



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SEDE SUR

DEPARTAMENTO DE FARMACOBIOLOGÍA

**“Análisis de la asociación terapéutica entre
ketorolaco y tramadol en diferentes niveles de
nocicepción en un modelo preclínico de dolor
artrítico”**

T E S I S

Que presenta

Méd. Cir. Erick Fernando Rosales Valdes

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

En

Neurofarmacología y Terapéutica Experimental

Director de Tesis:

Dr. Francisco Javier López Muñoz

Ciudad de México

Septiembre, 2023

Este proyecto se desarrolló en el Laboratorio 7 "*Dolor y Analgesia*" del Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, sede sur. La tesis fue realizada bajo la dirección de Dr. Francisco Javier López Muñoz.

El desarrollo del presente trabajo fue apoyado por el Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) a través de la beca de posgrado con número de CVU: **1148681**

Dedicado a mi núcleo familiar. A mis padres: Guadalupe Valdes Martinez y Eduardo Rosales Mendoza. A mis hermanos: Valeria Rosales Valdes y Carlos Eduardo Rosales Valdes. Mis ídolos, mis pilares, donde el amor nunca termina...

“No hay certeza allí donde no se puede aplicar alguna de las ciencias matemáticas..”

Leonardo Da Vinci

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor y ejemplo a seguir en la investigación:

Dr. Francisco Javier López Muñoz por la calidez humana y enseñanza de sus conocimientos en el área de farmacología, por motivarme a participar en un congreso internacional, por su apoyo académico y por ser un excelente guía durante todo el proceso del posgrado.

A mi honorable comité sinodal:

Dra. Guadalupe Bravo, por los aportes en cada avance de presentación, su disposición y tiempo para atender mis dudas.

Dra. Azucena Ibeth Carballo Villalobos, por las excelentes observaciones en cada avance, y los aportes en el área de terapéutica experimental.

A mi familia:

A mis padres, Guadalupe Valdes Martinez y Eduardo Rosales Mendoza, todos mis logros son y serán para ustedes. Por el amor incondicional que me tienen, por el apoyo durante todas las etapas que he vivido, por los sacrificios que han puesto para que yo cumpla mis sueños, sin ustedes no lo hubiese logrado.

A mis hermanos:

Valeria Rosales Valdes, por el apoyo y siempre estar pendiente de toda la familia, por las dos grande alegrías que nos regalaste, mis sobrinas, Valentina y Victoria.

Carlos Eduardo Rosales Valdes, por enseñarme que una persona puede superar cualquier circunstancia y afrontar todo con la capacidad de resiliencia que te caracteriza.

Mi cuñado:

Martín García Vasconcelos, quien ha estado presente en los buenos y malos momentos.

A mi tía:

Leticia Valdes Martinez, quien desde la licenciatura me ha cuidado y protegido como una madre.

A mis abuelos:

Abuelos maternos Q.E.P.D: Juana Martinez Colín y Francisco Valdes Solís

Abuelos paternos Q.E.P.D: Olga Mendoza Calleja y Eduardo Rosales Hoover

A mi pareja, compañera y amiga:

Paola Mendoza Montiel, quien es mi pareja y fue mi compañera durante el posgrado, a la par de crecer en el ámbito académico también lo hicimos en el ámbito personal.

A la comunidad CINVESTAV, sede sur:

Dr. Emilio Javier Galván Espinosa, por su apoyo y quien fungió como coordinador académico durante mi estadía en el posgrado.

Sr. Sabino Ledesma Luna, personal técnico del laboratorio 7 “Dolor y analgesia” quien es parte esencial del laboratorio y por su apoyo en la sección experimental.

Lic.Victor Manuel Mendoza Salas, por el apoyo en el archivo de la tesis.

Shareny Andrea Freyfeldt Flores por su eficiencia para atender a todos los alumnos de posgrado y resolver todo lo que le planteamos.

A mis compañeros de laboratorio:

Amalia Alejo Martínez, Valeria Aranda Bahena y Juan Pablo Bejarano Ponce, por sus aportaciones a mi tema de investigación, y el excelente ambiente en el que nos desarrollamos durante este periodo.

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	I
ÍNDICE DE TABLAS	VI
TABLA DE ABREVIATURAS.....	IX
RESUMEN	XI
ABSTRACT	XII
1.INTRODUCCIÓN	1
1.1 GENERALIDADES DEL DOLOR	1
1.1.2 <i>Definición de dolor</i>	1
1.1.2 <i>Fisiología del dolor</i>	2
1.1.3 <i>Clasificación del dolor</i>	12
1.2 DOLOR ARTRÍTICO.....	14
1.2.1 <i>Epidemiología del dolor artrítico</i>	15
1.2.2 <i>Mecanismos fisiopatológicos de la osteoartritis</i>	16
1.2.3 <i>Mecanismos fisiopatológicos de la artritis gotosa</i>	20
1.4 ESCALERA ANALGÉSICA DE LA OMS	26
1.4.1 <i>Opioides</i>	28
1.4.1.2 <i>Clorhidrato de tramadol</i>	29
1.4.2 <i>Analgésicos no esteroideos (AINEs)</i>	33
1.4.2.1 <i>Ketorolaco trometamina</i>	34
1.5 INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS	35
1.5.1 <i>Sinergismo</i>	36
1.5.2 <i>Métodos para evaluar la combinación de dos fármacos</i>	36
2. ANTECEDENTES.....	40
2.1 <i>Estudios preclínicos de la combinación de un AINE y un opioide</i>	40
2.2 <i>Estudios clínicos de la combinación de un AINE y un opioide</i>	41
3. JUSTIFICACIÓN	42
4. HIPÓTESIS.....	42

5. OBJETIVO GENERAL.....	42
5.1 <i>Objetivos específicos:</i>	43
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
6.1 <i>Animales</i>	43
6.2 <i>Reactivos</i>	44
6.3 <i>Medición de la actividad antinociceptiva</i>	44
6.4 <i>Determinación de porcentaje de lesión gástrica</i>	46
6.5 <i>Determinación de Constipación</i>	46
6.6 <i>Determinación de la ccoordinación motora</i>	47
6.7 <i>Esquema de administraciones repetidas (tolerancia)</i>	47
6.8 <i>Diseño Experimental</i>	48
6.9 <i>Análisis estadístico</i>	50
7. RESULTADOS.....	51
7.1 <i>CONTROLES</i>	51
7.2 <i>KETOROLACO EN DIFERENTES NIVELES DE NOCICEPCIÓN</i>	52
7.2.1 <i>Nivel moderado</i>	52
7.2.2 <i>Nivel subintenso</i>	54
7.2.3 <i>Nivel intenso</i>	56
7.2.4 <i>Comparativa de ketorolaco en diferentes niveles de nocicepción</i>	58
7.3 <i>TRAMADOL EN DIFERENTES NIVELES DE NOCICEPCIÓN</i>	60
7.3.1 <i>Nivel moderado</i>	60
7.3.2 <i>Nivel subintenso</i>	62
7.3.3 <i>Nivel intenso</i>	64
7.3.4 <i>Comparativa de tramadol en tres niveles de nocicepción</i>	66
7.4 <i>KETOROLACO Y TRAMADOL EN TRES NIVELES DE NOCICEPCIÓN</i>	67
7.5 <i>COMBINACIÓN 1 (ALTO EFECTO DE POTENCIACIÓN) EN DIFERENTES NIVELES DE NOCICEPCIÓN</i>	69
7.5.1 <i>Nivel moderado</i>	69
7.5.2 <i>Nivel subintenso</i>	71
7.5.3 <i>Nivel intenso</i>	73
7.5.4 <i>Comparativa de C1 en diferentes niveles de nocicepción</i>	75

