



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SEDE SUR**

Departamento de Farmacobiología

**Alteraciones nociceptivas por una dieta alta en sacarosa en ratas
Wistar hembras hipoestrogénicas obesas**

Tesis que presenta:

M. en C. Osmar Antonio Jaramillo Morales

Para obtener el grado de
Doctor en Ciencias en
Neurofarmacología y Terapéutica Experimental

Director de tesis:

Dr. Francisco Javier López Muñoz

México, D.F.

Junio del 2017

Este trabajo se realizó en el Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav-Sede Sur) bajo la tutoría de Dr. Francisco Javier López Muñoz.

Durante la realización del trabajo se contó con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través de la beca de doctorado No. 243335.

AGRADECIMIENTOS

Una vez terminado un ciclo tan emocionante y lleno de satisfacciones es indispensable reconocer y agradecer la ayuda de varias personas. Antes que a nadie agradezco a Dios por estar siempre a mi lado y darme las bendiciones y el conocimiento necesario para poder llegar hasta donde ahora me encuentro

- A mi director de tesis, Dr. Francisco Javier López Muñoz por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo y por toda la dedicación, disponibilidad y paciencia que me ofreció durante todo este tiempo.
- A los sinodales de mi Comité de Tesis, por sus valiosas aportaciones en las diferentes presentaciones de los avances del proyecto y en la redacción de la presente tesis: Dra. Adriana Miriam Domínguez y Ramírez, Dra. Ana Laura Martínez Martínez, Dra. Norma Leticia Gómez Víquez y Dra. Claudia González Espinosa.
- Al Sr. José Sabino Ledesma y Luis Oliva por considerarme más que una visita temporal en el laboratorio y compartir conmigo sus experiencias tanto laborales como personales.

DEDICATORIA

Con todo mi cariño, admiración y respeto:

A mi abuela:

Antonia Estrada †

A mis padres:

*José Antonio Jaramillo González
Josefina Morales Estrada*

A mis hermanas:

*Nallely Sariana Jaramillo Morales
Nubia Edith Jaramillo Morales*

A mi esposa:

Nereida Violeta Vega Cabrera

Ya que por ellos siempre he tenido grandes motivos para seguir adelante.

ÍNDICE

	Pág
Índice general	i
Abreviaturas	iv
Índice de figuras	vii
Resumen	x
Abstract	xi
I. Introducción	1
1. Menopausia.....	1
2. Obesidad.....	1
2.1. Epidemiología.....	3
2.2. Factores predisponentes.....	3
2.3. Obesidad, un trastorno inflamatorio.....	4
2.4. Inflamación.....	7
2.5. Consecuencias de la obesidad.....	9
3. Dolor.....	9
3.1. Fisiología del dolor.....	10
3.2. Clasificación del dolor.....	11

3.2.1. Dolor nociceptivo.....	11
3.2.2. Dolor inflamatorio.....	13
3.2.3. Dolor neuropático.....	15
3.3. Mecanismos moleculares del dolor.....	16
4. Ganancia de peso y percepción de dolor.....	21
5. Efecto antinociceptivo de ketoprofeno e incremento de peso.....	22
II. Justificación.....	25
III. Hipótesis.....	25
IV. Objetivos generales.....	25
V. Objetivos específicos.....	26
VI. Material y métodos.....	27
1. Animales.....	27
2. Compuestos.....	27
3. Técnica quirúrgica (ovariectomía).....	28
4. Diseño experimental.....	28
5. Determinación del índice de masa corporal.....	30
6. Medición de la actividad nociceptiva y antinociceptiva.....	30
7. Evaluación de los niveles de glucosa en sangre.....	31
8. Obtención de suero y tejido adiposo abdominal.....	31
9. Cuantificación de los niveles de insulina, y expresión de mediadores inflamatorios (IL-1 β , TNF- α), adiponectina, leptina, β -endorfinas y 17 β -estradiol por el método de ELISA.....	32
VII. Análisis estadístico.....	32

VIII. Resultados.....	33
1. Ganancia de peso en ratas ovariectomizadas alimentadas con dieta alta en sacarosa.....	33
2. Índice de masa corporal en ratas ovariectomizadas alimentadas con dieta alta en sacarosa.....	34
3. Respuesta sobre el umbral térmico (nocicepción) en ratas ovariectomizadas alimentadas con dieta alta en sacarosa.....	36
4. Alteraciones nociceptivas en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas.....	38
5. Peso de grasa abdominal en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas.....	39
6. Niveles de glucosa en sangre en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas.....	41
7. Niveles de insulina en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas.....	42
8. Expresión de IL-1 β , TNF- α y leptina en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas.....	43
9. Cuantificación de β -endorfinas y 17 β -estradiol y adiponectina en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas.....	46
10. Efecto antinociceptivo de ketoprofeno en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas.....	48
IX. Discusión.....	59
X. Conclusión.....	71
XI. Perspectivas.....	72
XII. Referencias.....	73
XIII. Anexos.....	84

ABREVIATURAS

µg/mL	Microgramos por mililitro
µL	Microlitros
5HT	Serotonina
ABC	Área Bajo la Curva
AINES	Analgésicos Antiinflamatorios no esteroideos
AMPA	Receptor del ácido α - amino-3-hidroxi-5-metil-4 isoxazol propionato
ASIC	Canal iónico sensible a ácido
ATP	Adenosintrifosfato
BDNF	Factor neurotrófico derivado del Cerebro
CDR	Curva Dosis Respuesta
CGRP	Péptido Relacionado con el Gen de la Calcitonina
COX	Ciclooxigenasa
COX-2	Ciclooxigenasa 2
CREB	Elemento Modulador de respuesta a AMPC
E.E.	Error estándar
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
GRD	Ganglios de la Raíz Dorsal
IASP	Asociación Internacional para el Estudio y Tratamiento del Dolor
IL-1 β	Interleucina 1-Beta
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Masa Corporal
IP3	1,4,5-inositol trifosfato

LIF	Factor Inhibidor de la Leucemia
MDEG	Canal iónico perteneciente a la familia de las degenerinas de mamíferos
mg/kg	Miligramos por kilogramo
ng/mL	nanogramos por mililitro
NGF	Factor de crecimiento neuronal
NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	Óxido nítrico
NOS	Sintasa de óxido nítrico
Ovx-Ctrl	Ovariectomizada control
Ovx-Obesa	Ovariectomizada obesa
Ovx-Sobrepeso	Ovariectomizada con sobrepeso
Ovx-Suc	Ovariectomizada alimentada con dieta alta en sacarosa 30%
p.o	Vía oral
PG	Prostaglandinas
pg/mL	Picogramos por mililitro
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
rpm	Revoluciones por minuto
SNC	Sistema Nervioso Central
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral-Alfa
TRAAK	Canal de potasio estimulado por ácido araquidónico y relacionado a TWIK
TREK1-2	Canal de Potasio con dos dominios de poro
TrkB	Receptor tirosina cinasa B
TRPA1	Receptor de potencial transitorio subfamilia A miembro 1

TRPM8	Receptor de potencial transitorio subfamilia M miembro 8
TRPV1-4	Receptor de potencial transitorio vanilloide
OMS	Organización Mundial de la Salud

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
1. Factores etiológicos en la patogénesis de la obesidad.....	4
2. Principales sustancias secretadas por el adipocito.....	6
3. Respuesta inflamatoria.....	8
4. Procesos que participan en la percepción del dolor.....	10
5. Dolor nociceptivo.....	12
6. Dolor inflamatorio.....	14
7. Representación gráfica de los fenómenos de alodinia e hiperalgesia.....	15
8. Mecanismos moleculares de la sensibilización periférica.....	18
9. Mecanismos moleculares de la sensibilización central.....	20
10. Ganancia de peso (g) del grupo Ovx-Ctrl y Ovx-Suc alimentados con una dieta alta en sacarosa (30%) durante 24 semanas.....	34
11. Índice de masa corporal (g/cm ²) del grupo Ovx-Ctrl y Ovx-Suc alimentados con una dieta alta en sacarosa (30%) durante 24 semanas.....	36
12. Latencia térmica (s) del grupo Ovx-Ctrl y del grupo Ovx-Suc alimentado con una dieta alta en sacarosa 30% durante 24 semanas.....	37
13. Peso de grasa abdominal del grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesas comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl).....	41
14. Niveles de glucosa en sangre del grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa vs Ovx-Ctrl.....	42

15. Niveles de insulina sérico de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl).....	43
16. Niveles de TNF- α analizados por el método ELISA en tejido adiposo de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl).....	44
17. Niveles de IL-1 β detectados por el método ELISA en tejido adiposo de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl).....	45
18. Niveles de leptina detectados por el método ELISA en tejido adiposo de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl).....	45
19. Niveles de β -endorfinas detectados por el método ELISA en suero de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl).....	47
20. Niveles de 17 β -estradiol detectados por el método ELISA en suero de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl).....	47
21. Niveles de adiponectina detectados por el método ELISA en suero de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl).....	48
22. Curso temporal del efecto anti-hiperalgésico (antinocicepción) generado por Ketoprofeno en el grupo Ovx-Sobrepeso (Panel A) y Ovx-Ctrl (Panel B).....	50
23. Curso temporal del efecto anti-hiperalgésico (antinocicepción) generado por ketoprofeno en el grupo Ovx-Obeso (Panel A) y Ovx-Ctrl (Panel B).....	51
24. Panel A: Efecto antinociceptivo (ABC= área bajo la curva) de los cursos temporales de ketoprofeno (31.6 mg/kg, p.o.) del grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Ctrl. Panel B: Efecto antinociceptivo (ABC) de los cursos temporales de ketoprofeno (100.0 mg/kg, p.o.) del grupo Ovx-Obesa y Ovx-Ctrl.....	53

25. Panel A: Curva dosis respuesta del efecto anti-hiperalgésico de ketoprofeno en el grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Ctrl. Los animales fueron administrados con vehículo (carboximetilcelulosa 0.5 %) o dosis crecientes de ketoprofeno (1.8, 5.6, 10.0, 17.8 o 31.6 mg/Kg p.o.). Panel B: Curva dosis respuesta del efecto anti-hiperalgésico de ketoprofeno en el grupo Ovx-Obesa y Ovx-Ctrl. Los animales fueron administrados con vehículo (carboximetilcelulosa 0.5 %) o dosis crecientes de ketoprofeno (10.0, 31.6 o 100.0 mg/Kg p.o.)..... **55**

26. Panel A: Curva dosis respuesta del efecto anti-hiperalgésico de ketoprofeno en el grupo Ovx-Ctrl alimentado con agua purificada por 4 y 17 semanas. Los animales fueron administrados con vehículo (carboximetilcelulosa 0.5 %) o dosis crecientes de ketoprofeno (1.8, 5.6, 10.0, 17.8, 31.6 o 100.0 mg/Kg p.o.). Panel B: Curva dosis respuesta del efecto anti-hiperalgésico de ketoprofeno en el grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa. Los animales fueron administrados con vehículo (carboximetilcelulosa 0.5 %) o dosis crecientes de ketoprofeno (1.8, 5.6, 10.0, 17.8, 31.6 o 100.0 mg/Kg p.o.)..... **57**

RESUMEN

La menopausia es un estado biológico en la vida de la mujer que se caracteriza, entre otros cambios, por una deficiencia de estrógenos. En la clínica, las mujeres en estado menopáusico presentan una alta incidencia al aumento del tejido adiposo lo que favorece la ganancia de peso corporal en comparación con los hombres. La obesidad es un factor de riesgo asociado con alteraciones en la percepción del dolor. Sin embargo, no está bien establecido en qué sentido modifica la percepción del dolor o los mediadores químicos que están involucrados, así como su mecanismo de acción. Los AINES, como el ketoprofeno, son fármacos frecuentemente utilizados en el tratamiento del dolor. No obstante, no existen estudios que evalúen la respuesta analgésica en pacientes con sobrepeso y obesos. El objetivo de este estudio fue evaluar el curso temporal de la nocicepción térmica en ratas Wistar hembras hipoestrogénicas con una ingesta alta en sacarosa (30% p/v) y analizar la respuesta antinociceptiva del ketoprofeno en ellas. Se utilizaron ratas Wistar hembras, las cuales fueron divididas en 2 grupos (n=10), a ambos se les realizó la ovariectomía bilateral. La dieta consistió en alimento estándar *ad libitum* y agua o una solución de sacarosa al 30% en el agua de beber durante 24 semanas para inducir el estado de obesidad. Semanalmente se evaluó el peso corporal, la nocicepción térmica mediante el método de Plantar test así como el índice de masa corporal (IMC). A las 4 semanas (estado de sobrepeso) y 17 (estado de obesidad) semanas con la dieta, a ambos grupos se les determinaron los niveles de glucosa en sangre, peso de la grasa abdominal, niveles de insulina, los mediadores de inflamación (IL-1 β , TNF- α) en tejido adiposo abdominal y expresión de adiponectina, leptina, β -endorfinas y 17 β -estradiol en suero por la técnica de ELISA. Además se evaluó el efecto antinociceptivo de ketoprofeno (1.8-100.0 mg/kg, p.o.), en tratamiento agudo, en estos dos estados de ganancia de peso. Los resultados mostraron un incremento estadísticamente significativo en el peso corporal, grasa abdominal e IMC en animales alimentados con sacarosa 30%. El sobrepeso y la obesidad modificaron la respuesta antinociceptiva de ketoprofeno. Se observó una respuesta bifásica a la estimulación térmica, en el estado de sobrepeso se observó una respuesta hiperalgésica (disminución significativa en la latencia térmica) y niveles elevados de insulina, IL-1 β y TNF α ; mientras que en estado de obesidad se manifestó una respuesta hipoalgésica (aumento significativo en la latencia térmica) y niveles elevados de insulina, 17- β estradiol y β -endorfinas. La administración de ketoprofeno mostró efectos dependientes de la dosis en los dos estados de ganancia de peso, pero la potencia y la eficacia antinociceptiva se modificaron. Estos resultados sugieren alteraciones nociceptivas conforme avanza el estado de obesidad en ratas ovariectomizadas. La respuesta bifásica es el

resultado de la hiperinsulinemia y de la activación de mediadores proinflamatorios como IL-1 β y TNF α para hiperalgesia (sobrepeso) y 17- β estradiol y β -endorfinas, así como niveles elevados de insulina para el estado hipoalgésico (obesidad).

ABSTRACT

Menopause is a biological state in woman's life, and it is characterized by a deficiency of estrogens. In clinics, menopausal women show a high incidence to increase adipose tissue which promotes a greater body weight gain compared to men. Obesity is a risk factor associated with alterations in pain sensitivity. However, the chemical mediators that are involved as well as their mechanism of action have not been adequately established yet. NSAIDs, as ketoprofen are drugs frequently used in the treatment of pain. Nevertheless, there are no studies that have evaluated the analgesic response in overweight and obese patients. The aim of this study was to evaluate the time course of thermal nociception in hypoestronic female Wistar rats with a high 30% sucrose intake and analyze the antinociceptive response using ketoprofen. Female Wistar rats were used, divided into 2 groups (n= 10), both underwent bilateral ovariectomy. The diet consisted of standard food ad libitum and water or a solution of 30% sucrose in their drinking water for 24 weeks to induce obesity status. Weekly body, thermal nociception and the body mass index (BMI) was evaluated. Nociception was assessed using the Plantar test. At 4 (overweight state) and 17 (obese state) weeks with diet in both groups the levels of blood glucose, weight of abdominal fat, insulin levels, quantification of inflammatory mediators (determined IL-1 β , TNF- α) in abdominal adipose tissue and expression of adiponectin, leptin, and 17- β -estradiol β -endorphin in serum by ELISA were determined. In addition the effects of acute administration of ketoprofen (1.8-100.0 mg/kg p.o.) in these two states of weight gain were evaluated. The results showed a statistically significant increase in body weight, abdominal fat and BMI in 30% sucrose-fed animals. A biphasic response to thermal stimulation was observed: in the state of overweight an hyperalgesic response (significant decrease in thermal latency) and high insulin levels, IL-1 β and TNF α was exhibited, while in the state of obesity an hipoalgésic response was manifested (significant increase in thermal latency) and high insulin levels, 17- β estradiol and β -endorphin. Additionally, the administration of ketoprofen showed dose-dependent effects in the two states gain weight, but antinociceptive potency and efficacy were modified. These results suggest that nociception was altered in the ovarientomized animals according obesity state progresses. The biphasic response is the result of the hyperinsulinaemia and the activation of proinflammatory mediators as IL-1 β and TNF α to hyperalgesia (overweight) and 17- β estradiol and β -endorphin as well as an increase in the insulin levels for hipoalgésic state (obesity). In addition, the state of overweight and obesity modifies the antinociceptive response of ketoprofen.

I. INTRODUCCIÓN

En este trabajo se estudiaron las alteraciones nociceptivas producidas en el progreso del estado de obesidad generado por una dieta alta en carbohidratos (sacarosa 30 %) y los cambios en el efecto antinociceptivo de ketoprofeno (1.8-100.0 mg/kg p.o.) durante el progreso de la obesidad. El análisis se llevó a cabo en ratas hembras ovariectomizadas. A continuación se revisan los antecedentes en la literatura sobre la percepción del dolor asociados generalmente con la obesidad.

1. MENOPAUSIA

La menopausia es una etapa biológica en la vida de la mujer caracterizada entre otros cambios, principalmente por una disminución en la producción de los estrógenos (Kok y cols., 2012). Y la cual ha sido asociada con diversos cambios fisiológicos. Por ejemplo, estudios a nivel clínico y preclínico han reportado que la deficiencia de estrógenos está relacionada con una mayor percepción a los estímulos dolorosos (Shuster, 2012; Merigiola y cols., 2012) y un aumento en los niveles séricos de citocinas pro-inflamatorias tales como interleucina-1 β (IL-1 β), factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y de leptina (Zheng y cols., 1997; Kocyigit y cols., 2013). Además, se ha señalado que este déficit de estrógeno contribuye a un aumento del tejido adiposo lo que favorece la ganancia de peso en mujeres menopaúsicas (Toth y cols., 2000; Rogers y cols., 2009).

2. OBESIDAD

La Organización Mundial de la salud, OMS (WHO por sus siglas en inglés) define al sobrepeso y a la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (WHO, 2000). En la actualidad el sobrepeso y la obesidad representan un grave problema de proporción epidémica

(Flegal y cols., 2012), que traen consigo complicaciones negativas en la calidad de vida de las personas. La OMS clasifica a la obesidad según el índice de masa corporal (IMC) (Tabla 1), el cual consiste en dividir el peso en kilogramos entre la talla (estatura, expresada en metros) elevada al cuadrado.

$$\text{IMC} = \text{kg} / \text{m}^2$$

ÍNDICE DE MASA CORPORAL				
Normopeso	Preobesidad	OBESIDAD		
		Tipo I	Tipo II	Tipo III
18.5-24.99	25-29.99	30-34.99	35-39.99	≥ 40

Tabla 1. Clasificación de la obesidad: OMS, 2000.

El IMC proporciona la medida más útil del sobrepeso y de obesidad en la población en general, considerando que, es la misma para ambos sexos y para los adultos de todas las edades. Hay que mencionar, además que existen otras medidas antropométricas que se han propuesto como predictores de riesgo de complicaciones metabólicas como la resistencia insulínica, dislipidemias, hipercolesterolemia, hipertensión arterial, diabetes tipo II, etc., (Flegal y cols., 2012).

Por otra parte, se reconocen cuatro tipos de obesidad según la distribución de la grasa: 1) periférica: acumulación de masa corporal o porcentaje de grasa independientemente de su sitio de acumulación, 2) androide (forma de manzana): acumulación de grasa subcutánea, en el tórax, la cara y abdomen, se presenta frecuentemente en varones, 3) central: exceso de grasa abdominal visceral y, 4) ginecoide (forma de pera), exceso de grasa en los muslos y caderas, se presenta comúnmente en mujeres (Flegal y cols., 2012).

2.1. Epidemiología

La OMS ha reportado, que en el año 2014, alrededor del 13 % (600 millones) de la población adulta mundial (11 % de los hombres y 15 % de las mujeres) eran obesos y de los más de 1900 millones de adultos de 18 o más años (38% de los hombres y 40 % de las mujeres) presentaban sobrepeso (WHO, 2016).

Por otro lado, organizaciones internacionales como la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) han alertado sobre el aumento en la prevalencia de obesidad en México, teniendo en cuenta que, de las 1200 millones de personas que presentan sobrepeso y obesidad en el mundo, 80 millones son mexicanos y ubican a México en segundo lugar de los países con mayor índice en su población, superado únicamente por Estados Unidos de América. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2012, mencionó que 70 % de los mexicanos adultos tiene exceso de peso corporal y de éstos, el 40 % muestran obesidad. Se hace mención que la velocidad en el incremento de la prevalencia de obesidad disminuyó notablemente en el periodo del 2006-2012 con 0.35 % anual contrastado con el periodo 2000-2006 que era del 2 % anual; no obstante, los individuos que tienen sobrepeso desarrollan obesidad, en poco tiempo.

2.2. Factores predisponentes

El sobrepeso y la obesidad son enfermedades crónicas de etiología multifactorial, que se originan por un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas, a causa de alteraciones genéticas (regulación endócrina del apetito), ambientales, socioculturales y psicológicos (Bell y cols., 2005; Morton y cols., 2006; Kantartzis y cols., 2011) como se puede apreciar en la figura 1.

En los últimos años, en el mundo, se ha ocasionado no solo un aumento en la ingesta de alimentos hipercalóricos que son ricos en grasa, sal y azúcares pero

carentes en vitaminas, minerales y otros micronutrientes, sino también un declive en la actividad física como efecto de la naturaleza cada vez más sedentaria de muchas formas de trabajo, de los nuevos modos de desplazamiento y de una creciente urbanización (WHO, 2016). Por lo tanto, cuando la ingesta de energía ingerida es superior a la energía gastada, el exceso de calorías se almacena en los adipocitos en el tejido adiposo, los cuales aumentan en tamaño (hipertrofia) y/o número (hiperplasia), sí este desequilibrio se mantiene, da origen a la obesidad.

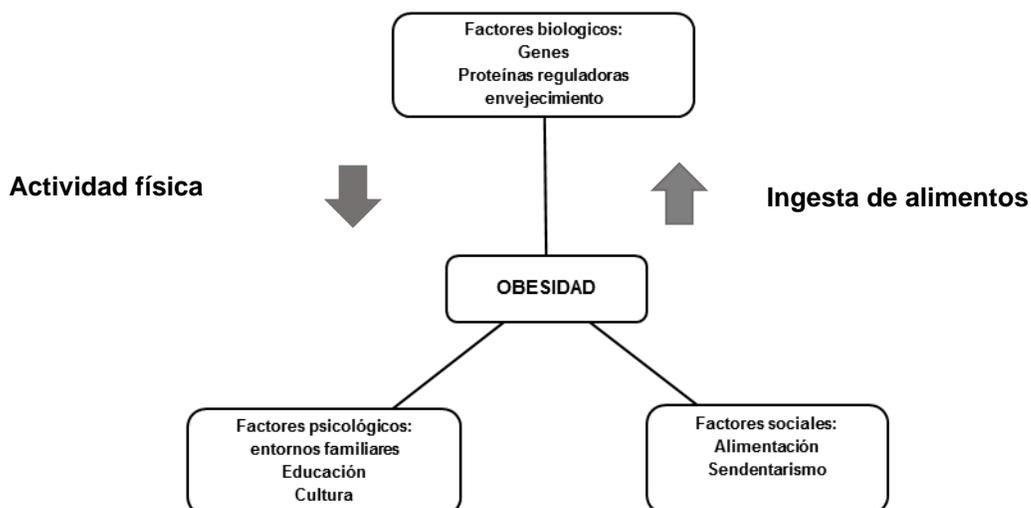


Figura 1. Factores etiológicos en la patogénesis de la obesidad. (Modificado de Bells y cols.2005).

2.3. Obesidad, un trastorno inflamatorio

Durante los últimos años, se ha acumulado amplia evidencia que sugiere que la obesidad está asociada con un proceso inflamatorio que suele ser crónico y de bajo grado de intensidad (Tilg y Moschen, 2006; Vachharajani y Granger, 2009) el cual se caracteriza principalmente por la expansión del tejido adiposo.

Esta inflamación difiere del proceso inflamatorio clásico, en vista de que no presenta la respuesta desencadenada por el organismo ante una infección o una herida, caracterizada principalmente por diferentes manifestaciones biológicas como hinchazón, rubor, dolor y fiebre, teniendo como fin el restablecimiento de la homeostasis (Medzhitov, 2008); en cambio es similar en relación a que comparten las alteraciones en los mediadores químicos de inflamación clásicos y las vías de señalización (Medzhitov, 2008).

Evidencias clínicas han considerado que la obesidad presenta un estado de inflamación crónica de bajo grado, la cual es independiente de infecciones o daños tisulares. Es consecuencia de cambios ambientales que no estaban presentes en los comienzos de la evolución humana, como la dieta con alto contenido calórico, el sedentarismo, la exposición a compuestos tóxicos y el envejecimiento (Medzhitov, 2008).

Hasta el siglo pasado se había catalogado al tejido adiposo como el sitio de almacenamiento de energía. Sin embargo, en la actualidad se han exhibido otras funciones fisiológicas, dado que el tejido adiposo es un órgano endocrino y activo (Kershaw y Flier, 2004) capaz de liberar y almacenar múltiples sustancias bioactivas como adipocinas (leptina, adiponectina), citocinas (IL-1 β , TNF- α) hormonas (17- β -estradiol) y opioides (β -endorfinas) (Ramzan y cols., 1993; Trayhurn, 2005, Deng y Scherer, 2010), que participan en la regulación de diversos tejidos, teniendo acción parácrina, autócrina e incluso ejerciendo efecto en órganos distantes (Figura 2). De igual modo contiene una gran diversidad de receptores que le permite interactuar con otros efectores. En conjunto, las diversas sustancias secretadas por el tejido adiposo ejercen diferentes efectos farmacológicos que aún no están bien establecidos hasta este momento por lo que es de suma importancia discernir los efectos producidos por las proteínas secretadas por el tejido adiposo.

