valor de 3.32 ± 1.18 mg kg⁻¹, el análisis isoblográfico de la combinación 1:1 DHA-gabapentina indicó una interacción farmacológica de tipo sinérgica. Los resultados permiten sugerir que la interacción de estos fármacos es de tipo sinérgica actuando por distintos mecanismos de acción, esperando que a menor dosis los efectos adversos de la gabapentina se puedan ver disminuidos.

ABSTRACT

Gabapentin is a neuromodulator indicated as a first-line treatment to treat conditions such as neuropathic pain or painful processes that occur with sensitization, however, it is used at high doses that can cause the appearance of various adverse effects such as dizziness, ataxia, peripheral edema and confusion. The strategies used in the treatment of pain include the combination of different drugs, the purpose of this strategy is to combine drugs that have the same therapeutic purpose but that vary in their mechanism of action, for administering lower doses of each and decrease the occurrence of adverse effects. In addition, DHA is currently a fatty acid that has been shown to have an antinociceptive effect and has not been reported to have adverse effects, therefore, the main objective of this work was to characterize the combination of docosahexaenoic acid and gabapentin in the model of formalin. DHA (31.6, 56.2, 100 and 177.8 mg kg⁻¹) or gabapentin (10, 31.6, 56.2 and 100 mg kg⁻¹) was orally administered and an individual dose response curve was constructed in the formalin test and the DE₃₀, for gabapentin was 25.61 ± 5.35mg kg⁻¹and for DHA was 99.33 ± 11.42 mg kg⁻¹, the next step was to evaluate the 1:1 DHA-gabapentin combination, the theoretical ED₃₀ was determined with a value of 62.4 mg kg⁻¹and with the experimental evaluation an ED₃₀ of the combination was obtained with a value of 3.32 ± 1.18 mg kg⁻¹, the isobolographic analysis of the 1:1 combination DHA-gabapentin indicated a synergistic pharmacological interaction. The results suggest that the interaction of these drugs is of the synergic type acting through different mechanisms of action, hoping that at a lower dose the adverse effects of gabapentin may be diminished.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. DOLOR Y NOCICEPCIÓN

Se sabe que el dolor es un fenómeno tan antiguo como el ser humano¹, durante siglos se ha intentado englobar en una sola definición la enorme complejidad y multitud de aspectos y variantes que presenta el dolor², aunque la unanimidad en la definición no es absoluta, actualmente la definición más aceptada para el dolor es la descrita por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés), la cual define al dolor como: “Una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada con un daño tisular, real o potencial, o descrita en términos de dicho daño”³, de tal forma que esta definición contempla el aspecto emocional.

Por otro lado, la nocicepción se puede entender como la habilidad de detectar un estímulo nocivo, por lo tanto, en la nocicepción se descarta el aspecto emocional y solo se contempla el aspecto fisiológico³. Cabe mencionar que la capacidad nociceptiva es esencial para la supervivencia y el bienestar de un organismo⁴ y cuando el dolor nociceptivo deja de ser un signo de alerta pasa a ser uno de los síntomas de la enfermedad⁵.

1.2. FISIOLÓGÍA DEL DOLOR

Fisiológicamente el dolor es la consecuencia final del procesamiento neurológico de una información sensitiva concreta. Normalmente, el estímulo emerge de la periferia y se transfiere por múltiples controles a través de los transmisores sensitivos del sistema nervioso central (SNC) a la corteza cerebral⁶, por lo tanto, en la fisiología del dolor se contemplan una serie de pasos, comenzando por la transducción, la conducción, la transmisión, la percepción y la modulación (Figura 1), a continuación se detalla cada uno de estos pasos.

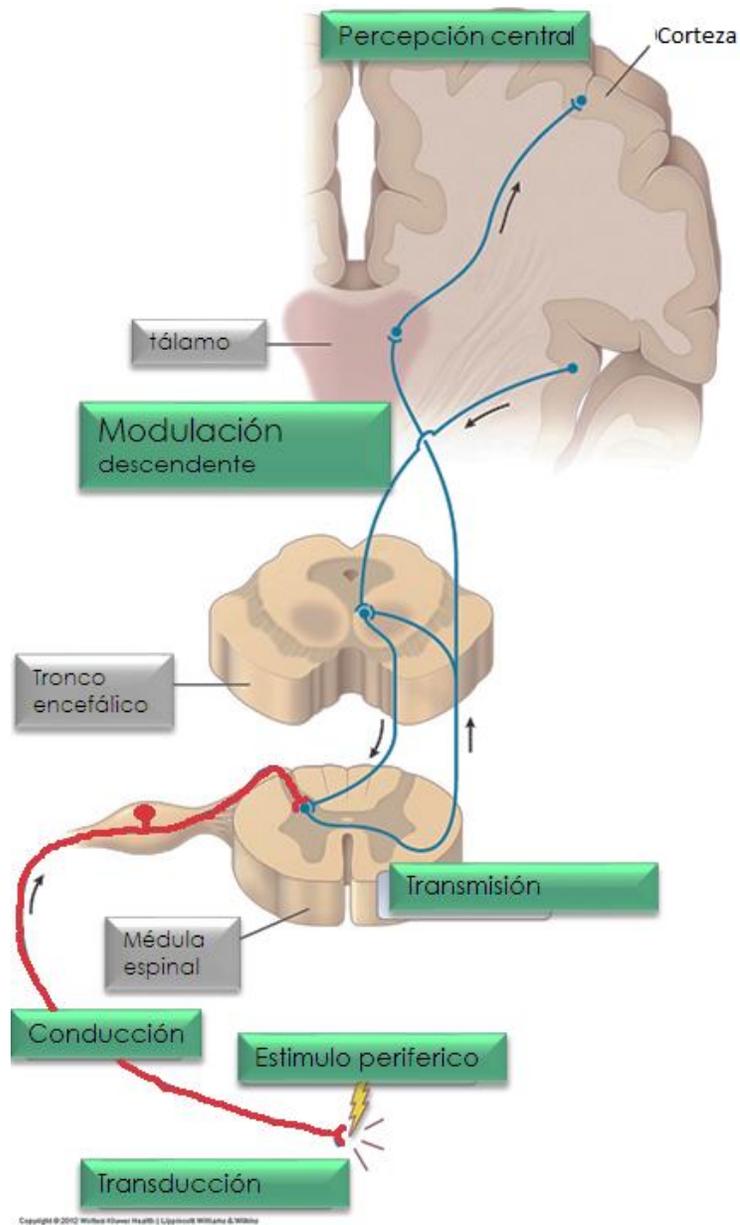


Figura 1 *Circuito fisiológico de nocicepción.*
 (Imagen modificada de Griffin R. y Woolf C. 2012)⁶.

1.2.1. Transducción

En este paso, los receptores periféricos (nociceptores) responden a estímulos nocivos, dichos estímulos pueden ser térmicos, mecánicos y químicos. Cuando los nociceptores son activados permiten la entrada, principalmente, de iones sodio, al ocurrir esto se provoca una despolarización en la neurona aferente primaria produciendo un potencial

de acción⁶. Los nociceptores se caracterizan por tener un umbral alto ya que estudios electrofisiológicos han demostrado que solo el calor nocivo, la presión intensa o los productos químicos irritantes son capaces de activar a dichos nociceptores y no así los estímulos inocuos⁷.

A diferencia de la visión, el olfato o el gusto, los nervios que detectan un estímulo nocivo no están localizados en una estructura anatómica en particular, ya que se encuentran dispersos sobre el cuerpo inervando la piel, los músculos y los órganos internos⁷.

Como ya se mencionó, el estímulo nocivo puede ser de distintos tipos, por lo tanto, existen receptores especializados que permiten la transducción de la señal. Dentro de esta lista se encuentran los nociceptores de tipo térmico, los receptores que se activan a temperaturas por encima de los 42 °C son los TRPV1 (receptores de potencial transitorio), aunque estos canales (TRPV1) son activados por altas temperaturas no son exclusivos para este estímulo nocivo ya que el ligando de estos receptores son los compuestos químicos vainiloides como la capsaicina y también se pueden activar a pH extracelular bajo⁶. En el caso de un estímulo de temperatura baja (4 °C) o frío intenso los receptores encargados de la transducción de esta señal son los TRPM8 cuyo ligando es el mentol^{4,6,7}.

Las terminales aferentes primarias también son capaces de transducir estímulos nocivos de tipo mecánico como la presión intensa sobre una extremidad⁶. Sin embargo, actualmente solo se puede mencionar a los posibles candidatos a ser mecanotransductores de estímulos nocivos, ya que, aunque algunos receptores puedan fungir como transductores de estímulos físicos como la presión, para ser clasificados como nociceptores solo deben responder a estímulos de presión intensa. Dentro de los posibles candidatos se encuentran los TRPV2, se consideran como candidatos ya que son estimulados cuando ocurre estrés osmótico, otro candidato a considerar es el canal de potasio KCNK18, aunque no se sabe si la participación de este canal es directamente

sensible a la estimulación mecánica, si puede ser un regulador crítico en la excitabilidad de las neuronas involucradas en la sensación táctil inocua o nociva ⁴.

Otro tipo de nociceptores son los que solo responden a estímulos químicos, la mayoría de los estímulos químicos van ligados a una inflamación o lesiones celulares, ejemplos de receptores quimiosensibles son los CISA, los cuales son canales iónicos sensibles al ácido, otro estímulo químico es el exceso de ATP (Adenosin Trifosfato por sus siglas en inglés) extracelular que es capaz de activar los receptores P2X y P2Y, dentro de los receptores sensibles a agentes químicos están los TRPA1 que tienen como ligando el ingrediente irritante de la mostaza, el último grupo lo constituyen estímulos químicos pero de origen peptídico como las cininas que estimulan receptores de bradicinina B1 y B2^{4,6}.

1.2.2. Conducción

Una vez que se generó el potencial de acción en la neurona aferente primaria, dicho potencial necesita ser conducido y la velocidad con la que lo haga dependerá del tipo de fibra al que pertenezca la neurona aferente primaria, en general existen tres tipos de fibras.

El primer grupo son las fibras A α y A β , este tipo de fibras detectan estímulos que no son nocivos como toques ligeros o vibraciones, por lo tanto, en condiciones no patológicas no contribuyen a los estímulos nociceptivos. Su conducción es rápida al tener cuerpos celulares con diámetros grandes y fibras mielinizadas (Figura 2)⁷.

El segundo tipo de fibras son las A δ , las cuales cuentan con nociceptores que responden a estímulos mecánicos y térmicos intensos. Son fibras de conducción intermedia al ser mielinizadas, pero de diámetro menor a las fibras A β , las fibras A δ tienen un diámetro de 1-6 μm y una velocidad de conducción de 5 – 30 m s^{-1} (Figura 2), existen dos tipos

de estas fibras $A\delta$, el Tipo I se caracteriza por tener un umbral alto de temperatura, por su parte las tipo II $A\delta$ tienen un umbral de temperatura más bajo pero el umbral de estímulo mecánico es mayor, estas fibras median lo que se conoce como “primer dolor” (Figura 2)^{7,4}.

El tercer tipo son las fibras C, cuentan con nociceptores polimodales, por lo tanto, tienen nociceptores para estímulos mecánicos, térmicos y algo muy importante es que cuentan con nociceptores sensibles a estímulos químicos nocivos como el ácido o la capsaicina. Son fibras de conducción lenta al no estar mielinizadas, su velocidad de conducción es de $0.5 - 2 \text{ m s}^{-1}$ y tienen un diámetro pequeño ($0.5-1.2 \mu\text{m}$), estas fibras median lo que se conoce como “segundo dolor” por la velocidad de conducción que tienen (Figura 2)⁷.

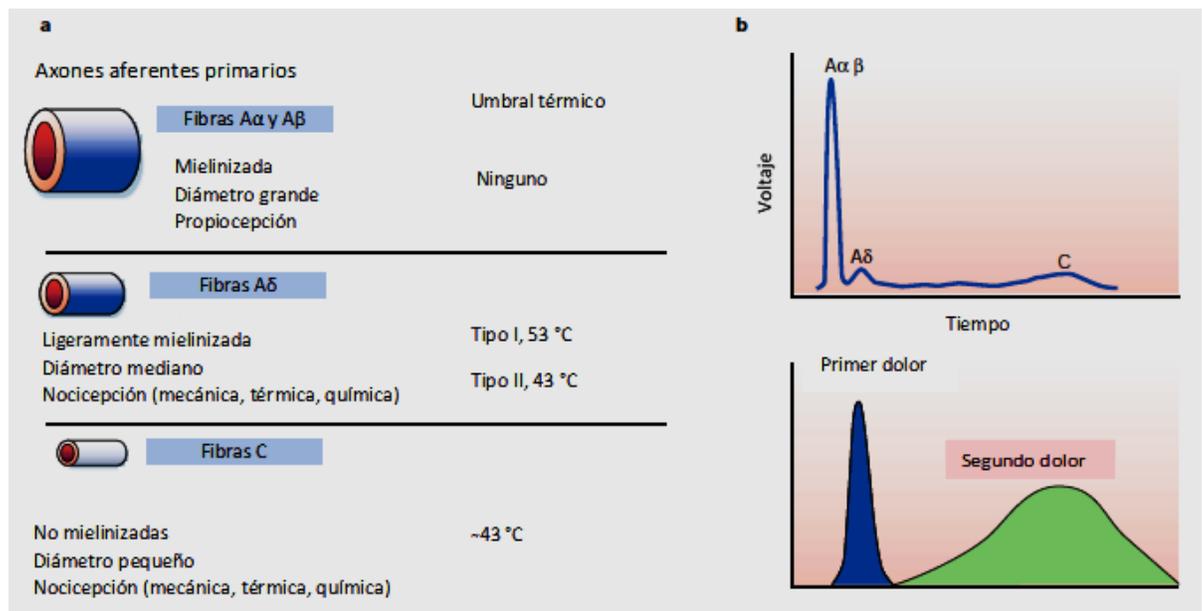


Figura 2. Tipos de fibras nociceptivas.

Las fibras periféricas incluyen fibras mielinizadas de diámetro pequeño ($A\delta$) y grande ($A\alpha, \beta$) y fibras aferentes de diámetro pequeño y no mielinizadas (C), la velocidad de conducción de cada una de las fibras es proporcional a su diámetro. (imagen modificada de Julius y Basbaum 2001)⁷.

1.2.3. Transmisión

Los nervios aferentes primarios (neuronas de primer orden) se proyectan hacia la médula espinal, en donde se sabe por estudios anatómicos y electrofisiológicos que están organizados en distintas láminas de la medula espinal. Las fibras A δ se proyectan hacia la lámina I o de una manera más profunda hacia la lámina V de la médula espinal, las fibras A β hacia las láminas III, IV y V. Por su parte, las fibras C se proyectan más superficialmente solo a las láminas I y II, en el caso de las fibras C cuando se proyectan hacia la lámina I se considera que hay liberación de neurotransmisores peptídicos y cuando lo hacen hacia las láminas II los neurotransmisores son no peptídicos (Figura 3)⁴.

Ahora bien, el potencial de acción que se generó en la neurona aferente primaria, favorece que los canales de calcio dependientes de voltaje tipo N se abran, la entrada de calcio a la neurona presináptica (neurona de primer orden) permite que distintos neurotransmisores sean liberados en el asta dorsal de la médula espinal y de esta forma da inicio el proceso de transmisión sináptica entre la neurona de primer orden y la de segundo orden⁶.

Los neurotransmisores que se liberaran son excitadores, uno muy importante es el glutamato, pero también están los neuropéptidos como las taquicinas, las sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, también algunos neuromoduladores sinápticos como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)⁶.

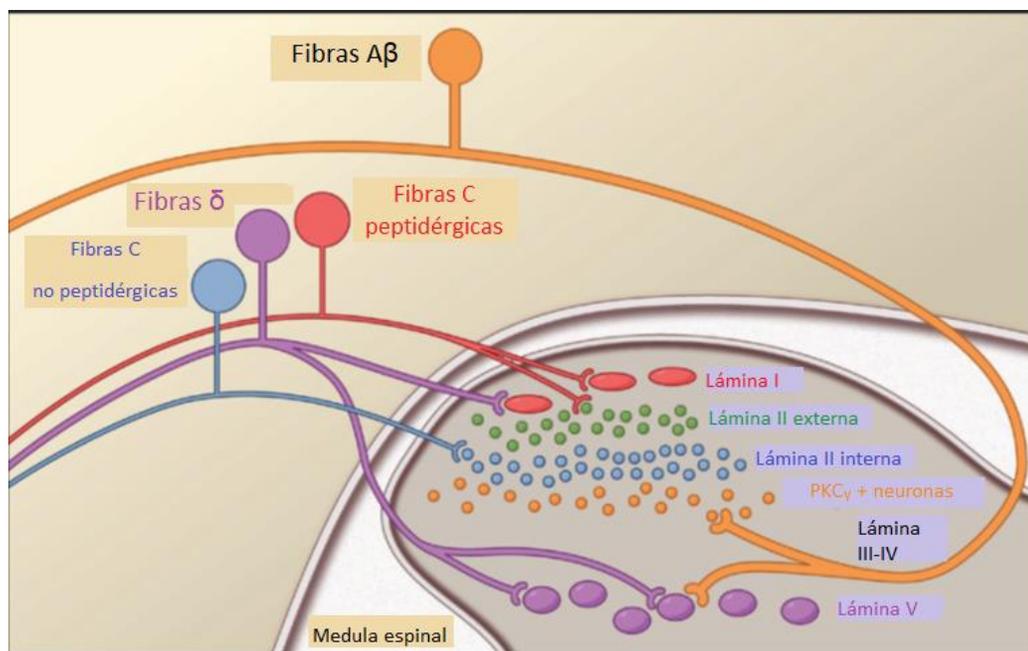


Figura 3. Conexiones entre neuronas aferentes primarias y médula espinal. Se muestra la organización en láminas de la médula espinal, así como la conexión entre la neurona de primer orden con neuronas organizadas en las distintas láminas (imagen modificada de Basbaum y cols. 2009)⁴.

1.2.4. Percepción central

Las proyecciones de las neuronas de segundo orden que salen de la lámina I y II representan la mayor vía ascendente nociceptiva. Dependiendo hacia donde se dirijan las neuronas de segundo orden, las vías ascendentes se pueden dividir en el espinotalámico y el espinoreticular, de esta forma pueden hacer conexión hacia el tálamo o hacia el tronco encefálico, respectivamente. Una vez hecha la conexión con el tálamo, las siguientes proyecciones neuronales (neurona de tercer orden) llegarán a la corteza somatosensorial, es aquí donde se proveerá información referente a la localización y la intensidad del estímulo doloroso, el uso exclusivo de esta vía solo contempla el aspecto nociceptivo. La otra vía ascendente se proyecta del tronco encefálico (núcleo parabraquial) a la amígdala, de esta última surgen dos proyecciones neuronales, una hacia la corteza insular y otra a la corteza cingulada, es en estos dos

sitios donde el procesamiento de información contribuye al componente afectivo del dolor^{4,8}.

1.2.5. Modulación

Así como es importante para un organismo la capacidad nociceptiva por el aspecto de supervivencia, también es necesario regular la misma señalización nociceptiva en el sistema nervioso. El aspecto de la transmisión en el circuito fisiológico de nocicepción está regulado tanto por interneuronas inhibitoras locales como por proyecciones descendentes que van desde el tronco encefálico hacia el asta dorsal de la médula espinal. En 1976, Mayer y Price demostraron que la estimulación de la sustancia gris periacueductal producía analgesia, de esta forma los sistemas inhibidores limitan la transferencia de información que llega al cerebro. La modulación descendente inhibitoria se logra por la liberación de neurotransmisores inhibidores como los péptido opioides, la noradrenalina, la serotonina, la glicina y el ácido gamma-aminobutírico (GABA)^{6,8}.

1.3. CLASIFICACIÓN DE LOS TIPOS DE DOLOR

Para clasificar al dolor existen distintos criterios, uno de los criterios a considerar son los descritos por la IASP, los puntos que considera esta asociación para clasificar al dolor son los siguientes: por la región que afecta, el sistema corporal implicado, el patrón temporal del dolor, la intensidad del mismo y por la causa⁹.

Otros criterios son los descritos por la OMS (Organización Mundial de la Salud), la cual los divide en cuatro sistemas, estos son por el mecanismo fisiopatológico del dolor, por su duración, su etiología y por su localización^{10,11}, la importancia de tener una clasificación del dolor radica en que a partir del tipo de dolor se pueda identificar el tratamiento farmacológico más adecuado. A continuación, se explican distintos tipos de clasificación del dolor.

1.3.1. Clasificación por la duración del dolor

Por su duración, el dolor se puede dividir en agudo o en crónico. Para que el dolor se considere como agudo debe durar menos de treinta días, cuando el dolor dura más de tres meses se considera crónico¹¹.

El dolor agudo se considera un síntoma y es un signo de alerta, también existe una correlación entre la intensidad del dolor y la patología que lo desencadena, este tipo de dolor disminuye progresivamente hasta desaparecer mientras se produce la curación de la lesión, una terapia inadecuada en algunos pacientes provoca que un dolor agudo se convierta en dolor persistente y que a su vez se transforme en crónico².

El dolor en su forma crónica no tiene una función biológica y persiste más allá del tiempo normal de curación¹². El dolor crónico es secundario a cambios fisiopatológicos que se producen en el sistema nociceptivo y a diferencia del dolor agudo que se puede considerar un signo de la enfermedad, el dolor crónico en sí mismo constituye la enfermedad⁹. En la Tabla 1 se describen las diferencias entre dolor agudo y crónico.

Tabla 1. Diferencias entre dolor agudo y crónico (Fernández, 2016)⁹.

Diferencia entre dolor agudo y crónico		
Dolor	Agudo	Crónico
	Síntoma	Enfermedad
Intensidad	Proporcional	No proporcional
Evolución	Transitoria	Permanente/recurrente
Función biológica	Si	No
Se asocia con	Ansiedad	Depresión
Respuesta al tratamiento	Buena	Irregular

1.3.2. Clasificación por su intensidad

El dolor se considera leve cuando la persona aún puede realizar sus distintas actividades habituales, es moderado si interfiere con las actividades habituales y por último el dolor es severo si interfiere con el descanso de la persona¹³.