7.6 COMBINACIÓN 2 (DE MÁXIMO EFECTO) EN DIFERENTES NIVELES DE NOCICEPCIÓN	76
7.6.1 Nivel moderado.....	76
7.6.2 Nivel subintenso.....	78
7.6.3 Nivel intenso.....	80
7.6.4 Comparativa de C2 en diferentes niveles de nocicepción	82
7.7 KET, TRA Y C2 EN DIFERENTES NIVELES DE NOCICEPCIÓN	84
7.8 EFECTOS ADVERSOS: ADMINISTRACIÓN AGUDA	86
7.8.1 Constipación: Porcentaje de tránsito gastrointestinal	86
7.8.2 Coordinación motora: Prueba de rota-rod	87
7.8.3 Porcentaje de lesión gástrica: úlceras y erosiones.....	87
7.9 ADMINISTRACIONES REPETIDAS: EFECTO ANTINOCICEPTIVO	89
7.9.1 Ketorolaco en administraciones repetidas	89
7.9.2 Tramadol en administraciones repetidas.....	90
7.10 ADMINISTRACIÓN AGUDA Y REPETIDA DE KET, TRA, C1 Y C2	91
7.11 ADMINISTRACIÓN REPETIDAS: EFECTOS ADVERSOS	93
7.11.1 Constipación: porcentaje de tránsito gastrointestinal	93
7.11.2 Coordinación motora: Prueba de rota-rod	94
7.11.3 Porcentaje de lesión gástrica: úlceras y erosiones	95
7.12 RESUMEN DE RESULTADOS	97
8. DISCUSIÓN.....	98
9. CONCLUSIONES	114
10. PERSPECTIVAS.....	115
11. REFERENCIAS	116

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	DESCRIPCIÓN
Figura 1	Mecanismos que subyacen al dolor
Figura 2	Mecanismos de transducción del dolor
Figura 3	Nociceptores y canales iónicos
Figura 4	Proyección de los nociceptores a láminas de la médula espinal
Figura 5	Vías de transmisión ascendente y descendente del dolor
Figura 6	Control descendente del dolor
Figura 7	Áreas del dolor cortical
Figura 8	Clasificación del dolor
Figura 9	Estructuras articulares involucradas en la génesis del dolor en la osteoartritis (OA)
Figura 10	Mecanismos de transmisión y transducción de señales en el dolor por osteoartritis (OA)
Figura 11	Mecanismos que subyacen en la artritis gotosa
Figura 12	Blancos terapéuticos en la necroinflamación por gota
Figura 13	Escalera analgésica de la OMS
Figura 14	Señalización del receptor opioide
Figura 15	Mecanismos de acción no opioide del clorhidrato de tramadol, mediado por la inhibición de neurotransmisores monoaminérgicos (5-HT y NE)
Figura 16	Eje de la biosíntesis de prostanooides
Figura 17	Efectos adversos de los AINEs
Figura 18	Isoblograma
Figura 19	Superficie interacción sinérgica (A, B, C)
Figura 20	Curso Temporal de tres niveles de nocicepción: I, II, III (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR
Figura 21	Curso temporal de las dosis individuales de ketorolaco en un nivel moderado de nocicepción, en el modelo PIFIR

Figura 22	<p>A. Efectos globales (ABC) de las dosis individuales de ketorolaco en un nivel moderado de nocicepción</p> <p>B. CDR del efecto antinociceptivo de ketorolaco en un nivel moderado de nocicepción</p>
Figura 23	Curso temporal de las dosis individuales de ketorolaco en un nivel subintenso de nocicepción, en el modelo PIFIR
Figura 24	<p>A. Efectos globales (ABC) de las dosis individuales de ketorolaco en un nivel subintenso de nocicepción</p> <p>B. CDR del efecto antinociceptivo de ketorolaco en el nivel subintenso de nocicepción</p>
Figura 25	CT de las dosis individuales de ketorolaco, en un nivel intenso de nocicepción, en el modelo PIFIR
Figura 26	<p>A. Efectos globales (ABC) de las dosis individuales de ketorolaco en un nivel intenso de nocicepción</p> <p>B. CDR del efecto antinociceptivo de Ketorolaco en un nivel intenso de nocicepción</p>
Figura 27	Efectos globales (ABC) antinociceptivos de ketorolaco en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR
Figura 28	CDR de ketorolaco en diferentes niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR
Figura 29	Curso temporal de las dosis individuales de tramadol en un nivel moderado de nocicepción en el modelo PIFIR
Figura 30	<p>A. Efectos globales (ABC) de las dosis individuales de tramadol en un nivel moderado de nocicepción</p> <p>B. CDR del efecto antinociceptivo de tramadol en un nivel moderado de nocicepción</p>
Figura 31	Curso temporal de las dosis individuales de tramadol en un nivel subintenso de nocicepción en el modelo PIFIR

Figura 32	<p>A. Efectos globales (ABC) de las dosis individuales de tramadol en un nivel subintenso de nocicepción</p> <p>B. CDR del efecto antinociceptivo de tramadol en un nivel subintenso de nocicepción</p>
Figura 33	Curso temporal de las dosis individuales de tramadol en un nivel intenso de nocicepción en el modelo PIFIR
Figura 34	<p>A. Efectos globales (ABC) de las dosis individuales de Tramadol en un nivel intenso de nocicepción.</p> <p>B. CDR del efecto antinociceptivo de tramadol en un nivel intenso de nocicepción.</p>
Figura 35	Efectos globales (ABC) antinociceptivos de tramadol en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR.
Figura 36	CDR de tramadol en diferentes niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR.
Figura 37	CDR de ketorolaco y tramadol, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR
Figura 38	Curso temporal de las dosis individuales de ketorolaco, tramadol y combinación 1, en el nivel moderado de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 39	Efectos globales (ABC) de ketorolaco, tramadol y combinación 1 en el nivel moderado de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 40	Curso temporal de las dosis individuales de ketorolaco, tramadol y combinación 1, en el nivel subintenso de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 41	Efectos antinociceptivos globales (ABC) de ketorolaco, tramadol y combinación 1 en el nivel subintenso de nocicepción, modelo PIFIR.

Figura 42	Curso temporal de las dosis individuales de ketorolaco, tramadol y combinación 1, en el nivel intenso de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 43	Efectos antinociceptivos globales (ABC) de ketorolaco, tramadol y combinación 1 en el nivel intenso de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 44	Efectos antinociceptivos de la combinación 1 (ABC) en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), modelo PIFIR.
Figura 45	Curso temporal de las dosis individuales de ketorolaco, tramadol y combinación 2, en el nivel moderado de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 46	Efectos antinociceptivos globales (ABC) de ketorolaco, tramadol y combinación 2, en el nivel moderado de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 47	CT de las dosis individuales de ketorolaco, tramadol y combinación 2, en el nivel subintenso de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 48	Efectos antinociceptivos globales (ABC) de ketorolaco, tramadol y combinación 2, en el nivel subintenso de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 49	Curso temporal de las dosis individuales de ketorolaco, tramadol y combinación 2, en el nivel intenso de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 50	Efectos antinociceptivos globales (ABC) de ketorolaco, tramadol y combinación 2 en el nivel intenso de nocicepción, modelo PIFIR.
Figura 51	Efectos antinociceptivos globales (ABC) de la combinación 2 en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), modelo PIFIR.