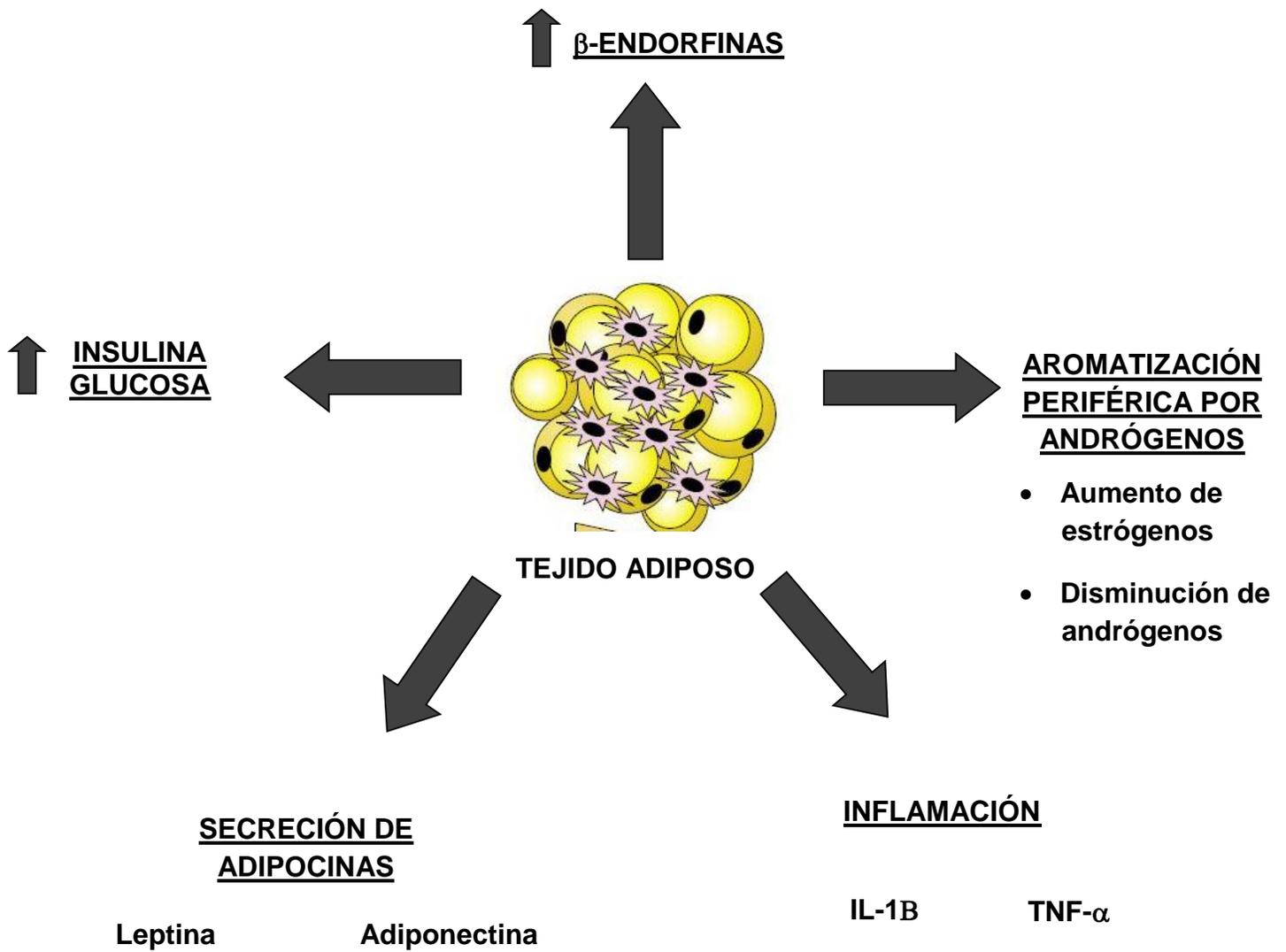


Figura 2. Principales proteínas secretadas por el Adipocito.
 IL-1β: Interleucina 1-beta; TNF-α: Factor de Necrosis Tumoral Alfa.

2.4. Inflamación

La inflamación es una reacción de defensa biológica que se presenta como respuesta tanto a infecciones como a una diversidad de estímulos generadores de lesión tisular (traumáticos, tóxicos, isquémicos, autoinmunes, etc) (Hotamisligil, 2006; Medzhitov, 2008). Actúa como un mecanismo homeostático y tiene como fin una respuesta reparadora, cuyo objetivo final es mitigar la causa inicial de la lesión celular así como las consecuencias de las mismas, proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica (Figura 3), por lo tanto, se considera que la respuesta inflamatoria es beneficiosa. Esta respuesta involucra el reclutamiento coordinado de componentes provenientes de la sangre, como proteínas del plasma y leucocitos dentro del tejido perturbado. Esta migración es facilitada por alteraciones en la vasculatura local que conduce a la vasodilatación, un incremento en la permeabilidad vascular y un incremento en el flujo sanguíneo. La infección producida por microorganismos invasores generalmente es considerada como la mayor causa que promueve la respuesta inflamatoria. Sin embargo, una lesión (en ausencia de infección) o la exposición ante partículas irritantes también son activadores de la inflamación (Medzhitov, 2008).

Este proceso inflamatorio consiste en una cascada estrechamente coordinada de procesos inmunes, fisiológicos y conductuales. La activación de células cebadas y macrófagos residentes del tejido conduce a la producción y liberación de diversos mediadores inflamatorios que incluyen citocinas, quimiocinas, aminas vasoactivas, eicosanoides y productos de cascadas proteolíticas que en conjunto generan los signos y síntomas característicos de esta respuesta. Se sabe que la inflamación se caracteriza por: tumor (hinchazón), rubor, calor, dolor y pérdida de la función (Hotamisligil, 2006; Medzhitov, 2008).

Aunque la inflamación suele acompañarse de una respuesta caracterizada por un cuadro clínico específico, en ocasiones, la inflamación provoca una reacción generalizada a modo de espiral sin control, que conduce al fracaso funcional de los diferentes órganos y sistemas, provocando, la muerte del paciente (Hotamisligil, 2006).

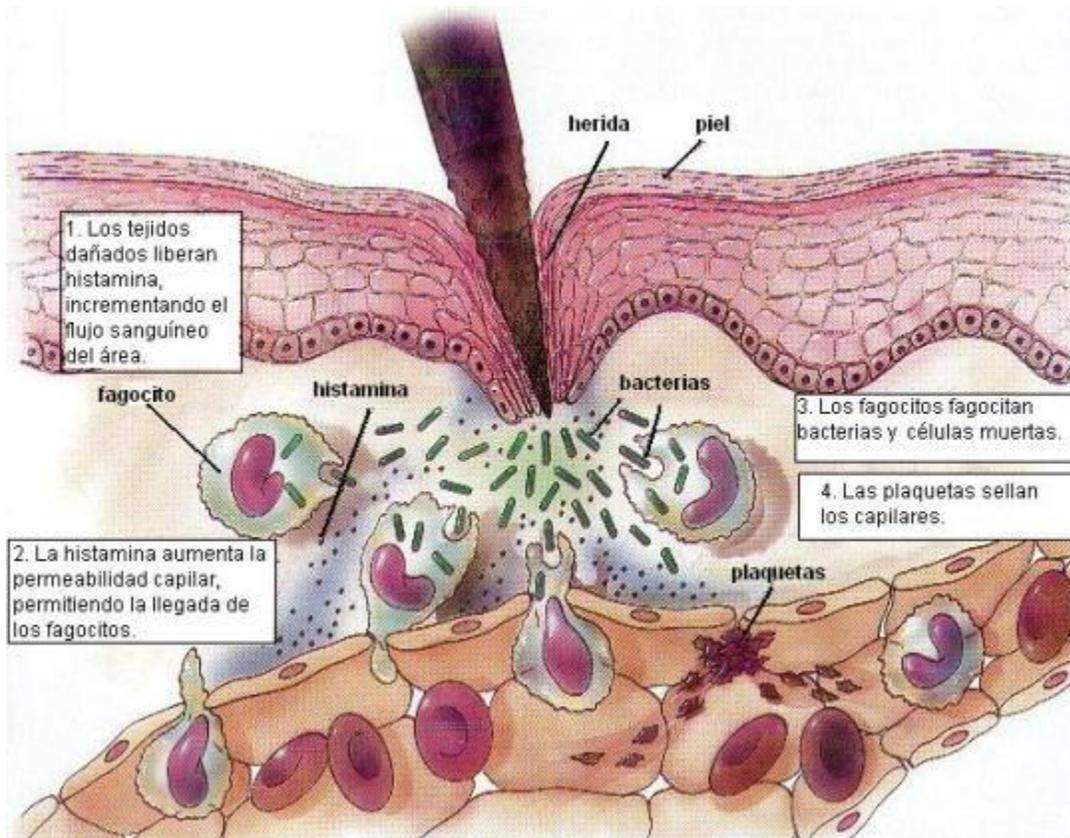


Figura 3. La respuesta inflamatoria es una línea secundaria de defensa ante la invasión de patógenos u otro tipo de daño al tejido. La respuesta inicia cuando el tejido dañado libera histamina y otras sustancias, lo cual atrae a células inmunes al área dañada a través del flujo sanguíneo. La histamina causa vasodilatación celular lo que facilita que fagocitos y otras células inflamatorias migren hacia la lesión. Los fagocitos además de tener como función principal fagocitar a patógenos, también liberan una serie de mediadores inflamatorios que desencadenan y amplían la respuesta inflamatoria.

2.5. Consecuencias de la obesidad

Los principales efectos deletéreos de la obesidad radican en las enfermedades crónicas que se correlacionan con un aumento en el IMC, como son: trastornos cardiovasculares, cáncer, entre otras, y que actualmente son las de mayor mortalidad en el mundo y en nuestro país (Guh y cols., 2009). Es necesario resaltar que estos pacientes tienen otras complicaciones, como la presencia de dolor. Varios estudios poblacionales han demostrado que la ganancia de peso es un factor de riesgo asociado con varios síndromes dolorosos, por ejemplo: osteoartritis, dolor de espalda baja, fibromialgia, etc. (Hitt y cols., 2007; Marcus, 2004; Grotle y cols., 2008; Peterlin y cols., 2010; D'Arcy, 2011). Sin embargo, los mecanismos que subyacen a esta asociación no están bien establecidos. Múltiples estudios muestran que un incremento en la cantidad de tejido adiposo es el responsable de las enfermedades antes mencionadas; por tanto, se ha replanteado el papel del tejido adiposo en el cuerpo humano, pasando de ser un simple reservorio de ácidos grasos a un órgano que participa en procesos endocrinos e inflamatorios, que favorecen la aparición de alteraciones dolorosas (Hitt y cols., 2007).

3. DOLOR

La Asociación Internacional para el Estudio y Tratamiento del Dolor (IASP por sus siglas en inglés) define el dolor como: “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular real o potencial que se puede describir en términos de la magnitud del daño” (Loeser y Melzack, 1999).

3.1. Fisiología del dolor

La nocicepción es un término neurofisiológico que se refiere a los procesos neuronales por los cuales se detectan los estímulos nocivos. Este mecanismo electroquímico comprende los procesos de transducción, transmisión, modulación y percepción (Hyman y Cassem, 1995).

Los estímulos dolorosos de tipo térmico, mecánico y químico se detectan por terminaciones nerviosas de neuronas sensoriales aferentes primarias denominadas nociceptores (Julius y Basbaum, 2001), cuyos somas se encuentran en ganglios sensoriales como los ganglios de la raíz dorsal (GRD). La señal eléctrica producida mediante la transducción del estímulo nocivo es procesada en forma de potencial de acción que viaja a través de las fibras aferentes primarias y es transmitida a las neuronas de segundo orden en el asta dorsal de la médula espinal. En esta región y mediante un proceso de modulación sináptica, se inhibe o amplifica esta señal eléctrica. Desde la médula espinal la señal se proyecta a neuronas sensoriales de tercer orden localizadas en centros superiores del cerebro, donde se percibe e interpreta como desagradable (Figura 4) (McMahon y Koltzenburg, 2005).

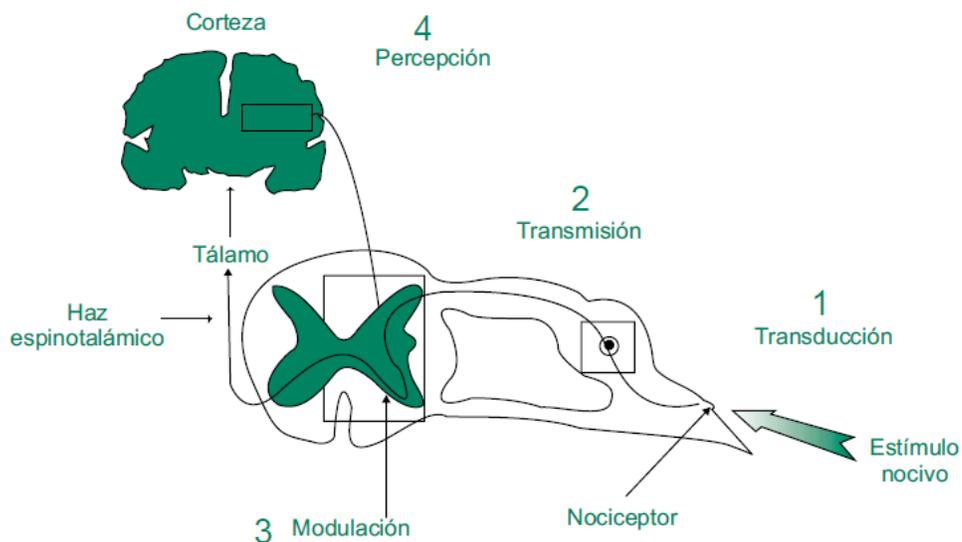


Figura 4. Procesos que participan en la percepción del dolor (Modificado de McMahon y Koltzenburg, 2005).

3.2. Clasificación del dolor

Existen múltiples clasificaciones del dolor; pero de acuerdo a su mecanismo neurofisiológico, el dolor puede ser clasificado en: nociceptivo, inflamatorio y neuropático (Woolf, 2004).

3.2.1. Dolor nociceptivo

El dolor nociceptivo, también citado dolor fisiológico o normal, se presenta en todos los individuos como consecuencia de la aplicación de estímulos nocivos que pueden ser térmicos, químicos, eléctricos o mecánicos que producen daño o lesión en órganos somáticos o viscerales (Julius y Basbaum, 2001), como se puede visualizar en la figura 5. Este tipo dolor se caracteriza principalmente por ser de utilidad para el organismo ya que invoca acciones de protección y defensa ante la presencia de un estímulo dañino en el ambiente (Woolf, 2004), en general no requiere tratamiento médico (Loeser y Melzack, 1999).

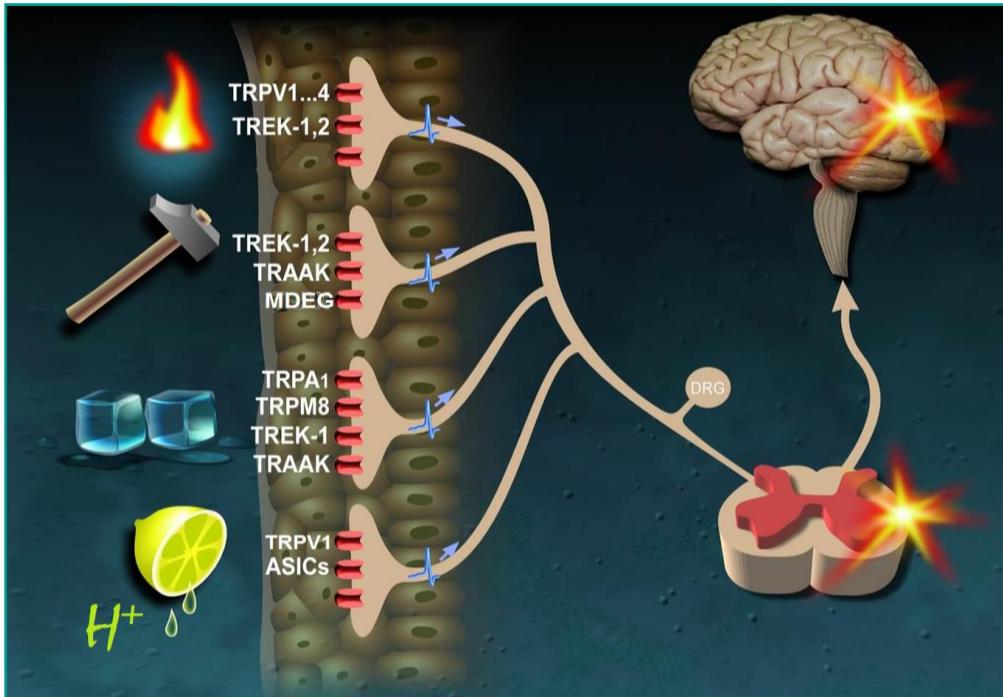


Figura 5. Dolor nociceptivo. Los estímulos nocivos de tipo térmico, mecánico o químico son detectados por los nociceptores, los cuales transducen la información mediante la generación de potenciales de acción. Estos potenciales son conducidos desde la periferia hasta la médula espinal, donde se transmiten a neuronas de segundo orden, encargadas de llevar el estímulo a centros supraespinales donde se integra la percepción del dolor. Abreviaturas: Receptor de potencial transitorio vanilloide (TRPV1-4), canal de potasio con dos dominios de poro (TREK1-2), canal de potasio estimulado por ácido araquidónico y relacionado a TWIK (TRAAK), canal iónico perteneciente a la familia de las degenerinas de mamíferos (MDEG), receptor de potencial transitorio subfamilia A miembro 1 (TRPA1), receptor de potencial transitorio subfamilia M miembro 8 (TRPM8) y canal iónico sensible a ácido (ASIC) (Modificado de Scholz y Woolf, 2002).

3.2.2. Dolor Inflamatorio

Es la consecuencia de cualquier lesión o daño tisular que originan una reacción inflamatoria, esto sucede cuando existen incisiones tisulares en la piel (heridas, fracturas, desgarres musculares, etc.) presiones intensas (que originan daños tisular o isquemia), quemaduras, frío extremo, infecciones y/o lesiones químicas (por sustancias ácidas o alcalinas). El proceso inflamatorio se caracteriza por la presencia de calor, rubor, edema, pérdida de la función celular y la presencia de dolor como resultado de la sensibilización de los receptores (Looser y Melzack, 1999; Woolf y Salter, 2000). Múltiples moléculas median la respuesta inflamatoria y varias de ellas actúan como precursoras de otros agentes pro-inflamatorios (Woolf y Costigan, 1999). Así, el daño tisular, induce la activación de células cebadas, basófilos, plaquetas, macrófagos, neutrófilos, células endoteliales, etc, que conducen a la liberación de diversos mediadores químicos como: citocinas, factores de crecimiento, neurotransmisores peptídicos (sustancia P, CGRP, bradicinina), lípidos (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos), proteasas extracelulares y protones. En conjunto todas estas sustancias forman la denominada “sopa inflamatoria”, por lo tanto, algunas de estas sustancias sensibilizan los nociceptores mientras que otras los activan directamente, lo que a su vez, provoca que las neuronas del SNC muestren una amplificación en su capacidad de excitación causando una mayor descarga espontánea y evocada, generando el fenómeno de sensibilización periférica (Figura 6).

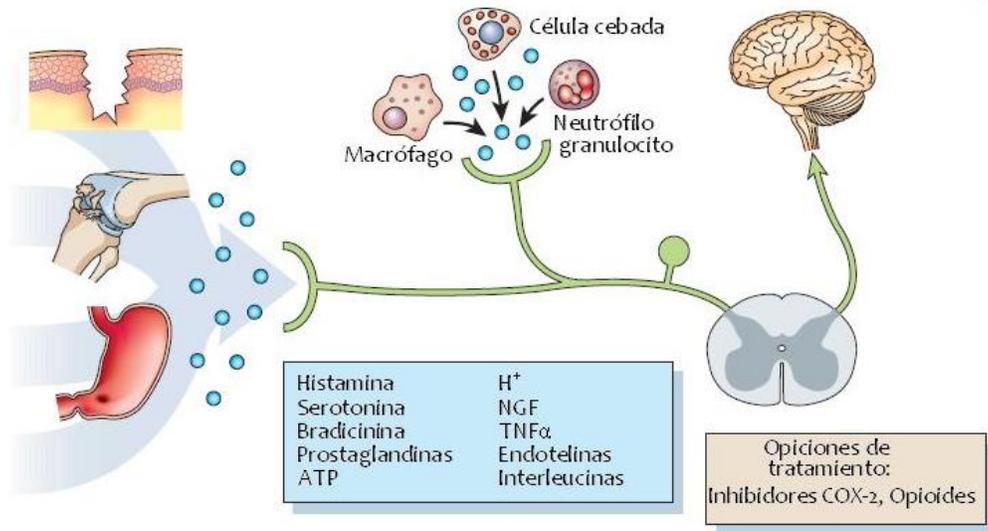


Figura 6. Dolor inflamatorio. El daño al tejido, la inflamación y las células del sistema inmune liberan varios mediadores químicos que en conjunto forman la “sopa inflamatoria” que activa o modifica las propiedades de la respuesta de los nociceptores a un estímulo, induciéndose cambios en la respuesta de las neuronas en el SNC. Modificado de Scholz y Woolf, 2002.

En estas condiciones se pierde la relación entre la intensidad y duración del estímulo doloroso y viceversa, dando lugar a la aparición de dos características importantes en el dolor inflamatorio (Figura 7): 1) alodinia (estímulo normalmente no doloroso como la luz o el tacto, generará una conducta dolorosa) e 2) hiperalgesia (el estímulo nocivo se percibirá con mayor intensidad) (Woolf y Costigan, 1999; Scholz y Woolf, 2002).

La generación de la sensibilización periférica tiene como propósito la eliminación del agente causal y la reparación del tejido dañado y el mantenimiento de la homeostasis. Por ende, la hipersensibilidad que se percibe en el dolor inflamatorio regresa a la normalidad cuando el proceso se controla; subsecuentemente el sistema se restablece en respuesta al daño generado (Woolf y Salter, 2000).

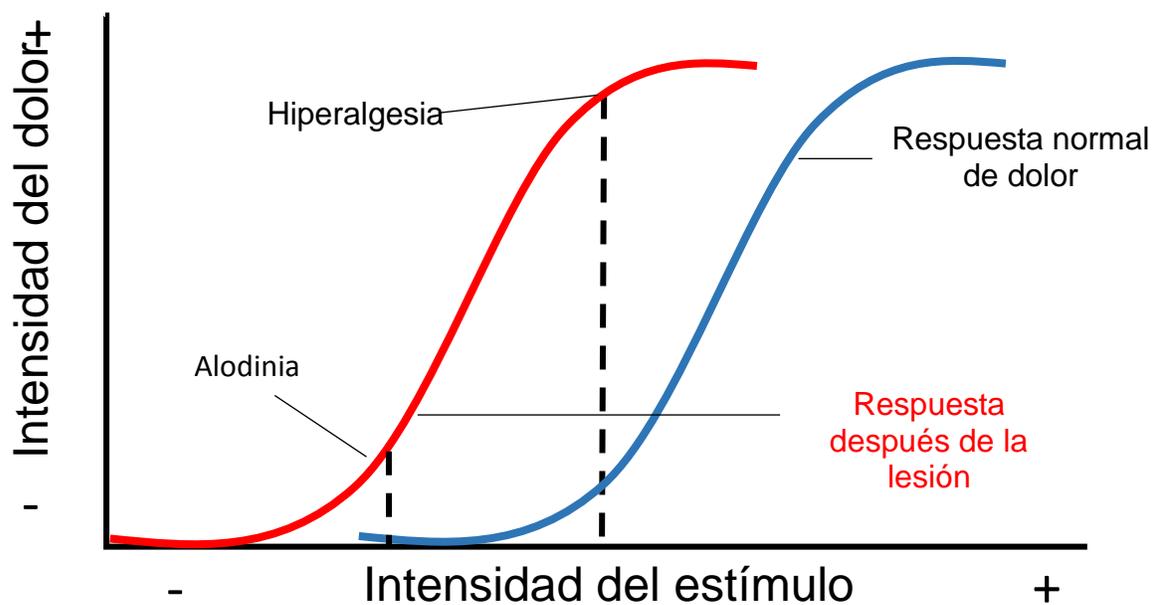


Figura 7. Representación gráfica de los fenómenos de alodinia e hiperalgesia que ejemplifica las diferencias en la intensidad del estímulo y la respuesta dolorosa que evoca cada una en comparación con la respuesta normal de dolor. Modificado de Scholz y Woolf, 2002.

3.2.3. Dolor neuropático

Llamado anormal o patológico, es el resultado de una alteración de la transmisión de la información nociceptiva debida a una lesión a nivel del sistema nervioso periférico o central (Woolf y Salter, 2000).

Para fines de este trabajo nos centraremos principalmente en dolor nociceptivo e inflamatorio.