En la clasificación del dolor por su intensidad hay que considerar la información que pueda proporcionar el paciente acerca de su dolor, pero como la experiencia dolorosa en el paciente es subjetiva, es necesario usar escalas de medición, una de ellas es la Escala Visual Analógica (EVA) en la cual se utiliza una línea horizontal de 100 mm colocando en la línea el indicativo de “nada de dolor” (valor de cero) y terminando con el “peor dolor imaginable” (valor de diez), utilizando la escala anteriormente mencionada se puede conocer la intensidad del dolor a través de cuestionar al paciente⁹.

1.3.3. Por la región afectada o su localización

Esta clasificación para el dolor no menciona aspectos etiológicos ni fisiopatológicos y solo se define por la parte afectada, ejemplo dolor torácico, dolor de cabeza, etc¹⁰.

1.3.4. Por su etiología

La división tiene su base en si es maligno o no lo es. Dentro de la clasificación como maligno se encuentra el dolor oncológico, esta división es importante ya que este tipo de dolor es complejo porque cambia con el tiempo y es el resultado de distintos mecanismos fisiopatológicos del dolor ya que pasa por procesos inflamatorios, neuropáticos e isquémicos. Por otra parte, dentro de la clasificación por su etiología se consideran como benignos todos los dolores que no son secundarios a un proceso oncológico⁹.

1.3.5. Clasificación fisiopatológica

Dentro de esta categoría se encuentran dos grandes tipos de dolor: el nociceptivo y el neuropático, sin embargo, hay que destacar que también se encuentra el dolor psicógeno, en el cual interviene el ambiente psico-social que rodea al individuo¹³ y a diferencia de los dos primeros, en este último, el dolor no puede ser atribuido a una causa orgánica en el paciente⁹.

El dolor nociceptivo surge cuando un estímulo externo es capaz de activar a los nociceptores, dichos estímulos pueden ser químicos o físicos (calor, frío, vibración o estiramientos), así como sustancias químicas que son liberadas por los tejidos en respuesta a la falta de oxígeno, la destrucción de tejidos o la inflamación. Por lo tanto, el dolor nociceptivo permitirá alertar de estímulos nocivos externos o internos y este dolor se mantendrá solo en presencia de dichos estímulos nocivos^{11,14}.

El dolor nociceptivo a su vez se puede dividir en dos tipos:

Dolor somático: este es un dolor localizado, causado cuando los nociceptores que se encuentran en los tejidos superficiales o profundos son activados. Ejemplo: un corte en la piel produce un dolor somático superficial, mientras que los calambres musculares producen un dolor somático profundo¹¹.

Dolor visceral: este es un dolor no localizado, se produce cuando se activan los nociceptores localizados en las vísceras (como los órganos torácicos y abdominales)¹¹.

Por último, dentro de esta clasificación se encuentra el dolor neuropático, brevemente se puede mencionar que este es un dolor causado por una lesión o enfermedad que afecta al sistema somatosensorial¹⁵, el tema de dolor neuropático se abarcará en el siguiente apartado.

1.4.DOLOR NEUROPÁTICO

La definición más reciente y aceptada de dolor neuropático es la indicada por la IASP en 2011, de esta forma el dolor neuropático es aquel que es causado por una lesión o enfermedad que afecta el sistema somatosensorial¹⁵.

El dolor neuropático es un tipo de dolor crónico ya que cumple con el tiempo necesario para que entre dentro de esta clasificación, de igual forma, este dolor es causado por diferentes enfermedades y lesiones, las cuales provocan una serie de signos y síntomas en el paciente, muchos de los mecanismos por los cuales se produce el dolor neuropático son conocidos y otros no lo son¹⁵. Clínicamente el dolor neuropático se caracteriza porque el paciente presenta alodinia e hiperalgesia, la primera consiste en una respuesta dolorosa a estímulos que normalmente son inocuos y la segunda, es una respuesta dolorosa exagerada a un estímulo medianamente nocivo¹⁶.

Aunque el paciente presente alodinia e hiperalgesia no se puede indicar que tiene dolor neuropático, ya que este tipo de dolor debe estar asociado a una patología que provoque un daño en el sistema somatosensorial⁹. Dentro de las causas del dolor neuropático se encuentra la neuropatía diabética, la neuralgia posherpética, la neuropatía relacionada al VIH (virus de la inmunodeficiencia humana), la lesión por cordón espinal, la neuralgia del trigémino y el dolor post-quirúrgico^{17,18}.

1.4.1. Epidemiología del dolor neuropático

El dolor neuropático afecta del 2 al 3 % de la población mundial¹⁹, en el caso de América latina se estima que el 2 % de la población se ve afectada por este tipo de dolor. También es importante destacar que este tipo de dolor se presenta con mayor frecuencia en mujeres (8 %) que en hombres (5.7 %), siendo la población de más de 50 años la más afectada (8.9 % contra 5.6 % en menores de 49 años)²⁰.

Estimar la incidencia y la prevalencia del dolor neuropático para grandes encuestas epidemiológicas es difícil por la falta de criterios de diagnóstico que sean simples²¹. En el caso de México, no hay reportes epidemiológicos sobre la incidencia y la prevalencia del dolor neuropático, sin embargo, Guevara-López y cols. en el 2006 realizaron un cálculo contemplando a la población del año 2000 y consideraron las enfermedades relacionadas con el dolor neuropático, de esta forma con base en la prevalencia de la diabetes mellitus en la población mexicana estimaron que entre 800,000 y 1,920,000 desarrollarían dolor por neuropatía diabética²², la importancia de contemplar a la neuropatía diabética es debido a que los pacientes con la diabetes tienen un 50% de probabilidad de padecer este tipo de dolor²³. La incidencia del dolor neuropático con otras enfermedades es menor a la relacionada con diabetes, pero aun así es importante considerarlo, por ejemplo Guevara-López y cols. estimaron que entre 14,550 y 29,100 de mexicanos podrían desarrollar neuralgia posherpética en un año²².

1.4.2. Clasificación del dolor neuropático

El dolor neuropático se puede dividir en central y en periférico. El dolor neuropático central es ocasionado por enfermedades neurodegenerativas a nivel cerebral que tengan como consecuencia que la persona presente este tipo de dolor, una de las patologías que se ha asociado con este dolor es el mal de Parkinson²⁴, también el dolor neuropático central es originado por daños en la médula espinal o enfermedades que afecten la médula espinal como la esclerosis múltiple²⁵.

Por otro lado, el dolor neuropático periférico es considerado como el más común dentro de la población mundial²¹, este tipo de dolor es ocasionado por patologías que afectan a las fibras sensoriales periféricas tanto a las A β que son fibras no nociceptivas como a las fibras A δ y fibras C que son fibras nociceptivas²⁶.

También el dolor neuropático periférico se puede subdividir en aquellos que tienen una distribución generalizada en el cuerpo del paciente y aquellos que solo tienen una

distribución focal. Los casos de distribución generalizada más importantes en la clínica son los que se asocian a desordenes metabólicos como la diabetes mellitus o las neuropatías por VIH²¹. Los trastornos dolorosos periféricos focales son causados por procesos patológicos que dañan uno o más nervios periféricos y se asocian con la neuralgia postherpética, la neuropatía posquirúrgica, la neuralgia trigeminal aunque también por la neuropatía diabética o la infección por VIH²⁷.

1.4.3. Mecanismos del dolor neuropático

El dolor neuropático se caracteriza por una lesión o enfermedad que afecta el sistema somatosensorial²⁶. Cuando los nervios sufren lesiones, se producen distintos cambios en la fisiología y en las funciones transcripcionales de las neuronas sensitivas, las alteraciones pueden ser provocadas por una señal positiva, esto ocurre cuando los macrófagos y células de Schwann liberan citocinas inflamatorias, también por otra parte están las señales negativas, esto ocurre por la pérdida de sustentación de los factores neurotróficos⁶.

El dolor neuropático se caracteriza por la aparición de un dolor espontáneo el cual es resultado de un potencial de acción ectópico, lo cual quiere decir que el nervio sin ser estimulado en la periferia presenta actividad tanto de fibras no nociceptivas como las nociceptivas (dolor espontáneo)¹⁴. Sin embargo, hay evidencia que la actividad ectópica en el dolor neuropático periférico es producto de un daño previo en los nervios periféricos, dicha actividad ectópica se puede generar en distintos sitios incluyendo el neuroma que es el sitio de la lesión ya sea en el axón o en el cuerpo celular de las neuronas periféricas que en este caso son los ganglios de la raíz dorsal (RGD), de igual forma una vez ocasionado el daño se puede generar la actividad ectópica en las neuronas aferentes vecinas que están intactas^{28,29}.

Una de las causas del dolor neuropático puede originarse por alteraciones en los canales iónicos, esto ocurre después de una lesión evidente en la neurona aferente primaria, los cambios en la respuesta de los canales se presenta en las fibras aferentes y por lo tanto, al afectar la respuesta periférica se ve alterada la señalización en la médula espinal y en la corteza sensorial²¹. Un ejemplo es cuando aumenta la expresión de los canales de sodio⁶ y también aumenta la expresión de la subunidad $\alpha_2\delta$ de los canales de calcio dependientes de voltaje en la neurona aferente primaria, esto provoca un aumento en la excitabilidad y un aumento en la liberación de neurotransmisores en la transmisión del dolor³⁰. También se pueden ver afectados los canales de potasio, si esto ocurre se evita la respuesta normal de hiperpolarización en la neurona aferente primaria provocando una hiperexcitabilidad en el circuito fisiológico del dolor^{21,31}.

Con el dolor neuropático es importante mencionar que surgen distintos cambios estructurales a nivel periférico, como ya se dijo anteriormente estos son ocasionados principalmente por factores positivos y negativos⁶, dentro de este contexto hay que resaltar que las fibras no nociceptivas como las $A\beta$ normalmente proyectan sus terminales hacia las láminas III-V de la médula espinal, mientras que las fibras $A\delta$ y las C lo hacen principalmente en las láminas I y II³². Sin embargo, cuando ocurre daño en los nervios y se elimina la sustentación trófica periférica las fibras C se pierden⁶, aunque se podría pensar que esto ayuda a disminuir la percepción dolorosa, en realidad esta percepción cambia produciendo alodinia, se ha observado que después del daño al nervio las fibras $A\beta$ proyectan hacia vías nociceptivas en las láminas de la médula espinal como serían la I y la II¹⁴.

Ahora bien, cuando hay una estimulación continua de la neurona primaria se liberan distintos aminoácidos excitadores y neuropéptidos, lo cual lleva a cambios postsinápticos en las neuronas nociceptivas de segundo orden, uno de los cambios que se producen es la fosforilación de los receptores de glutamato NMDA (N-metil-D-aspartato), el que estén fosforilados dichos receptores provoca que permanezcan abiertos más tiempo, permitiendo la hiperexcitabilidad de la neurona de segundo orden y en este momento es cuando ocurre una sensibilización a nivel central^{33,34}.

De los cambios a nivel central es importante considerar que pacientes con dolor neuropático presentan cambios en interneuronas inhibitorias y en la vía descendente de la modulación del dolor, este desbalance entre la vía descendente inhibitoria y la excitación en las neuronas de la vía ascendente, provoca que la excitación neuronal predomine¹⁴. Al afectar las vías descendentes se suspende la actividad noradrenérgica sobre los receptores $\alpha 2$ adrenérgicos³⁵, además después del daño en la neurona aferente primaria se reduce la expresión de receptores opioide tipo μ y las neuronas del asta dorsal de la medula espinal son menos sensibles a agonistas opioides³⁶, así mismo hay distintos mecanismos que contribuyen a la pérdida de la inhibición GABAérgica ya sea pre y postsináptico²¹.

1.4.4. Mecanismos de sensibilización al dolor

La sensibilización periférica y central son procesos neurofisiológicos que pueden prolongar las condiciones dolorosas³⁷. El dolor neuropático depende en su mayoría de procesos que provocan y mantienen los mecanismos de sensibilización, de ahí la importancia de conocer la manera en que se genera la sensibilización, la cual puede ser producida por distintos mecanismos moleculares y celulares provocando cambios que resultan en hiperalgesia o alodinia³⁸.

Los procesos de sensibilización tanto periféricos como centrales se caracterizan por tres fases:

Activación, esta es de carácter agudo, transitorio y depende del estímulo.

Modulación, aquí se manifiesta en primera instancia la sensibilización subaguda ya sea a nivel periférica o central, se caracteriza por la aparición de cambios sensoriales o motores, todos los cuales pueden revertirse.

Modificación, en esta fase hay una regulación alterada de genes y muerte celular, de tal forma que los procesos de sensibilización en este punto ya son permanentes^{39,40}.

Continuando con esto hay que describir que ocurre en la sensibilización periférica, primero hay que considerar que los nociceptores son de alto umbral ya que solo responden a estímulos nocivos, cuando son activados en condiciones normales se produce el dolor nociceptivo, sin embargo, cuando ocurre un daño en el nervio periférico producto de la inflamación o por la lesión del sistema nervioso como ocurre en el dolor neuropático comienza la aparición del dolor persistente, que se caracteriza por dolor espontáneo, hiperalgesia y alodinia⁴¹. Por lo tanto, hay distintos estímulos a nivel periférico que pueden inducir a las neuronas aferentes primarias a reducir sus umbrales de activación y aumentar su reactividad⁶, pasando del dolor nociceptivo al dolor persistente.

A nivel periférico, el principal factor para producir sensibilización son los “agentes sensibilizantes” las cuales son sustancias químicas endógenas, dentro de las cuales se incluyen mediadores de la inflamación como son prostaglandinas (PGE₂), serotonina, bradicinina, epinefrina, adenosina y también por otro lado, los factores neurotróficos (como el factor de crecimiento nervioso (NGF) y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF))^{42,43}. Cuando estos “agentes sensibilizantes” se liberan a consecuencia de un daño en el tejido, da inicio a lo que se conoce como mecanismos de modulación, el desarrollo de estos mecanismos consiste principalmente en la fosforilación, por ejemplo de algunos receptores, de los canales iónicos o de las proteínas reguladoras, el producto de esta fosforilación lleva a que la función intrínseca de cada uno de ellos se altere, provocando un incremento de la excitabilidad de las fibras nociceptivas³⁹.

Describiendo un poco más el punto anterior, los agentes sensibilizantes actúan sobre receptores acoplados a proteína G y receptores tirosincinasa, al activar dichos receptores de membrana se producirá la activación de cinasas como PKA y PKC^{44,45} (Figura 4). Los canales de sodio dependientes de voltaje Nav1.8 que se encuentran localizados en las fibras de tamaño pequeño como lo son las fibras tipo C son fosforilados por PKA, cuando los canales de sodio son fosforilados se altera su umbral de activación así como el proceso de activación/inactivación, llevando a un aumentando de las corrientes despolarizantes de sodio⁴⁶. Por su parte, la activación de

PKC favorece la sensibilización principalmente por su actividad sobre los receptores TRPV1 y esto provoca hiperalgesia por estímulos térmicos⁴⁷.

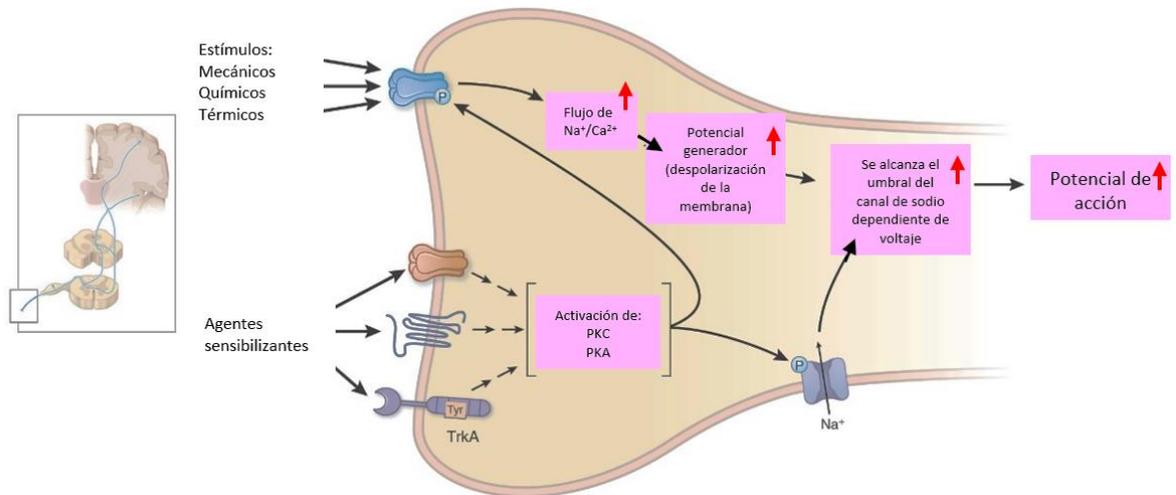


Figura 4. Sensibilización periférica.

Los agentes sensibilizantes liberados en el sistema periférico activan la transducción de señales permitiendo la respuesta de la proteína cinasa C (PKC) o de la proteína cinasa A, que a su vez pueden aumentar la sensibilización de las terminales nerviosas periféricas fosforilando a los canales de sodio o a los nociceptores. (Imagen modificada de Griffin y Woolf 2012)⁶.

Por otro lado, cuando ocurren procesos de modificación en la sensibilización periférica, distintos procesos se pueden ver alterados dentro de los cuales están la transcripción, la traducción y la regulación post traduccional⁴¹. Un ejemplo de ello es cuando la presencia del NGF actúa sobre p38, proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) en la raíz del ganglio dorsal (RGD), esto incrementa la traducción y el transporte de los canales TRPV1 en las fibras nociceptivas⁴⁸.

La sensibilización central ocurre en la médula espinal cuando el estímulo es prolongado y/o particularmente intenso⁴³. Si la sensibilización central es producto de la actividad inicial en la periferia se conoce como “dependiente de la actividad”. Dentro de la sensibilización central se produce la activación múltiple de distintas vías de señalización a consecuencia de los distintos neurotransmisores liberados en la médula

espinal, dentro de estos neurotransmisores se encuentran el glutamato y neuromoduladores como la sustancia P o el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)⁴¹.

La transmisión sináptica excitatoria rápida en las vías del dolor (en la vía central) da inicio cuando el glutamato actúa sobre los canales iónicos AMPA (α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico), este proceso permite una entrada rápida de iones sodio^{6,49}. La continua liberación de glutamato proporciona una despolarización acumulativa en la neurona de segundo orden, generando que la actividad excitadora se refuerce al remover el ion magnesio de los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato), esto permite que los canales NMDA se abran provocando la entrada de iones calcio y de sodio^{6,50}. Las entradas de frecuencia más altas generadas por estímulos nocivos intensos o sostenidos sobre las neuronas de primer orden dan lugar a la co-liberación de neuromoduladores como la sustancia P o el BDNF⁵¹. La liberación de todos estos neurotransmisores y su actividad sobre los receptores metabotrópicos provocarán un incremento en la eficiencia de la sinapsis, la cual se ve favorecida por las alteraciones en la actividad de los canales iónicos y/o receptores, producto de vías de señalización que favorecen los procesos de transcripción y el tráfico de los receptores hacia la membrana (Figura 5)⁴¹.

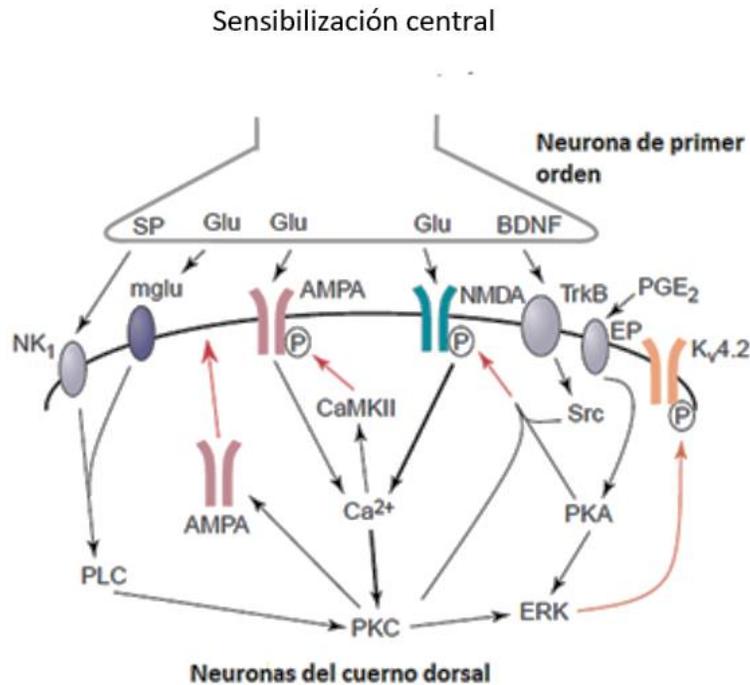


Figura 5. Sensibilización central.

se aumenta la presencia de neurotransmisores como glutamato (Glu), sustancia P (SP) y del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). El glutamato se une a los receptores ionotrópicos AMPA y NMDA o a los receptores metabotrópicos (mglu); la SP y BDNF se unen al receptor a neurocinina (NK1) y receptores tirocin cinasa (TrkB) respectivamente. El incremento del calcio intracelular permite la activación de la proteína cinasa calcio calmodulina (CaMKII) o de la proteína cinasa PKA y PKC. Las proteínas cinasas continúan la vía de señalización activando la cinasa regulada por señales extracelulares (ERK), esta última podrá fosforilar canales de potasio ($K_v4.2$) (imagen modificada de Ji y cols., 2003)⁴¹.

1.5.TERAPEÚTICA DEL DOLOR

1.5.1. Escala analgésica de la OMS

En 1986, la OMS publicó la guía “Alivio del dolor en el cáncer”, la importancia de dicha publicación es que a través de un grupo de expertos se propuso el uso de la escala analgésica (Figura 6) para indicar el tipo de tratamiento farmacológico a emplear en el dolor⁵². Los fármacos indicados en dicho esquema están determinados por la intensidad del dolor, siguiendo los peldaños en el tiempo de una forma progresiva y por tanto escalonada⁵³.



Figura 6. Escalera analgésica de la OMS.

En cada escalón se indica la intensidad del dolor y el tratamiento farmacológico a utilizar.

1.5.2. Analgésicos no opioides

Dentro de esta clasificación se encuentran los fármacos conocidos como analgésico antiinflamatorios no esteroideos (AINES), estos fármacos se usan como tratamiento de primera línea para el dolor que va de leve a moderado⁵⁴.