Figura 52	Efectos globales (ABC) antinociceptivos de las dosis más efectivas de ketorolaco, tramadol y la combinación 2, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR
Figura 53	Efecto adverso de constipación de las dosis más efectivas de ketorolaco, tramadol y las combinaciones 1 y 2
Figura 54	Efecto adverso de coordinación motora de las dosis más efectivas de ketorolaco, tramadol y las combinaciones 1 y 2
Figura 55	Efectos gastrointestinales de las dosis más efectivas de ketorolaco, tramadol y las combinaciones 1 y 2
Figura 56	CDR de los efectos antinociceptivos, de la administración aguda y 12 administraciones repetidas de ketorolaco en el modelo PIFIR.
Figura 57	CDR de los efectos antinociceptivos, de la administración aguda y 12 administraciones repetidas de tramadol en el modelo PIFIR.
Figura 58	CDR de los efectos antinociceptivos, de la administración aguda y 12 administraciones repetidas de ketorolaco y tramadol, en el modelo PIFIR.
Figura 59	Efecto adverso de constipación de las dosis más efectivas de ketorolaco, tramadol y las combinaciones 1 y 2, tras 12 administraciones repetidas.
Figura 60	Efecto adverso de coordinación motora de las dosis más efectivas de ketorolaco, tramadol y las combinaciones 1 y 2, tras 12 administraciones repetidas.
Figura 61	Efectos adversos: úlceras y erosiones gástricas de las dosis más efectivas de ketorolaco, tramadol y las combinaciones 1 y 2, tras 12 administraciones repetidas.

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	DESCRIPCIÓN
Tabla 1	Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de ket en un nivel moderado de nocicepción
Tabla 2	Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de ketorolaco en un nivel subintenso de nocicepción
Tabla 3	Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de ketorolaco en un nivel intenso de nocicepción
Tabla 4	Efectos globales (ABC) en unidades de área de los efectos antinociceptivos de ketorolaco en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR
Tabla 5	Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de tramadol en un nivel moderado de nocicepción
Tabla 6	Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de ket en un nivel subintenso de nocicepción
Tabla 7	Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de ket en un nivel moderado de nocicepción
Tabla 8	Efectos globales (ABC) en unidades de área de los efectos antinociceptivos de tramadol en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR
Tabla 9	Comparativa de la respuesta antinociceptiva (eficacia y potencia) de ketorolaco y tramadol, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR

Tabla 10	Efectos globales (ABC) de la combinación 1 y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 1 en el nivel moderado de nocicepción
Tabla 11	Efectos globales (ABC) de la combinación 1 y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 1 en el nivel subintenso de nocicepción
Tabla 12	Efectos globales (ABC) de la combinación 1 y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 1 en el nivel intenso de nocicepción
Tabla 13	Comparativa de los efectos globales (ABC) antinociceptivos de la combinación 1 en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR
Tabla 14	Efectos globales (ABC) de la combinación 2 y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 2 en el nivel moderado de nocicepción
Tabla 15	Efectos globales (ABC) de la combinación 2 y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 2 en el nivel subintenso de nocicepción
Tabla 16	Efectos globales (ABC) de la combinación 2 y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 2 en el nivel intenso de nocicepción
Tabla 17	Comparativa de los efectos globales (ABC) antinociceptivos de la combinación 2 en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR

Tabla 18	Comparativa de los efectos globales (ABC) antinociceptivos de las dosis más efectivas de Ket, Tra y la combinación 2, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR
Tabla 19	Comparación de los efectos gastrointestinales (% de lesión gástrica) producidos por indometacina, ketorolaco, tramadol y las combinaciones 1 y 2
Tabla 20	Efectos globales (ABC) antinociceptivos de la administración aguda y repetida de ketorolaco en el modelo PIFIR
Tabla 21	Efectos globales (ABC) antinociceptivos de la administración aguda y repetida de tramadol en el modelo PIFIR
Tabla 22	Efectos globales (ABC) antinociceptivos de la administración aguda y repetida de ketorolaco, tramadol y las combinaciones 1 y 2, en el modelo PIFIR
Tabla 23	Comparación de los efectos gastrointestinales (% de lesión gástrica) producidos por indometacina, ketorolaco, tramadol y las combinaciones 1 y 2, tras esquema de administraciones repetidas

TABLA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURAS	SIGNIFICADO
ABC	Área bajo la curva
Ác úr	Ácido úrico
AG	Artritis gotosa
AGI	Almohadilla grasa infrapatelar
AINEs	Analgésicos no esteroideos
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
ANOVA	Análisis de varianza
ATP	Adenosín trifosfato
C-1/C-2	Combinación 1 y 2
CDR	Curva dosis respuesta
CGRP	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
Cmax	Concentración máxima
COX-1/COX-2	Ciclooxigenasa 2
CUM	Cristales de urato monosódico
CT	Curso temporal
DAMPs	Patrones moleculares asociados al daño
DE₅₀	Dosis efectiva 50
EE	Error estándar
GDNF	Factor neurotrófico derivado de la glía
GRD	Ganglio de la raíz dorsal
IASP	Asociación internacional para el estudio del dolor
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-1B	Interleucina 1β
Ind	Indometacina
Ket	Ketorolaco
MCP-1 o CCL2	Proteína quimioatrayente de monocitos

MMP13	Metaloproteinasas de matriz 13
Nav	Canales de sodio dependientes de voltaje
NE	Noradrenalina
NETs	Trampas extracelulares de neutrófilos
NGF	Factor de crecimiento nervioso
OA	Osteoartrosis
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAG	Sustancia gris periacueductal
PGE2	Prostaglandina E2
PIFIR	Disfunción inducida por dolor en rata
PKA	Proteína quinasa A
P. O	Per os (vía oral)
ROS	Especies reactivas de oxígeno
RIPK3	Receptor quinasa 3
RTKs	Receptor tirosina quinasa A
RVM	Médula ventromedial rostral
SIS	Superficie de interacción sinérgica
SNC	Sistema nervioso Central
SP	Sustancia P
ST	Suma teórica
TGF-B1	Factor de crecimiento transformante beta 1
Tra	Tramadol
TLRs	Receptores tipo toll
TNF-A	Factor de necrosis tumoral alfa
TRP	Receptores de potencial transitorio
Ua	Unidades de área
Veh	Vehículo
5-HT	5-Hidroxitriptamina
%TGI	Porcentaje de tránsito gastrointestinal
%LG	Porcentaje de lesión gástrica

RESUMEN

El dolor es síntoma cardinal de la artritis y la terapia actual se dirige a disminuir su intensidad. La monoterapia empleada para este tipo de dolor, puede ser terapéuticamente adecuada en ciertas condiciones de dolor, pero su utilidad o eficacia analgésica se reduce importantemente cuando la intensidad del dolor aumenta. La combinación entre un AINE (ketorolaco) y un opioide débil (tramadol) puede resultar eficaz en diferentes niveles de nocicepción en dolor artrítico tipo gota en rata. En este proyecto se caracterizó la farmacodinamia de los efectos antinociceptivos de un opioide (tramadol: Tra, dosis: 10, 17.78, 23.71 y 31.62 mg/kg) un AINE (ketorolaco: ket, dosis: 0.56, 1.0, 1.78, 3.16 mg/kg) y dos de sus combinaciones que generan alta potenciación y máximo efecto antinociceptivo (C1: Ket 0.56 + Tra 10 mg/kg y C2: Ket 1.78 + Tra 17.78 mg/kg, respectivamente). Los efectos individuales y combinados de los tratamientos fueron evaluados utilizando el modelo de "Disfunción inducida por dolor en rata" (PIFIR), el cual modela un dolor artrítico tipo gota, consiguiendo instaurar tres diferentes intensidades de nocicepción (moderado o Nivel I, subintenso o Nivel II e intenso o nivel III). **Resultados:** a) Existe una relación dosis-dependiente en los efectos antinociceptivos individuales de ket en los niveles I y II, siendo la dosis 3.16 mg/kg la más efectiva. En el Nivel III los efectos de Ket se vieron reducidos casi en su totalidad. B) Existe una relación dosis-dependiente de los efectos individuales de Tra en los tres niveles evaluados, resultando la dosis más efectiva 31.62 mg/kg. c) la C1 generó efectos supraaditivos con potenciación de 101% y 75% en los niveles I y II, respectivamente. En el nivel III los efectos de la combinación fueron de suma o aditivos. d) La C2 generó efectos aditivos en los niveles I y II y supraaditivos con potenciación del 60% en el nivel III. e) En los 3 niveles de dolor, empleando la C2 se alcanza el máximo efecto antinociceptivo producido también por el opioide solo, pero la combinación emplea la mitad de la dosis del opioide (17.78 mg/kg) + una dosis adecuada de ketorolaco (1.78 mg/kg) y no aumentó efectos adversos (constipación, coordinación motora y lesiones gástricas).