3.3. Mecanismos moleculares del dolor

El dolor es consecuencia de múltiples mecanismos de acción. En algunos síndromes dolorosos estos mecanismos son únicos, sin embargo, otros se encuentran presentes en varias condiciones dolorosas que pueden expresarse a diferentes tiempos (Scholz y Wolf, 2002). En este sentido el dolor nociceptivo, generado por un estímulo (térmico, químico o mecánico) intenso pero sin daño al tejido, da como resultado un dolor transitorio que persiste pocos segundos, bien localizado y que no desata procesos de sensibilización. Esta señal intensa es traducida por receptores especializados a corrientes despolarizantes que son conducidas al sistema nervioso central a través de fibras aferentes primarias. En este tipo de dolor participan receptores que responden a agentes físicos y químicos, como son: los receptores de la familia TRPV y TRPM8 (Patapoutian y cols., 2003), canales iónicos sensibles a ácido (ASICs) y el canal TREK-1 que pertenece a la familia de canales de potasio con dominios de poro (Mercado y cols., 2005; Bayliss y Barret, 2008). En conjunto estos receptores son canales iónicos cuyo resultado final es la despolarización de la neurona generando una breve percepción de dolor (Costigan y Woolf, 2000; Scholz y Wolf, 2002), como se puede observar en la Figura 8.

Por otro parte, cuando el estímulo es capaz de producir daño al tejido (dolor inflamatorio), se liberan una gran cantidad de sustancias endógenas en el sitio de lesión, las cuales pueden excitar o sensibilizar las fibras aferentes primarias. Se sabe que estas sustancias forman parte de la sopa inflamatoria responsable de este tipo de dolor (Woolf y Costigan, 1999; Sawynok y Liu, 2003). En este sentido, los mecanismos que median el procesamiento de dolor de tipo inflamatorio es el siguiente: en primer lugar, el daño producido a las células del tejido libera protones (H^+) y ATP, los cuales despolarizan las fibras aferentes primarias por activación de los ASICs y canales purinérgicos, respectivamente (Costigan y Woolf, 2000). La activación de las fibras aferentes primarias (principalmente fibras C) produce potenciales antidrómicos y ortodrómicos que liberan neuropéptidos como la sustancia P y el CGRP (Wall y Devor, 1983; Willis, 1999). A su vez, los péptidos

no sólo despolarizan terminales nerviosas vecinas, las cuales son responsables de la vasodilatación y extravasación plasmática, sino también regulan la secreción de diversos mediadores inflamatorios en distintos tipos celulares (Szolcsányi, 1988; Costigan y Woolf, 2000).

Se debe agregar que las células endoteliales activadas expresan moléculas de adherencia por ejemplo, la selectina E, la selectina P, la ICAM-1 (molécula de adherencia intracelular) y la VCAM-1 (molécula de adherencia de células vasculares) que intervienen de modo fundamental para preconditionar y orientar a las células circulantes hacia el sitio de inflamación (Roberts y Morrow, 2002). La migración de células al tejido dañado causa la liberación de numerosos mediadores del dolor, entre los cuales se encuentra 5-HT, que es liberada por plaquetas, células cebadas y endoteliales (Taiwo y Levine, 1992). Además la 5-HT, las células cebadas incorporan a la sopa inflamatoria histamina, prostaglandinas y bradicinina (Costigan y Woolf, 2000). Por su parte, los macrófagos liberan citocinas (IL-1 β , IL-6 y TNF- α) y factores de crecimiento (NGF y LIF). En conjunto estos mediadores actúan sobre sus respectivos receptores sensibilizando o despolarizando a las fibras aferentes primarias (Fajardo y cols., 2001; Kidd y Urban, 2001).

Por tanto, la sensibilización periférica ocurre inicialmente mediante la activación de numerosas cinasas, que a su vez fosforilan múltiples proteínas, entre las cuales podemos mencionar canales iónicos dependientes de voltaje y canales iónicos operados por ligando, ocasionando así un incremento de corrientes de Na⁺ y Ca²⁺ y una disminución de corrientes de K⁺ (Gold, 1999; Millan, 2002), como podemos visualizar en la figura 8.

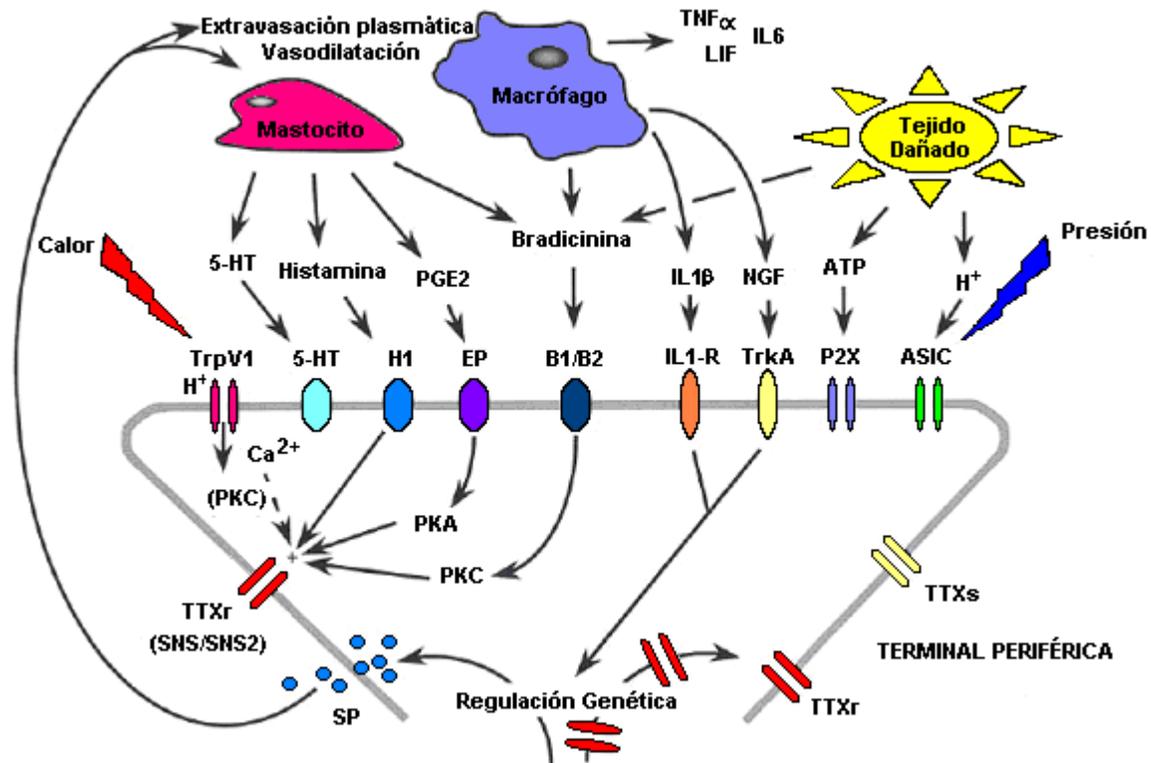


Figura 8. Mecanismos moleculares de la sensibilización periférica. Abreviaturas: Factor de necrosis tumoral α (TNF- α), factor inhibidor de la leucemia (LIF), interleucina 6 (IL6), serotonina (5-HT), prostaglandina E2 (PGE2), interleucina 1 β (IL1 β), factor de crecimiento neural (NGF), adenosintrifosfato (ATP), iones hidrógeno o protones (H⁺), canal vanilloide de potencial transitorio 1 (TRPV1), receptor a histamina 1 (H1), receptor a prostaglandina E2 (EP), receptores a bradicinina 1 y 2 (B1/B2), receptor a interleucina 1 (IL1-R), receptor tirosina cinasa A del factor de crecimiento neural (TrkA), receptor purinérgico 2x (P2X), canales iónicos sensibles a ácido (ASIC), proteína cinasa A (PKA), proteína cinasa C (PKC), canales de sodio resistentes (TTXr) y sensibles (TTXs) a tetrodotoxina. Modificado de Costigan y Wolf, 2000.

Seguido de estos cambios tempranos (segundos), se inician cambios transcripcionales (minutos) debido a la activación de proteínas cinasas que fosforilan factores de transcripción y neurotrofinas como el NGF, el cual se internaliza junto con su receptor de membrana TrkA al núcleo celular, lugar donde se inician los cambios transcripcionales (Leslie y cols., 1995). Estos cambios

refuerzan la excitabilidad neuronal ya que se aumenta la síntesis de moléculas involucradas en la transmisión nociceptiva, como la sustancia P y el CGRP (Apfel, 2000; Costigan y Wolf, 2000) que afectan no solo a las fibras C, sino también a las fibras A β y A δ modificando su fenotipo e inervación en el asta dorsal (Woolf y cols., 1992; Woolf y Salter, 2000; Sawynok y Liu, 2003).

En el asta dorsal de la médula espinal, un estímulo nocivo pero sin daño al tejido libera glutamato de las terminales centrales de las fibras aferentes primarias. En consecuencia el glutamato transmite el impulso nociceptivo a través del receptor α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionato (AMPA) que genera potenciales post-sinápticos excitatorios rápidos que señalan la duración, la intensidad y la localización del estímulo periférico nocivo, razón por la cual, sirve como un sistema de advertencia al organismo (Woolf y Costigan, 1999). En contraste con lo anterior, cuando existe daño al tejido, los potenciales generados son más intensos y sostenidos liberando además neuropéptidos como la sustancia P y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), los cuales activan receptores post-sinápticos desencadenando múltiples cascadas de transducción (Michael y cols., 1997; Costigan y Woolf, 2000; Khasabov y cols., 2002). Posteriormente, el glutamato activa receptores AMPA que despolarizan a las neuronas post-sinápticas. La despolarización remueve al ión Mg²⁺ que bloquea al canal N-metil-D-aspartato (NMDA) permitiendo la activación por glutamato, trayendo como resultado un incremento en la concentración de Ca²⁺ intracelular (Woolf y Salter, 2000). El incremento de Ca²⁺ intracelular y los múltiples receptores activados estimulan la participación de diversas enzimas como la sintasa de óxido nítrico y la ciclooxigenasa, además de varias proteínas cinasas como la proteína cinasa A (MAPK), proteína cinasa C y la proteína cinasa activada por mitógenos (Woolf y Costigan, 1999). Las proteínas cinasas fosforilan receptores de membrana y canales iónicos haciendo más excitable a la neurona, como es el caso del canal NMDA que al ser fosforilado puede permanecer más tiempo abierto y ser más sensible a la presencia de glutamato. Todos estos procesos en su conjunto producen sensibilización central (Figura 9) e inducen cambios transcripcionales como el incremento en el ácido ribonucleico mensajero (ARNm)

que codifica al receptor tirosina cinasa B (TrkB) después de dos horas de producirse el daño al tejido (Mannion y cols., 1999). En síntesis, la gran variedad de mediadores químicos liberados por el daño tisular y el proceso inflamatorio alteran la actividad y el metabolismo de las neuronas sensoriales.

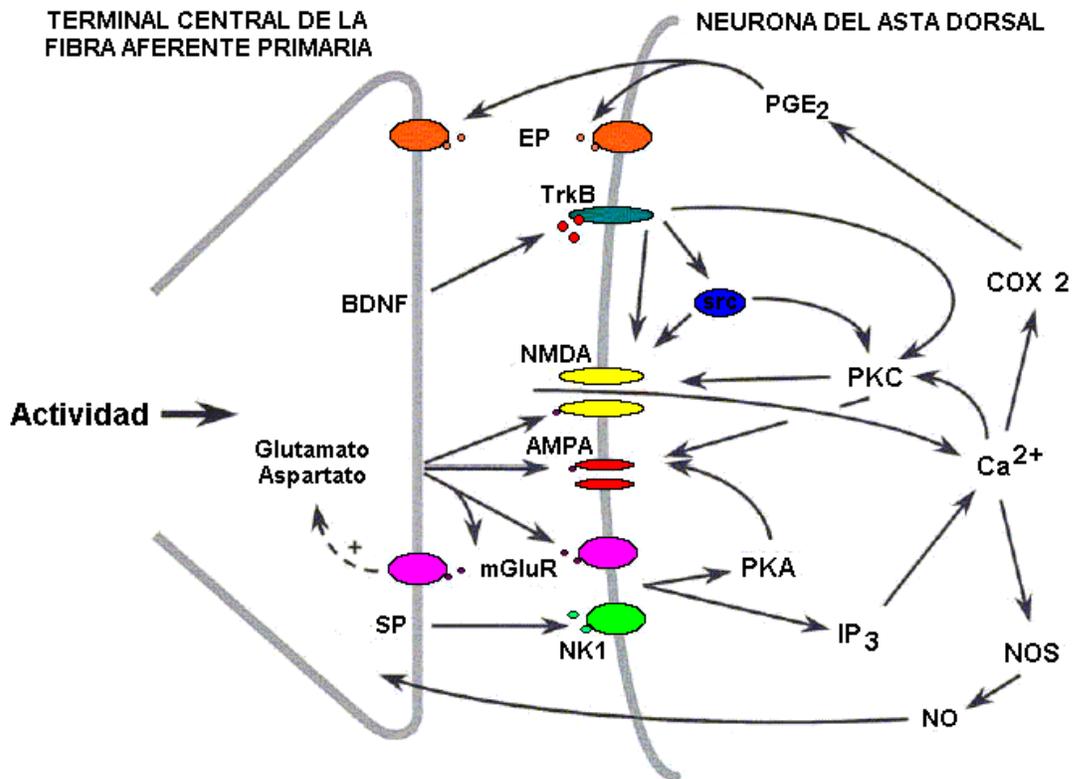


Figura 9. Mecanismos moleculares de la sensibilización central. Abreviaturas: Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), sustancia P (SP), receptor a prostaglandina E2 (EP), receptor tirosina cinasa B del factor neurotrófico derivado del cerebro (TrkB), receptor N-metil-D-aspartato de glutamato (NMDA), receptor α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionato de glutamato (AMPA), receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR), receptor neurocinina 1 de sustancia P (NK1), prostaglandina E2 (PGE2), proteína cinasa C (PKC), proteína cinasa A (PKA), 1,4,5-inositol trifosfato (IP3), óxido nítrico (NO), sintasa de óxido nítrico (NOS), ciclooxigenasa 2 (COX-2). Modificado de Costigan y Wolf, 2000.

4. GANANCIA DE PESO Y PERCEPCIÓN DE DOLOR

En la actualidad, el sobrepeso y la obesidad son un grave problema de salud pública a nivel mundial, con un impacto negativo en la calidad de vida de las personas (Flegal y cols., 2012). Adicionalmente, la obesidad se considera como un proceso inflamatorio de bajo grado y factor de riesgo asociado con varias condiciones dolorosas (Hitt y cols., 2007). Los trastornos de dolor más comunes son los de tipo inflamatorio, nociceptivo, neuropático y sensitivo, que afectan a una gran parte de la población con consecuencias clínicas y socioeconómicas. Los casos más frecuentes que han sido documentados son: dolor de espalda (Hitt y cols., 2007; D'Arcy, 2011) osteoartritis (Grotle y cols., 2008) a causa de un efecto mecánico sobre las articulaciones por la ganancia de peso y varias condiciones de dolor crónico, entre las cuales podemos mencionar, fibromialgia (Marcus, 2004), cefalea y migraña (Peterlin y cols., 2010). Observaciones similares se han realizado en animales macho con diferentes modelos de inducción de obesidad (genéticos, dieta hipercalórica o dieta alta en grasa), y se ha reportado una mayor sensibilización al umbral térmico comparado con sus controles (Raone y Porter, 1986; Raone y Martin, 1990; Buchenauer y cols., 2009). Estos comportamientos ante estímulos dolorosos pueden explicarse por mecanismos fisiológicos resultantes del incremento de la grasa abdominal. Evidencias recientes sugieren que la expansión del tejido adiposo por el peso excesivo libera ciertos marcadores inflamatorios, como son TNF α , IL-1 β y ciertas adipocinas entre las cuales podemos citar la leptina (Kershaw y Flier, 2004). Incluso, está bien establecido que estos marcadores inflamatorios y la leptina contribuye al desarrollo de dolor e hiperalgesia (Ferreira y cols., 1988; Cunha y cols., 1992; Kutlu y cols., 2003). Por ende, estas evidencias sugieren que alteraciones en la expresión de estos marcadores podrían jugar un papel importante entre la generación del dolor y el incremento de peso. Hay que señalar, además que el estado de sobrepeso y la obesidad son factores de riesgo para varios trastornos metabólicos, por ejemplo, alteraciones en los niveles de glucosa e insulina (Chan y cols., 1994; Rosenthal y

cols., 2004; Malik y cols., 2010), los cuales han sido correlacionados con la disfunción nociceptiva (Sugimoto y cols., 2002, 2008).

Sin embargo, existen pocas evidencias que demuestran lo contrario, este es el caso de Ramzan y colaboradores, quienes en 1993 demostraron que en ratas macho obesas inducidas con una dieta alta en grasa durante 20 semanas, se incrementó significativamente la latencia térmica en comparación con sus controles. En humanos obesos se han reportado estudios semejantes, donde han mostrado pérdida de la sensibilidad al dolor inducida por estímulos eléctricos (Zahorska-Markiewicz y cols., 1983) y presión en piel (Khimich, 1997). Esta modulación del dolor puede ser causada por niveles altos de opioides endógenos (Givens y cols., 1980; Martínez-Guisasola y cols., 2001) y 17- β -estradiol (Macció y Madeddu, 2011) reportado en el suero de mujeres obesas; dicho aumento se ha correlacionado con la ganancia de peso. De hecho, es ampliamente reconocido a nivel clínico y preclínico que el 17- β -estradiol y las endorfinas ejercen efectos analgésicos (Liu y cols 2011; Amandusson y Blomqvist, 2013; Bodnar, 2014). Asimismo, otras investigaciones han demostrado que la adiponectina una hormona sintetizada principalmente por los adipocitos, inhibe marcadores pro-inflamatorios como en el caso de TNF α (Wang y cols., 2005).

Por lo que se refiere a la asociación entre dolor y el incremento de peso no ha sido bien establecida, por lo que es necesario investigar si la obesidad participa directamente en los trastornos de dolor.

5. EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE KETOPROFENO E INCREMENTO DE PESO

El dolor es una condición que afecta a miles de personas en el mundo. Diversas investigaciones han reportado alteraciones en cuanto a la percepción del dolor en sujetos y roedores obesos (Raone y Martin, 1990; Ramzan y cols., 1993; Zhang y cols., 1994; Khimich, 1997; Sugimoto y cols., 2008; Buchenauer y cols.,

2009; Wilson y cols., 2010). Por esta razón, es común que en estos pacientes los tratamientos con analgésicos muestren efectos variados.

Con respecto, al tratamiento farmacológico que más frecuentemente se utiliza para el alivio de dolor nociceptivo e inflamatorio, está el uso de compuestos opioides y analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) (Ong y cols., 2007). Los AINEs son los medicamentos más extensamente prescritos en la medicina clínica, son sustancias de estructura química variada no esteroidea (Laine, 2001). Este grupo de medicamentos es indicado en el tratamiento de dolor agudo y crónico (Whiteside y cols., 2004; Ong y cols., 2007). Se caracterizan por compartir en diversos grados propiedades analgésicas, antiinflamatorios y antipiréticas (Dworkin y Gitlin, 1991). Dentro de este grupo se encuentra el ketoprofeno. Se sabe que el ketoprofeno, al igual que otros analgésicos AINE's, ejerce su efecto mediante al menos tres mecanismos de acción determinados a la fecha: 1) inhibición de la síntesis de prostaglandinas (Avauac y Teule, 1988; Kubota y cols., 1997), 2) Interacción con el sistema serotoninérgico (Díaz-Reval y cols., 2001, 2004) e 3) inhibición de citocinas proinflamatorias (Choi y cols., 2013).

Existen evidencias preclínicas en un modelo de inflamación artrítica (Díaz-Reval y cols., 2001, 2004), inflamatorio (Miranda y cols., 2012) y agudo, que demuestran que el ketoprofeno presenta efecto antinociceptivo empleando estos mecanismos de acción y mostrando efectos dosis-dependientes. Sin embargo, no hay estudios que evalúen la respuesta analgésica al ketoprofeno en condiciones en las que hay un aumento en el peso corporal. Por consiguiente, el efecto antinociceptivo que puede tener este analgésico en estas condiciones es desconocida, dado que, está bien establecido que los efectos analgésicos de algunos fármacos pueden variar en condiciones de ganancia de peso, principalmente, a través de alteraciones farmacocinéticas y/o farmacodinámicas (Lloret y cols., 2009). Incluso, se ha detallado que no es necesario aumentar las dosis de morfina en sujetos obesos para conseguir efectos similares a los sujetos de peso normal (Lloret y cols., 2009; Patanwala y cols., 2014).

La obesidad y el dolor son un problema de salud a nivel mundial que afecta la calidad de vida de miles de personas en el mundo. Se debe agregar, además

que el estado menopaúsico en la mujer favorece la ganancia de peso debido a que causa un aumento del tejido adiposo. Por esta razón varios estudios han correlacionado positivamente o negativamente la experiencia del dolor con un aumento en el índice de masa corporal. Sin embargo, a pesar de las investigaciones realizadas hasta el momento, la relación causal entre ambos no es clara, y también es desconocido el efecto que pueda tener un AINE (ketoprofeno) en estas condiciones. Dado la alta complejidad de la obesidad, el dolor y la menopausia, no existen muchos estudios sobre la percepción del dolor asociado con el aumento de peso. A la fecha, no se han realizado estudios en ratas ovariectomizadas, en condiciones de avance del estado de obesidad que permitan determinar si hay alteraciones nociceptivas en diferentes estados de ganancia de peso, por lo que éste es un punto de gran interés en nuestro laboratorio.

En relación con los antecedentes revisados formulamos la siguiente justificación.

II. JUSTIFICACIÓN

Evidencias recientes han demostrado que el umbral al dolor puede cambiar con la obesidad. Sin embargo, tanto en preclínica como en clínica, no hay estudios que evalúen el estado de la percepción del dolor conforme avanza el estado de obesidad en la menopausia. Asimismo, el mecanismo de acción por el cual se den estos cambios, no está bien establecido, por lo que es necesario investigar si la obesidad participa directamente afectando la percepción del dolor.

III. HIPÓTESIS

“El exceso de tejido adiposo, por una ingesta alta en carbohidratos, en ratas Wistar hembras hipoestrogénicas, provocará alteraciones en la percepción del estímulo nociceptivo conforme progresa el estado de obesidad, y serán modificados los efectos antinociceptivos de ketoprofeno”.

IV. OBJETIVOS GENERALES

- Determinar si existen modificaciones en la sensibilidad a la estimulación térmica (nocicepción) en ratas ovariectomizadas obesas así como evaluar la participación de los niveles de glucosa, insulina, TNF α , IL-1 β , leptina, adiponectina, 17- β -estradiol y β -endorfinas en la alteración nociceptiva.
- Evaluar y analizar posibles cambios en los efectos de antinocicepción de ketoprofeno generados en ratas Wistar hipoestrogénicas conforme progresa el estado de obesidad.

V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Averiguar la sensibilidad al dolor nociceptivo, así como cambios en el peso corporal e índice de masa corporal (IMC) por 24 semanas en ratas Wistar hipoestrogénicas (obesas-control y obesas-sacarosa).
- Evaluar la hiperalgesia o hipoalgesia, en los diferentes grupos de ratas mencionadas anteriormente, por el método de “Plantar test”.
- Determinar niveles de glucosa, insulina y peso de grasa abdominal.
- Cuantificar mediadores de inflamación (IL-1 β , TNF- α) en tejido adiposo abdominal por la técnica de ELISA.
- Medir la expresión de adiponectina, leptina, β -endorfinas y 17 β -estradiol en suero por la técnica de ELISA.
- Evaluar el efecto de ketoprofeno (1.8, 5.6 10, 17.8, 31.6 y 100.0 mg/kg) a dosis únicas, una vez establecido el estado de hiperalgesia o hipoalgesia a las 4 y 17 semanas.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Animales

Se utilizaron ratas Wistar hembras [CrI(WI)fBR], con un peso corporal entre 180-200 g al momento de la cirugía (ovariectomía). Los animales fueron obtenidos del bioterio del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav-Sede Sur) y mantenidos en cajas de policarbonato bajo condiciones ambientales controladas de temperatura (22 ± 2 °C) y luz (ciclos de luz/oscuridad de 12 horas) e ingesta de agua y alimento *ad libitum* antes del tratamiento. El empleo y manejo de animales se llevó a cabo siguiendo los lineamientos establecidos en las Guías Éticas para la investigación del Dolor Experimental de la Asociación Internacional para el estudio del Dolor (Zimmermann, 1983) y todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité Local de Ética para Manejo de Animales de Laboratorio del Departamento de Farmacobiología del Cinvestav-Sede Sur, que se ajustan a las regulaciones establecidas por la Norma Oficial Mexicana para el uso y cuidado de los animales de laboratorio "NOM-062-ZOO-1999". Todas las pruebas experimentales se llevaron a cabo durante la fase de luz. El número de animales de experimentación fue llevado al mínimo y al final de las determinaciones experimentales los animales fueron sacrificados utilizando una sobredosis de dióxido de carbono.

2. Compuestos

Se utilizó sacarosa refinada para inducir el estado de obesidad, la cual fue obtenida comercialmente de Suministros Ben-Hill, S.A. de C.V. (Ciudad de México, México). El azúcar fue disuelta en agua al 30% (peso/volumen). El fármaco empleado fue ketoprofeno, obtenido de Sigma-Aldrich (México). Ketoprofeno fue suspendido en una solución de carboximetilcelulosa al 0.5 % y fue administrado vía oral en un volumen de 4 mL/Kg. Las dosis mencionadas en el

texto se refieren a la sal del fármaco utilizado. Para determinar los niveles de insulina (ALPCO®), TNF α (Raybiotech®), IL-1 β (Raybiotech®), leptina (Raybiotech®), 17- β estradiol (Mybiosource®), β -endorfinas (Mybiosource®) y adiponectina (Millipore®) se utilizó el método de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) mediante un kit comercial específico para cada determinación.