Los AINES tienen estructuras químicas heterogéneas y se agrupan en esta categoría por su efecto terapéutico al tener actividad antipirética, antiinflamatoria y analgésica, ejemplos de estos fármacos son el ácido acetil salicílico, diclofenaco, ketorolaco y el paracetamol, aunque en el caso de este último el paracetamol no presenta actividad antiinflamatoria como el resto. Los efectos terapéuticos producidos por estos fármacos se explican por su mecanismo de acción que consiste en la supresión de la síntesis de prostaglandinas proinflamatorias por inhibición de las enzimas ciclooxigenasas 1 y 2 (COX-1 y COX-2)⁵⁵.

El uso de los AINES puede ocasionar distintos efectos adversos, dentro de los cuales se encuentran problemas gastrointestinales al generar úlceras, también aumentan el riesgo de problemas cardiovasculares y toxicidad renal^{54,56}.

1.5.3. Analgésicos opioides

El termino opioide se aplica a toda sustancia, tanto endógena como sintética que tiene la capacidad de producir efectos similares a los de la morfina, actuando como agonista de los receptores opioides (mu, kappa y delta) y que su actividad sea bloqueada por antagonistas como la naloxona^{57,58}.

Los receptores mu, delta y kappa se encuentran distribuidos en el sistema nervioso central (SNC) y en el sistema nervioso periférico (SNP) encontrándose en estrecha relación con las vías sensoriales que conducen la información nociceptiva⁵⁸. Así mismo, estos receptores están acoplados a proteínas G (GPCR), la proteína G acoplada es Gi/Go, cuando los agonistas favorecen la conformación activa de estos receptores ocurren distintos eventos intracelulares como la reducción de la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje y la estimulación de la apertura de canales de potasio, dichos eventos a nivel fisiológico ayudan a disminuir la percepción dolorosa⁵⁹.

La clasificación que describe a los analgésicos opioides como débiles o potentes, depende de su potencia a las mismas dosis⁵⁸. Los opioides débiles (por ejemplo, codeína y tramadol) se usan cuando el dolor es moderado, porque tienen una dosis máxima recomendada después de la cual los efectos adversos superan el efecto analgésico. Si el dolor es sensible a los opioides, se puede lograr un mayor efecto aumentando la dosis, los opioides fuertes (por ejemplo, morfina, oxicodona, hidromorfona, fentanil y metadona) se diferencian de los opioides débiles por tener un intervalo de dosis mucho más amplio⁶⁰. Para los opioides los efectos adversos más problemáticos son el estreñimiento y la depresión respiratoria⁵⁷.

1.5.4. Fármacos coanalgésicos y coadyuvantes

Se hace uso del término coanalgésico cuando el fármaco es una sustancia con acción analgésica demostrada, pero su indicación hacia el paciente no es para tratar el dolor sino otro síntoma que acompaña al dolor, un ejemplo son los antidepresivos, los cuales si solo son indicados para tratar la depresión y no el dolor solo se consideran como coanalgésicos. El otro caso son los fármacos coadyuvantes, estos son principios activos sin propiedades analgésicas propias, pero susceptibles de modificar la percepción del dolor, ejemplo de ello son los ansiolíticos y los relajantes musculares⁶¹.

1.5.5. Tratamiento del dolor neuropático

El concepto de la escalera analgésica no se adapta a algunos tipos de dolor, como ocurre con el dolor postoperatorio y algunos cuadros de dolor agudo, que son tratados inicialmente con opiáceos y posteriormente con analgésicos menos potentes⁶². También la escala analgésica de la OMS no puede ser utilizada para el dolor neuropático ya que el algoritmo de tratamiento es completamente diferente, y los opioides deben considerarse como adyuvantes y no como los medicamentos principales para tratar dicho dolor⁶³.

1.5.6. Tratamientos de primera línea para el dolor neuropático

Los antidepresivos y los antiepilépticos han sido los fármacos más estudiados en el dolor neuropático²¹, al ser neuromoduladores tienen la capacidad de actuar a nivel central permitiendo normalizar la actividad neuronal, por todo esto, actualmente se consideran como el grupo de fármacos de primera línea para tratar el dolor neuropático⁶⁴. Clínicamente, el uso de antidepresivos tricíclicos (ATC) como amitriptilina han mostrado aliviar el dolor neuropático, reduciendo el dolor en un 30 % comparado con el placebo⁶⁵.

El mecanismo de acción de estos fármacos consiste en inhibir la recaptura de serotonina y noradrenalina⁶⁶. La actividad de las monoaminas en la vía descendente favorece la disminución en la percepción nociceptiva⁶⁷, en el caso de la serotonina activa receptores 5-HT1-A postsinápticos inhibiendo la excitabilidad de las neuronas espinotalámicas y las interneuronas excitatorias, por su parte, la noradrenalina inhibe la transmisión nociceptiva en el asta dorsal activando los receptores alfa-2 presinápticos, en las terminales nociceptivas^{68,69}.

Otro antidepresivo ampliamente utilizado es la duloxetina, se clasifica como un inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina y noradrenalina (ISRSN), tiene la ventaja de tener una menor afinidad por otros receptores como pueden ser los de acetilcolina o histamina, esta cualidad proporciona una mayor seguridad ante los antidepresivos ATC^{68,70}.

Otros fármacos a considerar son los anticonvulsivos como la gabapentina o la pregabalina, los cuales se encuentran indicados en las guías de práctica clínica (GPC) del Sistema de Salud Pública en México como tratamientos de primera línea para tratar el dolor neuropático¹⁸. En estudios clínicos la gabapentina ha mostrado reducir el dolor neuropático en un 50% con respecto al placebo⁶⁵, otra ventaja que hace destacar a la gabapentina como tratamiento de primera línea es que logra reducir el dolor de sensibilización post operatorio frente a otros analgésicos como el naproxeno⁷¹. En otro apartado se hablará más acerca de la gabapentina.

1.5.7. Tratamientos de segunda línea para el dolor neuropático

Dentro de este grupo se encuentran principalmente los tratamientos de acción tópica como pomadas que contienen lidocaína al 5% o parches con capsaicina al 8%⁷², los dos tratamientos han mostrado tener un efecto terapéutico modesto con respecto al placebo^{73,74}.

En el caso de la lidocaína, su efecto para disminuir el dolor neuropático lo logra bloqueando canales de sodio, con lo cual se bloquea la conducción en la fisiología del dolor⁷⁵. Por su parte, la capsaicina es un agonista de los canales TRPV1⁷⁶, la continua actividad de la capsaicina sobre estos receptores provoca distintos procesos celulares que llevan a la desfuncionalización de las terminaciones nerviosas⁷⁷, también se ha observado que el uso repetido de capsaicina provoca una disminución en los neuropéptidos como la sustancia P, mediante estos mecanismos es como se considera que la capsaicina logra su efecto analgésico en el tratamiento del dolor neuropático⁷⁸.

1.5.8. Tratamientos de tercera línea para el dolor neuropático

Dentro de este grupo se considera el uso de los opioides²¹ y también el uso de otras alternativas como la toxina botulínica tipo A, la cual es una potente neurotoxina que es usada comúnmente para la hiperactividad del músculo focal, sin embargo a últimas fechas se ha observado su uso benéfico en el tratamiento del dolor neuropático periférico⁷⁹. En la Tabla 2 se resumen cada uno de los fármacos empleados para tratar el dolor neuropático indicando su mecanismo de acción y sus efectos adversos.

Tabla 2. Farmacoterapia disponible para el dolor neuropático (modificada de Colloca y cols., 2017)²¹

Fármaco	Mecanismo de acción	Efectos adversos
Antidepresivos tricíclicos		
Nortriptilina Desipramina Amitriptilina Clomipramina Imipramina	Inhibición de la recaptación de monoaminas, bloqueo de los canales de sodio y efectos anticolinérgicos	Somnolencia, efectos anticolinérgicos y aumento de peso
Inhibidores de la recaptación de serotonina-noradrenalina		
Duloxetina	Inhibición de la recaptura de serotonina y noradrenalina	Náusea, dolor abdominal y estreñimiento
Venlafexina	Inhibición de la recaptura de serotonina y noradrenalina	Náuseas e hipertensión en dosis altas
Los ligandos $\alpha_2\delta$ del canal de calcio		
Gabapentina Pregabalina	Actúa sobre la subunidad $\alpha_2\delta$ de los canales de calcio dependiente de voltaje, disminuyen la sensibilización central	Sedación, mareos, edema periférico y aumento de peso
Lidocaína tópica		
Lidocaína al 5%	Bloqueo de los canales de sodio	Eritema local, picazón y erupción cutánea
Parche con alta concentración de capsaicina (8%)	Agonista de los canales de potencial transitorio TRPV1	Dolor, eritema, picazón y casos raros de presión arterial alta (aumento inicial del dolor)
Opioides		
Tramadol	Agonista de los receptores μ , e inhibición de la recaptura de monoaminas	Náuseas, vómitos, estreñimiento, mareos y somnolencia
Morfina Oxicodona	Agonistas de los receptores μ .	Náuseas, vómitos, estreñimiento, mareos y somnolencia
Neurotoxina		
Toxina botulínica tipo A	Bloqueador neuromuscular, inhibidor de liberación de acetilcolina	Dolor en el área de la inyección

1.5.9. Gabapentina

Originalmente la gabapentina fue diseñada como un análogo estructural del neurotransmisor inhibidor ácido γ -aminobutírico (GABA) (Figura 7), con el propósito de ser un agonista de los receptores a GABA, en 1994 la gabapentina fue aprobada como antiepiléptico por la administración de drogas de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés)⁸⁰ y en 1995 fue reportado por primera vez su uso para aliviar el dolor⁸¹. Actualmente, se sabe que la gabapentina no se une a receptores GABA_A ni GABA_B⁸², por lo tanto, su actividad como inhibidor de la excitabilidad neuronal no es por estos mecanismos.

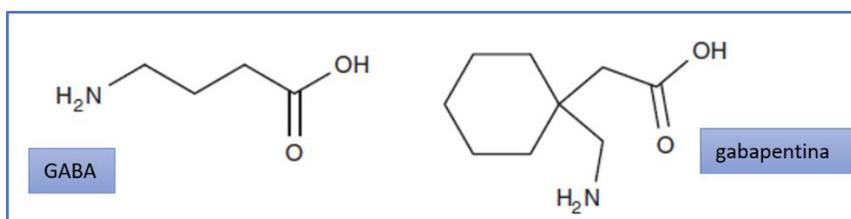


Figura 7. Estructura química del ácido γ -aminobutírico (GABA) y estructura química de la gabapentina.

Anteriormente, en este texto se mencionaba que la gabapentina es utilizada como tratamiento de primera línea para el dolor neuropático, como se indica en la GPC del sistema de salud en México⁸³, esto se fundamenta en la eficacia que tiene la gabapentina en las distintas formas del dolor neuropático, recientemente se sabe que la gabapentina mostró tener un 50% del alivio del dolor con respecto al placebo en la neuropatía post herpética, la neuropatía diabética, el dolor por lesión nerviosa y el dolor neuropático mixto⁸⁴.

1.5.9.1. Mecanismo de acción

Para entender el mecanismo de acción de la gabapentina primero hay que saber que los canales de calcio dependientes de voltaje están conformados por al menos tres subunidades: α_1 , β y $\alpha_2\delta$ (Figura 8)⁸⁵, el aumento en la expresión de la subunidad β resulta en un aumento de la amplitud de la corriente de calcio y cambia las propiedades biofísicas de la subunidad α_1 la cual conforma el poro del canal⁸⁶, por otro lado la subunidad $\alpha_2\delta$ estabiliza los canales de calcio en la membrana celular ya que la ausencia de esta subunidad favorece la internalización y la degradación de los complejos que forman el canal de calcio⁸⁷.

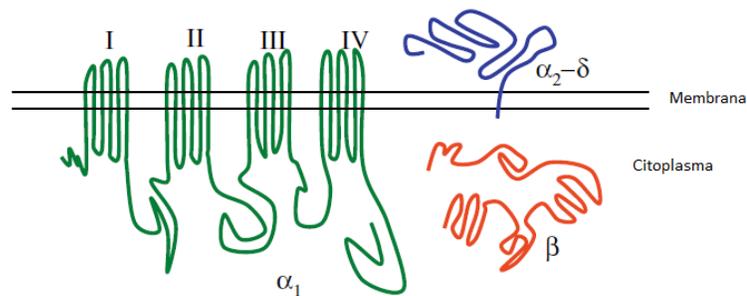


Figura 8. Subunidades de los canales de calcio dependientes de voltaje.

Los canales de calcio controlados por voltaje contienen una subunidad α_1 transmembranal conductora de iones, una subunidad β que es auxiliar y otra subunidad $\alpha_2\delta$ que también es auxiliar, cada una es codificada por genes separados, las subunidades α_1 y $\alpha_2\delta$ son transmembranales pero la subunidad β solo es citosólica, en el caso de la α_1 esta cuenta con cuatro dominios transmembranales (I-IV). (modificada de Taylor, 2009)⁸⁸.

Actualmente se sabe que la gabapentina se une con alta afinidad a la subunidad $\alpha_2\delta$ de los canales de calcio dependientes de voltaje⁸⁹, con respecto a la $\alpha_2\delta$ se conocen tres subfamilias y la gabapentina tiene mayor afinidad por $\alpha_2\delta-1$ ($K_d = 59$ nmol/L) comparado con la subunidad $\alpha_2\delta-2$ ($k_d = 153$ nmol/L) mientras que la subunidad $\alpha_2\delta-3$ no tiene afinidad. Ahora bien, dentro de la médula espinal la subunidad $\alpha_2\delta-1$ se expresa predominantemente en la parte presináptica de las neuronas del cuerno dorsal⁹⁰ y las subunidades $\alpha_2\delta$ son críticas en el tráfico de los canales de calcio a zonas activas de la sinapsis para controlar el flujo del calcio y la liberación del neurotransmisor

subsiguiente (Figura 9), por lo tanto, la gabapentina al interrumpir dichas funciones de la subunidad $\alpha 2\delta$ ayuda a interrumpir la transmisión de la vía nociceptiva⁹¹.

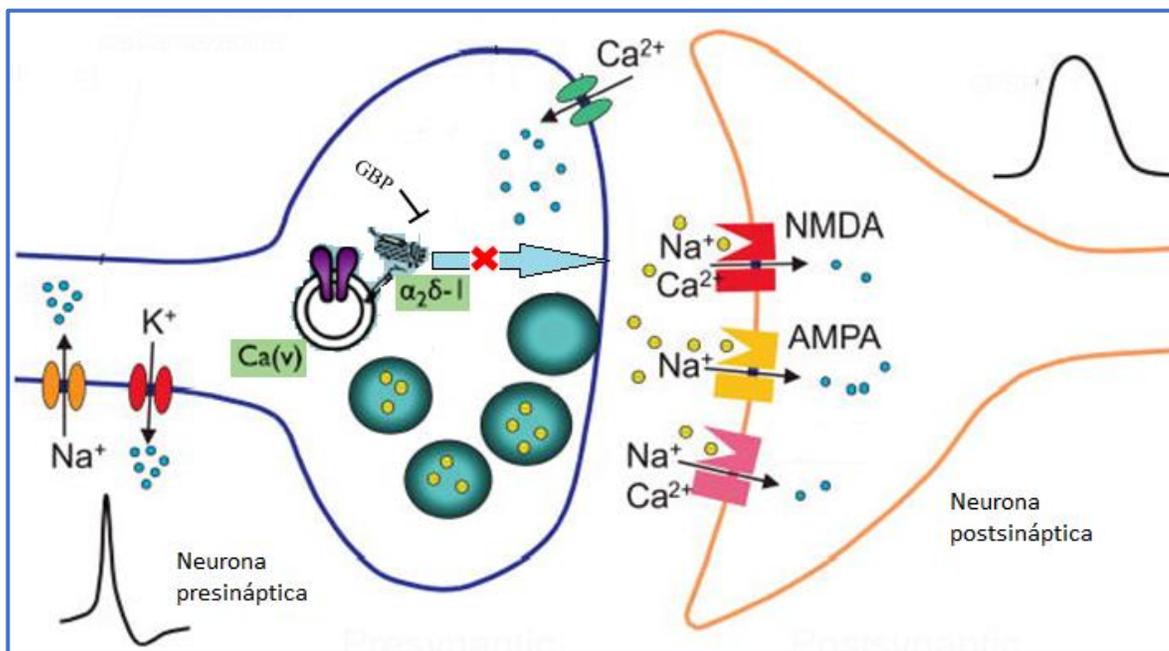


Figura 9. Mecanismo de acción de la gabapentina.

La gabapentina (GBP) se une a la subunidad $\alpha 2\delta$ de los canales de calcio dependientes de voltaje ($Ca_{(v)}$), por lo tanto, se interrumpe el traslado de los canales de calcio hacia la membrana de la neurona presináptica, el flujo de iones calcio (Ca^{2+}) hacia la neurona presináptica disminuye, las vesículas con neurotransmisores no se pueden liberar y en el espacio sináptico los neurotransmisores excitadores se ven mermados, provocando una menor actividad de los receptores AMPA y NMDA. Todos estos eventos ayudan a disminuir la transmisión en la vía nociceptiva (imagen modificada de Rogaswski y Taylor 2006)⁹².

1.5.9.2. Farmacocinética de la gabapentina

Por vía oral, la gabapentina se absorbe en el intestino delgado y requiere de un transportador de aminoácidos para atravesar el enterocito, este transportador también es el encargado de pasar a la gabapentina a través de la barrera hematoencefálica así como otros aminoácidos como la L-leucina, L-isoleucina, L-valina y L-fenilalanina⁹³, la gabapentina tiene una cinética prácticamente lineal hasta la dosis de 1800 mg por día, después de dicha dosis la concentración en sangre de gabapentina no es

proporcional a la dosis administrada, este hecho implica la necesidad de incrementar la dosis por vía oral⁹⁴.

La gabapentina tiene una unión baja a proteínas, no se metaboliza significativamente por vía hepática y se elimina principalmente sin cambios por vía renal, en humanos una dosis de 900 mg alcanza su C_{max} en 4.5 h y tiene una vida media de 6.6 h⁹⁵.

1.5.9.3. Efectos adversos de la gabapentina

La gabapentina es eficaz para aliviar el dolor neuropático y distintos procesos nociceptivos de sensibilización, por lo tanto, se considera un tratamiento de primera línea para el dolor neuropático de diversos orígenes, sin embargo, también es un fármaco usado como antiepiléptico y a dosis altas tiene una serie de efectos secundarios⁹⁶. El intervalo terapéutico de la gabapentina para el dolor neuropático se encuentra entre 1800 – 3600 mg por día⁹⁷, pero en algunos casos se llega a utilizar más de 4800 mg por día⁹⁴.

Los eventos adversos más comunes provocados por la gabapentina son mareos (23.9 %), somnolencia (27.4 %), ataxia (7.1 %), edema periférico (9.7 %) y confusión⁹⁸. En estudios clínicos se ha observado un aumento en la incidencia del edema periférico cuando se dan dosis solo por encima de los 1800 mg por día⁹⁹, al presentarse este efecto adverso dentro de las dosis recomendadas de gabapentina, la asociación del corazón de Nueva York alertó del uso de gabapentina en pacientes con insuficiencia cardíaca grado III-IV, ya que puede estar afectando los canales de calcio a nivel cardíaco¹⁰⁰. Otro punto importante a considerar es que la gabapentina no se metaboliza en el hígado y se excreta principalmente a través del riñón, en pacientes con disfunción renal los niveles de gabapentina tienden a aumentar y producir efectos secundarios graves¹⁰¹.

1.6. ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES

En 1932 el trabajo dirigido por Miller demostró que los ácidos grasos como el ácido linoleico (AL) y el ácido alfa linoléico (ALA) son esenciales para el crecimiento y desarrollo¹⁰². Estas sustancias de carácter lipofílico son conocidas como ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs por sus siglas en inglés), en su estructura tienen dieciocho átomos de carbono y distintos dobles enlaces, el AL tiene dos dobles enlaces contando a partir del átomo de carbono más alejado del grupo carboxilo (18:2 ω 6) mientras que el ALA tiene tres dobles enlaces (18:3 ω 3), las plantas tienen la maquinaria necesaria para colocar un doble enlace en el ácido oleico (18:1 ω 9) y transformarlo a AL y después a ALA, estos mecanismos no los pueden realizar los mamíferos, por lo tanto dichos ácidos grasos son esenciales para los mamíferos y los tienen que consumir en la dieta¹⁰³.

Una vez ingeridos, los ácidos grasos esenciales omega-6 (AL) y omega-3 (ALA) podrán ser metabolizados en el hígado en donde con ayuda de elongasas, desaturasas y beta oxidasas los ácidos grasos esenciales son transformados a distintas variantes de PUFAs^{104,105}. Cuando los omega-6 son metabolizados, estos se convierten en ácido araquidónico que es precursor de las prostaglandinas, por su parte cuando los ácidos grasos omega-3 son metabolizados se convierten primero en ácido eicosapentaenoico (EPA) y por último en ácido docosahexaenoico (DHA)^{106,107} (Figura 10).

A pesar de que los mamíferos pueden generar ácidos grasos como el EPA y el DHA a partir del ácido alfa linoleico, en realidad se genera muy poco de estos dos ácidos grasos, algunos autores indican que el paso se encuentra limitado desde un inicio por la Δ^6 Desaturasa, la cual no es tan eficiente¹⁰⁸, también otro punto importante a reconocer en este tema es que en las dietas occidentales el consumo de AL es de 5 a 20 veces mayor con respecto al consumo de ALA¹⁰⁹. Se estima que la conversión de ALA a EPA sólo es del 8 al 12 % y la del DHA es menor al 1%¹¹⁰, por lo tanto, el EPA como el DHA tienen que ser obtenidos principalmente a través de la dieta por el consumo de

pescados, ya que el aceite de pescado es rico en omega-3, con un 18 % de EPA y 12 % de DHA¹⁰⁷.