Conclusiones: Distintas intensidades de dolor artrítico tipo gota generan cambios en los efectos antinociceptivos individuales de un AINE. La coadministración de ketorolaco y tramadol genera combinaciones importantes del tipo suma y supraaditivos que pueden emplearse en niveles de dolor o nocicepción más intensos, como una opción terapéutica, a la par de no aumentar efectos adversos de constipación, coordinación motora y lesiones gástricas.

ABSTRACT

Pain is a cardinal symptom of arthritis and current therapy focuses on decreasing the intensity of pain. The monotherapy used for this type of pain may be therapeutically adequate in certain conditions, but the analgesic usefulness is significantly reduced when pain intensity increases. The combination of a non-steroidal anti-inflammatory drug, (NSAID; ketorolac) and a weak opioid (tramadol) may be effective at different levels of nociception in gout-like arthritis pain in rats.

This research analyzed the pharmacodynamics of the antinociceptive effects produced by an opioid (tramadol: Tra; doses: 10, 17.78, 23.71 and 31.62 mg/kg) an NSAID (ketorolac: Ket; doses: 0.56, 1.0, 1.78, 3.16 mg/kg) and two of the combinations that produce high potentiation and the maximum antinociceptive effect (C1: Ket 0.56 + Tra 10 mg/kg; C2: Ket 1.78 + Tra 17.78 mg/kg). Individual and combined effects of the treatments were evaluated using the “pain-induced functional impairment in the rat model”, also called PIFIR for its acronym. This model resembles a gout-like arthritis pain in three different levels of nociception (level I or moderate; level II or sub-intense; and level III or intense). **Results:** A) There is a dose-dependent relationship in the individual effects of ketorolac at level I and II, with the 3.16 mg/kg dose being the most effective. At level III the effects of ketorolac were almost entirely reduced. B) There is a dose-dependent relationship between in the individual effects of tramadol at the three levels evaluated, with the most effective dose being 31.62 mg/kg. C) C1 resulted in supra-additive effects with a potentiation of 101% and 75% at levels I and II, respectively. At level III, the effects of the combination produced additive effects. D) C2 generated additive effects in levels I and II, while the evaluation of level III produced supra-additive effects with a potentiation of 60%. E) C2 reached the maximum antinociceptive effect in all levels (I, II and III), as did opioid alone. Importantly, C2 uses half-dose of the opioid alone (17.78 mg/kg) plus an adequate dose of ketorolac (1.78 mg/kg). This did not increase adverse effects (constipation, motor coordination and gastric lesions).

Conclusions: Different intensities of gout-like arthritis pain can produce different responses to the antinociceptive effects of NSAIDs. The coadministration of ketorolac and tramadol generates important combinations of additive and supra-additive effects that can be used at more intense levels of pain or nociception. This leads to a safe and effective therapeutic option that does not increase adverse effects such as constipation, motor coordination and gastric lesions.

1.INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades del dolor

1.1.2 Definición de dolor

Desde su formación en 1985 la Asociación Internacional para el estudio del dolor (IASP, por sus siglas en inglés) se ha aproximado a incluir la basta cantidad de características del dolor en una definición. En la última actualización del 2020 la IASP lo definió como: “Una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con, o parecida a la asociada con, daño tisular real o potencial”(Raja et al., 2020). La palabra “dolor” proviene del latín “poena” (pena, castigo) y a su vez del griego “poine” (pago, pena)(Raja et al., 2020).

Hace más de 500 años un hombre con una gran capacidad de observación, describió la importancia del dolor como mecanismo de defensa o protección de los organismos; en palabras de Leonardo Da Vinci “la naturaleza ha hecho sensibles al dolor a los organismos vivos que tienen la facultad de moverse, para preservar las partes que pudieran destruirse por el movimiento” (Isaacson, 2018). El dolor representa el síntoma preponderante de una gran variedad de trastornos clínicos, y de acuerdo con sus características permite al médico o personal de salud orientar un diagnóstico y emplear la terapéutica adecuada. Según el informe de morbilidades de la Organización Mundial de la Salud (OMS) realizado de 1990 a 2015, indico que la principal causa de discapacidad a nivel mundial es el dolor (Vos et al., 2016). El tratamiento del dolor es y deber ser el imperativo clínico principal. Buscar nuevas estrategias terapéuticas ante el incremento incesante en la prevalencia mundial de dolor crónico, ha puesto de relevancia seguir investigando en tratamientos más eficaces y seguros, teniendo un papel preponderante la investigación preclínica en el área farmacológica del dolor.

Erróneamente en el área de dolor se emplean como sinónimos; dolor y nocicepción. Estos son fenómenos diferentes, el dolor no puede inferirse solamente con la activación de terminales nerviosas de neuronas aferentes primarias (nociceptor); como lo indica la definición hay componentes emocionales que los diferencian. En el área preclínica de dolor se emplean animales para estimar las respuestas y examinar la nocicepción (Lee et al., 2020).

1.1.2 Fisiología del dolor

Los mecanismos fisiológicos del dolor se desarrollan en cuatro procesos: transducción, transmisión, modulación y percepción (Yam et al., 2018). La transducción alude a la conversión del estímulo nocivo (químico, térmico o mecánico) en una señal eléctrica. La transmisión es la conducción del potencial de acción a través del axón desde el sitio de la lesión hasta llegar a la corteza somatosensorial primaria donde subyace la percepción del estímulo nocivo. La modulación se refiere a la capacidad de amplificar o disminuir la señal nociceptiva en el sistema de transmisión dependiendo la necesidad del organismo. La percepción, es una serie compleja de procesos de integración de los estímulos sensoriales que concluye en la interpretación del dolor (Yam et al., 2018).

1.1.2.1 Transducción

Todo estímulo nocivo comienza con la activación de nociceptores (Dubin & Patapoutian, 2010), terminales nerviosas de neuronas aferentes primarias que codifican y procesan estímulos mecánicos, térmicos y químicos (Schaible & Richter, 2004). Los cuerpos celulares de estos receptores surgen del ganglio de la raíz dorsal (GRD) o en ganglios del trigémino dependiendo su ubicación en cuerpo o cara, respectivamente. Al activar un terminal nociceptivo se desencadenan reflejos axónicos que envían en forma bidireccional una señal drómica a la médula espinal o tronco encefálico y antidrómicamente hacia la periferia, lo que va a desencadenar la liberación de sustancia P (SP) entre otros mediadores (Nascimento et al., 2018) (Figura 2).

Los procesos axonales que se dirigen a la periferia son denominados "*terminaciones libres*" no especializadas (nociceptor) (Purves et al., 2001). Cuando las intensidades del estímulo son eminentes, como la producida directamente por una lesión en el tejido, comienza la salida del ion K^+ al intersticio, que facilita la despolarización del nociceptor, desencadenando un potencial de acción. A su vez enzimas proteolíticas actúan sobre precursores plasmáticos produciendo bradiquinina, PGE2 y leucotrienos, estas sustancias sensibilizan a las distintas clases de receptores del dolor (Basbaum et al., 2009).