3. Técnica quirúrgica (ovariectomía)

Todos los animales fueron anestesiados mediante una inyección intraperitoneal (i.p.) de 50 mg/kg de ketamina y 10 mg/kg de xilazina para posteriormente realizar la extracción bilateral de los ovarios. De forma sencilla, esta técnica consistió en: realizar un procedimiento de rasurado en la zona abdominal y pélvica de los animales. A continuación, se efectuó una incisión longitudinal de aproximadamente 1.5 cm, después, la piel fue separada del músculo, y una segunda incisión de aproximadamente 0.5 cm se realizó en el músculo para exponer los ovarios. Las trompas de falopio fueron ligadas y cortadas por debajo de la ligadura. Después de la escisión, el músculo y la piel fueron suturados. Por consecuencia, esta cirugía causó un estado de hipostrogenismo en los animales de experimentación. El modelo de ovariectomía fue utilizado no sólo como una causa directa del aumento de peso corporal (Stubbins y cols., 2012; Da Silva y cols., 2014), sino también porque es un buen modelo que mimetiza la menopausia de los seres humanos (Díaz-Brinton, 2012). Todos los procedimientos fueron realizados bajo condiciones asépticas.

4. Diseño Experimental

15 días posteriores a la cirugía (ovariectomía), 20 ratas Wistar hembras ovariectomizadas, con un peso de 250-265 g, fueron distribuidas aleatoriamente en 2 grupos experimentales (n=10): 1) ovariectomizadas-control (Ovx-Ctrl) y ovariectomizadas alimentadas con sacarosa 30 % (Ovx-Suc). Antes de iniciar el

tratamiento, las respuestas basales al umbral térmico y el peso corporal de ambos grupos fueron medidos al tiempo "0" (es decir, inmediatamente después de la administración de la dieta respectiva).

Los grupos Ovx-Ctrl, recibieron alimento estándar (*LabDiet® 5008*) y de beber, agua purificada *ad libitum* libre de sacarosa, mientras que a los animales en el grupo Ovx-Suc, se les proporcionó una solución de sacarosa al 30% p/v en el agua de beber *ad libitum* por un período de 24 semanas para inducir el estado de obesidad. Durante este período, la nocicepción térmica fue evaluada semanalmente utilizando el método de "Plantar test" (método de Hargreaves, UGO-Basile, Varese, Italia), además fue registrado el peso corporal así como IMC cada semana. En respuesta a la alteración nociceptiva producida a las 4 y 17 semanas en animales ovariectomizados con sacarosa o agua *ad libitum* se cuantificaron diferentes parámetros en ambos tiempos como: los niveles de glucosa en sangre, peso de la grasa abdominal, niveles de insulina, cuantificación de mediadores de inflamación (IL-1 β , TNF- α) en tejido adiposo abdominal y las concentraciones de adiponectina, leptina, β -endorfinas y 17 β -estradiol en suero por la técnica de ELISA.

Además se evaluó el efecto de la administración aguda de ketoprofeno en respuesta a los estímulos térmicos obtenidos a las 4 y 17 semanas en ratas Wistar ovariectomizadas con su respectivo tratamiento. El protocolo experimental consistió en dos grupos experimentales en los que los efectos antinociceptivos producidos por ketoprofeno, dado individualmente, fue estudiado con su respectivo vehículo (carboximetilcelulosa 0.5%). En el primer grupo experimental, cada dosis de ketoprofeno (1.8, 5.6, 10.0, 17.8 o 31.6 mg/kg p.o.) fue administrada en un volumen de 4 mL/Kg en seis ratas Wistar ovariectomizadas alimentadas con sacarosa o agua por un periodo de 4 semanas. En el segundo grupo, los animales alimentados sin y con sacarosa durante 17 semanas fueron administrados al final de este periodo con diferentes dosis de ketoprofeno (10.0, 31.6, 100.0 mg/kg p.o.) y su respectivo vehículo, con la finalidad de obtener cursos temporales, área bajo la curva y analizar en las curvas dosis respuestas (CDR) cambios farmacológicos en eficacia y potencia, así como determinar en los cursos temporales latencia,

efecto máximo, duración de efecto, efectos a tiempo fijo y efectos globales. Todos los animales fueron examinados cada 30 minutos por un periodo de 240 min (4 h) post-administración del fármaco.

5. Determinación del índice de masa corporal

El peso corporal y la altura (longitud de la nariz al ano) de los grupos Ovx-Ctrl y Ovx-Suc fueron determinados semanalmente por un periodo de 24 semanas. El IMC fue determinado dividiendo el peso de cada animal (g) por el cuadrado de su longitud de la nariz al ano (cm). El estado de obesidad en los animales se define por un IMC mayor de 0.68 g/cm^2 (Novelli y cols., 2007).

6. Medición de la actividad nociceptiva y antinociceptiva

Para evitar el estrés adicional, los animales fueron aclimatados antes de iniciar la prueba conductual por un lapso de 10 minutos en el lugar de la prueba hasta que se observó una disminución del comportamiento exploratorio.

La respuesta nociceptiva térmica fue evaluada por medio del método de Hargreaves (UGO-Basile, Varese, Italia) (Hargreaves y cols., 1988) conocido como método de plantar test. Este método consiste de un sistema en el cual se aplica calor radiante (60 hertz) en el lado plantar de la extremidad trasera del roedor. Durante la estimulación térmica fue registrada la latencia de retirada de la extremidad en segundos, la cual se mide con la ayuda de un dispositivo fotoeléctrico que tiene incorporado un temporizador que muestra el tiempo de reacción en incrementos de 0.01 segundos, con un tiempo de corte de 30 segundos para evitar el daño tisular. La latencia de retiro fue determinada cuando el animal retira la extremidad de la estimulación lumínica de manera rápida, con una sacudida, generando una conducta de lamido de la extremidad o saltando lejos de la fuente de calor. Fueron realizadas 3 lecturas de latencia por animal. Con un intervalo de 5 minutos entre cada lectura. Los datos fueron expresados como la latencia de retiro y medidos en segundos.

7. Evaluación de los niveles de glucosa en sangre

Los animales fueron privados de alimento 12 horas antes de la realización de la prueba. Los niveles de glucosa en sangre total se midieron a las 4 y 17 semanas en todos los grupos. De la vena safena de la cola de los animales, fue colectada sangre lo más rápidamente posible con un volumen mínimo de 1 μ L. Los niveles de glucosa fueron medidos utilizando un sistema de glucómetro Accu-Check Performa (Mannheim, Baden-Wurtemberg, Alemania).

8. Obtención de suero y tejido adiposo abdominal

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación a las 4 y 17 semanas después de su tratamiento correspondiente. El suero fue obtenido por centrifugación de las muestras de sangre obtenidas de los animales a 4500 rpm durante 15 min y almacenado a -70°C hasta su uso.

Por otra parte, el tejido adiposo fue extraído rápidamente y lavado con solución salina al 0.9 % para remover contaminantes sanguíneos. Posteriormente fue registrado el peso de cada muestra de grasa abdominal. Los datos fueron expresados en gramos (g). El tejido adiposo fue congelado con ayuda de nitrógeno líquido, una vez congelado fue homogenizado con buffer RIPA 0.5 ml (Nonidet P-40 0.625 %, desoxicolato de sodio 0.625 %, fosfato de sodio 6.25 mM y ácido etilendiamino tretra acético a pH 7.4), conteniendo 10 μ g/ml de coctel de inhibidores de proteasas (Roche GmbH, Mannheim, Alemania). Los homogenizados del tejido adiposo fueron centrifugados a 12000 g por 10 min a 4°C . El sobrenadante fue colectado y guardado a -70°C hasta su uso y fue utilizado para cuantificar la expresión de citocinas inflamatorias (IL-1 β , TNF- α) por el método de ELISA siguiendo las instrucciones del fabricante.

9. Cuantificación de los niveles de insulina, y expresión de mediadores inflamatorios (IL-1 β , TNF- α), adiponectina, leptina, β -endorfinas y 17 β -estradiol por el método de ELISA

Los niveles de insulina (ALPCO®), TNF- α (Raybiotech®), interleucina-1 β (Raybiotech®), leptina (Raybiotech®), 17- β estradiol (Mybiosource®), β -endorfinas (Mybiosource®) y adiponectina (Millipore®) fueron medidos empleando Kits de ELISA siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, este método consiste en que las muestras de tejido adiposo, suero y los estándares se incubaron con los anticuerpos correspondientes en los pocillos de las placas de ELISA. Los antígenos unidos a las placas fueron tratados con anticuerpos conjugados con biotina. La detección se completó con la adición de estreptavidina. 3,3',5 tetrametilbenzidina se utilizó como un reactivo de visualización de color. Las reacciones se detuvieron mediante la adición de una solución stop. La intensidad de color fue medida mediante un lector de ELISA (Biotek Epoch), a una absorbancia de 450 nm. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado y se registró la media de los valores. La concentración fue calculada por medio de la curva de calibración generada de las diluciones seriadas de los estándares de los antígenos.

VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos son representados como la media \pm el error estándar. Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente para verificar normalidad de los grupos con prueba de Shapiro-Wilkins y posteriormente con una prueba *t de student* para comparación de 2 grupos y un análisis de varianza (ANOVA) seguido por la prueba de Tukey (post-hoc) para comparaciones múltiples. El efecto antinociceptivo acumulado durante el periodo de observación (4 h) fue determinado como el área bajo la curva (ABC). Los valores de ABC para todas las dosis del fármaco evaluado se calcularon utilizando el método de los trapecoides (Gibaldi, 1991). Las diferencias entre las medias fueron consideradas

estadísticamente significativas con un valor de $p < 0.05$. Todos los análisis estadísticos fueron realizados empleando el programa GraphPad Prism 6.0 (SPSS inc., Chicago, IL, USA).

VIII. RESULTADOS

Este estudio se centró en el análisis de las alteraciones nociceptivas producidas conforme avanza el estado de obesidad. Como control, se revisó si las ratas Wistar ovariectomizadas alimentadas con una dieta hipercalórica (sacarosa 30%) exhibían incremento de peso hasta llegar al estado de obesidad. De manera similar, fue evaluada la percepción al estímulo térmico (nocicepción) conforme progresaba el estado de obesidad.

Los resultados de las alteraciones nociceptivas se muestran en las Figs. 10-20. La organización de estas figuras es similar en todos los casos; es decir, se muestra una gráfica de barras que representan los promedios de animales alimentados con sacarosa (Ovx-Suc) o agua de beber *ad libitum* (Ovx-Ctrl) por un periodo de 4 o 17 semanas. Finalmente, son presentados cursos temporales y curvas dosis respuestas (CDR) a las 4 y 17 semanas de los grupos Ovx-Ctrl y Ovx-Suc en respuesta a la administración de ketoprofeno.

1. Ganancia de peso en ratas ovariectomizadas alimentadas con dieta alta en sacarosa

La Figura 10 muestra el curso temporal de la ganancia de peso corporal expresado en gramos del grupo control que fue alimentado con agua normal *ad libitum* y del grupo experimental que recibió una solución hipercalórica de sacarosa 30% durante 24 semanas. Los animales que recibieron la dieta alta en sacarosa mostraron un incremento estadísticamente significativo a partir de la tercera semana en comparación con el grupo control, durante este tiempo, las

ratas ovariectomizadas con la dieta alta en sacarosa pesaban 357.4 ± 5.0 g, 9 % más que el grupo alimentado con agua ($p < 0.001$). Esta diferencia significativa entre ambos grupos persistió por el resto del estudio. Asimismo, podemos observar a la semana 12 una diferencia de peso superior del 20% en animales alimentados con sacarosa en comparación con su grupo control ($p < 0.001$) hasta el final del tratamiento. De manera que, desde este punto el grupo Ovx-Suc fue considerado obeso.

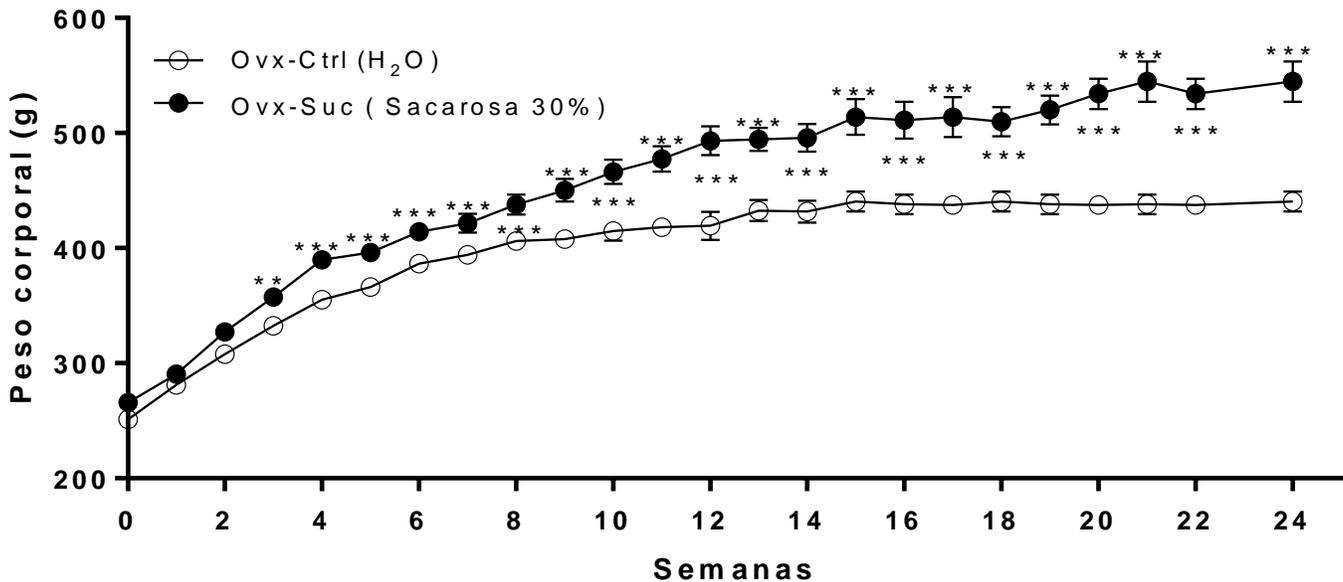


Figura 10. Ganancia de peso (g) del grupo Ovx-Ctrl y Ovx-Suc alimentados con una dieta alta en sacarosa (30%) durante 24 semanas. Cada punto representa la media \pm el E.E., $n=10$; ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$ Ovx-Suc vs. Ovx-Ctrl. ANOVA de dos vías seguida de una prueba pos hoc de Tukey.

2. Índice de masa corporal en ratas ovariectomizadas alimentadas con dieta alta en sacarosa

Un dato adicional de este trabajo fue la determinación del IMC, el cual es un indicador utilizado cotidianamente para identificar el sobrepeso y la obesidad en las personas adultas. Este parámetro también ha sido reportado en los animales. En modelos animales el IMC fue determinado por una relación entre el peso en gramos de los animales y su altura en cm (longitud de la nariz hasta el ano) elevada al cuadrado. De manera que, un IMC mayor de 0.68 g/cm^2 es considerado como un estado de obesidad en los animales (Novelli y cols., 2007). En la figura 11 se aprecia el curso temporal del IMC expresado en gramos sobre centímetros cuadrados, del grupo control, (alimentado con agua simple) y del grupo experimental (que recibió una solución alta en sacarosa 30% en el agua de beber) durante un periodo de 24 semanas. En el grupo Ovx-Suc se observó un IMC superior de 0.68 g/cm^2 desde la semana 11 hasta el final del experimento, razón por la cual a partir de este punto el grupo Ovx-Suc fue considerado obeso.

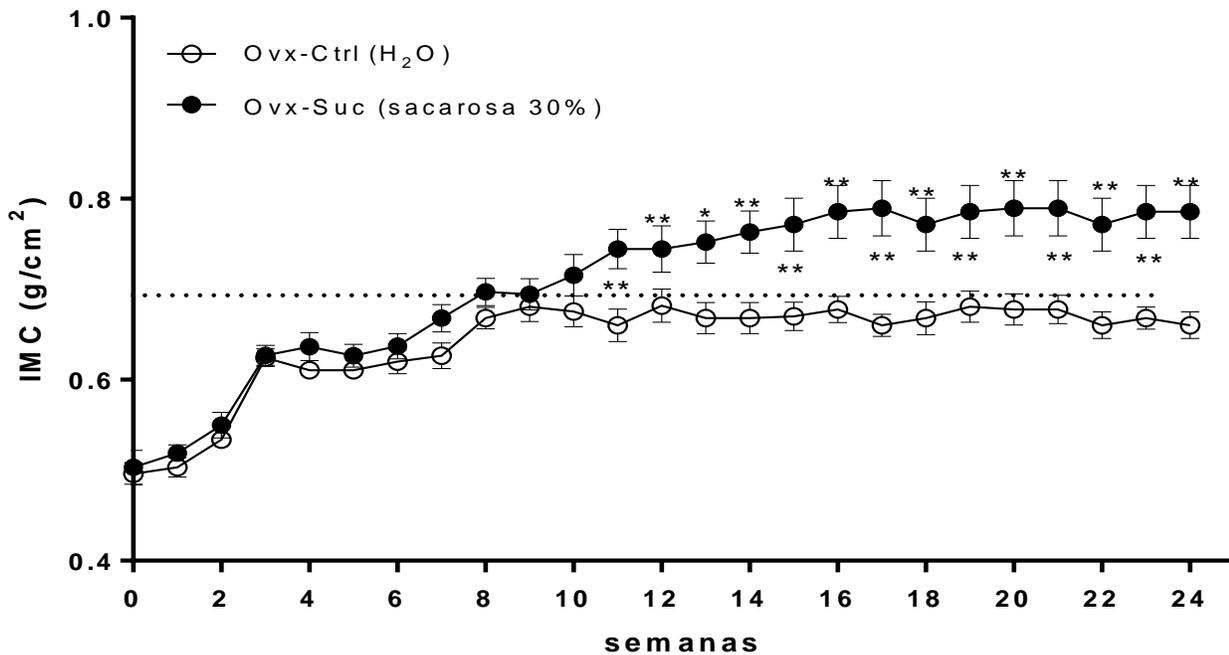


Figura 11. Índice de masa corporal (g/cm²) del grupo Ovx-Ctrl y Ovx-Suc alimentados con una dieta alta en sacarosa (30%) durante 24 semanas. Cada punto representa la media \pm el E.E., n=10; *p < 0.05, **p < 0.001 Ovx-Suc vs. Ovx-Ctrl. ANOVA de dos vías seguida de una prueba pos hoc de Tukey.

3. Respuesta sobre el umbral térmico (nocicepción) en ratas ovariectomizadas alimentadas con dieta alta en sacarosa (30%)

Por otra parte, para demostrar que el incremento de peso está correlacionado con procesos nociceptivos, se analizó el curso temporal en respuesta a la estimulación térmica durante el desarrollo del estado de obesidad inducido experimentalmente. En la figura 12 es presentado el curso temporal de la latencia térmica expresada en segundos, tanto del grupo Ovx-Ctrl (que recibió agua *ad libitum*) y del grupo Ovx-Suc (suministrado con una dieta alta en sacarosa 30% en el agua de beber) por un lapso de 24 semanas. En el grupo Ovx-Ctrl se

evidenció una latencia térmica constante durante todo el periodo experimental, mientras que en los animales con una dieta elevada en sacarosa se mostró una respuesta bifásica a la estimulación térmica; es decir, en las primeras 4 semanas con la dieta hipercalórica, se observó una disminución estadísticamente significativa en la latencia térmica en comparación con el grupo Ovx-Ctrl. En este punto, los animales Ovx-Suc exhibían una latencia térmica de 7.6 ± 0.2 s, mientras que los animales del grupo Ovx-Ctrl presentaron una latencia de 10.5 ± 0.3 s ($p < 0.001$), mostrando un estado de hiperalgesia. En contraste, de la semana 12 a la 18, el grupo Ovx-Suc mostró un aumento en la latencia térmica versus el grupo Ovx-Ctrl. En la semana 17, los animales con la dieta alta en sacarosa presentaron una latencia térmica de 14.4 ± 0.4 s, que fue significativamente mayor que en los animales controles (11.4 ± 0.1 s; $p < 0.001$) indicando un estado de hipoalgesia.

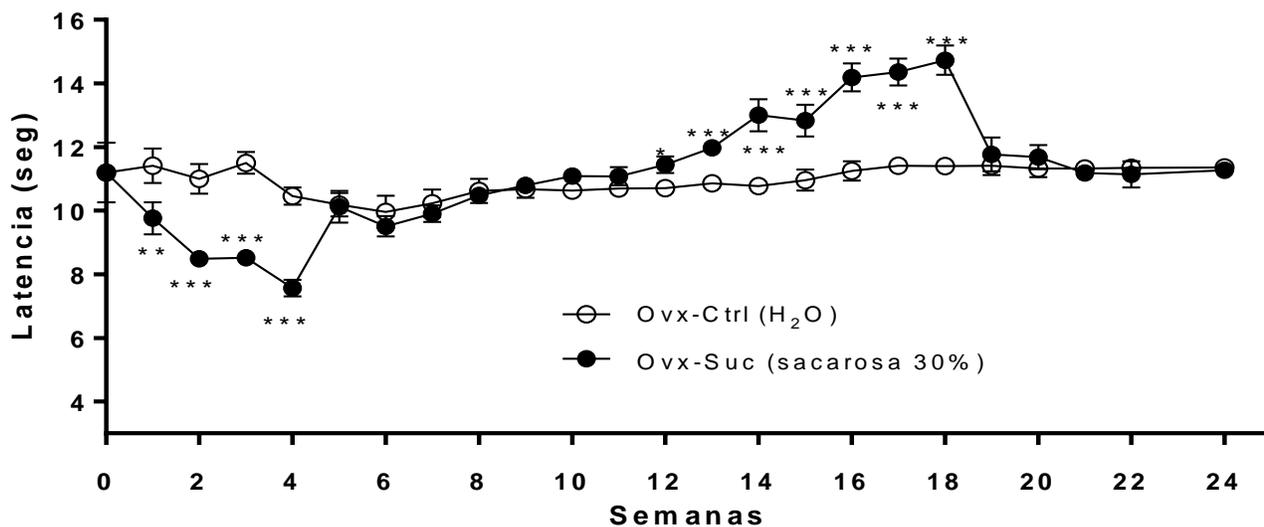


Figura 12. Latencia térmica (s) del grupo Ovx-Ctrl y del grupo Ovx-Suc alimentado con una dieta alta en sacarosa 30% durante 24 semanas. Cada punto representa la media \pm el E.E., $n=10$; * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$ Ovx-Suc vs. Ovx-Ctrl. ANOVA de dos vías seguida de una prueba pos hoc de Tukey.

4. Alteraciones en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas

La presente investigación mostró en primera instancia, que conforme aumenta el peso corporal en ratas ovariectomizadas (dieta hipercalórica con sacarosa al 30%) se causan alteraciones en la percepción del dolor, generando una respuesta hiperalgésica térmica a las 4 semanas y una respuesta hipoalgésica térmica a las 17 semanas. Ahora bien, fueron analizados en estos puntos específicos los indicadores de obesidad como son el peso corporal y el IMC. La tabla 2 muestra diferencias significativas en el peso corporal no solo a las 4 semanas sino también a las 17 semanas en animales ovariectomizados alimentados con sacarosa 30%. Sin embargo, al analizar el IMC se pudo visualizar un IMC superior de 0.68 g/cm^2 en animales a los que se les proporcionó la dieta hipercalórica durante 17 semanas versus su control. De ahí que, los animales que recibieron la solución de sacarosa 30% se encontraron en un estado de obesidad, mientras que los animales que fueron alimentados por la misma dieta por un periodo más corto (4 semanas) se encontraron en estado de sobrepeso.

Razón por la cual, el presente trabajo demostró por primera vez que conforme avanza el estado de obesidad en ratas ovariectomizadas, se produce una respuesta bifásica en la percepción del dolor, generando una respuesta hiperalgésica en el estado de sobrepeso (4 semanas con la dieta) y una respuesta hipoalgésica en el estado de obesidad (17 semanas con la dieta).

Tabla 2. Peso corporal e IMC a las 4 y 17 semanas en animales ovariectomizados alimentados con sacarosa 30% (Ovx-Suc) en comparación con el grupo control (Ovx-Ctrl).

	Ovx-Ctrl	Ovx-Suc	P valor	Estado
	(N=10)	(N=10)	(N=10)	
Peso corporal (g)				
• 4 semanas	355.0 ± 5.0	389.8 ± 6.0	<0.01	
• 17 semanas	437.5 ± 7.4	513.8 ± 15.6	<0.001	
IMC (g/cm²)				
• 4 semanas	0.61 ± 0.01	0.63 ± 0.01	NS	Sobrepeso
• 17 semanas	0.66 ± 0.01	0.79 ± 0.01	<0.001	Obesidad

Los valores expresan la media ± E.E. NS, no significancia.

**p <0.01 Ovx-Suc vs Ovx-Ctrl

***p <0.001 Ovx-Suc vs Ovx-Ctrl

5. Peso de grasa abdominal en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas

Con la finalidad de explicar algunos de los posibles mecanismos de acción implicados en la respuesta bifásica observada en ratas ovariectomizadas con sobrepeso (Ovx-Sobrepeso) y ratas ovariectomizadas obesas (Ovx-Obesa comparadas con su control (Ovx-Ctrl), se determinó el peso de la grasa abdominal

y la niveles de varios marcadores como: glucosa en sangre, insulina, IL-1 β , TNF- α , leptina, adiponectina, β -endorfinas y 17 β -estradiol para explicar el desarrollo del perfil hiperalgésico e hipoalgésico en animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa respectivamente.