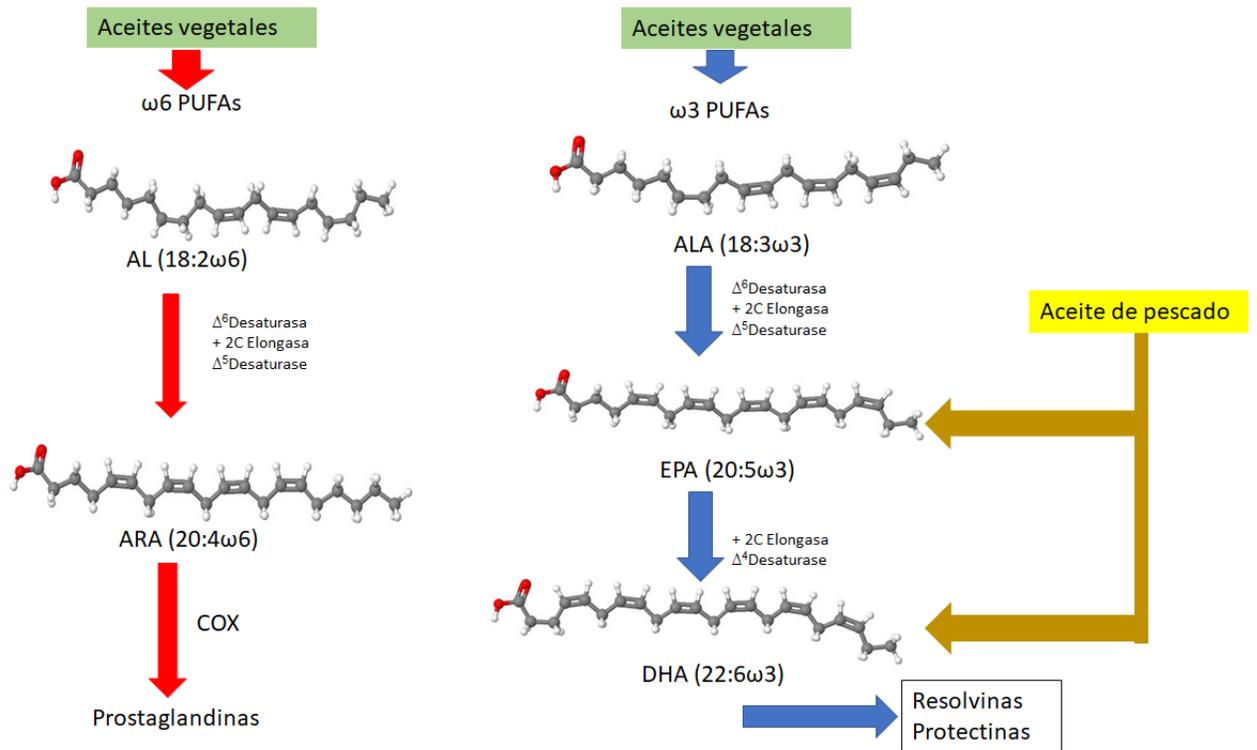


Figura 10. Metabolismo de los ácidos grasos esenciales en mamíferos.

El ácido linoleico (AL) es metabolizado por elongasas y desaturasas en ácido araquidónico (ARA), este último es metabolizado por la enzima ciclooxigenasa (COX) para formar distintas prostaglandinas, por su parte, el ácido alfa linoleico (ALA) es metabolizado por elongasas y desaturasas en ácido eicosapentaenoico (EPA) para después ser metabolizado en ácido docosahexaenoico (DHA).

1.6.1. Ácido docosahexaenoico (DHA)

El DHA pertenece a la familia de los ácidos grasos poliinsaturados, está formado por veintidós átomos de carbono y seis insaturaciones (Figura 11), la nomenclatura de omega-3 es porque se cuenta desde el último carbono (el más alejado del grupo carboxilo) hacia la izquierda donde se encuentra el doble enlace¹¹¹. Este ácido graso se obtiene principalmente a través de la dieta por el consumo de pescados de agua fría como el salmón, también se encuentra presente en algunos mariscos¹¹².

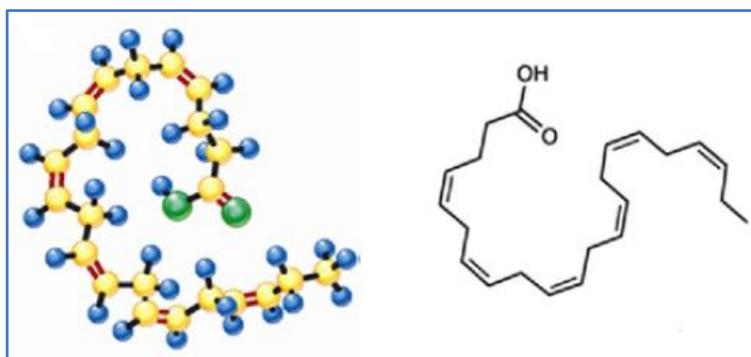


Figura 11. Estructura química del ácido docosahexaenoico (DHA).

En la figura de la izquierda se muestra su estructura espacial con un modelo de bolas y varillas del DHA, del lado derecho se muestra la estructura en dos dimensiones para el DHA. (modificada de Mozaffarian y Wu, 2011)¹¹².

Actualmente el DHA se ha vinculado con distintos efectos benéficos para la salud, por ejemplo, durante más de 35 años se han realizado numerosos estudios observacionales, epidemiológicos, experimentales y ensayos clínicos que han examinado y demostrado efectos cardioprotectores asociados con el uso del DHA¹¹³, además el DHA ha mostrado tener efecto gastroprotector¹¹⁴. Cuando el DHA se integra a los fosfolípidos de las membranas celulares se provoca una mayor fluidez de dichas membranas, con lo cual se interrumpe la formación de balsas lipídicas, esto permite regular procesos que favorecen vías antiinflamatorias¹¹⁵, de igual forma el DHA es un componente esencial de los fosfolípidos de la membrana neuronal¹¹⁶ y en este punto actúa como neuro protector¹¹⁷. Aunado a todos estos efectos, actualmente al DHA también se le ha descrito su efecto antinociceptivo en distintos modelos experimentales^{118,119}.

Algo importante con respecto al DHA es que en estudios toxicológicos con animales donde se ha administrado de manera crónica y por otro lado, en estudios con lactantes y adultos no se ha reportado la aparición de eventos adversos¹²⁰. Lo anterior es importante ya que el DHA se obtiene principalmente a través de la dieta por el consumo de pescados que contienen omega-3, cuando el DHA presente en el aceite de pescado llega al intestino se encuentra como triglicérido, las lipasas liberan al DHA y con ayuda de las sales biliares se forman micelas mixtas que son absorbidas por el enterocito mediante difusión pasiva, ya en el retículo endoplásmico del enterocito, el DHA libre es reesterificado para asociarse con apolipoproteínas y formar quilomicrones que son liberados desde los enterocitos hacia los vasos linfáticos, ya en la sangre, el DHA es llevado hacia los tejidos diana, como el músculo cardíaco, el sistema nervioso y la retina donde está integrado en los fosfolípidos de las membranas celulares de estos tejidos diana (Figura 12)¹²¹.

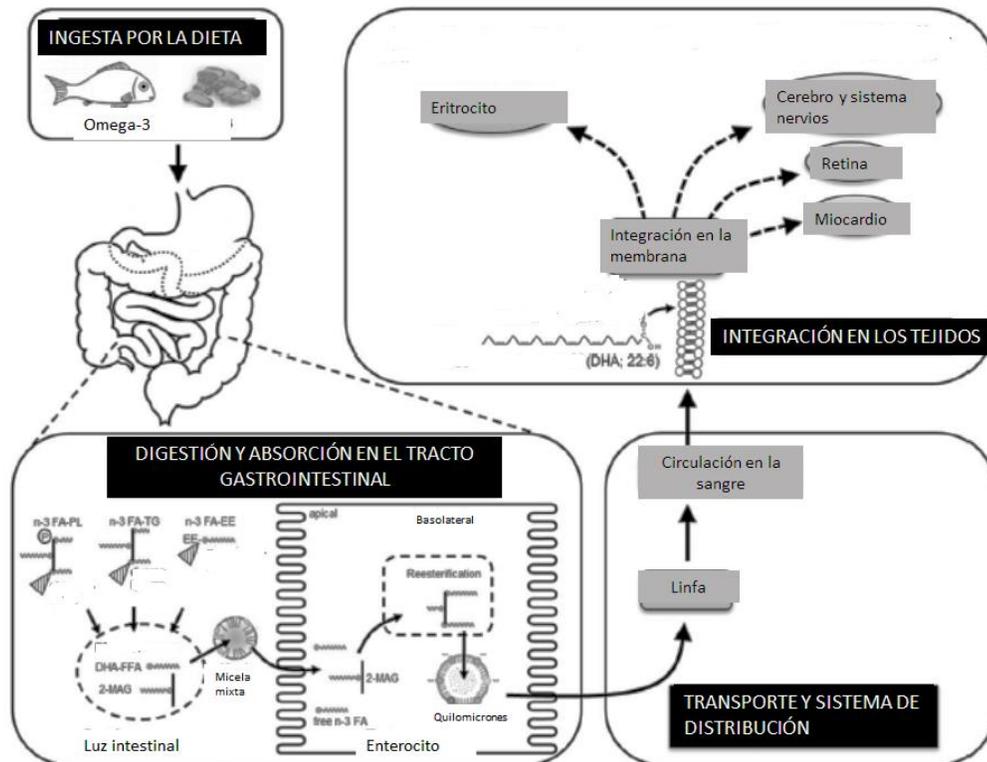


Figura 12. Ruta del DHA desde el aceite de pescado hacia los tejidos diana (imagen modificada de Schuchardt y Hahn, 2013)¹²¹.

1.7.INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS

Dentro de las interacciones farmacológicas se puede considerar que existen tres tipos diferentes, una de estas interacciones consiste en lo que se conoce como interacciones farmacéuticas las cuales se relacionan con la incompatibilidad química, física o fisicoquímica de los medicamentos o adyuvantes utilizados, esta interacción ocurre principalmente fuera del cuerpo y durante la administración concomitante a través de la misma ruta. El segundo tipo de interacción es de tipo farmacocinético y ocurre cuando la presencia de un fármaco en el organismo altera la absorción, distribución, metabolismo o excreción de otro fármaco que es administrado de manera concomitante, por último tenemos las interacciones de tipo farmacodinámicas que ocurren entre fármacos con efectos farmacológicos que son similares u opuestos, dentro de dichos mecanismos subyacentes se incluyen la competencia en los sitios de acción moleculares o celulares^{122,123}.

La combinación de fármacos es de utilidad para tratar distintos padecimientos como la hipertensión, cáncer, SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida)^{124,125} y hay que recordar que la percepción del dolor puede ser afectada en distintos puntos dentro de la vía nociceptiva, por lo tanto, en la terapia del dolor es recomendable la combinación de analgésicos como lo indica la OMS¹²⁶.

1.7.1. Interacciones farmacodinámicas

Las interacciones farmacodinámicas se tienen que contemplar como mecanismos de acción de los fármacos para producir una respuesta biológica y se pueden clasificar en tres áreas principales: las interacciones que ocurren en un único sitio receptor; aquellos que ocurren en una variedad de sitios receptores; y las interacciones generales no específicas mediadas a través de sitios de acción no especificados¹²³.

En la combinación de analgésicos, se busca combinar fármacos con el mismo efecto terapéutico pero que tengan distinto mecanismo de acción con el fin de que el

tratamiento tenga una cobertura multimodal para tratar el dolor, esta estrategia puede permitir obtener un efecto sinérgico, de esta manera el efecto combinado es mayor que la suma de sus efectos individuales¹²⁴, la interacción de tipo sinérgico tiene resultados favorables permitiendo aumentar la eficacia del efecto terapéutico ya que se disminuyen las dosis administradas pero permiten aumentar el efecto farmacológico evitando la toxicidad y la aparición de los efectos adversos¹²⁷. Sin embargo, no todas las combinaciones de fármacos llevan a efectos sinérgicos, las interacciones pueden provocar efectos aditivos cuando simplemente es una sumatoria de efectos, ya que tienen mecanismos de acción que son mutuamente excluyentes al tener un mismo sitio diana pero también está el caso totalmente opuesto donde la combinación podría generar un resultado menor que la suma de los efectos individuales de cada fármaco a esta suma negativa se le llama antagonismo, por lo tanto, es importante establecer, mediante una rigurosa evaluación preclínica y clínica, si la combinación es aditiva o sinérgica, la relación de dosis óptima y el perfil de efectos adversos de la combinación en comparación con los componentes individuales^{124,125}

1.7.2. Análisis isobolográfico

Como ya se explicó existen distintos tipos de interacciones farmacodinámicas, estas pueden ser de tipo aditivo, sinérgico o antagonico. En el caso del sinergismo numerosos mecanismos posibles podrían explicar porque la acción del fármaco agonista B es potenciada por el fármaco A y aunque no se conozca el mecanismo exacto, poder distinguir a primera instancia si la interacción es sinérgica y no solo aditiva puede generar distintos avances en elucidar el mecanismo de interacción, por lo tanto se pueden hacer uso de distintas estrategias cuantitativas y gráficas para determinar el tipo de interacción^{128,129}.

El isoblograma es un método gráfico para determinar el tipo de interacción en las combinaciones de fármacos, este gráfico se construye colocando en el eje de las abscisas la dosis efectiva individual del fármaco A obtenida experimentalmente, por su parte, en el eje de las ordenadas se coloca la dosis efectiva del fármaco B obtenida

experimentalmente, estos dos puntos son unidos por una línea que se conoce como isobola o línea de aditividad, la cual se representa por la fórmula $a/A + b/B = 1$, en donde A y B representan las dosis efectivas, por su parte a y b indican la proporción individual de cada uno de los fármacos, el cálculo de la línea de aditividad permite conocer la dosis efectiva teórica^{129,130}.

Cuando se evalúa experimentalmente la combinación, se puede determinar en verdad el tipo de interacción que presentan los fármacos en combinación. De tal forma que gráficamente si la dosis efectiva experimental está en la misma línea de la isobola la interacción es de tipo aditiva, si se encuentra por debajo de la isobola la interacción es de tipo sinérgica y si se encuentra sobre la isobola el tipo de interacción será de tipo antagónico (Figura 13). Con el mismo análisis isobolográfico se puede determinar el índice de interacción el cual se indica con la letra griega gamma (γ), el índice de interacción se calcula como la dosis efectiva experimental entre la dosis efectiva teórica, si gamma es igual a uno la interacción es de tipo aditivo, si es mayor a uno es de tipo antagónico y si es menor a uno es de tipo sinérgico haciendo la determinación estadística correspondiente¹²⁹⁻¹³¹.

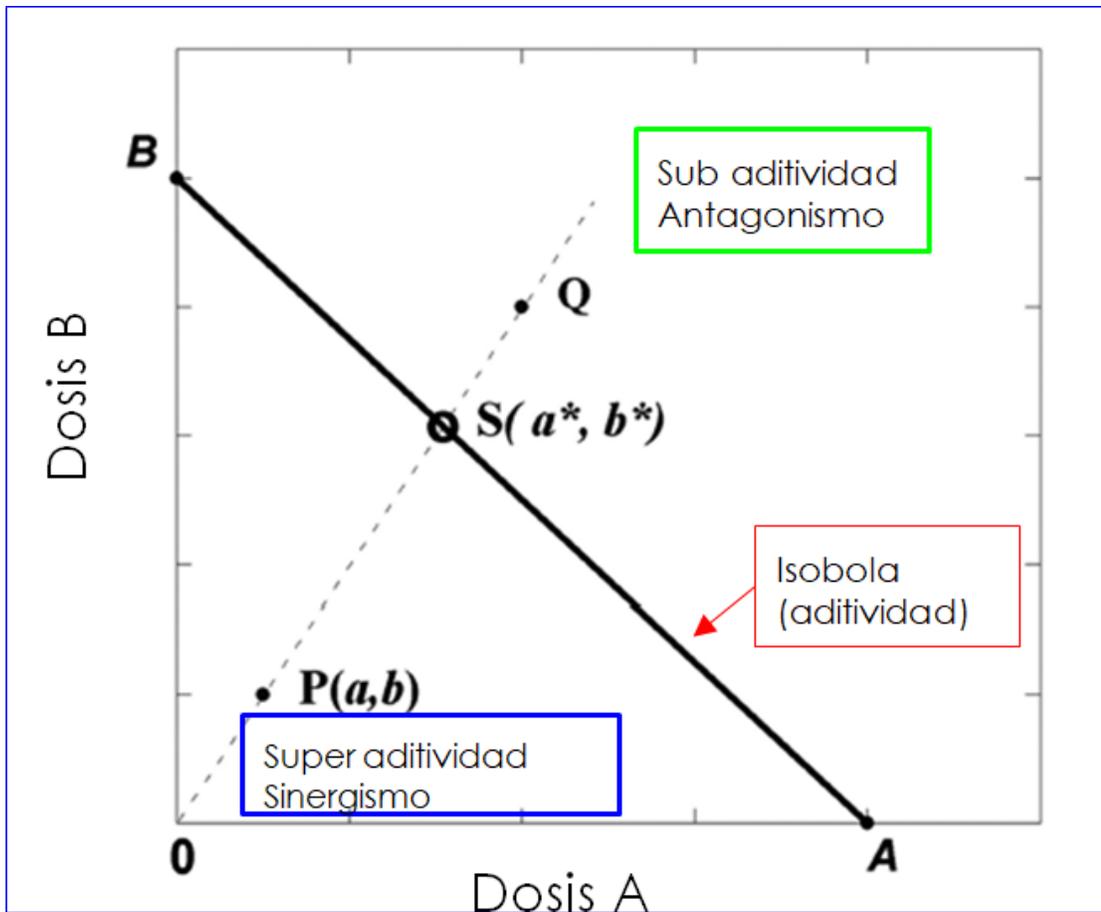


Figura 13. Representación de un isoblograma.

La letra A y B indican la dosis efectiva individual de cada uno de los fármacos, las letras minúsculas a y b indican las fracciones de cada uno de los fármacos en combinación, los asteriscos indican las proporciones teóricas en combinación de cada uno de los fármacos, P representa el punto de sinergismo por debajo de la isobola, S el punto de aditividad y por encima de la isobola se encuentra el punto Q que representa antagonismo (imagen modificada de Tallarida 2012).

1.8. MODELOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Los grandes avances referentes al conocimiento del sistema nociceptivo tanto en su situación fisiológica normal como en diferentes situaciones patológicas es consecuencia de la utilización de los modelos animales de dolor⁵, ya que los experimentos sobre el dolor con sujetos humanos son desafiantes, fundamentalmente subjetivos (algo inevitable) y éticamente autolimitados¹³². En el animal solo se valora

la respuesta nociceptiva a un estímulo nocivo sin contemplar el aspecto emocional¹³³, pero a pesar de todo esto, los estudios de dolor con animales no humanos también plantean desafíos propios y significativos, además de limitaciones éticas¹³².

Actualmente existen distintos modelos animales de experimentación para evaluar nocicepción e idealmente dichos modelos deben poseer las siguientes características¹³⁴:

1. Especificidad, el estímulo debe ser nociceptivo, asegurándose que tenga lo que se conoce como “especificidad de entrada” y que dicho estímulo esté actuando sobre el circuito de nocicepción.
2. El modelo debe permitir diferenciar la respuesta nociceptiva de aquellas que solo son comportamientos innatos del animal.
3. Sensibilidad, con lo cual debe ser posible cuantificar la respuesta nociceptiva y correlacionarla con la intensidad del estímulo nocivo dentro de un intervalo que sea razonable (desde el umbral del dolor hasta el umbral de tolerancia al dolor).
4. El modelo debe ser sensible a manipulaciones farmacológicas, es decir, debe ser sensible a agentes antinociceptivos a dosis comparables que son usadas para analgesia en humanos.
5. Validez, la respuesta nociva que se monitorea no debe ser perturbada por otros cambios no específicos que se generen durante el desarrollo del experimento. La validez de la prueba, es decir, el grado en que la prueba realmente mide lo que pretende medir, es sin duda uno de los problemas más difíciles de resolver.
6. Seguridad, en este contexto las repetidas aplicaciones de los estímulos nocivos no deben producir lesiones en el animal que sean permanentes.

7. Reproducibilidad, los resultados obtenidos con el modelo no solo deben ser reproducibles dentro del mismo laboratorio sino también en diferentes laboratorios.

1.8.1. Modelos de dolor agudo

Dentro de los modelos agudos de dolor se consideran aquellas pruebas donde se hace uso de un estímulo nocivo, el cual puede ser térmico, mecánico o eléctrico, dichos estímulos son aplicados sobre alguna parte del animal que sea conveniente, usualmente se aplica en las patas traseras, la cola o el abdomen, los estímulos generan un comportamiento de huida u otro comportamiento en el animal que es fácil de cuantificar¹³². Los modelos, haciendo uso de los estímulos nocivos anteriormente mencionados, se utilizan ampliamente a excepción del shock eléctrico, debido a que la interpretación es complicada porque se producen múltiples respuestas conductuales con umbrales muy variables¹³⁵.

Como ejemplos de modelos agudos de nocicepción se encuentra el de retirada de la cola (tail flick) en el cual se mide el tiempo de latencia en que tarda la rata en retirar la cola en presencia de un estímulo nocivo de calor. Otra prueba donde se hace uso de calor nocivo es la prueba de la plancha caliente (hot-plate), en esta prueba se calienta una base de metal a unos 52 ó 55 °C y se observa la lamida de la pata o el salto que hace el animal sobre la placa, las observaciones duran apenas unos segundos ya que el animal no puede permanecer mucho tiempo con el estímulo nocivo de calor¹³⁶.

También dentro de los modelos agudos están los que contemplan el dolor visceral, una de estas pruebas consiste en la inyección intraperitoneal de soluciones irritantes como ácido acético y se cuantifica el número de estiramientos abdominales que se producen en el animal durante un determinado tiempo¹³⁴.

1.8.2. Modelos de dolor inflamatorio

Estas pruebas son de mayor duración que la mayor parte de los modelos agudos, consisten en generar un daño en el tejido con agentes irritantes o sustancias que permitan procesos inflamatorios con el propósito de generar mediadores que activen y sensibilicen el sistema nociceptivo¹³⁶. Estos modelos ofrecen respuestas de comportamiento que implican organizaciones supraespinales y permite separarlos de los modelos agudos, dentro de estos ensayos se hace uso de sustancias como la formalina, sin embargo, el modelo de formalina solo se puede considerar como un modelo de inflamación de término corto, por lo tanto, en modelos de inflamación se recurre a compuestos con un mayor potencial antigénico como puede ser el adyuvante completo de Freud o la carragenina^{132, 136}.