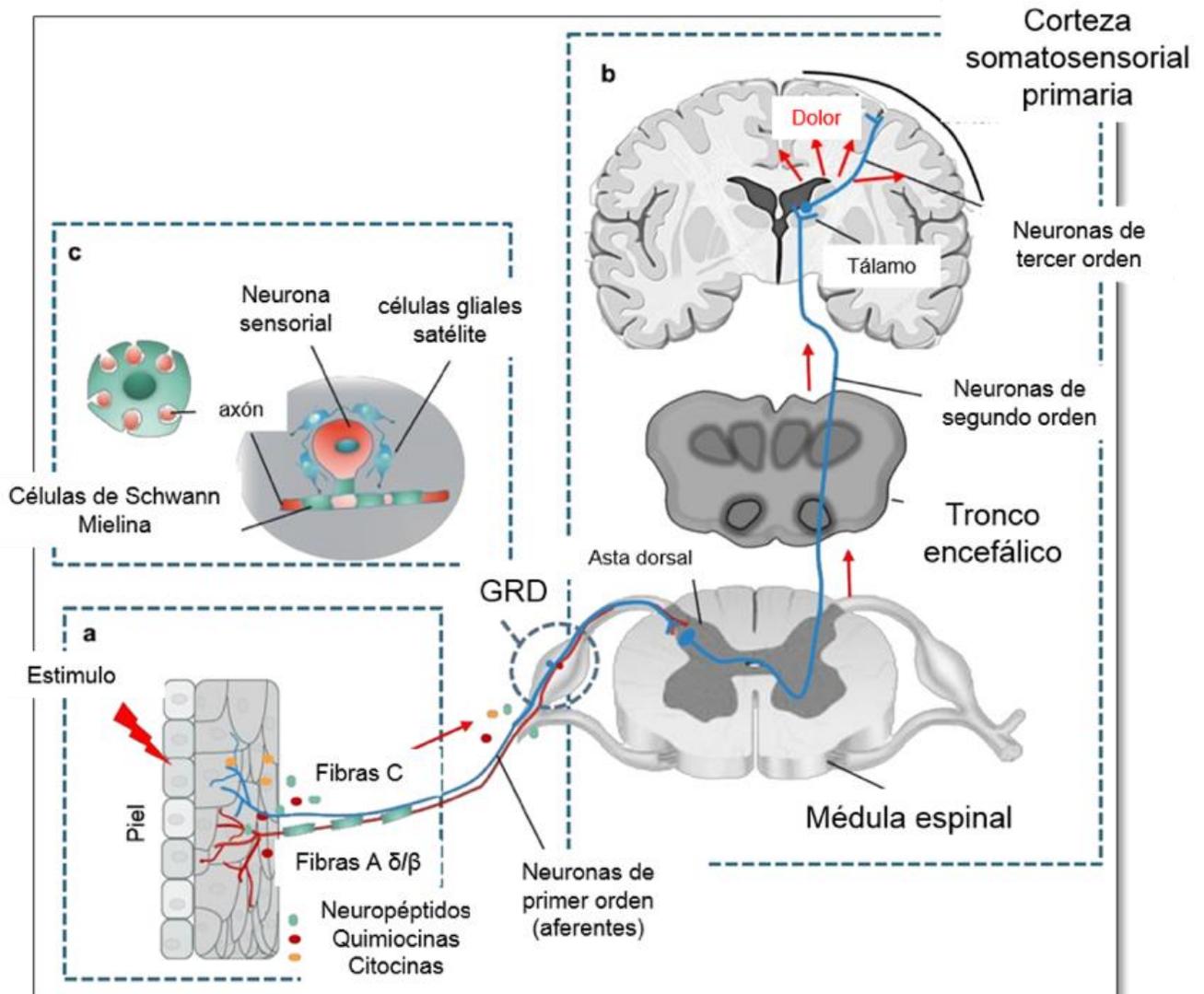


Figura 1. Mecanismos que subyacen al dolor. A) Transducción: Terminaciones nerviosas periféricas (Fibras C y Fibras A δ/β). **C) Organización del ganglio de la raíz dorsal (GRD)**, en su periferia células de Schwann y células gliales satélite. **B) Transmisión** El axón de la neurona de primer orden ingresa a la médula espinal y contactan con la de segundo orden en la sustancia gris, posteriormente se proyecta a una zona del tronco encefálico y núcleos del tálamo, para finalmente dirigirse regiones corticales y subcorticales del cerebro (Modificado de Liu et al., 2021).

De acuerdo con el nivel de mielinización, marcadores distintivos químicos y de acuerdo con la característica y modalidad que evoca una respuesta se puede clasificar a los receptores del dolor en (Basbaum et al., 2009; Millan, 1999):

- **Fibras A β :** Mielinizadas. Con un diámetro de $>10 \mu\text{m}$ y con una velocidad de conducción rápida que ronda los 30-100 m/s. Responden a estímulos

mecánicos de baja intensidad normalmente inocuos como son el tacto, vibración o presión (Millan, 1999; Basbaum et al., 2009).

- **Fibras A δ** : Ligeramente Mielinizadas. Con un diámetro de 2 a 6 μm y con una velocidad de conducción intermedia que ronda los 12-30 m/s (Basbaum et al., 2009). De acuerdo a su respuesta electrofisiológica estas fibras se pueden subdividir en Tipo **I A δ** , presente en piel sin pelo y con pelo son activados por estímulos mecánicos muy intensos o de alto umbral, insensibles a capsaicina y sensibilizados a temperaturas altas (52-53°C). Los nociceptores de **Tipo II A δ** , presente en piel con pelo son insensibles a estímulos mecánicos y sensibles a capsaicina (Millan, 1999).
- **Fibras C**: Desmielinizadas. Presentan un diámetro de 0.4-1.2 μm con una velocidad de conducción lenta que ronda los 0.5-2 m/s (Millan, 1999). Son fibras polimodales capaces de sensibilizarse ante estímulos mecánicos, térmicos y químicos. A su vez se subdividen en Fibras C "*peptidérgicas*" que expresan neuropéptidos y sustancia P (SP) (Urban et al., 1995) así como péptido relacionado al gen de la calcitonina (CGRP, por sus siglas en inglés) y receptores para el factor de crecimiento nervioso (NGF) (Basbaum et al., 2009). La clase de fibras C "*no peptidérgicas*" expresa receptores para el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF, por sus siglas en inglés) (Pinto et al., 2019).

Los mecanismos por los cuales estas fibras traducen y transmiten los estímulos percibidos es a través de apertura de canales activados por iones, transmitiendo una señal electroquímica (McEntire et al., 2016). Los principales canales involucrados en este proceso son canales de sodio dependientes de voltaje (Nav 1.3, Nav 1.7, Nav, 1.8, Nav 1.9), receptores de potencial transitorio (TRPs, TRPV1, TRPV3, TRPA1 y TRPM8) y canales iónicos sensibles al ácido) (McEntire et al., 2016)(Figura 4).