En la figura 13 se evidencia el aumento en el peso de la grasa abdominal, expresada en gramos, de animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesas comparados con sus respectivos controles. Tanto el grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesas mostraron un aumento estadísticamente significativo en la grasa abdominal en comparación con su grupo Ovx-Ctrl. Durante este análisis, los animales Ovx-sobrepeso exhibieron cantidades mayores de grasa abdominal (13.2 ± 0.5 g) que las ratas del grupo Ovx-Ctrl (7.1 ± 0.4 g), ($p < 0.001$). Del mismo modo, la grasa abdominal de los animales Ovx-Obesas pesaba 30.7 ± 1.4 g, mientras que el grupo Ovx-Ctrl pesó 13.8 ± 1.4 g mostrando diferencias significativas entre ambos grupos ($p < 0.001$).

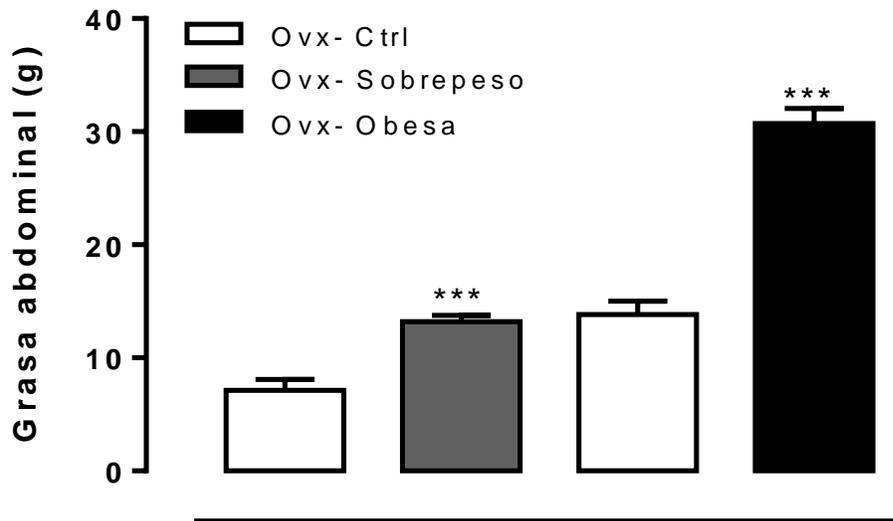


Figura 13. Peso de grasa abdominal del grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesas comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl). Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6; ***p <0.0001 Ovx-Sobrepeso vs. Ovx-Ctrl, Ovx-Obesa vs. Ovx-Ctrl. t-Student

6. Niveles de glucosa en sangre en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas

Los niveles de glucosa fueron medidos en todos los animales en ayunas. La figura 14 muestra que no hubo diferencias significativas en los niveles de glucosa en sangre entre los grupos Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa vs su control.

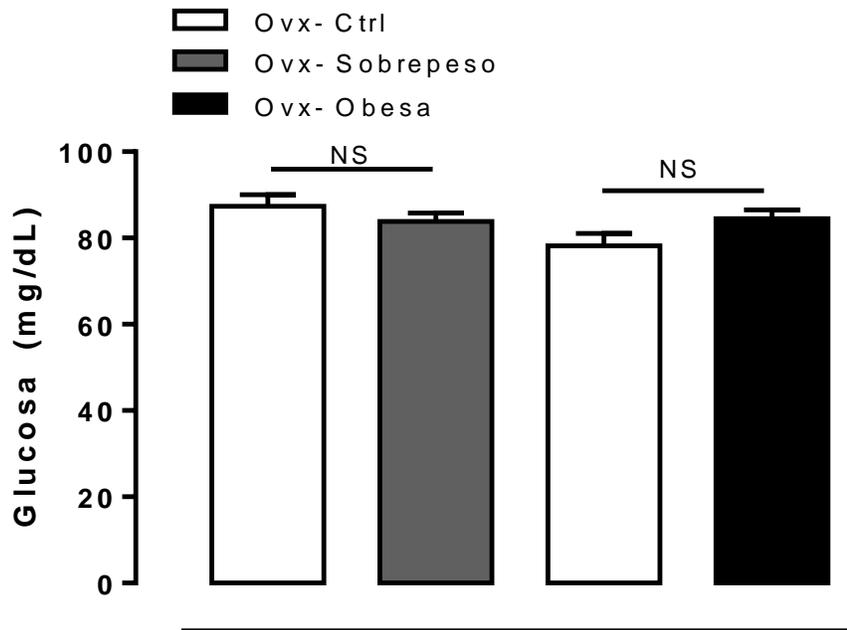


Figura 14. Niveles de glucosa en sangre del grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa vs Ovx-Ctrl. Cada barra representa la media \pm el E.E., n=6; NS, no significancia.

7. Niveles de insulina en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas

Los niveles séricos de insulina en animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa se determinaron por el método ELISA, los resultados obtenidos pueden observarse en la Figura 15. En esta Figura se muestran los niveles de insulina, expresada en ng/mL. El grupo Ovx-sobrepeso y Ovx-Obesas mostraron un aumento estadísticamente significativo en los niveles de insulina en comparación con su grupo Ovx-Ctrl. El grupo Ovx-sobrepeso y Ovx-Obesa desarrollaron un proceso de hiperinsulinemia con niveles de 2.0 ± 0.3 ng/mL y 1.5 ± 0.2 ng/mL respectivamente, mostrando diferencia significativa con sus grupos controles ($p < 0.001$).

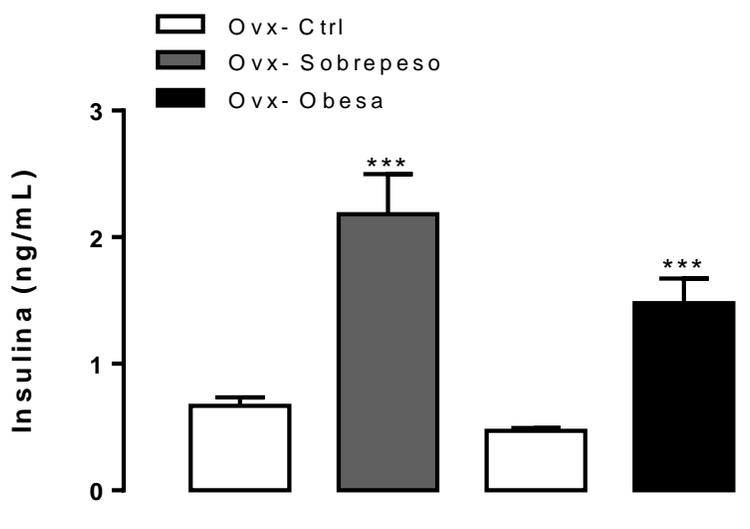


Figura 15. Niveles de insulina sérica de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl). Cada punto representa la media \pm el E.E., $n=6$; *** $p < 0.0001$ Ovx-Sobrepeso vs. Ovx-Ctrl, Ovx-Obesa vs. Ovx-Ctrl. t-Student

8. Expresión de IL-1 β , TNF- α y leptina en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas

En las figuras 16, 17 y 18 se muestran los niveles de TNF- α , IL-1 β detectados a través de la técnica de ELISA en el tejido adiposo así como los niveles de leptina en suero por el mismo método analítico en animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa, expresados en pg/mL. Los niveles de TNF- α e IL-1 β aumentaron significativamente en el grupo Ovx-Sobrepeso versus su control (Ovx-Ctrl). No obstante, no hubo diferencias significativas en los niveles de estos mediadores inflamatorios (TNF- α , IL-1 β) en animales Ovx-Obesas comparados con sus controles.

Los niveles de leptina no se modificaron en el grupo Ovx-Sobrepeso examinado con su respectivo control (Ovx-Ctrl), en cambio en el grupo

experimental Obeso (Ovx-Obesa) se observó un aumento en los niveles de leptina con respecto al control (Figura 18).

En la figura 16 se muestran niveles de TNF- α de 1047.3 ± 252.9 pg/mL en los animales Ovx-Sobrepeso mientras que el grupo Ovx-Ctrl exhibió niveles de 224.2 ± 106.6 pg/mL, mostrando diferencias significativas entre ambos grupos ($p < 0.01$). De manera concordante, el análisis estadístico encontró diferencias significativas en los niveles de IL-1 β ($p < 0.01$), considerando que, el grupo Ovx-Sobrepeso mostró niveles aumentados de IL-1 β (2429.5 ± 508.6 pg/mL) con respecto al grupo Ovx-Ctrl (1027.8 ± 88.1 pg/mL) (Figura 17).

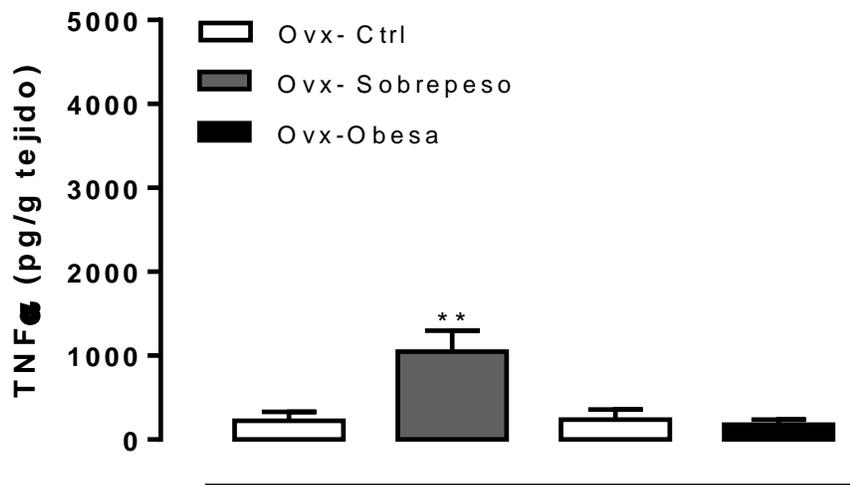


Figura 16. Niveles de TNF- α analizados por el método ELISA en tejido adiposo de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl). Cada punto representa la media \pm el E.E., $n=6$; ** $p < 0.01$ Ovx-Sobrepeso vs. Ovx-Ctrl. t-Student

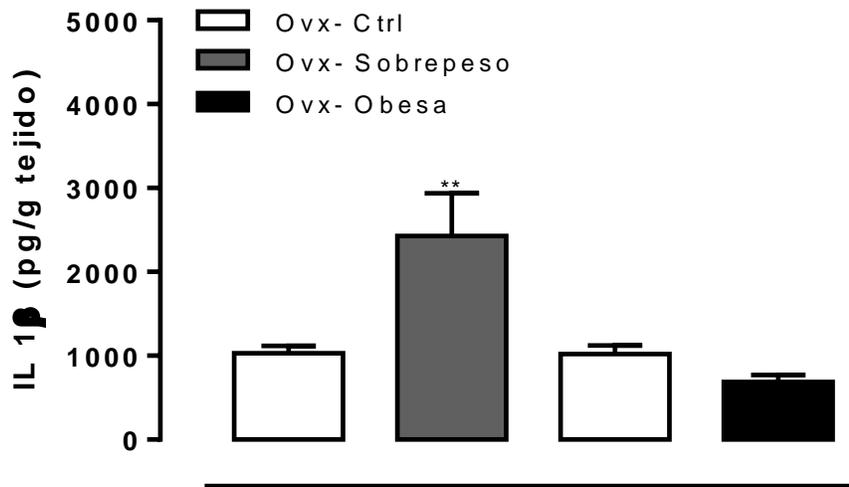


Figura 17. Niveles de IL-1 β detectados por el método ELISA en tejido adiposo de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl). Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6; **p <0.01 Ovx-Sobrepeso vs. Ovx-Ctrl. ANOVA de dos vías seguida de una prueba pos hoc de Tukey



Figura 18. Niveles de leptina detectados por el método ELISA en suero de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl). Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6; *p <0.05 Ovx-Sobrepeso vs. Ovx-Ctrl. t-Student

9. Cuantificación de β -endorfinas, 17 β -estradiol y adiponectina en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas

En las figuras 19, 20 y 21 se presentan los niveles de β -endorfinas, 17 β -estradiol y adiponectina analizados por el método ELISA en suero de animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa, expresados en ng/mL. No solo los niveles de β -endorfinas, sino también los niveles de 17 β -estradiol aumentaron significativamente en el grupo Ovx-Obesa vs su control (Ovx-Ctrl). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en los niveles de estos mediadores químicos (β -endorfinas, 17 β -estradiol) en animales Ovx-Sobrepeso comparados con sus controles.

Los niveles de adiponectina no se modificaron en los diferentes grupos experimentales ni se observaron cambios significativos en animales ovariectomizados en estado de sobrepeso y en estado de obesidad contrastados con sus respectivos controles. En la figura 19 se muestra niveles de β -endorfinas de 1.06 ± 0.06 ng/mL, en los animales Ovx-Obesa mientras que el grupo Ovx-Ctrl exhibió niveles de 0.36 ± 0.17 ng/mL, exhibiendo diferencias significativas entre ambos grupos ($p < 0.05$). De manera semejante, el análisis estadístico encontró diferencias significativas en los niveles de 17 β -estradiol ($p < 0.001$), considerando que, el grupo Ovx-obesa manifestó niveles aumentados de 17 β -estradiol (0.59 ± 0.08 ng/mL) con respecto al grupo Ovx-Ctrl (0.15 ± 0.09 ng/mL) (Figura 20).

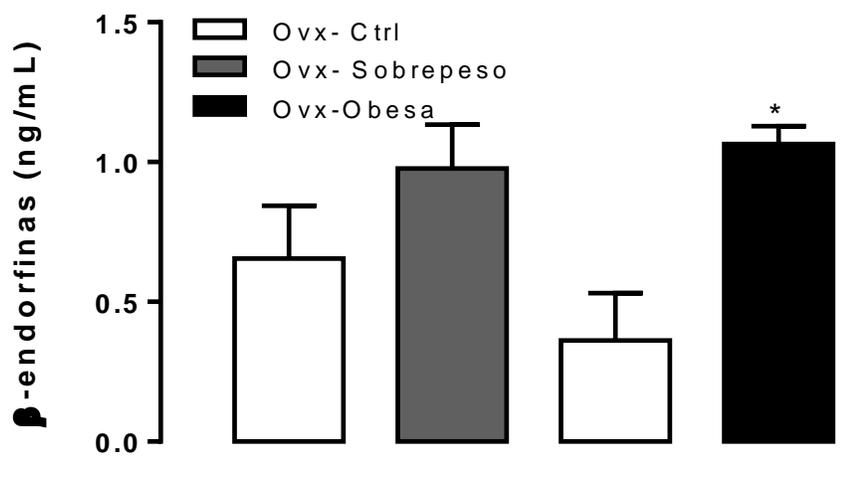


Figura 19. Niveles de β -endorfinas cuantificados por el método ELISA en suero de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl). Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6; *p < 0.05 Ovx-Obesa vs. Ovx-Ctrl. t-student.

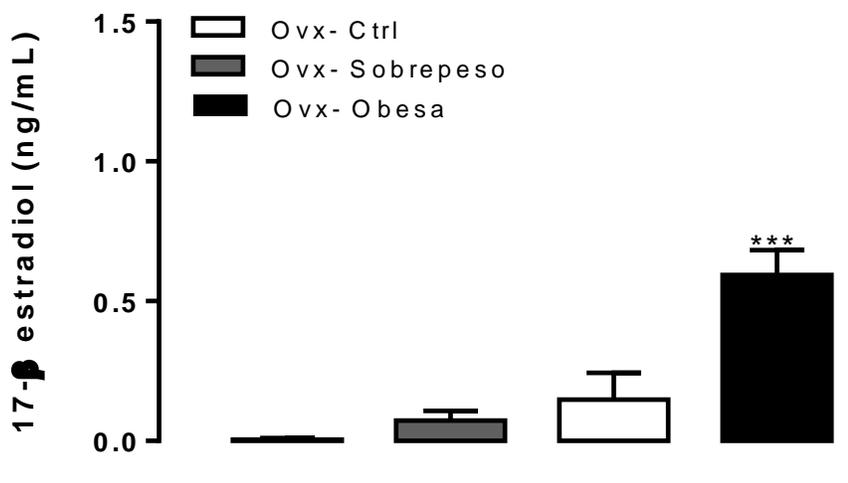


Figura 20. Niveles de 17 β -estradiol cuantificados por el método ELISA en suero de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl). Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6; ***p < 0.001 Ovx-Obesa vs. Ovx-Ctrl. t-student

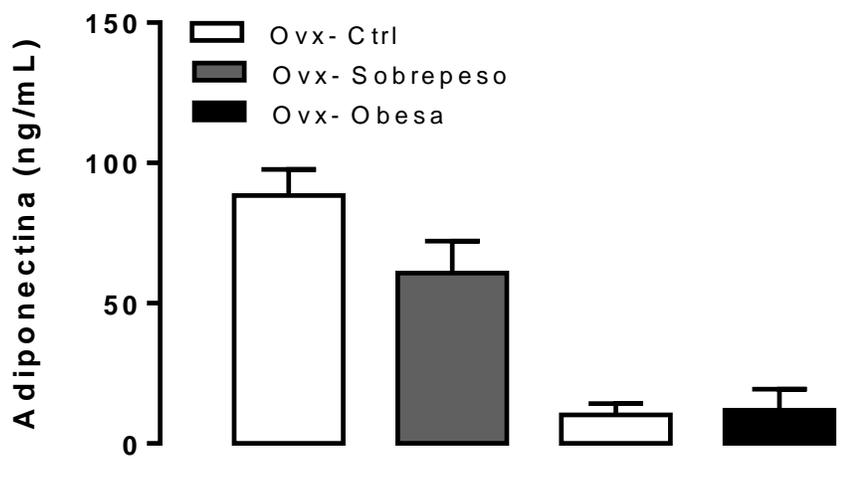


Figura 21. Niveles de adiponectina detectados por el método ELISA en suero de los animales Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa comparados con su respectivo control (Ovx-Ctrl). Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6.

10. Efecto antinociceptivo de ketoprofeno en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesidad

Hasta este momento se encontró que hay alteraciones nociceptivas conforme avanza el estado de obesidad (sobrepeso y obesidad), sin embargo, no hay estudios que evalúen la respuesta analgésica de un AINE como ketoprofeno en estas condiciones. En consecuencia, fue evaluado el efecto antihiperalgésico (antinocicepción) de ketoprofeno administrado vía oral en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas que fueron alimentadas con una dieta alta en sacarosa 30% por 4 y 17 semanas respectivamente comparados con los animales que recibieron solo agua de beber (controles). Estos puntos de tiempo fueron elegidos debido la respuesta hiperalgésica e hipoalgésica observada en el grupo Ovx-Sobreso y Ovx-Obesa.

En la figuras 22 se presentan los cursos temporales del efecto anti-hiperalgésico de ketoprofeno a dosis de 1.8, 5.6, 10.0, 17.8 o 31.6 mg/kg

evaluados en el grupo Ovx-sobrepeso (Panel A) y Ovx-Ctrl (Panel B) cada 30 minutos por 4 horas. Asimismo en la figura 23 se muestran los efectos de ketoprofeno administrado p.o. en varias dosis (10.0, 31.6 o 100 mg/kg) en el grupo Ovx-Obesas (Panel A) y Ovx-Ctrl (Panel B). Antes de la administración del fármaco, se determinó la latencia térmica basal de todos los grupos experimentales por el método de plantar test. Las ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas fueron administradas con el vehículo (carboximetilcelulosa 0.5 %), y se observó que con el vehículo se presenta el mismo porcentaje de respuesta a la estimulación térmica a lo largo del periodo de observación. En el curso temporal (Figura 22, panel A), ketoprofeno produjo un incremento de la latencia en el grupo Ovx-Sobrepeso y este efecto anti-hiperalgésico fue dosis-dependiente. La eficacia máxima se produjo con la dosis de 31.6 mg/kg con un incremento en el valor de latencia térmica en 4.3 ± 0.4 s, mientras el efecto máximo en el curso temporal se alcanzó 30 min post-administración. Además, este efecto se mantuvo a lo largo del tiempo, de manera casi constante durante las 4 h de evaluación. En cuanto al grupo Ovx-Ctrl (Figura 22, panel B), la dosis de 31.6 mg/Kg produjo la mejor eficacia aunque menor eficacia a la presentada por el grupo Ovx-Sobrepeso. Mientras que el efecto máximo en el curso temporal, se obtuvo 90 min post-administración de ketoprofeno, pero, este efecto disminuyó rápidamente 30 min después hasta llegar a un estado basal. Las dosis más bajas no lograron un efecto antinociceptivo diferente al producido por el vehículo.

Por otra parte, la administración de ketoprofeno en los grupos Ovx-Obesa (Panel A) y Ovx-Ctrl (Panel B), también mostró efectos anti-hiperalgésicos en los cursos temporales dependiente de la dosis en ambos grupos (Figura 23). Con las dosis administradas de ketoprofeno se detectó que la dosis más eficaz o la que generó el mayor efecto antinociceptivo fue la de 100 mg/kg vía oral tanto en animales controles como en animales ovariectomizadas obesas. En los cursos temporales, el tiempo para obtener el efecto máximo fue de 90 min post-administración, no obstante, este efecto decae rápidamente hasta desaparecer en el periodo de observación.

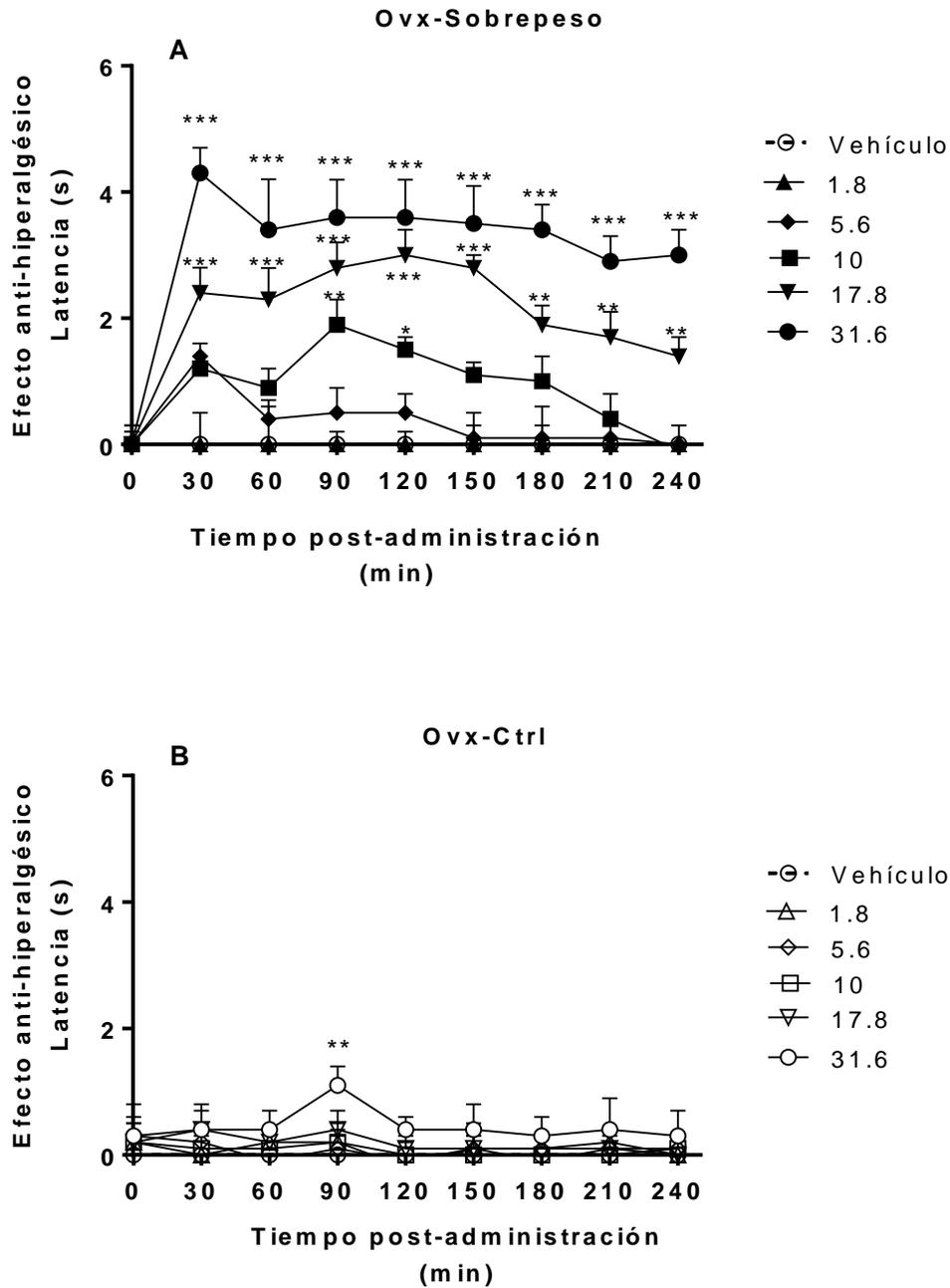


Figura 22. Curso temporal del efecto anti-hiperalgésico (antinocicepción) generado por Ketoprofeno en el grupo Ovx-Sobrepeso (Panel A) y Ovx-Ctrl (Panel B). Los animales fueron administrados con vehículo (carboximetilcelulosa 0.5 %) o dosis crecientes de ketoprofeno (1.8, 5.6, 10.0, 17.8 o 31.6 mg/Kg p.o.). Cada punto representa la media \pm el E.E., $n=6$. * $p<0.05$, ** <0.01 , *** $p <0.001$ ratas administradas con diferentes dosis de ketoprofeno vs vehículo. ANOVA de una vía seguida de una prueba pos hoc de Tukey.