Los modelos de dolor inflamatorio se diseñaron principalmente para modelar el dolor artrítico, siendo actualmente los ensayos monoartríticos los más utilizados, que consisten en realizar la inyección del agente antigénico en la rodilla o en la articulación del tobillo¹³².

1.8.3. Modelos de dolor neuropático

Distintos modelos de dolor neuropático se han desarrollado en roedores. Debido a que el dolor neuropático consiste en un daño al sistema somatosensorial y procesos de sensibilización, los modelos de dolor neuropático se basan en la mayoría de las etiologías conocidas en humanos, con el objetivo de reproducir lesiones del nervio periférico, lesiones centrales, neuralgia del trigémino, neuropatías diabéticas, neuropatías inducidas por quimioterapia, neuralgia postherpética¹³⁶.

1.8.4. Modelo de la formalina

El modelo de la formalina está clasificado como un modelo de dolor persistente de tipo tónico¹³⁷, cabe destacar que el dolor tónico está modulado de manera diferente en el sistema nervioso central en comparación con el dolor provocado por estímulos de corta duración¹³⁸.

En el modelo de la formalina es posible evaluar la forma en que un animal responde al dolor moderado y continuo a consecuencia del tejido lesionado. Por esta relación con la lesión tisular se cree que la prueba es un modelo más semejante al dolor clínico a diferencia de las pruebas con estímulos térmicos o mecánicos.¹³⁹

La prueba de la formalina consiste en inyectar una solución diluida de formaldehído en la superficie plantar de una de las patas traseras, una vez que se coloca el estímulo nociceptivo, la rata comienza a sacudir la pata afectada, esta conducta es fácil de cuantificar durante el tiempo. En los roedores, la prueba de la formalina provoca una respuesta bifásica, la primera fase comienza desde que se aplica la inyección hasta los diez minutos, después de este periodo ocurre una fase quiescente en la cual disminuyen el número de sacudidas de la pata y la segunda fase comienza después de los quince minutos hasta los sesenta minutos (Figura 14) periodo en el cual termina la prueba^{137,138}.

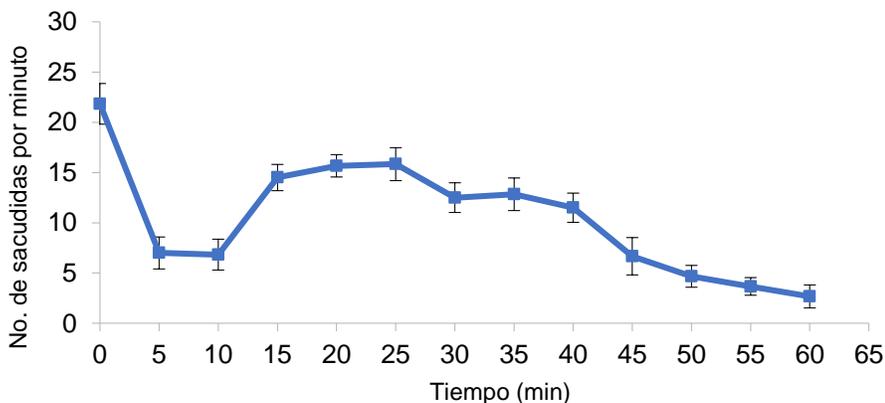


Figura 14. Curso temporal del número de sacudidas de la pata durante la prueba de la formalina.

La primera fase se relaciona con una estimulación directa de los nociceptores en las fibras tipo C, la primera fase es sensible a anestésicos locales. Por su parte, la segunda fase involucra mecanismos de inflamación y de sensibilización central dentro de la médula espinal, la segunda fase responde a distintos analgésicos con acción antiinflamatoria y a distintos analgésicos de acción central¹³⁸

2. ANTECEDENTES

La gabapentina ya se ha combinado con AINEs como el diclofenaco en proporción uno a uno, esta combinación se administró de manera local, determinando que la combinación mostraba un efecto sinérgico antinociceptivo a nivel periférico, el efecto antinociceptivo se evaluó con la prueba de la formalina al 5 %¹⁴⁰. En otro estudio, se evaluó la combinación de gabapentina con metamizol igual a una proporción uno a uno en la prueba de formalina al 1 %, pero a diferencia del estudio anterior las combinaciones se administraron por tres vías diferentes, se administró de manera local, por vía oral y por vía intratecal, en cada una de las vías de administración la combinación gabapentina-metamizol mostró tener efecto antinociceptivo de tipo sinérgico siendo la vía sistémica la que produjo un efecto sinérgico mayor¹⁴¹. También se ha evaluado la gabapentina en combinación con un opioide débil como el tramadol utilizando ratas con constricción del nervio ciático, dicha combinación se administró por vía oral a una proporción de uno a uno y mostró tener efecto sinérgico anti hiperalgésico y anti-alodínico¹⁴².

Por su parte, la combinación de fármacos con productos naturales se ha evaluado recientemente en el tratamiento del dolor, Nakamoto y cols. en 2010 determinaron el efecto antinociceptivo del DHA haciendo uso de distintos modelos de nocicepción, incluido el modelo de la formalina, ellos demostraron que la administración de 25 mmol kg⁻¹, treinta minutos antes de la prueba ayudaba a disminuir la conducta nociceptiva en la prueba de la formalina¹¹⁸. Además, en otro estudio se demostró que el tratamiento previo con DHA durante dos semanas dando una dosis diaria de 4.5 mg kg⁻¹ en ratas con constricción crónica del nervio ciático impedía que estas desarrollaran alodinia, medida a través de la prueba de placa fría¹⁴³. Ya como antecedentes inmediatos para este proyecto se tiene que la coadministración de DHA en conjunto con AINEs mostró tener efecto sinérgico, en uno de estos trabajos se coadministró DHA con indometacina y en otro se coadministró DHA con diclofenaco, las combinaciones se administraron por vía oral en tres proporciones diferentes, 1:1,

3:1 y 1:3, cada una de las proporciones mostraron tener efecto sinérgico antinociceptivo, este efecto se midió utilizando la prueba de la formalina, otro hecho importante de estos dos últimos trabajos es que la coadministración con DHA mostró tener efecto gastroprotector al evitar la aparición de úlceras gástricas, las cuales son efectos adversos de los AINEs^{119,144}.

3. JUSTIFICACIÓN

Si bien la gabapentina es un fármaco ampliamente utilizado para el dolor neuropático, a dosis altas presenta distintos efectos adversos⁹⁶. Se sabe que la combinación de analgésicos permite tener a una menor dosis el efecto antinociceptivo deseado, disminuyendo de esta forma la incidencia de los efectos adversos¹²⁴. Basados en esta idea, la gabapentina ya ha sido evaluada en combinación con diclofenaco en un modelo de formalina, produciendo un sinergismo en su actividad analgésica¹⁴⁰. Por otro lado, recientemente los ácidos grasos omega 3 dentro de los cuales se encuentra el DHA, han mostrado tener actividad antinociceptiva¹¹⁸, además en combinación con otros analgésicos el DHA ha mostrado tener actividad sinérgica antinociceptiva¹¹⁹. Sin embargo, aún no se ha evaluado la combinación de DHA-gabapentina en modelos murinos de nocicepción, por lo tanto, este trabajo pretende caracterizar el efecto antinociceptivo de la combinación uno a uno DHA-gabapentina usando el modelo de la formalina y determinar el tipo de interacción farmacológica que tiene la combinación realizando un análisis isoblográfico.

4. HIPÓTESIS

La coadministración de gabapentina y DHA en la prueba de la formalina tendrá una respuesta antinociceptiva con una interacción de tipo sinérgica.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la combinación de ácido docosaheptaenoico y gabapentina en el modelo de la formalina.

5.2. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la DE_{30} antinociceptiva de DHA y gabapentina en el modelo de formalina.
2. Realizar el análisis isoblográfico de la combinación DHA-gabapentina en la prueba de la formalina.
3. Evaluar el efecto antinociceptivo producido por la administración repetida de DHA en conjunto con la administración aguda de gabapentina.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Animales

Los animales de experimentación fueron ratas Wistar hembra de 7 a 9 semanas de edad (180 a 220 g), sin ningún daño previo. Las ratas se mantuvieron en cajas de acrílico con libre acceso al agua y con ayuno de alimento de 14 horas antes de cada prueba. Se mantuvieron con ciclos de luz oscuridad de 12 horas. Los experimentos se realizaron cumpliendo la Norma Oficial Mexicana NOM-062-Z00-1999¹⁴⁵ (especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio) así mismo se siguió el “Programa interno para el cuidado y uso de animales de laboratorio del CINVESTAV” Cada rata fue utilizada para un solo experimento y al final se eutanizó en cámara de CO₂. Se realizaron esfuerzos para minimizar el sufrimiento de los animales y sólo utilizar el número de animales necesarios. Para los experimentos se siguieron las directrices éticas para las investigaciones de dolor experimental en animales¹⁴⁶.

6.2. Sustancias

- Gabapentina
- Ácido docosahexaenoico
- Formalina al 1%
- Aceite de oliva
- Solución salina isotónica

6.3. Materiales para la prueba de la formalina

- Espejos de 30 cm de ancho por 45 cm de largo
- Cilindros transparentes de acrílico de 20 cm de diámetro por 40 cm de alto
- Termómetro
- Jeringas y agujas
- Sonda gástrica de metal
- Contador manual y cronómetro

6.4. Modelo de la formalina

Para evaluar el efecto antinociceptivo se usó la prueba de la formalina, esta prueba puede ser utilizada para caracterizar la respuesta nociceptiva espontánea en una variedad de especies incluida la rata¹⁴⁷. Se colocaron los cilindros de acrílico sobre la mesa de trabajo y detrás de los cilindros se colocaron los espejos formando un ángulo de noventa grados para facilitar la observación de la conducta nociceptiva, después de lo anterior se colocaron las ratas dentro del cilindro de observación.

Una vez realizado lo anterior, el modelo de la formalina consistió en inyectar en la superficie plantar de la pata derecha de la rata 50 μL de una solución de formalina al 1%¹¹⁹, la conducta a medir fueron las sacudidas de la pata donde se administró la formalina¹³⁸. Inmediatamente después de la inyección de formalina se comenzó a contar el número de sacudidas durante un minuto cada 5 min. La prueba tuvo una duración de 60 min y antes de iniciar la prueba, la rata tuvo una ambientación previa de 30 min en el cilindro, cuidando que la temperatura del área donde se realizó el estudio se mantuviera a 27°C durante toda la prueba¹³⁸.

6.5. Determinación de la DE₃₀ antinociceptiva de DHA y gabapentina

A un grupo de ratas con previo ayuno se les administró a cada rata por vía oral, una sola dosis de gabapentina (10, 31.6, 56.2 y 100 mg kg^{-1})¹⁴², una hora después de la administración se realizó la prueba de la formalina. Otro grupo de ratas con ayuno previo recibió vía oral una sola dosis de DHA (31.6, 56.2 100 y 177.8 mg kg^{-1})¹⁴⁴ y 24 h después de la administración se realizó la prueba de la formalina, por su parte, dependiendo del tratamiento evaluado, distintos grupos de ratas recibieron el vehículo correspondiente, para el grupo control de gabapentina solo se administró solución salina isotónica y para el grupo control de DHA solo se les administró aceite de oliva, vehículo del DHA

Con los resultados obtenidos de la prueba de la formalina se obtuvo el curso temporal del número de sacudidas por minuto y con ayuda de la fórmula de los trapezoides se obtuvo el área bajo la curva (ABC), con este último dato se determinó el porcentaje de antinocicepción con la siguiente fórmula¹¹⁹:

$$\text{Porcentaje de antinocicepción} = \left(\frac{ABC_{vehículo} - ABC_{tratamiento}}{ABC_{vehículo}} \right) \times 100$$

Con los resultados de antinocicepción de cada tratamiento, se graficaron las curvas dosis respuesta (CDR) del efecto antinociceptivo y mediante regresión lineal se determinó la dosis efectiva 30 (DE₃₀) de cada tratamiento (DHA o gabapentina)¹⁴⁰.

6.6. Determinación del efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina

Con los resultados obtenidos de la DE₃₀ individual tanto de DHA como de gabapentina se calculó la DE₃₀ teórica de la combinación 1:1 de DHA-gabapentina mediante la fórmula (DE₃₀ DHA + DE₃₀ gabapentina) / 2. Las subsiguientes dosis a evaluar se calcularon de la siguiente forma (DE₃₀ DHA + DE₃₀ gabapentina)/4, (DE₃₀ DHA + DE₃₀ gabapentina) / 8 y (DE₃₀ DHA + DE₃₀ gabapentina) / 16¹⁴⁰; las dosis a evaluar quedaron como:

$$\frac{DE_{30}DHA + DE_{30}gabapentina}{2} = \frac{25.61 + 99.32}{2} = 62.4 \text{ mg kg}^{-1}$$

$$\frac{DE_{30}DHA + DE_{30}gabapentina}{4} = \frac{25.61 + 99.32}{4} = 31.2 \text{ mg kg}^{-1}$$

$$\frac{DE_{30}DHA + DE_{30}gabapentina}{8} = \frac{25.61 + 99.32}{8} = 15.6 \text{ mg kg}^{-1}$$

$$\frac{DE_{30}DHA + DE_{30}gabapentina}{16} = \frac{25.61 + 99.32}{16} = 7.8 \text{ mg kg}^{-1}$$

Cada una de las combinaciones anteriores se administraron de manera individual y por vía oral a un grupo de ratas con previo ayuno, la proporción correspondiente al DHA se administró 24 h antes de la prueba y la fracción correspondiente a la gabapentina se administró 1 h antes y por último se llevó a cabo la prueba de la formalina, los resultados permitieron realizar la curva dosis–respuesta experimental del efecto antinociceptivo y mediante regresión lineal se determinó la DE_{30} de la combinación 1:1 pero experimental.

Una vez que se determinó la DE_{30} experimental de la combinación 1:1 de DHA-gabapentina se realizó el análisis isoblográfico correspondiente y se determinó el índice de interacción (γ) calculado como $\gamma = DE_{30}$ experimental de la combinación / DE_{30} teórica de la combinación. Un índice de interacción que no es diferente a uno determinado estadísticamente, indica una interacción del tipo aditiva, si el valor es menor a uno y es estadísticamente significativo, la interacción será del tipo sinérgica, por el contrario, si este valor supera la unidad y es estadísticamente significativo será una interacción de tipo antagónico^{131,130}.

6.7. Administración repetida de DHA

Por último, a un grupo de ratas se les administró durante 7 y 14 días una sola dosis de DHA por vía oral, la dosis de DHA que se administró fue la fracción correspondiente de DHA en la DE_{30} experimental de la combinación 1:1 de DHA-gabapentina, en el octavo o en el quinceavo día y estando las ratas en previo ayuno se les administró una dosis aguda de gabapentina, esta dosis de gabapentina fue la fracción correspondiente de gabapentina en la DE_{30} experimental de la combinación 1:1 de DHA-gabapentina. En el mismo día octavo o el día quinceavo y una hora después de la administración aguda de gabapentina se realizó la prueba de la formalina para calcular el porcentaje de antinocicepción.

Después se comparó el porcentaje de antinocicepción obtenido con la administración repetida de DHA en conjunto con la administración aguda de gabapentina contra el

porcentaje de antinocicepción obtenido con la administración aguda de la DE₃₀ experimental de la combinación 1:1 de DHA-gabapentina.

6.8. Análisis estadístico

Para el análisis de cada uno de los resultados obtenidos se realizaron distintas pruebas estadísticas, se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguida de una prueba Dunnett para analizar los resultados de la curva dosis respuesta del efecto antinociceptivo de cada uno de los tratamientos evaluados o una prueba Tukey para comparar los tratamientos de DHA repetido. La prueba estadística para comparar que tan alejado está el índice de interacción del valor de uno, fue la prueba t de Student. El criterio para considerar diferencia estadística fue $p < 0.05$. El manejo de datos y la aplicación de las pruebas estadísticas se realizó con el programa Graph Pad Prism.

7. RESULTADOS

7.1. Determinación de la DE₃₀ antinociceptiva de DHA y gabapentina

En la tabla 3 se indica el porcentaje del efecto antinociceptivo de cada uno de los tratamientos en la fase 1 de la formalina, el único tratamiento que mostró efecto antinociceptivo estadísticamente significativo con respecto al vehículo (solución salina) fue la gabapentina a una dosis de 100 mg kg⁻¹, por su parte los datos obtenidos con el DHA muestran producir un efecto antinociceptivo, sin embargo no permiten ver efecto antinociceptivo estadísticamente significativo con respecto al vehículo durante la fase 1.

Tabla 3. Efecto antinociceptivo en la fase 1 de la formalina.

Tratamiento	Dosis (mg kg ⁻¹ , p.o.)	% de efecto antinociceptivo
Gabapentina	0	8.212x10 ⁻⁷ ± 7.09
	10	13.46 ± 7.28
	31.6	16.94 ± 11.30
	56.2	18.59 ± 11.47
	100	36.22 ± 6.17*
DHA	0	-0.001334 ± 10.41
	31.6	8.30 ± 9.97
	56.2	14.81 ± 4.52
	100	28.62 ± 12.80
	177.8	25.54 ± 12.16

Nota. Para las dosis administradas de forma individual de gabapentina (10-100 mg kg⁻¹) y DHA (31.6-177.8 mg kg⁻¹). Cada dato representa el promedio ± S.E.M. (n = 5-9), *p < 0.05 vs vehículo, ANOVA seguida de una prueba Dunnet.

A continuación, la figura 15 muestra la curva dosis-respuesta (CDR) del efecto antinociceptivo de la gabapentina en la fase 2 de la formalina, desde la dosis de 31.6 mg kg^{-1} se muestra diferencia estadística significativa con respecto al vehículo (solución salina), la DE_{30} para la gabapentina calculada mediante regresión lineal es de $25.61 \pm 5.35 \text{ mg kg}^{-1}$ con un coeficiente de correlación de 0.9522. La figura 16 muestra la CDR del efecto antinociceptivo del DHA en la fase 2 de la formalina, en el caso del DHA, desde la primera dosis evaluada que fue la de 31.6 mg kg^{-1} se muestra diferencia estadística significativa con respecto al vehículo (aceite de oliva), la DE_{30} para DHA calculada mediante regresión lineal es de $99.32 \pm 11.42 \text{ mg kg}^{-1}$ con un coeficiente de correlación de 0.9742.

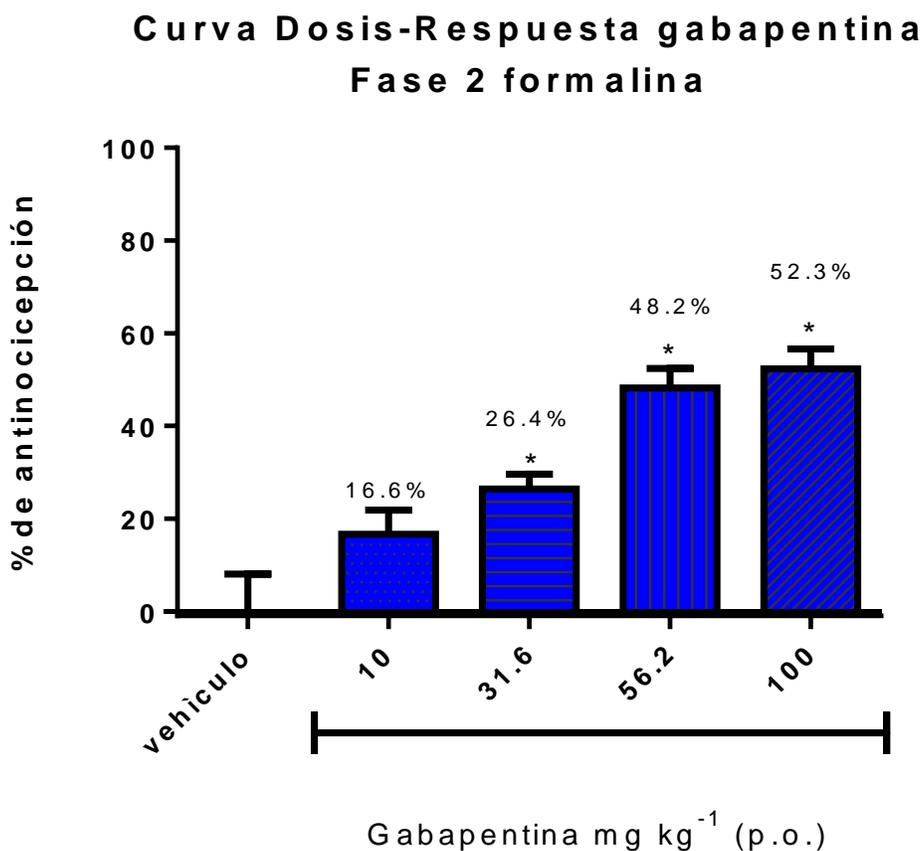


Figura 15 Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de la gabapentina durante la fase 2 de la formalina con las dosis de 10 a 100 mg kg^{-1} . Cada barra representa el promedio \pm S.E.M. ($n = 5-9$), $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA seguida de una prueba Dunnett.

Curva Dosis-Respuesta DHA Fase 2 formalina

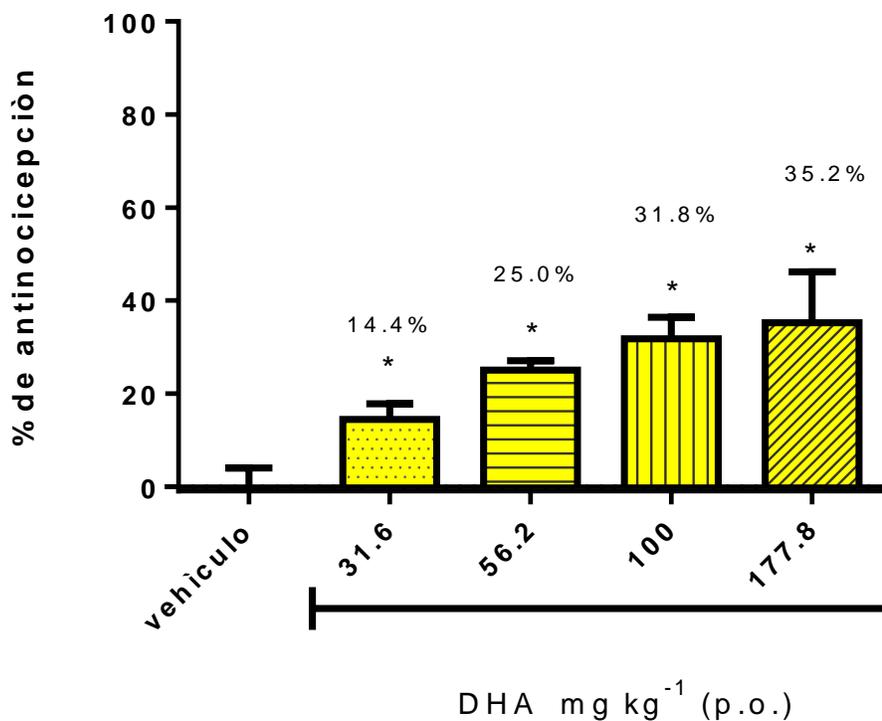


Figura 16. Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo del DHA durante la fase 2 de formalina con las dosis de 31.6 a 177.8 mg kg⁻¹.