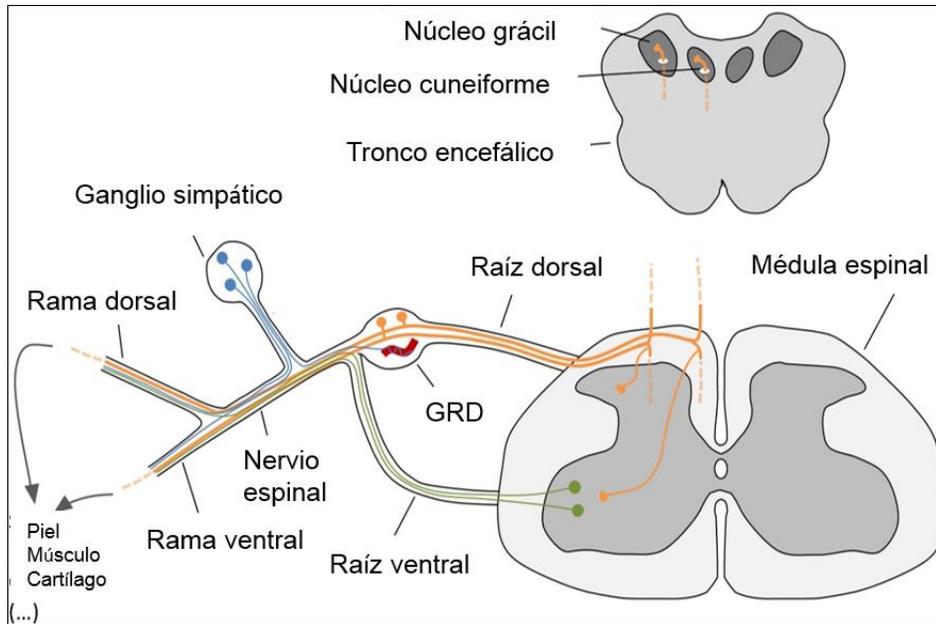


Figura 2. Mecanismos de transducción del dolor. Neuronas del Ganglio de la raíz dorsal (GRD) (naranja) con proyección bidireccional hacia la periferia y un axón central que se dirige a las láminas de la médula espinal o a los núcleos del tronco encefálico. Neuronas eferentes motoras (verde) y neuronas simpáticas (azul) que se asocian a vasos sanguíneos (Rojo). (Modificado de Nascimento et al., 2018).

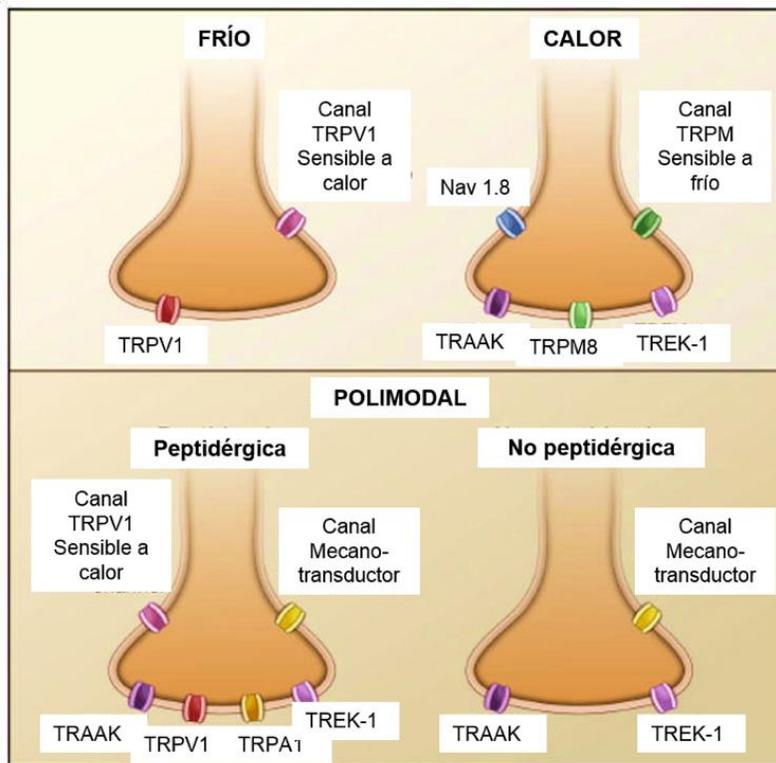


Figura 3. Nociceptores y canales iónicos. Subtipos de nociceptores y expresión de canales iónicos (Modificado de Basbaum et al., 2009).

1.1.2.2 Transmisión

Terminaciones nerviosas periféricas (Fibras C y Fibras A δ/β) detectan un estímulo nocivo, lo que trae consigo activación de un potencial de acción. La rama axonal central que emerge del GRD se proyectan a la asta dorsal de la médula espinal. La sustancia gris de la médula espinal se encuentra organizada en láminas con distinta actividad de procesamiento sensorial. Las fibras A β que reciben señales de bajo umbral como los que podría generar estímulos inocuos cutáneos (tacto ligero) se proyectan sobre las láminas III, IV y V. Los nociceptores A δ se proyectan hacia la lámina I y responde a estímulos nocivos ya descritos anteriormente, estas fibras también se proyectan en la lámina V donde recibe información de tejidos viscerales. Por último, los nociceptores C con actividad polimodal ante diversos estímulos se proyectan hacia las láminas I y II (Dubin & Patapoutian, 2010).

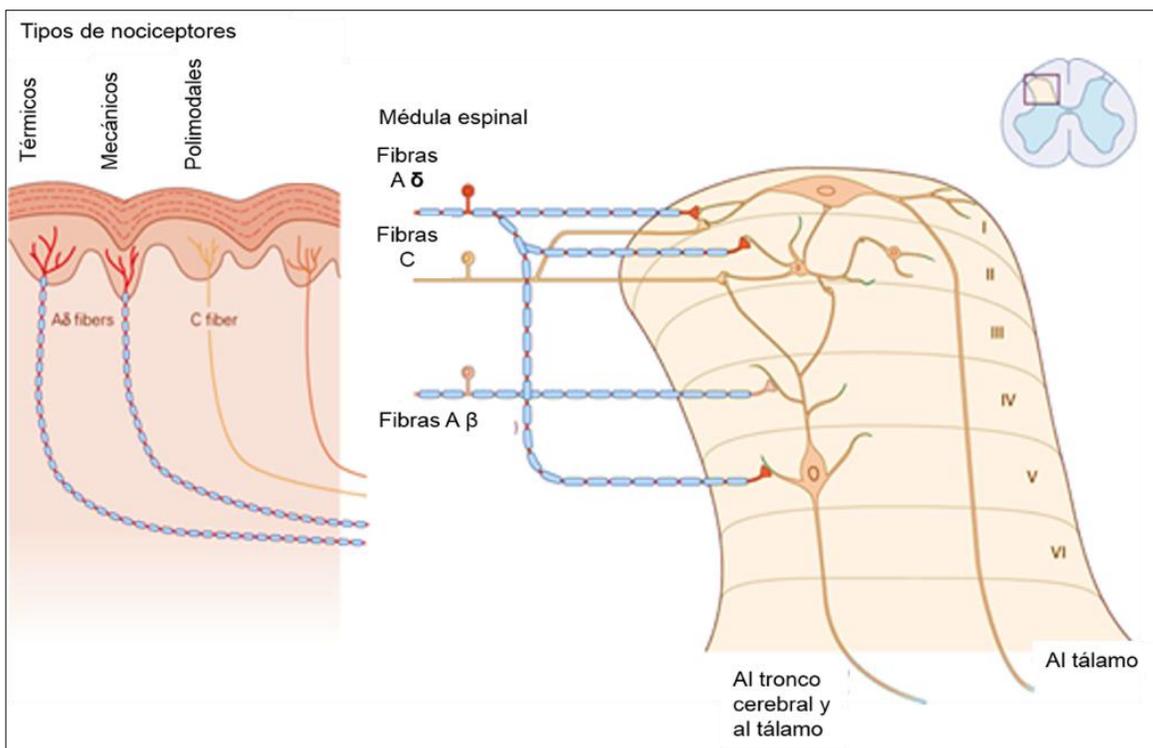


Figura 4. Proyección de los nociceptores a láminas de la médula espinal. Los nociceptores de fibras A δ se proyectan hacia la lámina I y V. Los nociceptores C hacia las láminas I y II. Las fibras A β proyectan en las láminas I, II, III de la médula espinal (modificado de Kandel et al., 2014).