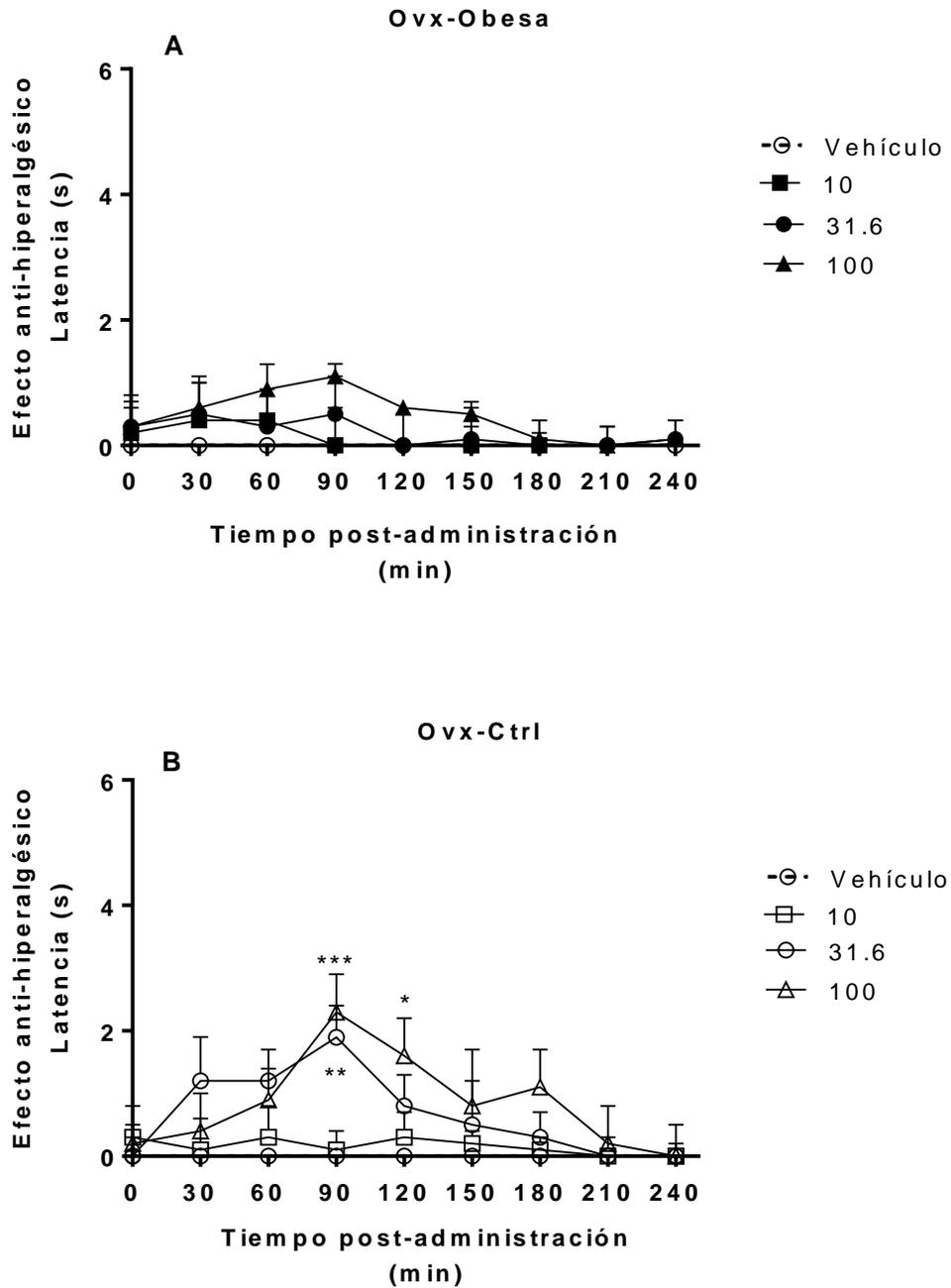


Figura 23. Curso temporal del efecto anti-hiperalgésico (antinocicepción) generado por ketoprofeno en el grupo Ovx-Obeso (Panel A) y Ovx-Ctrl (Panel B). Los animales fueron administrados con vehículo (carboximetilcelulosa 0.5 %) o dosis crecientes de ketoprofeno (10.0, 31.6 o 100.0 mg/Kg p.o.). Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ ratas administradas con diferentes dosis de ketoprofeno vs vehículo. ANOVA de una vía seguida de una prueba pos hoc de Tukey.

Los efectos globales de antinocicepción, expresados como el área bajo la curva (ABC), se obtuvieron de los cursos temporales correspondientes de cada dosis administrada de ketoprofeno. En este caso, los valores del ABC se calcularon mediante los datos de la latencia térmica de los cursos temporales (Figuras 22, 23, Paneles A y B), con el propósito de visualizar con más detalle los efectos anti-hiperalgésicos generados por ketoprofeno en las diferentes condiciones de ganancia de peso. Ketoprofeno (31.6 mg/Kg) administrado en el grupo Ovx-Sobrepeso, mostró 781.3 ± 95.4 unidades de área (ua), por lo tanto, esta dosis mostró un efecto anti-hiperalgésico mayor, estadísticamente significativo comparado con su grupo control ($p > 0.001$), como se muestra en la figura 24, panel A. Del mismo modo, se evaluó el ABC de la dosis de 100 mg/Kg en el grupo Ovx-Obesa y Ovx-Ctrl, como se aprecia en la figura 24 (Panel B). Ketoprofeno exhibió una tendencia a alcanzar un efecto antinociceptivo, pero el efecto no fue estadísticamente significativo en ambos grupos analizados.

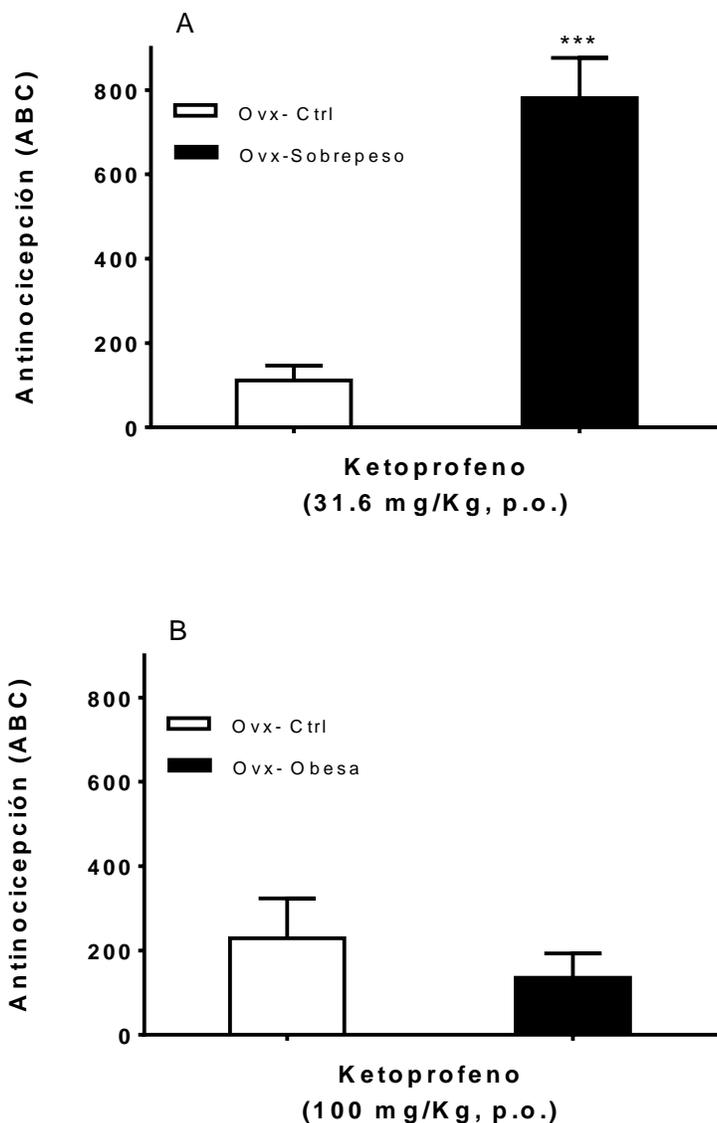


Figura 24. Panel A: Efecto antinociceptivo (ABC= área bajo la curva) de los cursos temporales de ketoprofeno (31.6 mg/kg, p.o.) del grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Ctrl. Panel B: Efecto antinociceptivo (ABC) de los cursos temporales de ketoprofeno (100.0 mg/kg, p.o.) del grupo Ovx-Obesa y Ovx-Ctrl. Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6. *** $p < 0.001$. Ovx-Sobrepeso vs Ovx-Ctrl. *t-student*.

En las curvas dosis respuesta (CDR), expresada como ABC, representada en la figura 25 del grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Ctrl (Panel A), ketoprofeno mostró efectos dependientes de la dosis en el grupo Ovx-Sobrepeso, mientras que en el grupo Ovx-Ctrl ketoprofeno presentó una tendencia dosis dependiente, pero el

efecto no fue estadísticamente significativo. Sin embargo, se observó que en los animales Ovx-Sobrepeso, ketoprofeno (31.6 mg/kg) presentó una mayor eficacia antinociceptiva (781.3 ± 95.4 ua) que en el grupo Ovx-Ctrl (111.5 ± 34.8 ua). El valor máximo de ABC obtenida en el plantar test (para efectos anti-hiperalgésicos) bajo esta condición experimental fue de 800 ua. La dosis requerida para producir el 10 % del efecto máximo o valor de DE_{10} , fue diferente para el grupo Ovx-Sobrepeso (3.7 mg/kg) y el grupo Ovx-Ctrl (30.3 mg/kg), indicándonos que ketoprofeno, en animales ovariectomizados con sobrepeso muestra más potencia y presenta una mayor eficacia comparados con los animales controles.

Al examinar las CDR del grupo Ovx-Obesa y Ovx-Ctrl (Figura 25, Panel B) se muestra una tendencia de efectos dependientes de la dosis en ambos grupos. El valor máximo de ABC obtenida en el plantar test bajo esta condición experimental fue de 250 ua. No obstante no se visualizaron diferencias significativas en eficacia antinociceptiva. Los valores de DE_{50} fueron diferentes para el grupo Ovx-Obesa (95.6 mg/kg) y para el grupo Ovx-Ctrl (23.7 mg/kg), por lo tanto, estos valores indican que la potencia antinociceptiva por parte de ketoprofeno es mayor en el grupo Ovx-Ctrl.

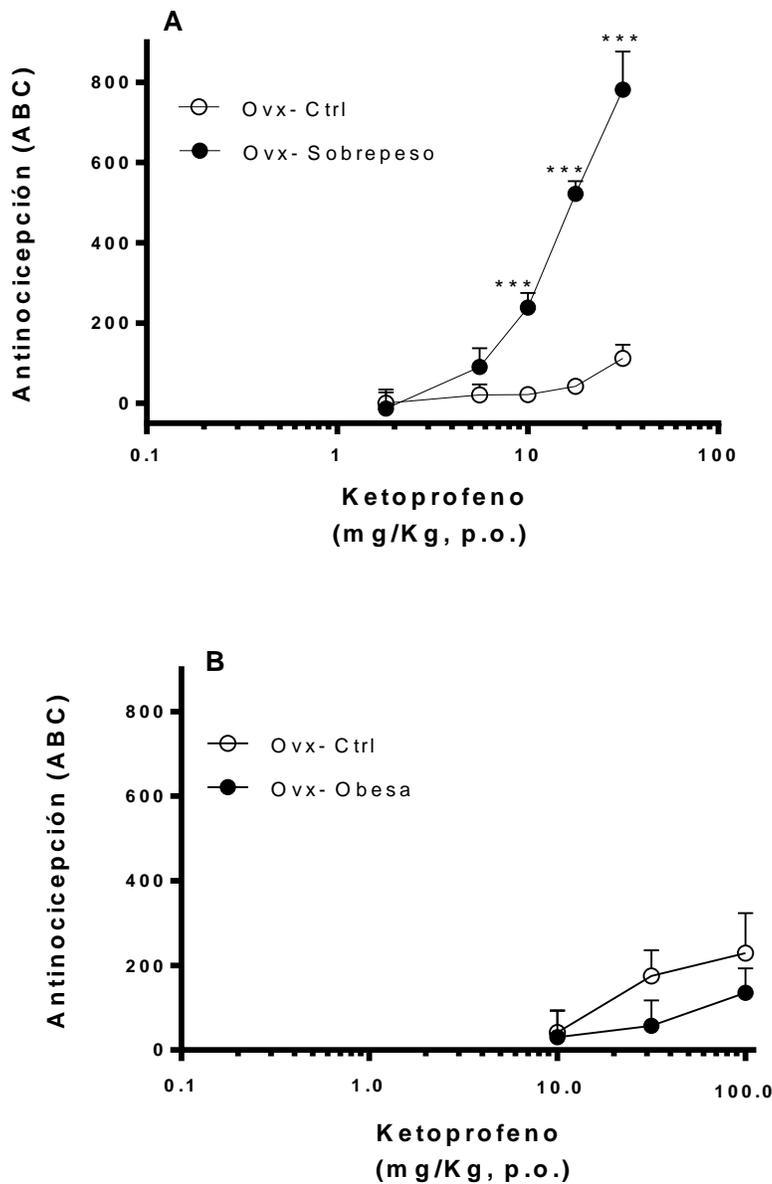


Figura 25. Panel A: Curva dosis respuesta del efecto anti-hiperalgésico de ketoprofeno en el grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Ctrl. Los animales fueron administrados con vehículo (carboximetilcelulosa 0.5 %) o dosis crecientes de ketoprofeno (1.8, 5.6, 10.0, 17.8 o 31.6 mg/Kg p.o.). Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6. ***p <0.001 Ovx-Sobrepeso vs Ovx-Ctrl. ANOVA de una vía seguida de una prueba pos hoc de Tukey. Panel B: Curva dosis respuesta del efecto anti-hiperalgésico de ketoprofeno en el grupo Ovx-Obesa y Ovx-Ctrl. Los animales fueron administrados con vehículo (carboximetilcelulosa 0.5 %) o dosis crecientes de ketoprofeno (10.0, 31.6 o 100.0 mg/Kg p.o.) Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6.

Al comparar las CDR de ketoprofeno en animales controles que recibieron agua de beber por 4 o 17 semanas (Figura 26, Panel A) observamos que tanto a las 4 como a las 17 semanas el ketoprofeno presentó una tendencia al efecto dependiente de la dosis, y no se observaron diferencias con respecto a la eficacia y la potencia en el grupo control a las diferentes semanas ya que las curvas son muy similares.

Al contrastar las CDR del efecto antinociceptivo de las diferentes dosis de ketoprofeno en animales ovariectomizados con sobrepeso y obesos (Figura 26, Panel B), el ketoprofeno manifestó un efecto significativo dependiente de la dosis en ratas ovariectomizadas con sobrepeso. Asimismo, el ketoprofeno en esta condición exhibió una mayor eficacia y potencia comparados con los animales ovariectomizados en estado de obesidad, además, se apreció que la CDR de los animales antes mencionados se desplaza hacia abajo (menos eficacia) en comparación con la curva de los animales en estado de sobrepeso.

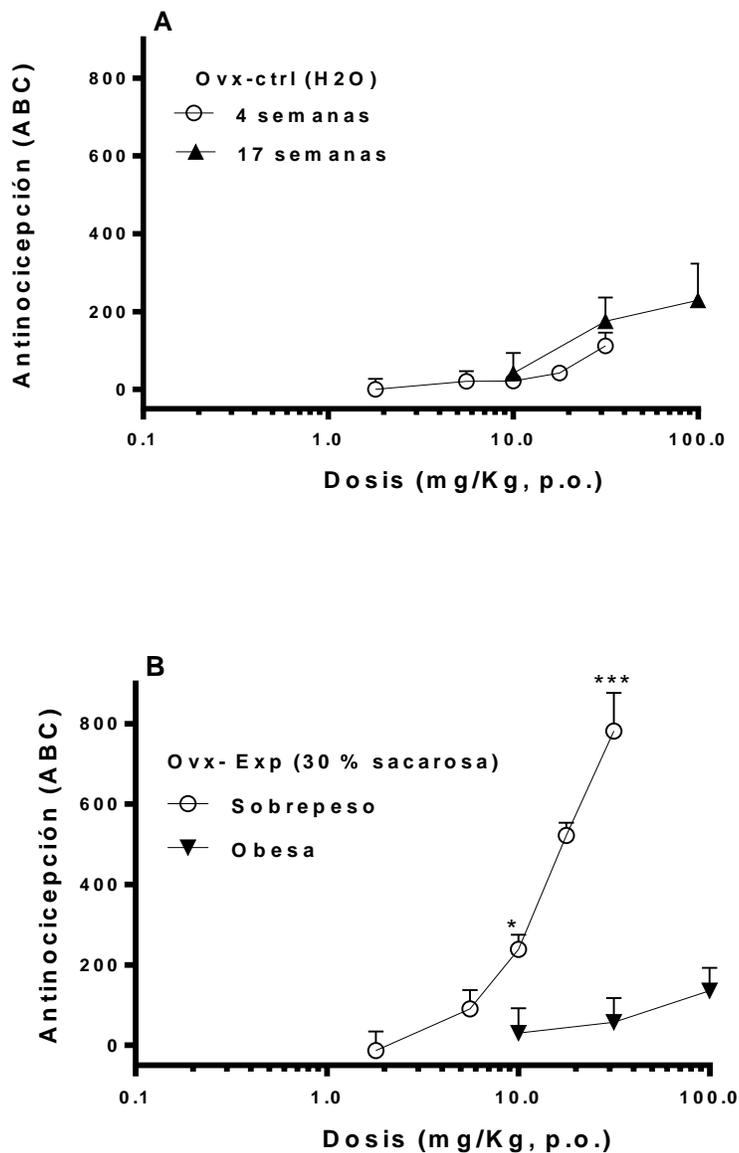


Figura 26. Panel A: Curva dosis respuesta del efecto anti-hiperalgésico de ketoprofeno en el grupo Ovx-Ctrl alimentado con H₂O por 4 y 17 semanas. Los animales fueron administrados con dosis crecientes de ketoprofeno (1.8, 5.6, 10.0, 17.8, 31.6 o 100.0 mg/Kg p.o.). Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6. Panel B: Curva dosis respuesta del efecto anti-hiperalgésico de ketoprofeno en el grupo Ovx-Sobrepeso y Ovx-Obesa. Los animales fueron administrados con dosis crecientes de ketoprofeno (1.8, 5.6, 10.0, 17.8, 31.6 o 100.0 mg/Kg p.o.) Cada punto representa la media \pm el E.E., n=6. *p <0.05, ***p <0.001 Ovx-Sobrepeso vs Ovx-Obesa. ANOVA de una vía seguida de una prueba pos hoc de Tukey.

En la tabla 3 se resumen los principales resultados obtenidos en este trabajo.

	Animales ovariectomizados	
	Sobrepeso	Obesidad
Grasa abdominal	↑↑	↑↑↑↑
Glucosa	No hay cambios	No hay cambios
Insulina	↑↑	↑↑
IL-1 β	↑	No hay cambios
TNF- α	↑	No hay cambios
Leptina	No hay cambios	↑
β -endorfinas	No hay cambios	↑
17- β -estradiol	No hay cambios	↑
Adiponectina	No hay cambios	No hay cambios
Ketoprofeno		
Anti-hiperalgésico	↑↑↑	↑
Eficacia	↑↑↑	No hay cambios
Potencia	↑↑↑	↑

Tabla 3. Resumen de los cambios encontrados en animales ovariectomizados con sobrepeso y obesas.

IX. DISCUSIÓN

Los objetivos de este estudio fueron: 1) caracterizar la respuesta nociceptiva utilizando el método de plantar test en ratas Wistar ovariectomizadas conforme avanza el estado de obesidad generado con una dieta alta en sacarosa (30%) por un lapso de 24 semanas, 2) examinar algunos de los posibles mecanismos responsables de la alteración nociceptiva y 3) evaluar los efectos anti-hiperalgésicos de ketoprofeno en estas condiciones.

El modelo de ovariectomía fue utilizado en esta investigación no sólo como una causa directa de aumento de peso corporal (Stubbins y cols, 2012; Da Silva y cols, 2014), sino también porque es un buen modelo experimental que mimetiza la menopausia humana (Díaz Brinton, 2012). Además se empleó una dieta alta en sacarosa (30%) en el agua de beber en los animales para inducir el estado de sobrepeso y obesidad. Esto en vista de que, en la actualidad una de las principales causas que originan la obesidad en los seres humanos es la ingesta exagerada de bebidas con alto contenido de azúcar (Swinburn y cols., 2004; Trumbo y Rivers, 2014). En nuestro estudio, los animales ovariectomizados mostraron incrementos significativos en el peso corporal así como de grasa abdominal en comparación con los animales del grupo control en respuesta al consumo de la dieta hipercalórica desde de la tercera semana, y este aumento de peso permaneció a lo largo de todo el tratamiento, incluso, se observó una diferencia de peso mayor del 20% a partir de la doceava semana y hasta finalizar el protocolo de tratamiento en animales alimentados con una dieta alta en sacarosa (30%), en contraste con animales controles, indicando que los animales se encontraban en estado de obesidad. Estos resultados son consistentes con estudios previos donde ha sido reportado que una dieta hipercalórica (sacarosa 30%) induce un aumento de peso corporal en los animales de experimentación (Ramírez, 1987; Kawasaki y cols., 2005; Von Diemen y cols., 2006; Novelli y cols., 2007).

La ganancia de peso en los animales alimentados con una dieta alta en sacarosa se debe fundamentalmente a la conversión de los carbohidratos en

ácidos grasos, que una vez esterificados se almacenan en el tejido adiposo como triglicéridos (Attie y Scherer, 2009; Rogge, 2009; Herman y Kahn, 2012). Este complejo proceso implica la degradación de los carbohidratos (glucosa) mediante la glucólisis anaerobia en el citoplasma y el ciclo tricarboxílico en el interior de la mitocondria, con producción de energía. Ante un exceso de carbohidratos de la dieta, el organismo responde generando una cantidad de energía superior a la demanda del organismo, es decir, no existe equilibrio entre generación y consumo de energía y el organismo se encuentra con un exceso energético que necesita utilizar, y lo aprovecha en la síntesis endógena de ácidos grasos que se realiza fuera de la mitocondria (Attie y Scherer, 2009; Rogge, 2009; Herman y Kahn, 2012). La mitocondria proporciona los sustratos necesarios, productos de la degradación de la glucosa (acetil CoA y ATP), para la síntesis de las cadenas de ácidos grasos, que una vez esterificados con glicerol y en forma de triglicéridos se almacenan en el tejido adiposo como reservorio energético. En humanos esta vía es predominantemente activa en hígado y en tejido adiposo, la alteración de la lipogénesis de novo en los tejidos lipogénicos antes mencionados se observa en diversas enfermedades metabólicas, que incluyen la obesidad, el hígado graso no alcohólico y el síndrome metabólico (Attie y Scherer, 2009; Rogge, 2009; Herman y Kahn, 2012).

Por otra parte, el sobrepeso y la obesidad en los humanos están relacionados con mediciones antropométricas como el IMC (Romero-Corral y cols., 2008). Esta medición también ha sido reportada en los animales. En modelos animales el IMC fue determinado por una relación entre el peso en gramos de los animales y su altura en cm (longitud de la nariz hasta el ano) elevada al cuadrado. De manera que, un IMC mayor de 0.68 g/cm^2 es catalogado como un estado de obesidad en los animales (Novelli y cols., 2007). En este sentido, encontramos un IMC superior de 0.68 g/cm^2 en ratas ovariectomizadas alimentadas con sacarosa 30 %, corroborando que efectivamente estos animales se encuentran en estado de obesidad.

En los últimos años el sobrepeso y la obesidad han sido consideradas como un grave problema de salud pública a nivel mundial, en vista de la elevada

prevalencia en todo el mundo (WHO, 2000), teniendo un gran impacto en mujeres menopáusicas, considerando que el déficit de estrógenos contribuye a un aumento del tejido adiposo lo que favorece la ganancia de peso en esta etapa biológica (Toth y cols., 2000; Rogers y cols., 2009). Recientemente, el sobrepeso y la obesidad han sido asociados con varios trastornos cardiovasculares (Kopelman, 2000) y como factores de riesgo para el desarrollo de alteraciones dolorosas, afectando la calidad de vida de las personas (Pradalier y cols., 1981; Ramzan y cols., 1993; Hitt y cols., 2007; Buchenauer y cols., 2009; Iannitti y cols., 2012). Existe una amplia evidencia a nivel preclínico y clínico que indican que la sensibilidad al dolor puede alterarse durante el aumento de peso corporal (Ramzan y cols., 1993; Felson y Chaisson, 1997; Marcus, 2004; Hitt y cols., 2007; Sugimoto y cols., 2008; Iannitti y cols., 2012), no obstante los mecanismo de tal alteración no están bien establecidos hasta este momento. En este sentido, el presente trabajo demostró que, la ganancia de peso corporal causado por la ingesta hipercalórica (sacarosa 30%) está asociada con una respuesta bifásica en la percepción del dolor en ratas Wistar ovariectomizadas generando una disminución significativa en la latencia térmica (una respuesta hiperalgésica) cuando los animales recibieron una solución de sacarosa (30%) por un lapso de 4 semanas, en contraste con lo anterior, es importante mencionar que cuando los animales recibieron la dieta por un periodo más prolongado (17 semanas), presentaron un aumento significativo en la latencia térmica (una respuesta hipoalgésica) comparados con los animales que solo recibieron agua libre de sacarosa 30 %. Estos hallazgos coinciden con los obtenidos por Sugimoto y cols., quienes en el 2008 utilizaron un modelo genético de obesidad, y demostraron que ratas obesas Zucker, presentaron una progresión del estado hiperalgésico al hipoalgésico a las 8 y 32 semanas de edad en comparación con sus controles.