Cada barra representa el promedio \pm S.E.M. ($n = 5-9$), $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA seguida de una prueba Dunnett.

Debido a que en la fase 1 de la formalina solo la gabapentina a dosis altas mostró efecto antinociceptivo, para evaluar el efecto antinociceptivo de la combinación de DHA-gabapentina solo se consideró el efecto antinociceptivo en la fase 2 de la formalina para realizar el análisis isoblográfico.

7.2. Determinación del efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina

La CDR del efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina durante la fase 2 de la formalina se muestra en la figura 17, en dicha gráfica se puede observar que desde la dosis en combinación de 7.8 mg kg⁻¹, la cual es la dosis más baja, se

muestra diferencia estadística significativa con respecto a los vehículos (solución salina y aceite de oliva), la DE₃₀ experimental de la combinación DHA-gabapentina calculada mediante regresión lineal es de $3.32 \pm 1.18 \text{ mg kg}^{-1}$ con un coeficiente de correlación de 0.9709.

**Curva Dosis Respuesta 1:1 DHA-gabapentina
Fase 2 formalina**

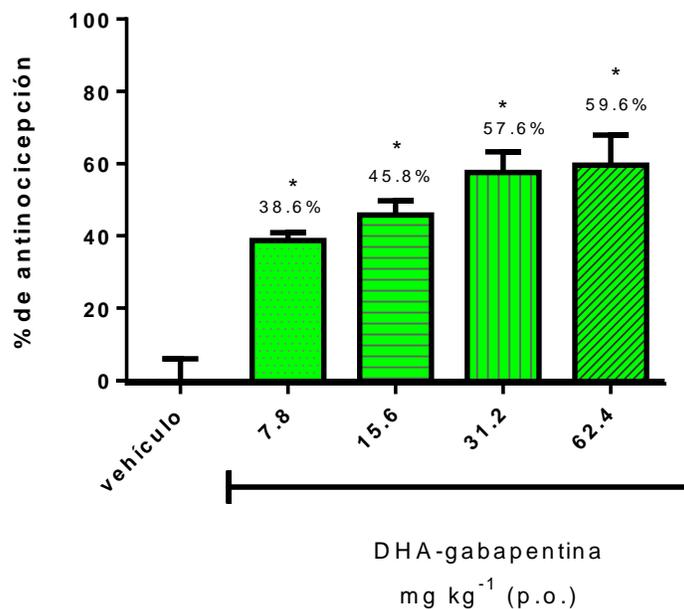


Figura 17. Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de la combinación 1:1 DHA-gabapentina durante la fase 2 de la formalina con las dosis de 7.8, 15.6, 31.2 y 62.4 mg kg⁻¹.

Cada barra representa el promedio \pm S.E.M. ($n = 5 - 9$), $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA seguida de una prueba Dunnett.

Determinar la DE₃₀ experimental de la combinación 1:1 DHA-gabapentina permitió compararla con la DE₃₀ teórica que fue de $62.4 \pm 6.3 \text{ mg kg}^{-1}$ y así mismo realizar el análisis isoblográfico, el cual se muestra en la figura 18. Visualmente se puede observar que la DE₃₀ experimental está muy por debajo de la isobola, además el índice de interacción para esta combinación fue de 0.05 y estadísticamente menor a uno ($p < 0.05$, prueba t de Student), esto indica que el tipo de interacción farmacológica que tiene la combinación DHA-gabapentina es de tipo sinérgica.

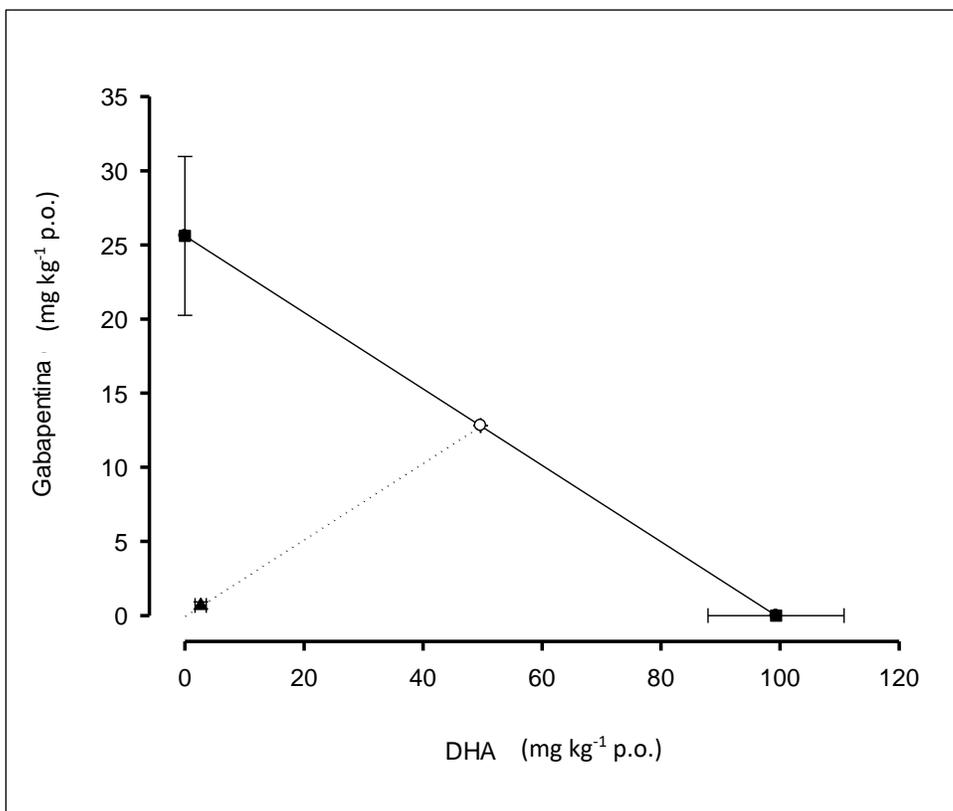


Figura 18. Isoblograma de la combinación 1:1 DHA-gabapentina en la segunda fase de la prueba de la formalina.

En la gráfica están representados el valor de la DE_{30} individual de DHA y de gabapentina (■), el valor calculado de la DE_{30} teórica de la combinación (○) y el valor de la DE_{30} experimental de la combinación (▲), las barras horizontales y verticales indican el S.E.M.

7.3.Administración repetida de DHA

La DE_{30} experimental de la combinación DHA-gabapentina calculada mediante regresión lineal es de $3.32 \pm 1.18 \text{ mg kg}^{-1}$, dentro de dicha DE_{30} experimental la fracción de dosis correspondiente al DHA es de 2.64 mg kg^{-1} mientras que la de gabapentina es de 0.68 mg kg^{-1} . La figura 19 muestra el efecto que tuvo la administración repetida de DHA a una dosis de 2.64 mg kg^{-1} durante siete y catorce días en conjunto con la administración aguda al día octavo o quinceavo de gabapentina a una dosis de 0.68 mg kg^{-1} , respectivamente. La gráfica muestra que existe una tendencia a aumentar la antinocicepción mientras más días se administre el DHA,

aunque estos resultados no son estadísticamente significativos con respecto al tratamiento agudo de la combinación DHA-gabapentina.

Efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina

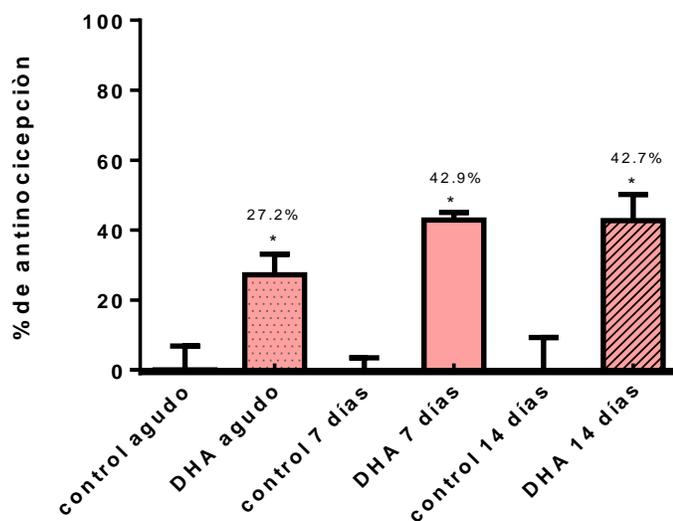


Figura 19. Efecto antinociceptivo de la administración repetida de DHA.

La dosis de DHA es de 2.64 mg kg^{-1} durante 7 ó 14 días en conjunto con la administración aguda de gabapentina a una dosis de 0.68 mg kg^{-1} en el día octavo o quinceavo respectivamente, en comparación con la administración aguda de la DE_{30} experimental de la combinación. Cada barra representa el promedio \pm S.E.M. ($n = 6-9$), diferencia estadística entre los tratamientos y su respectivo control $*p < 0.05$, ANOVA seguida de una prueba Tukey.

8. DISCUSIÓN

8.1. Efecto antinociceptivo individual de la gabapentina

Como ya se sabe, la gabapentina es un fármaco de primera línea para tratar el dolor neuropático¹⁸. En este trabajo se decidió utilizar el modelo de la formalina para evaluar la actividad antinociceptiva de la gabapentina debido a que el dolor neuropático se caracteriza por producir dolor espontáneo y anomalías sensoriales representadas por procesos de sensibilización. Por lo cual, la prueba de la formalina puede ser usada para caracterizar la respuesta nociceptiva espontánea en una variedad de especies incluida la rata¹⁴⁷, además de que es un modelo que se acerca bastante al dolor clínico y es ampliamente útil como herramienta para evaluar de primera instancia el potencial analgésico de una sustancia¹⁴⁸.

La gabapentina se administró por vía oral una hora antes de la prueba de la formalina, la justificación de que se haya administrado a este tiempo es que la gabapentina se absorbe en el intestino, pero requiere del transportador de aminoácidos para hacerlo, además de que en estudios previos ya se ha demostrado que en ratas la gabapentina alcanza la concentración máxima en sangre después de una hora¹⁴⁹.

La prueba de la formalina se puede dividir en dos fases y la primera se caracteriza por representar un dolor agudo en donde el estímulo nocivo que es la formalina activa directamente las fibras nociceptivas tipo C^{150,151}, durante esta fase la gabapentina logró tener un efecto antinociceptivo estadísticamente significativo con respecto al control pero solo a la dosis de 100 mg kg⁻¹ como se indica en la Tabla 3. Clínicamente la gabapentina no se utiliza para el dolor agudo ya que su eficacia es cuestionable¹⁵², en distintos trabajos ya se ha observado que la gabapentina administrada de manera local no logra disminuir de manera significativa la conducta nociceptiva en la fase uno de la formalina^{140,153}. Por otra parte, Hunter y cols. en 1997 determinaron que la administración de gabapentina por vía intraperitoneal mostraba un efecto antinociceptivo en la prueba de la retirada de la cola (tail flick), la cual se considera una prueba de dolor agudo, sin embargo, la dosis que mostraba este efecto fue de 300 mg kg⁻¹, el inconveniente es que a esta dosis ya comienzan a aparecer efectos

adversos en la rata, disminuyendo su actividad exploratoria en la prueba de campo abierto¹⁵⁴, por su parte en este y otros estudios se ha indicado que a dosis de 100 mg kg⁻¹ no hay efectos adversos ni en la prueba de exploración así como en la de coordinación motriz^{142,154,155}. Por lo tanto, en la evaluación realizada en este trabajo se puede considerar que el efecto antinociceptivo que se observa a la dosis de 100 mg kg⁻¹ en la fase uno de la formalina se debe a que está actuando sobre la vía nociceptiva permitiendo disminuir la sacudidas de la pata de manera considerable, sin provocar efectos sedantes.

También otro punto importante a analizar es la diferencia del efecto cuando se administra gabapentina de manera local o por vías sistémicas ya que por estas últimas se logran ver efectos antinociceptivos significativos, lo que sugiere que por estas vías de administración se permite a la gabapentina estar disponible en distintos sitios blancos favoreciendo un mecanismo de acción contra el dolor de tipo agudo, sin embargo como ya lo hacían ver distintos autores el uso de dosis altas no lo hace ser un tratamiento eficaz contra este tipo de dolor.

Por otra parte, en la fase dos de la formalina, la gabapentina tuvo un efecto antinociceptivo significativo a partir de la segunda dosis administrada (31.6 mg kg⁻¹) y con la dosis más alta (100 mg kg⁻¹) se logró tener un efecto antinociceptivo del 52.3 % como se indica en la figura 15. Cabe destacar que la antinocicepción producida en la fase dos de la prueba permitió calcular la DE₃₀ (25.61 ± 5.35 mg kg⁻¹) y a diferencia de la fase uno, en la segunda fase se presentan procesos de sensibilización, permitiendo un dolor de tipo persistente. Aunque la gabapentina fue diseñada como un análogo estructural del GABA, actualmente se sabe que no se une a receptores GABA_A ni GABA_B⁸², de esta manera su mecanismo neuromodulador para contrarrestar la hipersensibilidad en el dolor no es por estos mecanismos de acción.

Existen distintos mecanismos moleculares por los cuales se puede generar sensibilización a nivel central, se sabe que los estímulos nocivos como la formalina incrementan la presencia de la proteína cinasa C (PKC) en la medula espinal de manera significativa después de 25 min de la aplicación del agente nociceptivo¹⁵⁶, así mismo, la formalina después de diez minutos incrementa la PKC a nivel de la raíz del ganglio

dorsal¹⁵⁷, lo que concuerda con el tiempo requerido para estar dentro de la segunda fase de la formalina, además se sabe que la PKC fosforila a la subunidad NKR1¹⁵⁸ de los receptores NMDA ocasionando procesos de hipersensibilidad incrementado la respuesta excitadora a glutamato¹⁵⁹. Por su parte, la gabapentina es un fármaco que tiene acciones en sitios espinales y supraespinales¹⁶⁰ y además con relación a lo anterior, actualmente, se ha descrito que uno de los mecanismos por los cuales la gabapentina produce un efecto antinociceptivo es la inhibición de la translocación de la PKC isoforma ϵ en las neuronas sensoriales de la raíz del ganglio dorsal¹⁶¹ evitando los procesos de hipersensibilidad en las neuronas del asta dorsal de la médula espinal¹⁶², por lo tanto, la conducta nociceptiva se ve afectada.

Continuando con lo anterior, si la gabapentina es capaz de alterar los procesos relacionados con PKC, también estaría ayudando a evitar otros procesos de sensibilización, ya que la actividad de la PKC reduce las corrientes de potasio¹⁶³ y se sabe que cuando se desfavorece la actividad de los canales de potasio se ven aumentados los procesos de hipersensibilidad¹⁶⁴. En 2006 Ortiz y cols. determinaron que la actividad antinociceptiva de la gabapentina en la fase dos de la formalina se encuentra modulada de algún modo por la actividad de los canales de potasio, esto se determinó colocando distintos bloqueadores para los canales de potasio. Por ejemplo, cuando administraron glibenclamida y tolbutamida que son inhibidores de los canales de potasio sensibles al ATP junto con la gabapentina se redujo de manera significativa el efecto antinociceptivo, de igual forma cuando se colocó un inhibidor de los canales de potasio que son activados por iones calcio como la caribdotoxina junto con gabapentina también se redujo el efecto antinociceptivo¹⁵³. Por lo tanto, se puede inferir que por alguna vía la gabapentina hace uso de los canales de potasio para reducir la sensibilización dolorosa.

Actualmente, el mecanismo más aceptado por el cual la gabapentina tiene su efecto antinociceptivo es cuando se une principalmente a la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 y con una menor afinidad por la subunidad $\alpha 2\delta$ -2 de los canales de calcio dependientes de voltaje. Cuando se une a esta subunidad evita que los canales de calcio se coloquen en la membrana celular, lo que interrumpe la entrada de iones calcio hacia la neurona

presináptica provocando que la liberación de distintos neurotransmisores, principalmente excitadores se vea disminuida como el glutamato, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina y la sustancia P¹⁶⁵, lo que genera que la vía de transmisión del dolor se vea afectada^{6,91,92}.

Las proteínas de la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 son altamente expresadas en el músculo esquelético y cardíaco, en la médula espinal, el cerebelo, el hipocampo y la corteza cerebral mientras que la subunidad $\alpha 2\delta$ -2 se expresa altamente en el cerebelo y de manera moderada en la médula espinal y el hipocampo¹⁶⁶. Cómo se puede observar la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 no solo se encuentra en tejido nervioso sino también en otras partes, por ejemplo en el corazón, el que esta subunidad no sea específica del tejido nervioso también puede hacer pensar que si la cantidad en sangre de gabapentina es grande se pueden provocar distintos efectos adversos porque se estarían afectando distintos sistemas además del sistema nervioso.

Continuando con la importancia que tiene la subunidad $\alpha 2\delta$ -1, hay que resaltar que es un marcador de daño nervioso y está sobrerregulado en la raíz del ganglio dorsal cuando las neuronas sufren algún daño, por lo tanto, es un blanco terapéutico para fármacos gabapentinoides como la gabapentina, que ayudan a aliviar el dolor neuropático¹⁶⁷.

8.2.Efecto antinociceptivo individual del DHA

El DHA produjo un efecto antinociceptivo en la primera fase de la formalina, sin embargo, este efecto no es significativo. Por otro lado en experimentos como el de Nakamoto y cols. en 2010 indicaron que el DHA administrado 30 min antes de la prueba de la formalina redujo significativamente el número de sacudidas de la pata en la fase uno de la prueba de formalina, de igual forma en la prueba de la retirada de la cola a los 30 min se observó un efecto antinociceptivo significativo, como se sabe estos dos parámetros indican que el DHA tiene efecto sobre el dolor agudo pero también hay que mencionar que la dosis máxima que se está administrando es 25 mmol kg⁻¹ por vía oral¹¹⁸, esta dosis es bastante elevada en comparación con la máxima dosis evaluada en

este trabajo que fue de 177.8 mg kg^{-1} administrada 24 h antes de la prueba. Continuando con esta idea Arroyo-Lira y cols. en 2014 determinaron que el DHA tenía efecto antinociceptivo en la fase aguda de la formalina, en este trabajo se usaron dosis máximas de 300 mg kg^{-1} administradas por vía oral 14 h antes de la prueba¹¹⁹. Esto sugiere que si el DHA se administra con un menor tiempo antes de la evaluación antinociceptiva, se requiere de mayor dosis a administrar para ver un efecto antinociceptivo significativo y además dosis más altas podrían estar favoreciendo mecanismos que contrarresten el dolor agudo. Por ejemplo se ha observado que la administración de 25 mmol kg^{-1} de DHA después de 30 min logra una liberación significativa de endorfinas las cuales van disminuyendo con el tiempo¹⁶⁸, y se sabe que cuando se activan receptores opioides, la conducta nociceptiva en la fase uno de la formalina logra disminuir considerablemente¹⁶⁹. Sin embargo, se necesitarían más datos para confirmar lo anterior.

Ya en la fase de sensibilización, el DHA logró tener un efecto antinociceptivo significativo desde la primera dosis evaluada (31.6 mg kg^{-1}) y esto continuó hasta la dosis más alta (177.8 mg kg^{-1}), estos valores significativos permitieron conocer la DE_{30} que tuvo un valor de $99.32 \pm 11.42 \text{ mg kg}^{-1}$. Hay distintos mecanismos por los cuales el DHA logra producir un efecto antinociceptivo en la fase de sensibilización, dentro de los cuales está la actividad del DHA sobre los canales de potasio, Landa-Juárez y cols. en 2016 mostraron que la administración de manera local de DHA en conjunto con distintas dosis de la glibenclamida (bloqueadora de los canales de potasio sensibles a ATP), provocaba que el efecto nociceptivo aumentara en comparación con el DHA solo, este mismo patrón se consiguió cuando administraron DHA en conjunto con caribdotoxina, que es un bloqueador de canales de potasio sensibles a iones calcio. Lo anterior sugiere que estos canales de potasio tienen una participación importante en la fase de sensibilización y que el DHA de alguna forma logra su apertura provocando un efecto antinociceptivo.

Cuando se describió por primera vez el efecto antinociceptivo del DHA por Nakamoto y cols. en 2010, mostraron que existía un mecanismo de tipo opioide en el cual participaba el DHA ya que cuando administraron naloxona, que es un antagonista no

selectivo de receptores tipo opioide en conjunto con DHA, la actividad antinociceptiva del DHA se veía afectada¹¹⁸. Trabajos posteriores permitieron conocer que la administración del DHA provocaba un aumento significativo de las β -endorfinas en plasma y que estas tenían una especificidad por los receptores a opioides tipo mu y no los delta ni kappa¹⁷⁰, el mecanismo por el cual el DHA logra la liberación de endorfinas en el sistema nervioso es porque se une a un receptor acoplado a proteína G (GPR40) que se encuentra en las partes supraespinales, aumentando de manera considerable las endorfinas en regiones como el hipotálamo¹⁷¹. De esta forma con lo descrito anteriormente se tiene una explicación del porqué se obtuvo efecto antinociceptivo en la fase dos de la formalina ya que las β -endorfinas, al actuar sobre receptores tipo mu permiten la activación de las cascadas de señalización que llevan a que en neuronas presinápticas se cierran canales de calcio, con lo cual se evita la liberación de neurotransmisores excitadores y en las neuronas postsinápticas mediante cascadas de señalización activadas por receptores mu se abren canales de potasio, provocando una hiperpolarización de la neuronas y así evitan que se active la percepción dolorosa⁵⁹.