El sistema de proyección del dolor sigue vías ascendentes; a través de tractos: el tracto espinotalámico, que finalizan en el tálamo, el tracto espinoreticular que hace sinapsis con formaciones reticulares del bulbo raquídeo y la protuberancia y el tracto espinomesencefálico que se proyecta hacia la sustancia gris periacueductal (PAG) estructura del mesencéfalo(Meeks et al., 2015).

El tracto espinotalámico es el encargado de transmitir información sobre la localización e intensidad del estímulo doloroso. El tracto espinoreticular, responsable de la respuesta autonómica, de alerta y escape. El tracto espinomesencefálico involucrado en el componente afectivo de dolor y en vías descendentes y moduladoras del dolor (Renthal, 2020). A su vez estos tractos forman conexiones con estructuras corticales encargadas de la percepción del dolor como son la corteza somatosensorial primaria, la circunvolución del cíngulo anterior y la corteza insular (Steeds, 2009)(Figura 5).

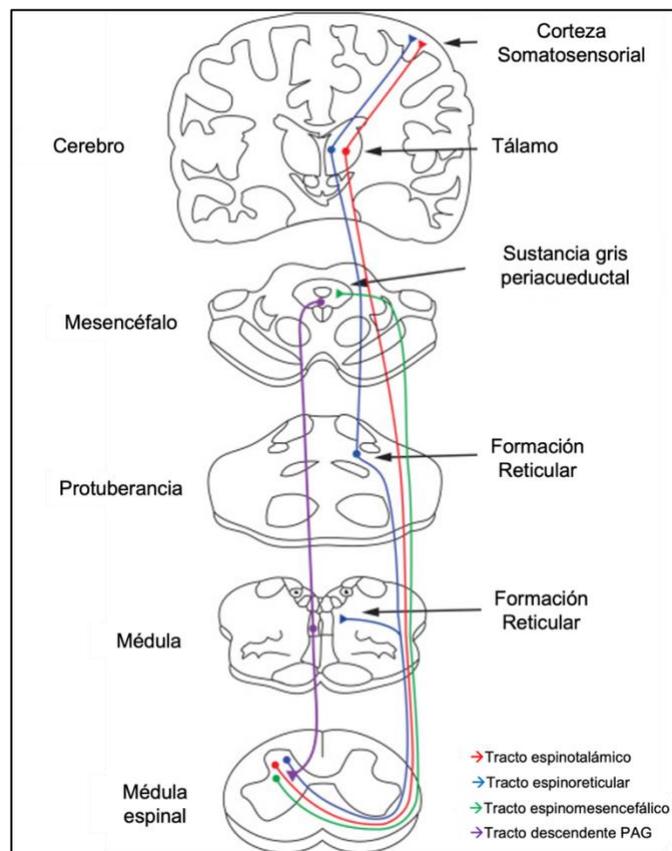


Figura 5. Vías de transmisión ascendente y descendente del dolor. Tractos: espinotalámicos (rojo), espinoreticular (azul), espinomesencefálico (verde) y descendente PAG (morado) (Modificado de Renthal, 2020).

1.1.2.3 Modulación

Describe los procesos por los cuales se puede modular la transmisión del dolor a lo largo de la vía nociceptiva (Kirkpatrick et al., 2015). Se ha establecido el papel del mesencéfalo, tronco encefálico y sitios medulares encargados de ejercer un control bidireccional sobre el dolor. Estas vías están mediadas principalmente por sistemas noradrenérgicos y serotoninérgicos (Bannister & Dickenson, 2017) (Figura 5 y 6).

Vías descendentes del dolor

La sustancia gris periacueductal (PAG, por sus siglas en inglés) rodea el acueducto del mesencéfalo (antes denominado acueducto de Silvio). PAG se encuentra estructurada por columnas, que difieren en su histología, existen tres pares de columnas; ventrolateral, lateral y dorsolateral, así como una única columna dorsomedial (Renthal, 2020). Esta división estructural, es también funcional, la columna ventrolateral, juega un papel importante en la analgesia o antinocicepción producida por opioides (Morgan et al., 1991). La estimulación eléctrica en esta área provoca analgesia ante la presencia de algún estímulo nocivo (Ossipov et al., 2014). Asimismo, la microinyección con opiáceos directamente en el PAG induce analgesia (Renthal, 2020). PAG recibe información de vías ascendentes del dolor a través de las astas dorsales espinales por medio de los núcleos parabraquiales (Gauriau & Bernard, 2002). También posee conexiones bilaterales con el bulbo raquídeo ventromedial rostral (RVM, por sus siglas en inglés), que a su vez lleva fibras inhibitoras y excitatorias descendentes a través de las que hacen sinapsis con la asta dorsal de la médula espinal e inhibe directamente las láminas I, II y V a través del sistema serotoninérgico (Renthal, 2020). Además de recibir información de PAG, el RVM recibe proyecciones del principal productor de noradrenalina en el Sistema Nervioso Central (SNC), el locus coeruleus, atenuando mecanismos de dolor y reduciendo la intensidad de este a través del sistema noradrenérgico actuando directamente en la asta dorsal de la médula espinal (Ossipov et al., 2014; Llorca-Torralba et al., 2016).

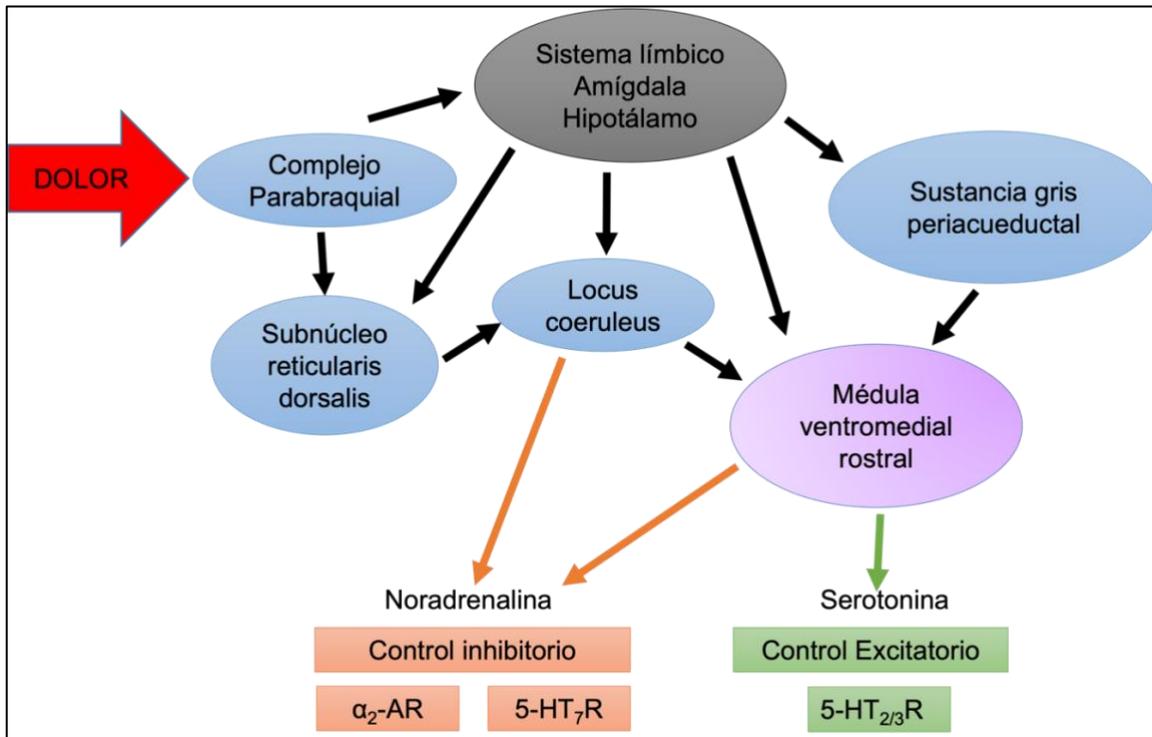


Figura 6. Control descendente del dolor. Estructuras involucradas en la modulación del dolor, a través de sistemas noradrenérgicos y serotoninérgicos (Modificado de Bannister & Dickenson, 2017).