El presente trabajo mostró en primera instancia que en ratas ovariectomizadas Wistar conforme aumenta el peso corporal, se producen alteraciones en la percepción del dolor, generando una respuesta hiperalgésica térmica a las 4 semanas y una respuesta hipoalgésica térmica a las 17 semanas en respuesta a la dieta hipercalórica (sacarosa al 30%). Ahora bien, se analizaron en estos puntos

específicos los indicadores de obesidad, como son el peso corporal y el IMC, encontrando diferencias significativas en el peso corporal no solo a las 4 semanas sino también a las 17 semanas en animales ovariectomizados alimentados con sacarosa 30%, sin embargo, al analizar el IMC se pudo visualizar un IMC superior de 0.68 g/cm^2 solo en animales que fueron alimentados con la dieta hipercalórica por 17 semanas ($0.79 \pm 0.01 \text{ g/cm}^2$). Por lo que, los animales que recibieron la solución de sacarosa 30% por 17 semanas, se encontraban en un estado de obesidad, mientras que los animales que fueron tratados con sacarosa por un periodo más corto (4 semanas) se encontraban en estado de sobrepeso.

Razón por la cual, el presente trabajo demostró por primera vez, que conforme avanza el estado de obesidad en ratas ovariectomizadas, se causa una respuesta bifásica en la percepción del dolor generando una respuesta hiperalgésica en el estado de sobrepeso (4 semanas con la dieta) y una respuesta hipoalgésica en el estado de obesidad (17 semanas con la dieta). Conclusión a la que no llega Sugimoto y cols., en el 2008, quien tampoco analizó los mecanismos involucrados en las alteraciones encontradas en sus estudios.

Análogamente, en humanos obesos se ha reportado un aumento de prevalencia de varias condiciones dolorosas como: osteoartritis (Grotle y cols., 2008), dolor de espalda baja (Hitt y cols., 2007), fibromialgia (Marcus, 2004) y migraña (Peterlin y cols., 2010). De modo similar, la presencia de dolor nociceptivo se ha relacionado con el aumento de peso en mujeres menopaúsicas (Sievert y Goode-Null, 2005; Monteiro y cols., 2010). Por el contrario, varios estudios han reportado efectos hipoalgésicos en respuesta a la estimulación térmica relacionada con diferentes modelos de obesidad (Ramzan y cols., 1993, Zhang y cols., 1994, Sugimoto y cols., 2008). Del mismo modo, en sujetos obesos, se ha informado una menor sensibilidad a los estímulos dolorosos (Pradalier y cols., 1981; Zahorska-Markiewicz y cols., 1983; Khimich, 1997). Por lo que el reporte a veces de hiperalgesia y a veces de hipoalgesia (efectos contrarios) en pacientes obesos, puede tener explicación en los resultados obtenidos en el presente trabajo. Sin embargo, otras evidencias en la literatura, no han reportado alteraciones en la modulación del dolor en ratas obesas (Crocì y Zarini, 2007;

Iannitti y cols., 2012). Es así que, se ha descrito que el umbral del dolor puede cambiar de forma contradictoria con la ganancia de peso, pero dichas evidencias se han determinado en forma puntual, en diferentes tiempos, con distintos modelos de obesidad y diferentes pruebas conductuales. Por tanto, es necesario hacer notar que no hay estudios donde se haya examinado en forma continua, el curso temporal del umbral térmico conforme avanza la obesidad (estado de sobrepeso y obesidad). En efecto, este es el primer estudio donde fueron evaluadas estas dos condiciones de ganancia de peso, al hacer un seguimiento continuo del curso temporal de la obesidad y la percepción del dolor por 24 semanas. Ambos cambios reportados en la literatura los encontramos en este estudio, lo cual podría explicar las controversias encontradas en la literatura.

Por otra parte, para explicar uno de los posibles mecanismos de acción responsables de la respuesta bifásica en animales ovariectomizados con sobrepeso y obesidad, se determinaron los niveles de glucosa en ambas condiciones. Estudios previos han mostrado niveles elevados de glucosa en el estado de obesidad, esta alteración trae consigo varias consecuencias. Entre ellas, la degeneración neuronal (Brownlee, 2001; Sima, 2003) que causa en un inicio hiperalgesia (Hong y cols., 2004). Esta degeneración progresa, originando una respuesta hipoalgésica como producto de la desensibilización de los nervios periféricos (Sugimoto y cols., 2008), característica principal del dolor neuropático, que se presenta en la diabetes. Sin embargo, en este trabajo no se encontraron diferencias significativas en los niveles de glucosa en animales en estado de sobrepeso así como en el estado de obesidad comparados con los controles. De manera semejante, algunos estudios han reportado que no hay cambios en los niveles de glucosa con la obesidad (Roane y Martin, 1990; Piercy y cols., 1999; Sugimoto y cols., 2008; Iannitti y cols., 2012). Estos resultados son similares a nuestros datos, sin embargo, es posible que se puedan encontrar diferencias significativas en los niveles de glucosa en animales expuestos a una dieta hipercalórica más prolongada.

Al no visualizar diferencias significativas en los niveles de glucosa, se decidió analizar los niveles de insulina sérica en el estado de sobrepeso y

obesidad. Los resultados, en este estudio mostraron un estado de hiperinsulinemia (niveles elevados de insulina) no sólo en animales ovariectomizados con sobrepeso sino también en animales obesos. Nuestros resultados están acorde con otros estudios donde se han reportado hiperinsulinemia en diferentes modelos de obesidad (Sugimoto y cols., 2008). Está ampliamente reconocido que existe una alta afinidad por los receptores de insulina en los nervios periféricos, en particular en las neuronas pequeñas y medianas que dan lugar a las fibras aferentes primarias nociceptivas. La activación de estos receptores en la hiperinsulinemia, provoca un efecto de hipoxia sobre los nervios periféricos y un efecto trófico sobre las fibras mielinizadas, resultando todo esto en la incidencia de la hiperalgesia. Mientras que niveles elevados de insulina crónicos *per se*, causan desensibilización de los receptores de insulina en los nervios periféricos, originando una respuesta hipoalgésica (Kihara y cols., 1994; Shinghal y cols., 1997; Sugimoto., 2002, 2008) lo cual podría explicar la progresión de la hiperalgesia a hipoalgesia en ratas ovariectomizadas en estado de sobrepeso y obesas.

Por otro lado, es posible que esta respuesta bifásica en la alteración nociceptiva, esté relacionada con mecanismos metabólicos implicados en el desarrollo del dolor (Novella y cols., 2001; Summer y cols., 2013). Durante los últimos años, se ha expuesto una creciente evidencia que indica que el sobrepeso y la obesidad están relacionados con una inflamación de bajo grado (Tilg y Moschen, 2006; Vachharajani y Granger, 2009), que se caracteriza principalmente por un aumento de tejido adiposo. Un tejido endocrino complejo y muy activo (Kershaw y Flier, 2004) capaz de liberar múltiples sustancias como, adipocinas (leptina, adiponectina), citocinas (IL-1 β , TNF- α) hormonas (17- β -estradiol) y opioides (β -endorfinas) (Ramzan y cols., 1993; Trayhurn, 2005, Deng y Scherer, 2010). Otros mecanismos que pueden causar el aumento de la secreción de citocinas inflamatorias en pacientes y roedores obesos incluyen la infiltración de macrófagos que conduce a la inflamación crónica en el tejido adiposo (Weisberg y cols., 2003; Vachharajani y Granger, 2009; Hotamisligil, 2006). Por ende, cambios en la expresión de estos mediadores químicos podrían explicar otros mecanismos

involucrados en la respuesta bifásica nociceptiva asociado a la ganancia de peso (aumento del tejido adiposo).

Considerando lo anterior, se analizó la expresión de leptina, adiponectina, IL-1 β , TNF- α , 17- β -estradiol y β -endorfinas para establecer una posible correlación entre el tejido adiposo y la respuesta nociceptiva en ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas.

El presente trabajo muestra por primera vez, niveles elevados de IL-1 β y TNF- α en los animales ovariectomizados en estado de sobrepeso, por esta razón, es posible que el aumento en la concentración de estos marcadores inflamatorios pueda estar relacionado con el efecto hiperalgésico observado en esta condición. Nuestros hallazgos concuerdan con resultados similares obtenidos por otros grupos de investigadores, donde se ha reportado que tanto la IL-1 β así como TNF- α contribuyen al desarrollo del dolor y la hiperalgesia (Ferreira y cols., 1988; Cunha y cols., 1992). Asimismo, hay evidencia que muestra que las citocinas proinflamatorias liberadas por el tejido adiposo son mediadores directos que activan diferentes vías de señalización, tales como, la liberación de prostaglandinas, histamina y cininas, que a su vez, promueven la expresión del NGF, CGRP, la síntesis y regulación de varias proteínas como: TRPV1, canales de Na⁺, canales iónicos activados por protones, que en conjunto afectan la excitabilidad de las fibras sensoriales en el sistema nervioso central, desencadenando así una respuesta hiperalgesia (Ferreira y cols., 1988; Cunha y cols., 1992; Wieseler-Frank y cols., 2005).

Adicionalmente, otros estudios en modelos animales han mostrado que la administración de leptina está relacionada con una respuesta pronociceptiva (Kutlu y cols., 2003; Tian y cols., 2011). A nivel clínico, niveles elevados de leptina han sido correlacionados con varias enfermedades que producen dolor, por ejemplo, fibromialgia (Honann y cols., 2014) y dolor pélvico crónico (Bedaiwy y cols., 2006). Dichos resultados no fueron consistentes con nuestro estudio, dado que, nosotros no encontramos evidencia de que los niveles de leptina estuvieran alterados en ratas Wistar con sobrepeso. En conjunto, integrando nuestros resultados a estas evidencias podemos suponer que la respuesta hiperalgésica observada en el

estado de sobrepeso está relacionada con los marcadores inflamatorios (IL-1 β y TNF- α) y es independiente de los niveles de leptina.

En relación a las ratas ovariectomizadas obesas, el presente trabajo muestra por primera vez, un aumento significativo en los niveles de 17- β -estradiol y β -endorfinas, pero sin cambios significativos en los niveles de adiponectina. Estas alteraciones podrían estar involucradas en la respuesta hipoalgésica observada en esta condición.

El aumento en las concentraciones de 17- β -estradiol y β -endorfinas observados en la respuesta hipoalgésica, es consistente con lo reportado tanto a nivel clínico como preclínico, en los cuales se ha demostrado que el 17- β -estradiol y β -endorfinas participan en la modulación de efectos antinociceptivos en diferentes tipos de dolor, como, nociceptivo, inflamatorio y neuropático (Liu y cols., 2011; Amandusson y Blomqvist, 2013), y que el reemplazamiento de estrógenos en ratas ovariectomizadas exhibe efectos antinociceptivos (Amandusson y Blomqvist, 2013). El efecto de los estrógenos sobre la modulación del dolor, está bien estudiado, numerosos estudios han caracterizado principalmente dos tipos de receptores a estrógenos: ER α y ER β , los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en el cerebro, la médula espinal y los ganglios de la raíz dorsal (Craft, 2007). El efecto analgésico desencadenado por los estrógenos es mediado por múltiples mecanismos que son activados cuando el estrógeno se une a su receptor, promoviendo la regulación de la transcripción genética, por ejemplo, la activación de la vía de la proteína cinasa C (PKC), elemento modulador de respuesta a AMPc (CREB) (McEwen, 2001), activación de la inhibición del canal iónico (TRPV1) (Xu y cols., 2008), modulación de la expresión del receptor P2X3 (Yu y cols., 2011), incremento de la unión de muscimol al receptor GABA-A en la médula espinal, decremento en el contenido de la sustancia P, CGRP, neurocinina A y citocinas proinflamatorias (Vegeto y cols., 2003).

En cuanto a las endorfinas, producen analgesia a través de la activación de los receptores acoplados a proteínas Gi/o, inhibición del adenilato ciclasa, activación de canales de potasio sensibles a voltaje o bloqueando los canales de calcio dependiente de voltaje, causando así la hiperpolarización de la célula (Bodnar,

2014). Previos estudios en humanos han reportado niveles elevados de 17- β -estradiol en el suero de mujeres menopaúsicas obesas, este nivel elevado de estrógenos endógenos en el estado de la menopausia, es producto de la aromatización periférica de andrógenos. En las mujeres post-menopaúsicas, el tejido adiposo es la fuente principal de los estrógenos circulantes, a causa de que, el tejido adiposo produce la enzima aromatasa cuya función principal es la conversión de andrógenos y testosterona en 17- β estradiol (Macció y Madeddu, 2011). De igual modo han sido reportados niveles elevados de β -endorfinas en el plasma de mujeres obesas (Givens y cols., 1980; Martínez-Guisasola y cols., 2001) y un aumento en la expresión en el número de receptores opioides en animales obesos (Barnes y cols., 2006). Además es importante notar que varios autores han mostrado que los receptores de estrógenos son capaces de aumentar la expresión de los opioides (Liu y cols., 2011).

En relación con la adiponectina, una hormona sintetizada por los adipocitos, presenta propiedades anti-inflamatorias (Trujillo y Scherer, 2005). Estudios *in vitro* han mostrado que esta hormona es capaz de inhibir citocinas proinflamatorias como TNF- α (Matsuzawa, 2005; Wang y cols., 2005). En contraste, en nuestro estudio no encontramos alteraciones significativas en la expresión de adiponectina en ratas ovariectomizadas obesas comparadas con el control, señalándonos que la respuesta hipoalgésica es independiente de los niveles de adiponectina. De manera que, es posible postular que el 17- β -estradiol y β -endorfinas juegan un papel muy importante en el desarrollo de la respuesta hipoalgésica observado en ratas ovariectomizadas obesas.

Hay que mencionar además, que la alteración nociceptiva es un problema de importancia encontrado en la práctica clínica, de ahí que, se ha propuesto que este tipo de dolor se puede tratar generalmente con AINES (Laine, 2001). Sin embargo, no hay estudios que hayan evaluado la respuesta antinociceptiva de estos fármacos en la progresión de la obesidad. Por esta razón, decidimos evaluar el efecto antinociceptivo que pudiera desarrollar un AINE prototipo como ketoprofeno, en vista de que este fármaco ha sido ampliamente estudiado en varios modelos experimentales de dolor a nivel preclínico (Díaz-Reval y cols.,

2001, 2004; Girard y cols., 2008). No obstante, en la actualidad existe una limitada evidencia sobre el efecto analgésico de la administración individual de ketoprofeno en sujetos obesos.

Existen varios estudios que han reportado que la obesidad modifica los efectos analgésicos de los fármacos (Ertugrul y cols., 2010). En contraste se ha descrito que no es necesario aumentar las dosis del fármaco (morfina) en sujetos obesos para conseguir efectos similares a los sujetos de peso normal (Lloret y cols., 2009; Pantanwala y cols., 2014).

La presente investigación demostró que ketoprofeno induce una respuesta antinociceptiva dependiente de la dosis por parte de ketoprofeno en ratas ovariectomizadas conforme avanza el estado de obesidad. Nuestros resultados son semejantes a otros estudios que han reportado que ketoprofeno es útil para el tratamiento del dolor inflamatorio crónico (Díaz-Reval y cols., 2001, 2004; Girard y cols., 2008). Los efectos antinociceptivos de ketoprofeno implican la inhibición de la enzima COX que conduce al bloqueo de la biosíntesis de PG (Avouac y Teule, 1988; Kubota y cols., 1997). En conjunto, esta inhibición contribuye a los efectos anti-inflamatorios, analgésicos y antipiréticos originados por ketoprofeno. Además, recientemente ha sido reportado que la administración de ketoprofeno disminuye significativamente los niveles de citocinas inflamatorias (TNF- α e IL1 β) (Choi y cols., 2013). De acuerdo con estudios previos, el sobrepeso y la obesidad son considerados un trastorno inflamatorio de bajo grado que implica la expansión del tejido adiposo, a su vez este tejido secreta varias sustancia bioactivas que participan en la regulación de diversos tejidos, teniendo acción parácrina, autócrina e incluso ejerciendo efecto en órganos distantes, tales como: adipocinas proinflamatorias (leptina, TNF- α e IL1 β) y la expresión de la COX-2 (Kershaw y Flier, 2004; Deng y Scherer, 2010; Hsieh y cols., 2009). Incluso, se ha establecido que estas adipocinas proinflamatorias contribuyen al desarrollo del dolor y la hiperalgesia (Ferreira y cols., 1988; Cunha y cols., 1992; Wieseler-Frank y cols., 2005) y como se afirmó anteriormente en este trabajo, que en animales ovariectomizados con sobrepeso se encuentran elevados los niveles TNF- α e IL1 β . Por tanto, podríamos sugerir que el efecto antinociceptivo de ketoprofeno

puede ser debido a la inhibición de estos mecanismos fisiopatológicos implicados en el aumento del tejido adiposo.

Se debe agregar que el efecto antinociceptivo de ketoprofeno fue evaluado en dos diferentes estados de ganancia de peso (sobrepeso y obesidad) y se obtuvieron dos efectos farmacológicos diferentes sobre la nocicepción. En animales ovariectomizados con sobrepeso, la CDR de ketoprofeno mostró mayor eficacia antinociceptiva, una mejor potencia farmacológica (al determinar el valor de DE_{10}), un menor periodo de latencia (tiempo para alcanzar el efecto máximo) y un mejor efecto anti-hiperalgésico en los cursos temporales. Mientras que en el grupo obeso ovariectomizado, el ketoprofeno exhibió efectos antinociceptivos diferentes a los obtenidos en animales con estado de sobrepeso.

En particular, está bien establecido que el efecto analgésico de algunos fármacos se modifica bajo condiciones de obesidad y que estos cambios pueden ser a causa de alteraciones farmacodinámicas y/o farmacocinéticas (Lloret y cols., 2009). Con respecto a las modificaciones de procesos farmacocinéticos, se ha reportado que estas alteraciones pueden afectar el volumen de distribución (Lloret y cols., 2009) considerando que uno de los cambios más comunes en la obesidad es el aumento de grasa abdominal y considerando que el tejido adiposo constituye un almacén de drogas liposolubles. La deposición de los fármacos en el tejido adiposo disminuye el efecto farmacológico deseado, en ese aspecto, se ha reportado que ketoprofeno posee una alta liposolubilidad y una alta afinidad por proteínas plasmáticas (Meunier y Verbeeck, 1999). Hay que mencionar, además que en el estado de obesidad se aumentan los niveles de proteínas plasmáticas, las cuales son capaces de unirse a los fármacos, generando una disminución en la cantidad del fármaco libre, afectando así la distribución del fármaco (Lloret y cols., 2009). Otro proceso importante que se modifica durante la obesidad es el metabolismo. Es común que pacientes obesos presenten otras enfermedades como, hígado graso o síndrome metabólico que afecte el metabolismo de los fármacos, además estos pacientes pueden presentar alteraciones farmacodinámicas, por ejemplo, alteraciones en la expresión y función de

enzimas, receptores, etc., dando como resultado final una menor eficacia del fármaco (Lloret y cols., 2009).

Con respecto, a los animales ovariectomizados con sobrepeso, donde se observó el mayor efecto antinociceptivo por ketoprofeno, es necesario recalcar que en este estado de ganancia de peso fue donde se presentó una respuesta hiperalgésica (disminución del umbral térmico) y un aumento en la expresión de mediadores inflamatorios (TNF- α e IL1 β) posiblemente por la expansión del tejido adiposo, por consiguiente estos cambios podrían ser los responsables del efecto antinociceptivo más pronunciado por ketoprofeno.

En relación, con el menor efecto antinociceptivo observado en ratas ovariectomizadas obesas producido por ketoprofeno, el efecto limitado podría explicarse por los niveles elevados de 17- β -estradiol y β -endorfinas descritos anteriormente en este texto. Por ende, es probable que estos fenómenos enmascaren los efectos de ketoprofeno en cierta medida en el estado de obesidad.

X. CONCLUSIONES

- En conclusión, nuestros resultados proveen la primera evidencia que indica modificaciones importantes en el curso temporal del umbral al dolor conforme progresa el estado de obesidad.
- La respuesta bifásica posiblemente es resultado de la activación de mediadores proinflamatorios como IL-1 β y TNF α para hiperalgesia (sobrepeso) y 17- β estradiol y β -endorfinas para el estado hipoalgésico (obesidad).
- El tejido adiposo tiene un papel importante en la alteración nociceptiva de ratas ovariectomizadas con sobrepeso y obesas.
- Este modelo puede ser de ayuda para estudiar los posibles mecanismos involucrados en la percepción del dolor conforme avanza el estado de obesidad, considerando que hasta la fecha, no se sabe si esta alteración se produce a través de mediadores y/o vías centrales o periféricos, dada la alta complejidad comprendida en el sobrepeso y la obesidad, así como los múltiples factores involucrados.
- Asimismo, nuestro trabajo establece por primera vez que existen modificaciones muy importantes de efectos antinociceptivos de ketoprofeno en dos estados de ganancia de peso.
- Por consiguiente, para establecer el correcto uso de este medicamento en la clínica, será importante tener en cuenta estos resultados y formular los estudios clínicos pertinentes para establecer la dosis adecuada en los pacientes, en estas dos condiciones.

XI. PERSPECTIVAS

A partir de los estudios y discusión presentados en este proyecto, se abren nuevas preguntas de investigación referentes a la identificación de los mecanismos de acción que alteran nocicepción conforme avanza el estado de obesidad en condiciones experimentales. Para abordarlas, se proponen las siguientes perspectivas:

- Investigar el curso temporal de la nocicepción térmica en ratas machos castrados conforme avanza el estado de obesidad.
- Examinar el curso temporal de la nocicepción térmica en ratas hembras y/o machos intactos conforme avanza el estado de obesidad.
- Evaluar los niveles de grelina, expresión de los receptores de galanina (GalR1 y GalR2) y endocannabinoides (CB1 y CB2) en el estado de sobrepeso y obesidad.
- Cuantificar mediadores de estrés oxidativo y de óxido nítrico en estos dos estados.
- Abordar el estudio de cuáles receptores están siendo regulados a través de estos procesos en el ganglio de la raíz dorsal involucrados en la sensibilización periférica y central en el estado de sobrepeso y obesidad.
- Explorar el curso temporal de la nocicepción en ratas hembras ovariectomizadas, intactas y/o machos en otros tipos de dolor; entre ellos, a un dolor inflamatorio (prueba de formalina, carragenina o adyuvante de Freund) conforme avanza el estado de obesidad.
- Determinar el efecto antinociceptivo de un AINE diferente al que se empleó en este estudio o un opioide, para hacer una comparación de efectos analgésicos.
- Realizar pruebas farmacocinéticas de ketoprofeno en estas dos condiciones.

XII. REFERENCIAS

Amandusson A, Blomqvist A. 2013. Estrogenic influences in pain processing. *Front. Neuroendocrinol* 34:329-49.

Apfel SC. 2000. Neurotrophic factors and pain. *Clin J Pain Suppl*2:S7-S11.

Attie AD y Scherer, PE. 2009. Adipocyte metabolism and obesity. *J Lipid Res* 50: S395-S399.

Avouac B, Teule M. 1988. Ketoprofen: the European experience. *J Clin Pharmacol* 28: S2- S7.

Barnes MJ, Holmes G, Primeaux SD, York DA, Bray GA. 2006. Increased expression of mu opioid receptors in animals susceptible to diet-induced obesity. *Peptides* 27:3292-3298.

Bayliss DA, Barrett PQ. 2008. Emerging roles for two-pore-domain potassium channels and their potential therapeutic impact. *Trends Pharmacol Sci* 29:566-575.

Bedaiwy MA, Falcone T, Goldberg JM, Sharma RK, Nelson DR, Agarwal A. 2006. Peritoneal fluid leptin is associated with chronic pelvic pain but not infertility in endometriosis patients. *Human Reprod* 21:788-791.

Bell CG, Walley AJ, Froquel P. 2005. The genetics of human obesity. *Nature Rev Gen* 6: 221-234.

Bodnar RJ. 2014. Endogenous opiates and behavior: 2013. *Peptides* 62: 67-137.

Brownlee M. 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414:813-820.

Buchenauer T, Behrendt P, Bode FJ, Horn R, Brabant, Sthephan M, Nave H. 2009. Diet-induced obesity alters behavior as well as serum levels of corticosterone in F344 rats. *Physiol Behav* 98:563-569.

Chan JM, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. 1994. Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care* 17:961-969.

Choi EK, Kim SH, Kang IC, Jeong JY, Koh JT, Lee BN, Oh WM, Min KS, Nör JE, Hwang YC. 2013. Ketoprofen inhibits expression of inflammatory mediators in human dental pulp cells. *J Endod* 39:764-767.

Costigan M, Woolf CJ. 2000. Pain: Molecular Mechanisms. *J Pain* 3:35-44.

Craft RM. 2007. Modulation of pain by estrogens. *Pain* 132:3-12.

Croci T, Zarini E. 2007. Effect of the cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant on nociceptive responses and adjuvant-induced arthritis in obese and lean rats. *Br J Pharmacol* 150:559-566.

Cunha F, Poole S, Lorenzetti B, Ferreira S. 1992. The pivotal role of tumor necrosis factor alpha in the development of inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 107:660-664.

Da Silva RP, Zampieri TT, Pedroso JA, Nagaishi VS, Ramos-Lobo AM, Furigo IC, Câmara NO, Frazão R, Donato J. 2014. Leptin resistance is not the primary cause of weight gain associated with reduced sex hormone levels in female mice. *Endocrinology* 155:4226-4236.