La ventaja de administrar el DHA 24 h antes de la prueba, permite que el DHA se encuentre presente en los fosfolípidos de las membranas celulares^{121,144}, ya que parte de los mecanismos de acción como efecto antiinflamatorio y antinociceptivo depende, principalmente de que se encuentre presente en las membranas celulares^{115,172}. El DHA se convierte enzimáticamente en resolvinas de la serie D (RvD1) mediante una reacción de múltiples enzimas como la lipooxigenasa (LOX) y se requiere de una ruta biosintética transcelular que ocurre por ejemplo con la interacción de las células endoteliales y los neutrófilos¹⁷³, algo importante es que las resolvinas son lípidos endógenos y estos se generan como su nombre lo indica, como medida para resolver un proceso de inflamación o daño tisular¹⁷⁴. Sin embargo, actualmente a las resolvinas también se les ha identificado con actividad antinociceptiva, actuando sobre receptores en neuronas para normalizar el dolor exagerado¹⁷².

Las resolvinas han mostrado disminuir de manera significativa la conducta nociceptiva en la fase dos de la formalina¹⁷⁵, ya se ha demostrado que las RvD1 son inhibidores de distintos canales como los TRP incluidos los TRPA y los TRPV1¹⁷⁶ y se sabe que la

formalina principalmente activa los TRPA¹³², por lo tanto, el efecto antinociceptivo se puede estar logrando por esta vía.

Cabe aclarar que por sí solo el DHA es capaz de inhibir los canales TRPV1 y TRPA en la raíz del ganglio dorsal, pero las resolvinas son más potentes¹⁷⁴.

8.3. Efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina

El efecto antinociceptivo individual de cada uno de los fármacos evaluados fue más significativo en la fase de sensibilización. Por lo tanto, para caracterizar el efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina, se consideró principalmente el efecto obtenido en la fase dos de la prueba de la formalina.

El análisis isoblográfico permitió caracterizar el tipo de interacción que tiene la combinación 1:1 DHA-gabapentina en el modelo de la formalina, la DE₃₀ experimental de $3.32 \pm 1.18 \text{ mg kg}^{-1}$ se encuentra muy alejada de la DE₃₀ teórica de $62.4 \pm 6.3 \text{ mg kg}^{-1}$ y el índice de interacción es estadísticamente menor a uno, con este tipo de análisis se puede confirmar que el tipo de interacción que tiene la combinación es de tipo sinérgico¹²⁹⁻¹³¹. Por lo tanto, se tiene que partir del principio que estos dos fármacos están actuando de manera similar pero de forma independiente¹²⁴.

Primero es necesario analizar los mecanismos de acción que tiene cada uno de los fármacos de manera individual, como ya se mencionó la gabapentina por algún mecanismo permite la apertura de los canales de potasio provocando un efecto antinociceptivo en la prueba de la formalina¹⁵³ y el otro mecanismo, el más aceptado actualmente por el cual la gabapentina interrumpe los procesos nociceptivos, es por la modulación que tiene sobre los canales de calcio dependientes de voltaje⁹². En el caso del DHA, este tiene distintos mecanismos de antinocicepción, uno de ellos es por la apertura de los canales de potasio¹⁷⁷, permite la liberación de β -endorfinas¹⁷⁰ y también cuando el DHA se encuentra en las membranas celulares puede ser metabolizado para producir RvD1 que actúen sobre los TRP disminuyendo su actividad^{176,178}.

Siguiendo el principio del sinergismo, para que ocurra este tipo de interacción se debe considerar aquellos mecanismos de acción que sean distintos pero que provoquen el

mismo efecto terapéutico¹²⁴. Así con estos resultados obtenidos se puede sugerir que cuando se coadministran DHA-gabapentina, por un lado, la gabapentina modula los canales de calcio interrumpiendo la transmisión del dolor y por su parte, el DHA se encarga de interrumpir en otros puntos del circuito fisiológico de nocicepción ya que la liberación de β -endorfinas interrumpen la percepción dolorosa disminuyendo la excitabilidad de las neuronas de segundo orden y a nivel supraespinal, la presencia de resolvinas estaría afectando los canales TRP, lo cual ayudaría a disminuir la sensibilización a nivel central. Por lo anterior, se estaría teniendo sinergismo, mientras que la actividad sobre los canales de potasio tanto por el DHA y la gabapentina se estarían sumando conjuntamente a los anteriores mecanismos.

8.4. Efecto antinociceptivo de la administración repetida de DHA

La idea de administrar el DHA con más horas de anticipación antes del estímulo nocivo, tiene su fundamento en haber comparado distintos estudios realizados anteriormente dentro del grupo de trabajo, donde se observó que la administración de DHA 24 h antes del estímulo de la formalina permitía tener un efecto antinociceptivo bastante significativo a menor dosis que si el DHA era administrado 14 h antes de la prueba de la formalina^{119,144}. Esto se puede entender por lo que ya se ha discutido anteriormente, el DHA es un ácido graso poli-insaturado que se coloca en los fosfolípidos de las membranas lo cual le permite estar disponible para modificar distintos procesos celulares¹¹⁵, pero para estar disponible en las membranas se requiere de todo un proceso de absorción y transporte que requiere tiempo^{121,179}. Por ejemplo en ratas cuando se administra por vía oral, para alcanzar las concentraciones máximas de DHA en sangre se requiere de un tiempo de entre 3 y 4.5 h¹⁸⁰ y en humanos unas 5 h¹⁸¹. Continuando con esta idea, la combinación DHA-gabapentina mostró tener un efecto sinérgico en este estudio, por lo tanto, la dosis en combinación de cada uno de los fármacos se redujo significativamente ya que la fracción para el DHA fue de 2.64 mg kg⁻¹, la cual es una dosis pequeña pero al haberla administrado de manera repetida durante 7 ó 14 días y posteriormente una coadministración con la fracción de gabapentina (0.68 mg kg⁻¹) se logró superar el efecto antinociceptivo en comparación con la administración aguda de cada una de las fracciones correspondientes. Estos

resultados hacen pensar que, aunque sea una pequeña dosis de DHA, al estar siendo administrado de manera repetida se está acumulando en las membranas, favoreciendo procesos celulares y mecanismos que requieran que el DHA esté presente en las membranas. Ahora bien, la fase dos de la formalina cursa con procesos de sensibilización donde el proceso inflamatorio tiene su contribución¹⁵⁰ y el DHA tiene distintos mecanismos antiinflamatorios cuando se encuentra en las membranas. Por ejemplo, se ha visto que el DHA hace más fluidas las membranas celulares afectando los microdominios lipídicos (es decir, balsas lipídicas), dichos dominios tienen un papel en las vías de señalización de las células inmunes que son críticas para la inflamación.^{179,182}, además en los macrófagos el DHA puede activar al receptor GPR120, y al hacerlo inhibe la activación del factor nuclear Kappa B, reduciendo la expresión de genes inflamatorios como COX-2 y distintas citocinas pro inflamatorias^{115,183}.

Además, en distintos estudios se ha observado que la administración constante de DHA permite aumentar la proporción de este ácido graso en las membranas en comparación con el AA^{105,175}, por lo tanto, se puede sugerir que al existir menos AA, la COX-2 tendrá menor sustrato para producir prostaglandinas proinflamatorias que lleven a estados de sensibilización^{115,184}.

Por otro lado, el DHA ha mostrado tener actividad protectora en distintos modelos de daño, en ratas con constricción crónica del nervio ciático observaron que la administración repetida de una dosis de DHA durante dos semanas impedía que estas ratas ya con el daño desarrollaran alodinia, debido a que el DHA evitaba la activación de la microglía, lo que prevenía el daño a los nervios y la aparición de los procesos de sensibilización dolorosa¹⁴³. En otro trabajo, se demostró que la aplicación continua de DHA después de la inyección con estreptozotocina (modelo de dolor neuropático), impedía que las ratas desarrollaran alodinia e hiperalgesia, debido a que se producía una disminución en las corrientes de sodio, ya que se impedía la sobreexpresión de los canales de sodio dependientes de voltaje (Nav1.7) y también se producía un aumento en las corrientes de potasio, estos dos fenómenos en la raíz del ganglio dorsal¹⁸⁵.

Por lo tanto, con todo esto se puede sugerir que el cúmulo de DHA en las membranas puede ayudar a proteger del daño provocado por la formalina y evitar que se generen distintos procesos de sensibilización. Algo importante que se observa con los datos obtenidos es que se está llegando a un tope en la respuesta antinociceptiva por parte del tratamiento y aunque se administre DHA más días, tal vez el efecto ya no aumente la respuesta, esto se puede deber a que se llega a un proceso de saturación en el cual ya no puede haber más fosfolípidos en la membrana con DHA, por lo tanto, su efecto antinociceptivo tenga una limitante por esta causa. Así mismo, dentro del aspecto del sinergismo que presenta la combinación DHA-gabapentina sería agregar otros mecanismos por los cuales el DHA tendría efecto analgésico, uno de estos es actuando sobre los canales de sodio impidiendo su actividad y el otro, por disminuir procesos de sensibilización producidos por factores inflamatorios en la prueba de la formalina.

9. CONCLUSIONES

Se logró caracterizar el efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina utilizando el modelo de la formalina.

La coadministración de DHA con gabapentina demostró tener un efecto antinociceptivo con una interacción farmacología de tipo sinérgica, logrando bajar la dosis en combinación de cada uno de los fármacos de manera significativa.

La administración repetida de DHA en conjunto con una administración aguda de gabapentina permitió mostrar que a dosis bajas pero repetidas de DHA se logró aumentar el efecto antinociceptivo de la combinación DHA-gabapentina.

10. PERSPECTIVAS

Evaluar el efecto antialodínico y antihiperalgésico de la combinación DHA-gabapentina utilizando otros modelos de sensibilización como puede ser modelos de dolor neuropático, específicamente de neuropatía diabética.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Camargo D, Jiménez J, Archila E, Villamizar MS. El dolor: una perspectiva epidemiológica. *Rev Salud Univ Ind Santander*. 2004;36(1):40-51.
2. Zapardiel Lancha A y PGJC. Principios generales, concepto de dolor y taxonomía. En: *Sociedad Española Del Dolor Manual de Medicina Del Dolor*. 1ra ed. Madrid: Editorial Panamericana; 2016:3-8.
3. Loeser JD, Treede R-D. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. *Pain*. 2008;137(3):473-477.
4. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. *Cell*. 2009;139(2):267-284.
5. Ortega A, Roca A, Micó JA. Modelos animales de dolor. Una visión crítica. *Rev Soc Esp del Dolor*. 2002;9(7):447-453.
6. Griffin, Robert S. and Woolf CJ. Farmacología de la analgesia. En: *Golan Principios de Farmacología Bases Fisiopatológicas Del Tratamiento Farmacológico*. 3ra ed. España: Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins.; 2012:264 – 283.
7. Julius D. Molecular mechanisms of nociception. *Nature*. 2001;413:203-210.
8. Brooks J, Tracey I. From nociception to pain perception: Imaging the spinal and supraspinal pathways. *J Anat*. 2005;207(1):19-33.
9. Fernández Espía, A. GHE. Tipos de dolor. En *Sociedad Española Del Dolor Manual de Medicina Del Dolor*. 1ra. ed. Madrid: Editorial Panamericana; 2016:63-69.
10. Pedrajas Navas JM., Molino González ÁM. Bases neuromédicas del dolor. *Clínica y Salud*. 2008;19(19):277-293.
11. Bott R. WHO Guidelines on the pharmacological treatment of persisting pain in children with medical illnesses. *Igarss 2014*. 2014;(1):1-5.
12. Merskey H, Bogduk N. *Classification of Chronic Pain*.; 1994.
13. Puebla F. Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S. Dolor iatrogénico. *Oncol* . 2005;28(3):139-143.
14. Costigan M, Scholz J, Woolf CJ. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. NIH Public Access. *Annu Rev Neurosci*. 2010;32:1-32.
15. Jensen TS, Baron R, Haanpää M y cols. A new definition of neuropathic pain. *Pain*. 2011;152(10):2204-2205.
16. Ueda H, Rashid MH. Molecular mechanism of neuropathic pain. *Drug News Perspect*. 2003;16(9):605-613.
17. Sánchez Jiménez J. GSM. Dolor neuropático periférico. Generalidades y dolor radicular. En: *Sociedad Española Del Dolor Manual de Medicina Del Dolor*. 1ra ed. Madrid: Editorial Panamericana; 2016:303-311.
18. GUÍA DE PRÁCTICA CLÍNICA gpc. www.cenetec.salud.gob.mx. Consultado agosto 9, 2017.
19. Gilron I, Watson CPN, Cahill CM, Moulin DE. Neuropathic pain: A practical guide for

- the clinician. *CMAJ*. 2006;175(3):265-275.
20. Bouhassira D, Lantéri-Minet M, Attal N, Laurent B, Touboul C. Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. *Pain*. 2008;136(3):380-387.
 21. Colloca L, Ludman T, Bouhassira D y cols. Neuropathic pain. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3:17002.
 22. Guevara-López U, Covarrubias-Gómez A, García-Ramos G, Hernández-Jiménez S. Parámetros de práctica para el manejo del dolor neuropático †. *Rev Invest Clin*. 2006;58(2):126-138.
 23. Federación Mexicana de Diabetes – Diabetes en México. <http://fmdiabetes.org/diabetes-en-mexico/>. Consultado abril 17, 2017.
 24. Borsook D. Neurological diseases and pain. *Brain*. 2012;135(2):320-344.
 25. Watson JC, Sandroni P. Central Neuropathic Pain Syndromes. En: *Mayo Clin Proc*. 2016;91(3):372-385.
 26. Finnerup NB, Haroutounian S, Kamerman P y cols. Neuropathic pain: An updated grading system for research and clinical practice. *Pain*. 2016;157(8):1599-1606
 27. Freeman R. Not all neuropathy in diabetes is of diabetic etiology: Differential diagnosis of diabetic neuropathy. *Curr Diab Rep*. 2009;9(6):423-431.
 28. Amir R, Kocsis JD, Devor M. Multiple interacting sites of ectopic spike electrogenesis in primary sensory neurons. *J Neurosci*. 2005;25(10):2576-2585.
 29. Wu G, Ringkamp M, Murinson BB y cols. Degeneration of myelinated efferent fibers induces spontaneous activity in uninjured C-fiber afferents. *J Neurosci*. 2002;22(17):7746-7753.
 30. Yang Y, Wang Y, Li S y cols. Mutations in SCN9A, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythralgia. *J Med Genet*. 2004;41(3):171-174.
 31. Li Z, Mao Y, Liang L y cols. The transcription factor C / EBP b in the dorsal root ganglion contributes to peripheral nerve trauma – induced nociceptive hypersensitivity. *Sci Signal*. 2017;10:1-14.
 32. Woolf CJ, Shortland P, Coggeshall RE. Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. *Nature*. 1992;355(6355):75-78.
 33. Ultenius C, Linderoth B, Meyerson BA, Wallin J. Spinal NMDA receptor phosphorylation correlates with the presence of neuropathic signs following peripheral nerve injury in the rat. *Neurosci Lett*. 2006;399(1-2):85-90.
 34. Patel R, Dickenson AH. Neuronal hyperexcitability in the ventral posterior thalamus of neuropathic rats: modality selective effects of pregabalin. *J Neurophysiol*. 2016;116(1):159-170.
 35. Rahman W, D’Mello R, Dickenson AH. Peripheral Nerve Injury-Induced Changes in Spinal alpha(2)-Adrenoceptor-Mediated Modulation of Mechanically Evoked Dorsal Horn Neuronal Responses. *J Pain*. 2008;9(4):350-359.
 36. Kohno T, Ji R-R, Ito N y cols. Peripheral axonal injury results in reduced mu opioid

- receptor pre- and post-synaptic action in the spinal cord. *Pain*. 2005;117(1-2):77-87.
37. Borstad J, Woeste C. The role of sensitization in musculoskeletal shoulder pain. *Brazilian J Phys Ther*. 2015;19(4):251-256.
 38. Coutaux A, Adam F, Willer JC, Le Bars D. Hyperalgesia and allodynia: Peripheral mechanisms. *Jt Bone Spine*. 2005;72(5):359-371.
 39. Woolf CJ, Salter MW. Neuronal Plasticity: Increasing the Gain in Pain. *Science*. 2000;288(5472):1765-1768.
 40. Wilder-Smith OHG, Arendt-Nielsen L. Postoperative hyperalgesia: Its clinical importance and relevance. *Anesthesiology*. 2006;104(3):601-607.
 41. Ji RR, Kohno T, Moore KA, Woolf CJ. Central sensitization and LTP: Do pain and memory share similar mechanisms? *Trends Neurosci*. 2003;26(12):696-705.
 42. Shu X, Mendell LM. Nerve growth factor acutely sensitizes the response of adult rat sensory neurons to capsaicin. *Neurosci Lett*. 1999;274(3):159-162.
 43. Pace MC, Passavanti MB, De Nardis L y cols. Nociceptor plasticity: A closer look. *J Cell Physiol*. 2017.
 44. Aley KO, Levine JD. Role of protein kinase A in the maintenance of inflammatory pain. *J Neurosci*. 1999;19(6):2181-2186.
 45. Khasar SG, Lin YH, Martin y cols. A novel nociceptor signaling pathway revealed in protein kinase C epsilon mutant mice. *Neuron*. 1999;24(1):253-260.
 46. Gold MS, Reichling DB, Shuster MJ, Levine JD. Hyperalgesic agents increase a tetrodotoxin-resistant Na⁺ current in nociceptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(3):1108-1112.
 47. Bölcskei K, Helyes Z, Szabó Á y cols. Investigation of the role of TRPV1 receptors in acute and chronic nociceptive processes using gene-deficient mice. *Pain*. 2005;117(3):368-376.
 48. Ji RR, Samad TA, Jin SX, Schmoll R, Woolf CJ. p38 MAPK activation by NGF in primary sensory neurons after inflammation increases TRPV1 levels and maintains heat hyperalgesia. *Neuron*. 2002;36(1):57-68.
 49. Li P, Kerchner G a, Sala C y cols. AMPA receptor-PDZ interactions in facilitation of spinal sensory synapses. *Nat Neurosci*. 1999;2(11):972-977.
 50. Mayer ML, Westbrook GL, Guthrie PB. Voltage-dependent block by Mg²⁺ of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature*. 1984;309(5965):261-263.
 51. Duggan AW, Hope PJ, Jarrott B, Schaible HG, Fleetwood-Walker SM. Release, spread and persistence of immunoreactive neurokinin A in the dorsal horn of the cat following noxious cutaneous stimulation. Studies with antibody microprobes. *Neuroscience*. 1990;35(1):195-202.
 52. World Health Organization. *Cancer Pain Relief*. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1986.
 53. Romero J, Gálvez R, Ruiz S. ¿Se sostiene la escalera analgésica de la OMS? *Rev Soc Esp del Dolor*. 2008;15(1):1-4.

54. Álamo Gonzalez C. Analgésicos simples y antiinflamatorios no esteroideos. En: *Sociedad Española Del Dolor Manual de Medicina Del Dolor*. 1ra. ed. Madrid; 2016:109-120.
55. Tilo GAG, Smyth Emer, FitzGerald. Antiinflamatorios, antipiréticos y analgésicos; farmacoterapia de la gota. En: *Goodman and Gilman, Las Bases Farmacológicas de La Terapéutica*. 12 ed. México: McGraw-Hill; 2012:959-1000.
56. Segura GB, Cruz BH, Gobbo M y cols. Uso apropiado de los antiinflamatorios no esteroideos en reumatología: Documento de consenso de la Sociedad Española de Reumatología y el Colegio Mexicano de Reumatología. *Reumatol Clin*. 2009;5(1):23-27.
57. Rang H. P., Dale M. M., Ritter J. M. FRJ. Analgésicos. En: *Rang Y Dale Farmacología*. 6 ed. España: Elsevier; 2008:588-609.
58. Catalá Puigbó E. FMM. Analgésicos opioides. En: *Sociedad Española Del Dolor Manual de Medicina Del Dolor*. 1ra ed. Madrid: Editorial Panamericana; 2016:121-130.
59. Yaksh, T L WMS. Opioides, analgesia y tratamiento del dolor. En: *Goodman and Gilman, Las Bases Farmacológicas de La Terapéutica*. 12 ed. México: McGraw-Hill; 2012:481-525.
60. Manejo farmacológico del dolor provocado por el cáncer. https://www.iasp-pain.org/files/Content/ContentFolders/GlobalYearAgainstPain2/CancerPainFactSheets/PharmacologicalManagement_Spanish.pdf. Consultado octubre 1, 2017.
61. Ribera Lecierc H. Fármacos coanalgésicos y coadyuvantes. En: *Sociedad Española Del Dolor Manual de Medicina Del Dolor*. 1ra ed. Madrid: Editorial Panamericana; 2016:149-155.
62. Torres LM, Calderón E, Pernia A, Martínez-Vázquez J, Micó JA. De la escalera al ascensor. *Rev Soc Esp del Dolor*. 2002;9(5):289-290.
63. Vargas-Schaffer G. Is the WHO analgesic ladder still valid? Twenty-four years of experience. *Can Fam Physician*. 2010;56(6):514-517, e202-e205.
64. Dworkin R, O'Connor A, Audette J y cols. Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: An overview and literature update. *Mayo Clin Proc*. 2010;85(3 Suppl):S3-S14.
65. Neuropathic pain in adults: pharmacological management in non-specialist settings | Guidance and guidelines | NICE. <https://www.nice.org.uk/guidance/cg173>. Consultado octubre 2, 2017.
66. Dharmshaktu P, Tayal V, Kalra BS. Efficacy of Antidepressants as Analgesics: A Review. *J Clin Pharmacol*. 2012;52(1):6-17.
67. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol*. 2002;66(6):355-474.
68. Pliego LA. Inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina en el manejo del dolor de la neuropatía diabética. *Neurol Argentina*. 2010;2(3):180-188.
69. Benarroch EE. Descending monoaminergic pain modulation: Bidirectional control and clinical relevance. *Neurology*. 2008;71(3):217-221.

70. Wong DT, Bymaster FP. Dual serotonin and noradrenaline uptake inhibitor class of antidepressants potential for greater efficacy or just hype? *Prog Drug Res.* 2002;58:169-222.
71. Khosravi MB, Azemati S, Sahmeddini MA. Gabapentin versus naproxen in the management of failed back surgery syndrome; a randomized controlled trial. *Acta Anaesthesiol Belg.* 2014;65(1):31-37.
72. Sommer C, Cruccu G. Topical Treatment of Peripheral Neuropathic Pain: Applying the Evidence. *J Pain Symptom Manage.* 2017;53(3):614-629.
73. Binder A, Bruxelle J, Rogers P, Hans G, Bösl I, Baron R. Topical 5% lidocaine (lignocaine) medicated plaster treatment for post-herpetic neuralgia: Results of a double-blind, placebo-controlled, multinational efficacy and safety trial. *Clin Drug Investig.* 2009;29(6):393-408.
74. Vinik AI, Perrot S, Vinik EJ y cols. Capsaicin 8% patch repeat treatment plus standard of care (SOC) versus SOC alone in painful diabetic peripheral neuropathy: a randomised, 52-week, open-label, safety study. *BMC Neurol.* 2016;16(1):251.
75. Sheets MF, Hanck DA. Molecular Action of Lidocaine on the Voltage Sensors of Sodium Channels. *J Gen Physiol.* 2003;121(2):163-175.
76. Caterina MJ, Schumacher M a, Tominaga M, Rosen T a, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature.* 1997;389(6653):816-824.
77. Gomtsyan A, Faltynek CR. *Vanilloid Receptor TRPV1 in Drug Discovery: Targeting Pain and Other Pathological Disorders.*; 2010.
78. Anand P, Bley K. Topical capsaicin for pain management: Therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8 patch. *Br J Anaesth.* 2011;107(4):490-502.
79. Attal N, de Andrade DC, Adam F y cols. Safety and efficacy of repeated injections of botulinum toxin A in peripheral neuropathic pain (BOTNEP): A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* 2016;15(6):555-565.
80. Uk Gabapentin Study Group. Gabapentin in partial epilepsy. *Lancet.* 1990;335(8698):1114-1117.
81. Mellick GA, Mellicy LB, Mellick LB. Gabapentin in the management of reflex sympathetic dystrophy. *J Pain Symptom Manage.* 1995;10(4):265-266.
82. Lanneau C, Green A, Hirst WD y cols. Gabapentin is not a GABAB receptor agonist. *Neuropharmacology.* 2001;41(8):965-975.
83. GUÍA DE PRÁCTICA CLÍNICA gpc. www.cenetec.salud.gob.mx. Consultado octubre 3, 2017.
84. Moore RA, Wiffen PJ, Derry S, McQuay HJ. Gabapentin for chronic neuropathic pain and fibromyalgia in adults. [Review]. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011;(3):CD007938.
85. Gurnett CA, De Waard M, Campbell KP. Dual function of the voltage-dependent Ca²⁺ channel $\alpha_2\delta$ subunit in current stimulation and subunit interaction. *Neuron.*

- 1996;16(2):431-440.
86. Kamp TJ, Pérez-García MT, Marban E. Enhancement of ionic current and charge movement by coexpression of calcium channel beta 1A subunit with alpha 1C subunit in a human embryonic kidney cell line. *J Physiol*. 1996;492:89-96.
 87. Bernstein GM, Jones OT. Kinetics of internalization and degradation of N-type voltage-gated calcium channels: Role of the alpha2/delta subunit. *Cell Calcium*. 2007;41(1):27-40.
 88. Hurley RW, Chatterjea D, Rose Feng M, Taylor CP, Hammond DL. Gabapentin and pregabalin can interact synergistically with naproxen to produce antihyperalgesia. *Anesthesiology*. 2002;97(5):1263-1273.
 89. Gale JD, Houghton LA. Alpha 2 delta ($\alpha 2\delta$) ligands, gabapentin and pregabalin: What is the evidence for potential use of these ligands in irritable bowel syndrome. *Front Pharmacol*. 2011;JUN.
 90. Li CY, Zhang XL, Matthews EA y cols. Calcium channel $\alpha 2\delta 1$ subunit mediates spinal hyperexcitability in pain modulation. *Pain*. 2006;125(1-2):20-34.
 91. Hoppa MB, Lana B, Margas W, Dolphin AC, Ryan TA. $\alpha 2\delta$ expression sets presynaptic calcium channel abundance and release probability. *Nature*. 2012; 486(7401):122-125.
 92. Rogawski M, Taylor CP. Calcium Channel $\alpha 2-\delta$ Subunit, A New Antiepileptic Drug Target. *Epilepsy Res*. 2006;69(3):1-10.
 93. Stewart BH, Kugler AR, Thompson PR, Bockbrader HN. A Saturable Transport Mechanism in the Intestinal Absorption of Gabapentin Is the Underlying Cause of the Lack of Proportionality Between Increasing Dose and Drug Levels in Plasma. *Pharm Res An Off J Am Assoc Pharm Sci*. 1993;10(2):276-281.
 94. Cañadillas-Hidalgo FM. Perfil de seguridad y tolerabilidad de la gabapentina en dosis óptimas. *Rev Neurol (Barc)*. 2004;39(4):371-380.
 95. Elwes RD, Binnie CD. Clinical pharmacokinetics of newer antiepileptic drugs. Lamotrigine, vigabatrin, gabapentin and oxcarbazepine. *Clin Pharmacokinet*. 1996;30(6):403-415.
 96. Li R, Shen L, Yu X, Ma C, Huang Y. Vitamin C enhances the analgesic effect of gabapentin on rats with neuropathic pain. *Life Sci*. 2016;157:25-31.
 97. Attal N, Cruccu G, Baron R y cols. EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision. *Eur J Neurol*. 2010;17(9):1113-1123.
 98. Backonja M, Beydoun A, Edwards KR, y cols. Gabapentin for the symptomatic treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1998;280(21):1831-1836.
 99. Parsons B, Tive L, Huang S. Gabapentin: a pooled analysis of adverse events from three clinical trials in patients with postherpetic neuralgia. *Am J Geriatr Pharmacother*. 2004;2(3):157-162.
 100. Page RL, Cantu M, Lindenfeld J, Hergott LJ, Lowes BD, Page RL 2nd, Cantu M, Lindenfeld J y cols. Possible heart failure exacerbation associated with pregabalin: case discussion and literature review. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2008;9(9):922-925.

101. Kukkar A, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Implications and mechanism of action of gabapentin in neuropathic pain. *Arch Pharm Res.* 2013;36(3):237-251.
102. Burr M, Miller S. Fatty Acids in Nutrition . *J. Biol. Chem.* 1932;97(1):1-9.
103. Plourde M, Cunnane SC. Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: implications for their dietary essentiality and use as supplements. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007;32(4):619-634.
104. Guillén-López S, Rodríguez-Schmidt R, Vela-Amieva M. Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en hiperfenilalaninemias. *Acta Pediatr Mex.* 2012;33(6):335-339.
105. Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. En: *American Journal of Clinical Nutrition.* Vol 83. ; 2006.
106. Mori TA. Marine OMEGA-3 fatty acids in the prevention of cardiovascular disease. *Fitoterapia.* 2017.
107. Goldberg RJ, Katz J. A meta-analysis of the analgesic effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for inflammatory joint pain. *Pain.* 2007;129(1-2):210-223.
108. Baker EJ, Miles EA, Burdge GC, Yaqoob P, Calder PC. Metabolism and functional effects of plant-derived omega-3 fatty acids in humans. *Prog Lipid Res.* 2016;64:30-56.
109. n-3 Fatty acids and health. [https://www.nutrition.org.uk/attachments/156_n-3 Fatty acids and health summary.pdf](https://www.nutrition.org.uk/attachments/156_n-3_Fatty_acids_and_health_summary.pdf). Consultado octubre 5, 2017.
110. Goyens PLL, Spilker ME, Zock PL, Katan MB, Mensink RP. Conversion of α -linolenic acid in humans is influenced by the absolute amounts of α -linolenic acid and linoleic acid in the diet and not by their ratio. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(1):44-53.
111. Rodrigo Valenzuela B, Gladys Tapia O, Marcela González E, Alfonso Valenzuela B. Omega-3 fatty acids (EPA and DHA) and its application in diverse clinical situations . *Rev Chil Nutr.* 2011;38(3):356-367.
112. Mozaffarian D, Wu JH. Omega-3 Fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J Am Coll Cardiol.* 2011;58(20):2047-2067.
113. Harris WS, Dayspring TD, Moran TJ. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new developments and applications. *Postgrad Med.* 2013;125(6):100-113.
114. Pineda-Peña EA, Jiménez-Andrade JM, Castañeda-Hernández G, Chávez-Piña AE. Docosahexaenoic acid, an omega-3 polyunsaturated acid protects against indomethacin-induced gastric injury. *Eur J Pharmacol.* 2012;697(1-3):139-143.
115. Calder PC. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *BBA - Mol Cell Biol Lipids.* 2015;1851(4):469-484.
116. Bazan NG. Omega-3 fatty acids, pro-inflammatory signaling and neuroprotection. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007;10(2):136-141.
117. Lo Van A, Sakayori N, Hachem M y cols. Mechanisms of DHA transport to the brain and potential therapy to neurodegenerative diseases. *Biochimie.* 2016;130:163-167.

118. Nakamoto K, Nishinaka T, Mankura M, Fujita-Hamabe W, Tokuyama S. Antinociceptive effects of docosahexaenoic acid against various pain stimuli in mice. *Biol Pharm Bull.* 2010;33(6):1070-1072.
119. Arroyo-Lira AG, Rodríguez-Ramos F, Chávez-Piña AE. Synergistic antinociceptive effect and gastric safety of the combination of docosahexaenoic acid and indomethacin in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2014;122:74-81.
120. Lien EL. Toxicology and safety of DHA. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids.* 2009;81(2-3):125-132.
121. Schuchardt JP, Hahn A. Bioavailability of long-chain omega-3 fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids.* 2013;89(1):1-8.
122. Syhr KMJ, Oertel BG, Geisslinger G. Arzneimittelinteraktionen in der Schmerztherapie. *Der Schmerz.* 2015;29(6):595-603.
123. Corrie K, Hardman JG. Mechanisms of drug interactions: pharmacodynamics and pharmacokinetics. *Anaesth Intensive Care Med.* 2017;18(7):331-334.
124. Raffa RB. Pharmacology of oral combination analgesics: Rational therapy for pain. *J Clin Pharm Ther.* 2001;26(4):257-264.
125. Breitinger H-G. Drug synergy – mechanisms and methods of analysis. *Toxic Drug Test.* 2012:143-166.
126. Schug SA, Zech D, Dörr U. Cancer pain management according to WHO analgesic guidelines. *J Nurse Midwifery.* 1990;5(1):27-32.
127. Chou T-C. Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies. *Pharmacol Rev.* 2006;58(3):621-681.
128. Tallarida RJ. Interactions between drugs and occupied receptors. *Pharmacol Ther.* 2007;113(1):197-209.
129. Tallarida RJ. Revisiting the isobole and related quantitative methods for assessing drug synergism. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;342(1):2-8.
130. Tallarida RJ, Porreca F, Cowan A. Statistical analysis of drug-drug and site-site interactions with isobolograms. *Life Sci.* 1989;45(11):947-961.
131. Tallarida RJ. The interaction index: A measure of drug synergism. *Pain.* 2002;98(1-2):163-168.
132. Mogil JS. Animal models of pain: progress and challenges. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10(4):283-294.
133. Mao J. Current challenges in translational pain research. *Trends Pharmacol Sci.* 2012;33(11):568-573.
134. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.* 2001;53(4):597-652.
135. Mogil JS, Simmonds K, Simmonds MJ. Pain research from 1975 to 2007: A categorical and bibliometric meta-trend analysis of every Research Paper published in the journal, *Pain.* 2009;142(1-2):48-58.

136. Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*. 2012;211:39-50.
137. Bannon AW, Malmberg AB. Models of Nociception: Hot-Plate, Tail-Flick, and Formalin Tests in Rodents. *Curr Protoc Neurosci*. 2007;(October):1-16.
138. Tjølsen A, Berge O-G, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*. 1992;51(1):5-17.
139. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*. 1977;4(C):161-174.
140. Picazo A, Castañeda-Hernández G, Ortiz MI. Examination of the interaction between peripheral diclofenac and gabapentin on the 5% formalin test in rats. *Life Sci*. 2006;79(24):2283-2287.
141. Ortega-Varela LF, Herrera JE, Caram-Salas NL, Rocha-González HI, Granados-Soto V. Isobolographic analyses of the gabapentin-metamizol combination after local peripheral, intrathecal and oral administration in the rat. *Pharmacology*. 2007;79(4):214-222.
142. Corona-Ramos JN, De la O-Arciniega M, Déciga-Campos M, y cols. The Antinociceptive Effects of Tramadol and/or Gabapentin on Rat Neuropathic Pain Induced by a Chronic Constriction Injury. *Drug Dev Res*. 2016;226:217-226.
143. Manzhulo I V., Ogurtsova OS, Lamash NE, Latyshev NA, Kasyanov SP, Dyuzhen I V. Analgetic effect of docosahexaenoic acid is mediated by modulating the microglia activity in the dorsal root ganglia in a rat model of neuropathic pain. *Acta Histochem*. 2015;117(7):659-666.
144. Miranda CA. Evaluación de la interacción farmacodinámica entre el diclofenaco y ácido decosahexaenoico (DHA) en el efecto analgésico y antiinflamatorio en un modelo murino. Tesis (Maestría en ciencias en biomedicina molecular). México, IPN Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía. 2016.
145. NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
146. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*. 1983;16(2):109-110.
147. Munro G. 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. *Eur J Pharmacol*. 2009;605(1-3):95-102.
148. Blackburn-Munro G. Pain-like behaviours in animals - How human are they? *Trends Pharmacol Sci*. 2004;25(6):299-305.
149. Larsen MS, Frølund S, Nøhr MK y cols. In vivo and in vitro evaluations of intestinal gabapentin absorption: Effect of dose and inhibitors on carrier-mediated transport. *Pharm Res*. 2013;32(3):898-909.
- 150.Coderre TJ, Vaccarino AL, Melzack R. Central-Nervous-System Plasticity in the Tonic Pain Response to Subcutaneous Formalin Injection. *Brain Res*. 1990;535(1):155-158.

151. Henry JL, Yashpal K, Pitcher GM, Coderre TJ. Physiological evidence that the “interphase” in the formalin test is due to active inhibition. *Pain*. 1999;82(1):57-63.
152. Straube S, Derry S, Ra M y cols. Single dose oral gabapentin for established acute postoperative pain in adults . *Cochrane database Syst Rev*. 2013;5(5):20464764.
153. Ortiz MI, Medina-Tato DA, Sarmiento-Heredia D, Palma-Martínez J, Granados-Soto V. Possible activation of the NO-cyclic GMP-protein kinase G-K⁺ channels pathway by gabapentin on the formalin test. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;83(3):420-427.
154. Hunter JC, Gogas KR, Hedley LR y cols. The effect of novel anti-epileptic drugs in rat experimental models of acute and chronic pain. *Eur J Pharmacol*. 1997;324(2-3):153-160.
155. Pedersen LH, Blackburn-Munro G. Pharmacological characterisation of place escape/avoidance behaviour in the rat chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Psychopharmacology*. 2006;185(2):208-217.
156. Yashpal K, Fisher K, Chabot JG, Coderre TJ. Differential effects of NMDA and group I mGluR antagonists on both nociception and spinal cord protein kinase C translocation in the formalin test and a model of neuropathic pain in rats. *Pain*. 2001;94(1):17-29.
157. Sweitzer SM, Wong SME, Peters MC, Mochly-Rosen D, Yeomans DC, Kendig JJ. Protein kinase C epsilon and gamma: involvement in formalin-induced nociception in neonatal rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;309(2):616-625.
158. Brenner GJ, Ji RR, Shaffer S, Woolf CJ. Peripheral noxious stimulation induces phosphorylation of the NMDA receptor NR1 subunit at the PKC-dependent site, serine-896, in spinal cord dorsal horn neurons. *Eur J Neurosci*. 2004;20(2):375-384.
159. Chen L, Mae Huang L-Y. Protein kinase C reduces Mg²⁺ block of NMDA-receptor channels as a mechanism of modulation. *Nature*. 1992;356(6369):521-523.
160. Sills GJ. The mechanisms of action of gabapentin and pregabalin. *Curr Opin Pharmacol*. 2006;6(1 SPEC. ISS.):108-113.
161. Vellani V, Giacomoni C. Gabapentin Inhibits Protein Kinase C Epsilon Translocation in Cultured Sensory Neurons with Additive Effects When Coapplied with Paracetamol (Acetaminophen). *Sci World J*. 2017;2017.
162. Xie JD, Chen SR, Chen H, Pan HL. Bortezomib induces neuropathic pain through protein kinase C-mediated activation of presynaptic NMDA receptors in the spinal cord. *Neuropharmacology*. 2017;123:477-487.
163. Hu H-J, Gereau RW. ERK integrates PKA and PKC signaling in superficial dorsal horn neurons. II. Modulation of neuronal excitability. *J Neurophysiol*. 2003;90(3):1680-1688.
164. Hu HJ, Carrasquillo Y, Karim F y col. The Kv4.2 Potassium Channel Subunit Is Required for Pain Plasticity. *Neuron*. 2006;50(1):89-100.
165. Dooley DJ, Taylor CP, Donevan S, Feltner D. Ca²⁺ channel Alpha2delta ligands: novel modulators of neurotransmission. *Trends Pharmacol Sci*. 2007;28(2):75-82.
166. Calandre EP, Rico-Villademoros F, Slim M. Alpha2delta ligands, gabapentin, pregabalin and mirogabalin: a review of their clinical pharmacology and therapeutic

use. *Expert Rev Neurother.* 2016;16(11):1263-1277.

167. Lana B, Schlick B, Martin S y cols. Differential upregulation in DRG neurons of an $\alpha 2\delta$ -1 splice variant with a lower affinity for gabapentin after peripheral sensory nerve injury. *Pain.* 2014;155(3):522-533.
168. Nakamoto K, Nishinaka T, Ambo A, Mankura M, Kasuya F, Tokuyama S. Possible involvement of β -endorphin in docosahexaenoic acid-induced antinociception. *Eur J Pharmacol.* 2011;666(1-3):100-104.
- 169.Coderre TJ, Vaccarino AL, Melzack R. Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. *Brain Res.* 1990;535(1):155-158.
170. Nakamoto K, Nishinaka T, Ambo A, Mankura M, Kasuya F, Tokuyama S. Possible involvement of β -endorphin in docosahexaenoic acid-induced antinociception. *Eur J Pharmacol.* 2011;666(1-3):100-104.
171. Nakamoto K, Nishinaka T, Matsumoto K y cols. Involvement of the long-chain fatty acid receptor GPR40 as a novel pain regulatory system. *Brain Res.* 2012;1432:74-83.
172. Ji RR, Xu ZZ, Strichartz G, Serhan CN. Emerging roles of resolvins in the resolution of inflammation and pain. *Trends Neurosci.* 2011;34(11):599-609.
173. Serhan CN, Clish CB, Brannon J, Colgan SP, Chiang N, Gronert K. Novel functional sets of lipid-derived mediators with antiinflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing. *J Exp Med.* 2000;192(8):1197-1204.
174. Park C-K, Xu Z-Z, Liu T, Lu N, Serhan CN, Ji R-R. Resolvin D2 Is a Potent Endogenous Inhibitor for Transient Receptor Potential Subtype V1/A1, Inflammatory Pain, and Spinal Cord Synaptic Plasticity in Mice: Distinct Roles of Resolvin D1, D2, and E1. *J Neurosci.* 2011;31(50):18433-18438.
175. Cao D, Zhou C, Sun L, Xue R, Xu J, Liu Z. Chronic administration of ethyl docosahexaenoate reduces gerbil brain eicosanoid productions following ischemia and reperfusion. *J Nutr Biochem.* 2006;17(4):234-241.
176. Bang S, Yoo S, Yang TJ, Cho H, Kim YG, Hwang SW. Resolvin D1 attenuates activation of sensory transient receptor potential channels leading to multiple antinociception. *Br J Pharmacol.* 2010;161(3):707-720.
177. Landa-Juárez AY, Ortiz MI, Castañeda-Hernández G, Chávez-Piña AE. Participation of potassium channels in the antinociceptive effect of docosahexaenoic acid in the rat formalin test. *Eur J Pharmacol.* 2016;793:95-100.
178. Xu Z-Z, Zhang L, Liu T y cols. Resolvins RvE1 and RvD1 attenuate inflammatory pain via central and peripheral actions. *Nat Med.* 2010;16(5):592-597.
179. Fritsche KL. The Science of Fatty Acids and Inflammation 1 – 3. *Adv Nutr.* 2015;6:293-301.
180. Libinaki R. Changes in Bioavailability of Omega-3 (DHA) through Alpha-Tocopheryl Phosphate Mixture (TPM) after Oral Administration in Rats. *Nutrients.* 2017;9(9):1042.
181. Schuchardt J, Schneider I, Meyer H, Neubronner J, von Schacky C, Hahn A. Incorporation of EPA and DHA into plasma phospholipids in response to different

omega-3 fatty acid formulations - a comparative bioavailability study of fish oil vs. krill oil. *Lipids Health Dis.* 2011;10(1):145.

182. Wong SW, Kwon MJ, Choi AMK, Kim HP, Nakahira K, Hwang DH. Fatty acids modulate toll-like receptor 4 activation through regulation of receptor dimerization and recruitment into lipid rafts in a reactive oxygen species-dependent manner. *J Biol Chem.* 2009;284(40):27384-27392.
183. Oh DY, Talukdar S, Bae EJ y cols. GPR120 Is an Omega-3 Fatty Acid Receptor Mediating Potent Anti-inflammatory and Insulin-Sensitizing Effects. *Cell.* 2010;142(5):687-698.
184. Rao JS, Ertley RN, Jr JCD, Rapoport SI, Bazinet RP, Lee H. Dietary n-3 PUFA deprivation alters expression of enzymes of the arachidonic and docosahexaenoic acid cascades in rat frontal cortex. *Mol Psychiatr.* 2007;12:151-157.
185. Heng LJ, Qi R, Yang RH, Xu GZ. Docosahexaenoic acid inhibits mechanical allodynia and thermal hyperalgesia in diabetic rats by decreasing the excitability of DRG neurons. *Exp Neurol.* 2015;271:291-300.