D'Arcy Y. 2011. Managing pain in obese patients. *Nurse Pract* 36:28-32.

Davis SR, Castelo-Bronco C, Cgedraui P. 2007. Evidence-based guidelines for cardiovascular disease in women prevention. *Circulation* 115:1481-1501.

Deng Y, Scherer PE. 2010. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 1212:E1-E19.

Díaz Brinton R., 2012. Minireview: translational animal models of human menopause: challenges and emerging opportunities. *Endocrinology*. 8:3571-3578.

Díaz-Reval MI, Ventura-Martínez R, Déciga-Campos M, Terrón JA, Cabré F, López-Muñoz FJ. 2004. Evidence for a central mechanism of action of S-(+)-ketoprofen. *Eur J Pharmacol* 483:241-248.

Díaz-Reval MI, Ventura-Martínez R, Hernández-Delgadillo GP, Domínguez-Ramírez AM, López-Muñoz FJ. 2001. Effect of caffeine on antinociceptive action of ketoprofen in rats. *Arch Med Res* 32:13-20.

Dworkin H, Gitlin J. 1991. Clinical aspects of depression in chronic pain patients. *Clin J Pain* 7:79-94.

Ertugrul DT, Tural E, Yildiz M, Akin O, Yalçın AA, Ure OS, Yilmaz H, Yavuz B, Deveci OS, Ata N, Küçükazman M. 2010. Aspirin resistance is associated with glycemic control, the dose of aspirin, and obesity in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 95: 2897-2901.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2012). Instituto Nacional de Salud Pública. <http://ensanut.insp.mx/>

Fajardo GL, Linares MM, Olaya GH. 2001. Inflamación y dolor: cambios en el sistema nervioso periférico y central. *Medunab* 4:1-14.

Felson DT, Chaisson CE. 1997. Understanding the relationship between body weight and osteoarthritis. *Baillieres Clin Rheumatol* 11:671-681.

Ferreira S, Lorenzetti B, Bristow A, Poole S. 1988. Interleukin-1 β as a potent hyperalgesic agent antagonized by a tripeptide analogue. *Nature* 334:698-700.

Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL. 2012. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. *JAMA* 307:491-497.

Gibaldi M. 1991. Estimation of area under the curve, in: Gibaldi, M., ed. *Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics*. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger., pp. 377-378.

Girard P, Verniers D, Coppé MC, Pansart Y, Gillardin JM. 2008. Nefopam and ketoprofen synergy in rodent models of antinociception. *Eur J Pharmacol* 584:263-671.

Givens JR, Wiedemann E, Andersen RN, Kitabchi AE. 1980. Beta-endorphin and beta-lipotropin plasma levels in hirsute woman: correlation with body weight. *J Clin Endocrinol Metab* 5:975-976.

Gold MS. 1999. Tetrodotoxin-resistant Na⁺ currents and inflammatory hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:7645-7649.

Grotle M, Hagen KB, Natvig B, Dahl FA, Kvien TK. 2008. Obesity and osteoarthritis in knee, hip and/or hand: an epidemiological study in the general population with 10 years follow-up. *BMC Musculoskelet Disord* 9:132.

Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. 2009. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 9:88.

Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J. 1988. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain* 32:77-88.

Herman M y Kahn BB. 2012. Adipose tissue de novo lipogenesis. Unanticipated benefits in health and disease. *ASMBM* 2:30-32

Hitt HC, McMillen RC, Thornton-Neaves T, Koch K, Cosby AG. 2007. Comorbidity of obesity and pain in a general population: Results from the southern pain prevalence study. *J Pain* 8:430-436.

Homann D, Carvalho HM, Stefanello JM. 2014. Hyperleptinemia independent of body adiposity in women with fibromyalgia. *Rheumatol Int* 11:1593-1598.

Hong S, Morrow TJ, Paulson PE, Isom LL, Wiley JW. 2004. Early Painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in tetrodotoxin-sensitive and-resistant sodium channels in dorsal root ganglion neurons in the rat. *J Biol Chem* 279:29341-29350.

Hotamisligil GS. 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 444:860-867.

Hsieh PS, Jin JS, Chiang CF, Chan PC, Chen CH, Shih KC. 2009. COX-2 mediated inflammation in fat is crucial for obesity-linked insulin resistance and fatty liver. *Obesity* 17:1150-1157.

Hyman SE, Cassem NH. 1995. Dolor. En: *Neurología*. Ed. Científica Médica Latinoamericana 1-20.

Iannitti T, Graham A, Dolan S. 2012. Increased central and peripheral inflammation and inflammatory hyperalgesia in Zucker rat model of leptin receptor deficiency and genetic obesity. *Exp Physiol* 97:1236-1245.

Julius D, Basbaum AI. 2001. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 413:203-210

Kantartzis K, Machann M, Schick F, Rittig K, Machicao F, Fritsche A, Häring HU, Stefan N. 2011. Effects of a lifestyle intervention in metabolically benign and malign obesity. *Diabetologia* 54:864-868.

Kawasaki T, Kashiwabara A, Sakai T, Igarashi K, Ogata N, Watanabe H, Ichiyanagi K, Yamanouchi T. 2005. Long-term sucrose-drinking causes increased body weight and glucose intolerance in normal male rats. *Br J Nutr* 93:613-618.

Kershaw EE, Flier JS. 2004. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2548-2556.

Khasabov SG, Rogers SD, Ghilardi JR, Peters CM, Mantyh PW, Simone DA. 2002. Spinal neurons that possess the substance P receptor are required for the development of central sensitization. *J Neurosci* 22:9086-9098.

Khimich S. 1997. Level of sensitivity of pain in patients with obesity. *Acta Chir Hung* 36:166-167.

Kidd BL, Urban LA. 2001. Mechanisms of inflammatory of pain. *Br J Anaesth* 87:3-11.

Kihara M, Zollman PJ, Smithson IL, Lagerlund TD, Low PA. 1994. Hypoxic effect of exogenous insulin on normal and diabetic peripheral nerve. *Am J Physiol* 266:E980-E985.

Kocyigit H, Bal S, Atay A, Koseoglu M, Gurgan A. 2013. Plasma leptin values in postmenopausal woman with osteoporosis. *Bos J Basic Med Sci* 13:192-996.

Kok HS, van Asselt KM, van der Schouw YT, Peeters PH, Wijmenga C. 2012. Genetic studies to identify genes underlying menopausal age. *Human Reprod Update* 5:419-29.

Kopelman PG. 2000. Obesity as a medical problem. *Nature* 404:635-645.

Kubota T, Komatsu H, Kawamoto H, Yamada T. 1997. Studies on the effects of anti-inflammatory action of benzoyl-hydratropic acid (ketoprofen) and other drugs with special reference to prostaglandin synthesis. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 237:169-176.

Kutlu S, Canpolat S, Sandal S, Ozcan M, Sarsilmaz M, Kelestimur H. 2003. Effects of central and peripheral administration of leptin on pain threshold in rats and mice. *Neuro Endocrinol Lett* 4:193-196.

Laine L. 2001. Approaches to nonsteroidal anti-inflammatory drug use in the high-risk patient. *Gastroenterology* 120:594-606.

Leslie T, Emson PC, Dowd PM, Woolf CJ. 1995. Nerve Growth factor contributes to the upregulation of growth associated protein 43 and preprotachykinin A messenger RNAs in primary sensory neurons following peripheral inflammation. *Neurosci* 67:753-761.

Liu NJ, Chakrabarti S, Schenell S, Wessendorf M, Gintzler AR. 2011. Spinal synthesis of estrogen and concomitant signaling by membrane estrogen receptors regulate spinal kappa and mu-opioid receptor heterodimerization and female-specific spinal morphine antinociception. *J Neurosci* 31:11836-11845.

Lloret LC, Declèves X, Oppert JM, Basdevant A, Clement K, Bardin C, Scherrmann JM, Lepine JP, Bergmann JF, Mouly S. 2009. Pharmacology of morphine in obese patients: clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 48:635-651.

Loeser JD, Melzack R. 1999. Pain: an overview. *Pain* 353:1607-1609.

Macció A, Madeddu C. 2011. Obesity, inflammation, and postmenopausal breast cancer: therapeutic implications. *Scientific World Journal* 11:2020-2036.

Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Després JP, Hu FB. 2010. Sugar-sweetened beverages, obesity, type 2 diabetes, and cardiovascular disease risk. *Circulation* 121:1356-1364.

Mannion RJ, Costigan M, Decosterd I, Amaya F, Ma QP, Holstege JC, Ji RR, Acheson A, Lindsay RM, Wilkinson GA, Woolf CJ. 1999. Neurotrophins: peripherally and centrally acting modulators of tactile stimulus-induced inflammatory pain hypersensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:9385-9390.

Marcus DA. 2004. Obesity and the impact of chronic pain. *Clin J Pain* 20:186-191.

Martínez-Guisasola J, Guerrero M, Alonso F, Díaz F, Cordero J, Ferrer J. 2001. Plasma-endorphin levels in obese and non-obese patients with polycystic ovary disease. *Gynecol Endocrinol* 15:14-22.

Matsuzawa Y. 2005. Adiponectin: identification, physiology and clinical relevance in metabolic and vascular disease. *Atheroscler Suppl* 2:7-14.

McEwen BS. 2001. Invited review: estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *J Appl Physiol* 91:2785-2801.

Medzhitov R. 2008. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454:428-435.

Mercado F, Vega R, Soto E. 2005. Ion channels that are sensitive to the extracellular concentration of protons: their structure, function, pharmacology and pathophysiology. *Rev Neurol* 41:667-675.

Merigiola MC, Nanni M, Bachiooco V, Vodo S, Aloisi AM. 2012. Menopause affects pain depending on pain type and characteristics. *Menopause* 19:517-23.

Meunier C J, Verbeeck R K. 1999. Glucuronidation kinetics of R,S-ketoprofen in adjuvant-induced arthritic rats. *Pharm. Res.* 16:1081-1086.

Michael GJ, Averill S, Nitkunan A, Rattray M, Bennett DL, Yan Q, Priestley JV. 1997. Nerve growth factor treatment increases brain-derived neurotrophic factor selectively in TrkA-expressing dorsal root ganglion cells and in their central terminations within the spinal cord. *J Neurosci* 17:8476-8490.

Millan MJ. 2002. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 66:355-474.

Miranda HF, Romero MA, Puig MM. 2012. Antinociceptive and anti-exudative synergism between dexketoprofen and tramadol in a model of inflammatory pain in mice. *Fundam Clin Pharmacol* 26:33-382.

Monteiro M, Gabriel R, Aranha J, Neves e Castro M, Sousa M, Moreira M. 2010. Influence of obesity and sarcopenic obesity on plantar pressure on postmenopausal woman. *Clin Biomech*(Bristol, Avon) 5:461-467.

Morton G, Cummings D, Baskin D, Barsh G, Schwartz M. 2006. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 443: 289-295.

Novella SP, Insucchi SE, Goldstein JM. 2001. The frequency of undiagnosed diabetes and impaired glucose tolerance in patients with idiopathic sensory neuropathic. *Muscle Nerve* 24:1229-1231.

Novelli ELB, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, Mani F, Fernandes AA, Cicogna AC, Novelli Filho JL. 2007. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim* 41:111-119.

Ong CK, Lirk P, Tan CH, Seymour RA. 2007. An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin Med Res* 5:19-34.

Patanwala AE, Holmes KL, Erstad BL. 2014. Analgesic response to morphine in obese and morbidly obese patients in the emergency department. *Emerg Med J* 31:139-142.

Patapoutian A, Peier AM, Story GM, Viswanath V. 2003. ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation. *Nat Rev Neurosci* 4:529-539.

Peterlin BL, Rosso AL, Rapoport AM, Scher AI. 2010. Obesity and migraine: the effect of age, gender and adipose tissue distribution. *Headache* 10:161-166.

Piercy V, Banner SE, Bhattacharyya A, Parsons AA, Sanger GJ, Smith SA, Bingham SJ. 1999. Thermal, but not mechanical nociceptive behavior is altered in the Zucker Diabetic Fatty rat and is independent of glycemic status. *J Diabetes Complications* 13:163-169.

Pradalier A, Willer JC, Boureau F, Dry J. 1981. Relationship between pain and obesity: An electrophysiological study. *Physiol Behav* 27:961-964.

Ramirez I. 1987. Feeding a liquid diet increases energy intake, weight gain and body fat in rats. *J Nutr* 117:2127-2134.

Ramzan I, Wong BK, Corcoran GB. 1993. Pain sensitivity in dietary-induced obese rats. *Physiol Behav* 54:433-435.

Raone DS, Martin JR. 1990. Continuous sucrose feeding decreases pain threshold and increases morphine potency. *Pharmacol Biochem Behav* 35:225-229.

Roane DS, Porter JR. 1986. Nociception and opioid-induced analgesia in lean (Fa/-) and obese (fa/fa) Zucker rats. *Physiol Behav* 38:215-218.

Roberts LJ, Morrow JD. 2002. Analgésicos-Antipiréticos y antiinflamatorios, y fármacos antigotosos. En: Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Ed Mc Graw Hill. 10 edición. Volumen 1:697-742.

Rogers NH, Perfield JW 2nd, Strissel KJ, Obin MS, Greenberg AS. 2009. Reduced energy expenditure and increased inflammation are early events in the development of ovariectomy-induced obesity. *Endocrinology* 150: 2161-2168.

Rogge MM. 2009. The role of impaired mitochondria lipid oxidation on obesity. *Biol Res Nursing* 10:356-373.

Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, Thomas RJ, Collazo-Clavell ML, Korinek J, Allison TG, Batsis JA, Sert-Kunioshi FH, Lopez-Jimenez F. 2008. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. *Int J Obes (Lond)* 32:959-966.

Rosenthal AD, Jin F, Shu XO, Yang G, Elasy TA, Chow WH, Ji BT, Xu, HX, Li Q, Gao YT, Zheng W. 2004. Body fat distribution and risk of diabetes among Chinese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28:594-599.

Sawynok J, Liu XJ. 2003. Adenosine in the spinal cord and periphery: release and regulation of pain. *Prog Neurobiol* 69:313-340.

Scholz J, Woolf CJ. 2002. Can we conquer pain? *Nat Neurosci* 5 Suppl:1062-1067.

Shuster LT. 2012. The burden of pain with menopause. *Menopause* 19:494-495.

Sievert LL, Goode-Null SK. 2005. Musculoskeletal pain among women of menopausal age in Puebla, Mexico. *J Cross Cult Gerontol* 2:127-140.

Sima AA. 2003. New insights into the metabolic and molecular basis for diabetic neuropathy. *Cell Mol Life Sci* 60:2445-2464.

Stubbins RE, Holcomb VB, Hong J, Núñez NP. 2012. Estrogen modulates abdominal adiposity and protects female mice from obesity and impaired glucose tolerance. *Eur J Nutr* 51:861-870.

Sugimoto K, Rashid IB, Kojima K, Shoji M, Tanabe J, Tamasawa N, Suda T, Yasujima M. 2008. Time course of pain sensation in rat models of insulin resistance, type 2 diabetes, and exogenous hyperinsulinaemia. *Diabetes Metab Res Rev* 24:642-650.

Sugimoto K, Murakawa Y, Sima AA. 2002. Expression and localization insulin receptor in rat dorsal root ganglion and spinal cord. *J Peripher Nerv Syst.* 7:44-53.

Sugimoto K, Rashid IB, Shoji M, Suda T, Yasujima M. 2008. Early changes in insulin receptor signaling and pain sensation in streptozotocin-induced diabetic neuropathy in rats. *J Pain* 9:237-45

Sumner CJ, Sheth S, Griffin JW, Comblath DR, Polydefkis M. 2003. The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance. *Neurology* 60:108-111.

Swinburn BA, Caterson I, Seidell JC, James WP. 2004. Diet, nutrition and the prevention of excess weight gain and obesity. *Public Health Nutr* 7:123-146.

Szolcsányi J. 1988. Antidromic vasodilatation and neurogenic inflammation. *Agents Actions* 23:4-11.

Taiwo YO, Levine JD. 1992. Serotonin is a directly-acting hyperalgesic agent in the rat. *Neuroscience* 48:485-490.

Tian Y, Wang S, Ma Y, Lim G, Kim H, Mao J. 2011. Leptin enhances NMDA-induced spinal excitation in rats: a functional link between adipocytokine and neuropathic pain. *Pain* 152:1263-1271.

Tilg H, Moschen A. 2006. Adipokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature Immunol* 6:772-783

Toth MJ, Tchernof A, Sites CK, Poehlman ET. 2000. Effect of menopausal status on body composition and fat distribution. In *J Obes Relat Metab Disord* 24: 226-231.

Trayhurn P. 2005. Endocrine and signaling role of adipose tissue: new perspectives on fat. *Acta Physiol Scand* 184:285-293.

Trujillo ME, Scherer PE. 2005. Adiponectin—journey from an adipocyte secretory protein to biomarker of the metabolic syndrome. *J Intern Med* 257:167-175.

Trumbo PR, Rivers CR. 2014. Systematic review of the evidence for an association between sugar-sweetened beverage consumption and risk of obesity. *Nutr Rev* 72:566-574.

Vachharajani V, Granger DN. 2009. Adipose tissue: a motor for the inflammation associated with obesity. *IUBMB Life* 61:424-430.

Vegeto E, Belcredito S, Etteri S, Ghisletti S, Brusadelli A, Meda C, Krust A, Dupont S, Ciana P, Chambon P, Maggi A. 2003. Estrogen receptor-alpha mediates the brain anti-inflammatory activity of estradiol. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:9614-9619.

Von Diemen V, Trindade EN, Trindade MR. 2006. Experimental model to induced obesity in rats. *Acta Cir Bras* 21:425-429.

Wall PD, Devor M. 1983. Sensory afferent impulses originate from dorsal root ganglia as well as from the periphery in normal and nerve injured rats. *Pain* 17:321-339.

Wang B, Jenkins JR, Trayhurn P. 2005. Expression and secretion of inflammation-related adipokines by human adipocytes differentiated in culture: Integrated response to TNF alpha. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288:E731-E740.

Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 112:1796-1808.

Whiteside G, Harrison J, Boulet J, Mark L, Pearson M, Gottshall S, Walker K. 2004. Pharmacological consideration of a rat model of incisional pain. *Br J Pharmacol* 141: 85-91.

Wieseler-Frank J, Maier S, Watkins LR. 2005. Immune-to-brain communication dynamically modulates pain: physiological and pathological consequences. *Brain Behav Immun* 19:104-111.

Willis WD Jr. 1999. Dorsal root potentials and dorsal root reflexes: a double-edged sword. *Exp Brain Res* 124:395-421.

Wilson AC, Samuelson B, Palermo TM. 2010. Obesity in children and adolescents with chronic pain: associations with pain and activity limitations. *Clin J Pain* 26:705-711.

Woolf CJ, Costigan M. 1999. Transcriptional and posttranslational plasticity and the generation of inflammatory pain. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:7723-7730.

Woolf CJ, Salter MW. 2000. Neuronal plasticity increasing the gain in pain. *Science* 288:1765-1769.

Woolf CJ, Shortland P, Coggeshall RE. 1992. Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. *Nature* 355:75-77.

Woolf CJ. 2004. Pain: moving from symptom control toward mechanism specific pharmacologic management. *Ann Intern Med* 140:441-451.

World Health Organization. 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on Obesity. Geneva: The Organization; (WHO Technical Report Series, No. 894).

World Health Organization. 2016. Obesity and Overweight (Fact sheet, No. 311).

Xu, S, Cheng Y, Keast JR, Osborne PB. 2008. 17beta-estradiol activates estrogen receptor beta-signalling and inhibits transient receptor potential vanilloid receptor 1 activation by capsaicin in adult rat nociceptor neurons. *Endocrinology* 149:5540-5548.

Yu LH, Li N, Liu CY, Ma B. 2011. Estrogen altered facial mechanical pain threshold and trigeminal P2X3 receptor expression. *Neuroendocrinol Lett* 32:811-815.

Zahorska-Markiewicz B, Kucio C, Pyszkowska J. 1983. Obesity and pain. *Hum Nutr Clin Nutr* 37:307-310.

Zhang T, Reid K, Acuff CG, Jin CB, Rockhold RW.1994. Cardiovascular and analgesic effects of a highly palatable diet in spontaneous hypertensive and Wistar- Kyoto rats. *Pharmacol Biochem Behav* 48:57-61.

Zheng SX, Vrindts Y, Lopez M, De Groote D, Zangerle PF, Collete J, Franchimont N, Geenen V, Albert A, Reginster JY. 1997. Increase in cytokine production (IL-1 beta, IL-6, TNF-alpha but not IFN-gamma, GM-CSF or LIF) by stimulated whole blood cells in posmenopausal osteoporosis. *Maturitas* 26:63-71.

Zimmermann M.1983. Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16:109-110.

XIII. ANEXOS

Los resultados del trabajo actual se presentaron en la modalidad de cartel en los siguientes congresos nacionales e internacionales:

- **OA Jaramillo-Morales**, P Mailloux-Salinas, JV Espinosa-Juárez, J Colado-Velázquez, B Guillén-García, FJ López Muñoz, G Bravo. La obesidad y su participación en el dolor nociceptivo en ratas Wistar machos y hembras. En el marco del Biocinves 2013 Departamento de Farmacobiología Cinvestav-Sede Sur. México, D.F. 2013.
- **OA Jaramillo-Morales**, JV Espinosa-Juárez, J Colado-Velazquez, Patrick Mailloux-Salinas, G Bravo, FJ López-Muñoz. Obesidad y dolor nociceptivo en ratas Wistar hipoestrogénicas. En el marco del Biocinves 2014. Departamento de Farmacobiología Cinvestav- Sede Sur. México, D.F. 2014.
- **Jaramillo Morales OA**, Espinosa-Juárez JV, Vega-Cabrera NV, Bravo G, López-Muñoz FJ. Alteración nociceptiva por dieta alta en sacarosa en ratas Wistar hipoestrogénicas. LVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, Oaxaca, Oaxaca. 3 agosto 4 septiembre 2014.
- **OA Jaramillo Morales**, JV Espinosa Juárez, FJ López Muñoz. La dieta alta en sacarosa induce un estado de hiperalgesia en ratas wistar hipoestrogénicas: efecto antinociceptivo de ketoprofeno. XXXVII Congreso Nacional de Farmacología, México, D.F. 2015.
- **OA Jaramillo Morales**, JV Espinosa Juárez, FJ López Muñoz. Participación de 17 beta estradiol en el desarrollo de hipoalgesia en ratas ovariectomizadas obesas. XXVIII Congreso Nacional de Farmacología, XX Congreso Estudiantil de Farmacología "Dr. Antonio Morales Aguilera" y "XIV Congreso de Investigación en Medicina de la ESM-IPN. Cancún, Quintana Roo, 12 al 14 de mayo del 2016.
- **OA Jaramillo-Morales**, JV Espinosa-Juárez, FJ López-Muñoz. Efecto antinociceptivo de ketoprofeno en ratas Wistar ovariectomizadas con sobrepeso. En el marco del Biocinves 2016 Departamento de Farmacobiología Cinvestav- Sede Sur. México, D.F. 17de mayo 2016.
- **OA Jaramillo-Morales**, JV Espinosa-Juárez, G Bravo, FJ López-Muñoz. Obesity and nociceptive pain in hypoestrogenic Wistar rats. 44th Annual meeting of the society for Neuroscience, Washington, DC, 2014.
- **Jaramillo-Morales OA**, Espinosa-Juarez JV, Corona-Ramos JN, López-Muñoz FJ. Antinociceptive effects of ketoprofen on hypoestrogenic wistar rats with high sucrose diet. 9th Congress of the European Pain Federation EFIC. Viena, Austria 2015.
- **OA Jaramillo-Morales**, JV Espinosa-Juárez, JN Corona-Ramos, FJ López-Muñoz. Obese rats induced by high-sucrose diet promote a stage of hypoalgesia: Antinociceptive effects of ketoprofen. 45th Annual meeting of the Society for Neuroscience, Chicago, IL, USA. 2015.

- **OA Jaramillo-Morales**, JV Espinosa-Juárez, FJ López-Muñoz. Nociceptive alteration by high sucrose diet in Wistar rats hypoestrogenic according obesity state progresses. Obesity week 2015. Los Angeles CA, USA.
- **OA Jaramillo-Morales**, JV Espinosa-Juárez, FJ López-Muñoz. TNF α contributes to the development of hyperalgesia in overweight ovariectomized rats. 46th Annual meeting of the Society for Neuroscience San Diego, CA, USA. 2016.

De igual manera todos los datos se expusieron como ponente invitado en la sesión de “Seminarios de Investigación” del Departamento de Sistemas Biológicos, Área de Farmacocinética y Farmacodinamia de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, el 2 de junio 2016. Duración 1 hora. El seminario impartido tuvo el siguiente título:

- **“Sobrepeso y obesidad contribuyen a alteraciones nociceptivas en ratas hipoestrógenicas”.**

Finalmente, se adjuntan los artículos que contienen datos del presente trabajo. Las referencias bibliográficas son las siguientes:

- **Jaramillo-Morales OA**, Espinosa-Juárez JV, García-Martínez BA, López-Muñoz FJ. Ketoprofen and antinociception in hypo-oestrogenic Wistar rats fed on a high sucrose diet. Eur J Pharmacol. 2016; 788: 168-175.
- **Jaramillo-Morales OA**, Espinosa-Juárez JV, Corona-Ramos JN, López-Muñoz FJ. Nociceptive alteration by high sucrose diet in hypoestrogenic Wistar rats. Drug Dev Res. 2016; 77: 258-266.