1.1.2.4 Percepción

Es un conjunto de procesos complejos que culminan en la capacidad de interpretación subjetiva del dolor. Con ello se puede dirigir la atención hacia el estímulo doloroso, determinar su fuente, una evaluación cognitiva que genera una respuesta conductual y/o emocional ante la experiencia sensorial desagradable (Garland, 2012). La génesis del dolor crónico se encuentra en la disfunción o aberración de cualquier nivel en la matriz del dolor. Comprender los mecanismos fisiopatológicos que subyacen al dolor permite emplear mejores terapéuticas. Cualquier vía o ubicación anatómica y funcional involucradas en la percepción del dolor pueden volverse disfuncionales en uno o varios sitios simultáneamente, ocasionando en su mayoría un dolor sin una etiología evidente, o un dolor tipo crónico (Fenton et al., 2015).

La percepción comienza desde la activación de neuronas aferentes primarias en la periferia, posteriormente ese estímulo asciende a través de la médula espinal,

llegando a estructuras del tronco encefálico (Fenton et al., 2015); estos procesos fueron descritos anteriormente. La matriz del dolor fue un concepto revolucionario en el mecanismo descrito para la percepción del dolor (Melzack, 1990). La matriz anteriormente mencionada corresponde a diversas áreas corticales que son activadas simultáneamente ante un estímulo nocivo o el parecido o asociado con, daño tisular real o potencial (García-Larrea & Peyron, 2013). Las áreas involucradas corresponden con diferentes aspectos relacionados al dolor como su: intensidad, localización, emoción, respuesta conductual y cognitiva (García-Larrea & Peyron, 2013). La matriz primaria del dolor recaba información de las señales periféricas que ascienden por el tracto espinotalámico y que terminan proyectándose a la corteza primaria (García-Larrea, 2012). Las conexiones de primer orden de esta matriz corresponden al área de la ínsula posterior y medial, así como del opérculo parietal, áreas encargadas en la ubicación y delimitación del estímulo doloroso (García-Larrea, 2012). Aunque estas áreas son esenciales para la percepción del dolor, se requiere de otras matrices para producir la experiencia emocional desagradable que caracteriza al dolor. La matriz secundaria es la encargada de focalizar la atención, agregando elementos temporales (cuándo) y espaciales (“dónde”) en la percepción de este. A través de proyecciones de la corteza opérculo-insular que envía información hacia la ínsula anterior media y a la corteza cingulada anterior y medial, se median procesos cognoscitivos para la percepción del dolor como el reflejo de sufrimiento, culpa o empatía (Fenton et al., 2015). La matriz terciaria esta mediada por cambios en actividad de la corteza orbitofrontal, la corteza cingulada posterior y corteza prefrontal. Esta matriz integra la señal de las otras dos matrices y evoca una respuesta conductual. Estados cognitivos como meditación, creencias, autocontrol, estados hedónicos presentan proyecciones bilaterales entre la matriz terciaria y vías descendentes del dolor como PAG, dándole una índole diferente a la percepción de dolor y analgesia (Leknes et al., 2013).

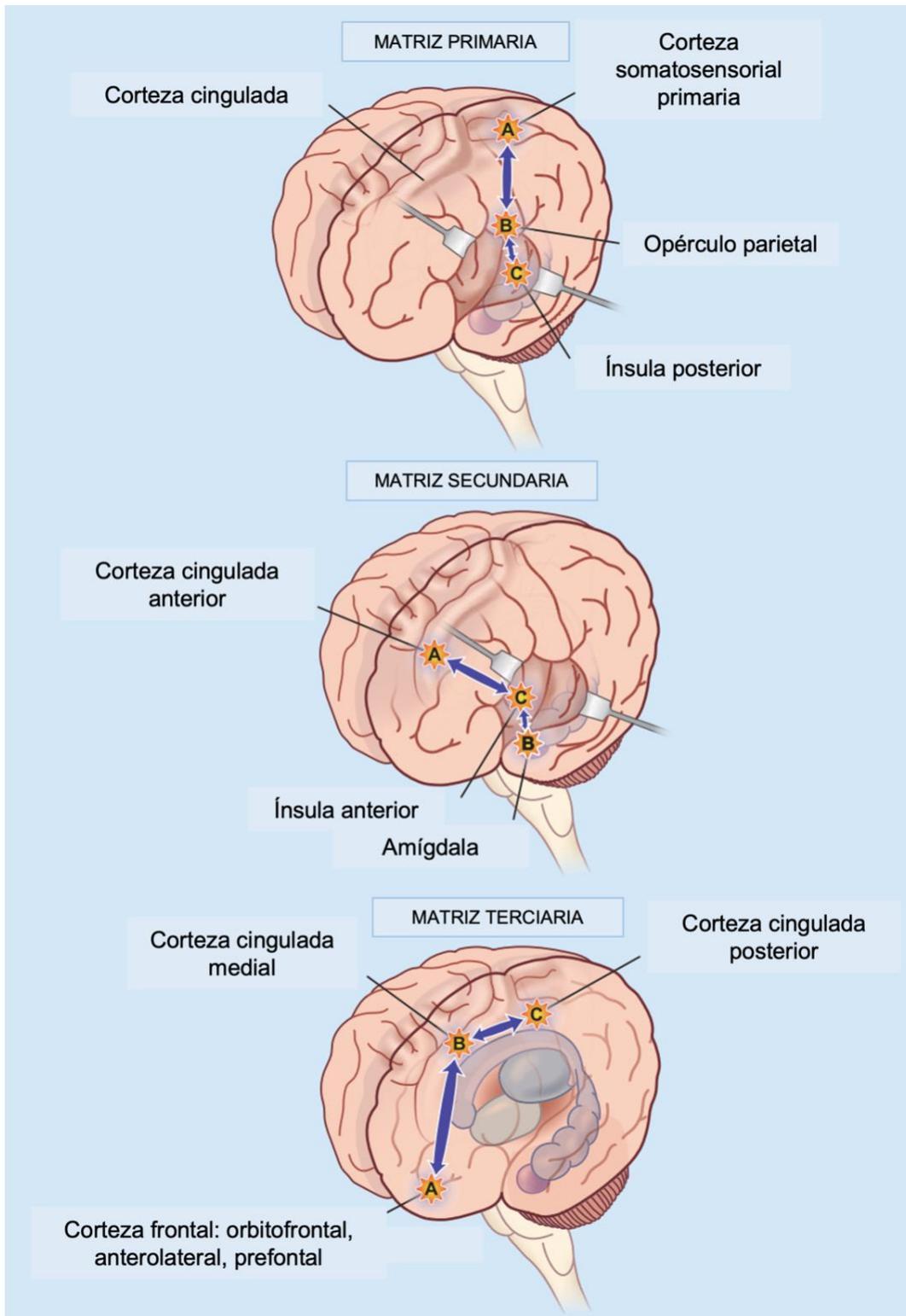


Figura 7. Áreas del dolor cortical. Matriz primaria corresponde a información de la ubicación y delimitación del estímulo doloroso, la matriz secundaria focaliza la atención en el dolor. La tercera matriz integra la señal de las otras dos matrices y evoca una respuesta conductual (Modificado de Fenton et al., 2015).

1.1.3 Clasificación del dolor

Se puede clasificar al dolor en tres grandes categorías: nociceptivo, inflamatorio y patológico, este último se puede subdividir en dolor neuropático y dolor disfuncional (Woolf, 2004,2010).

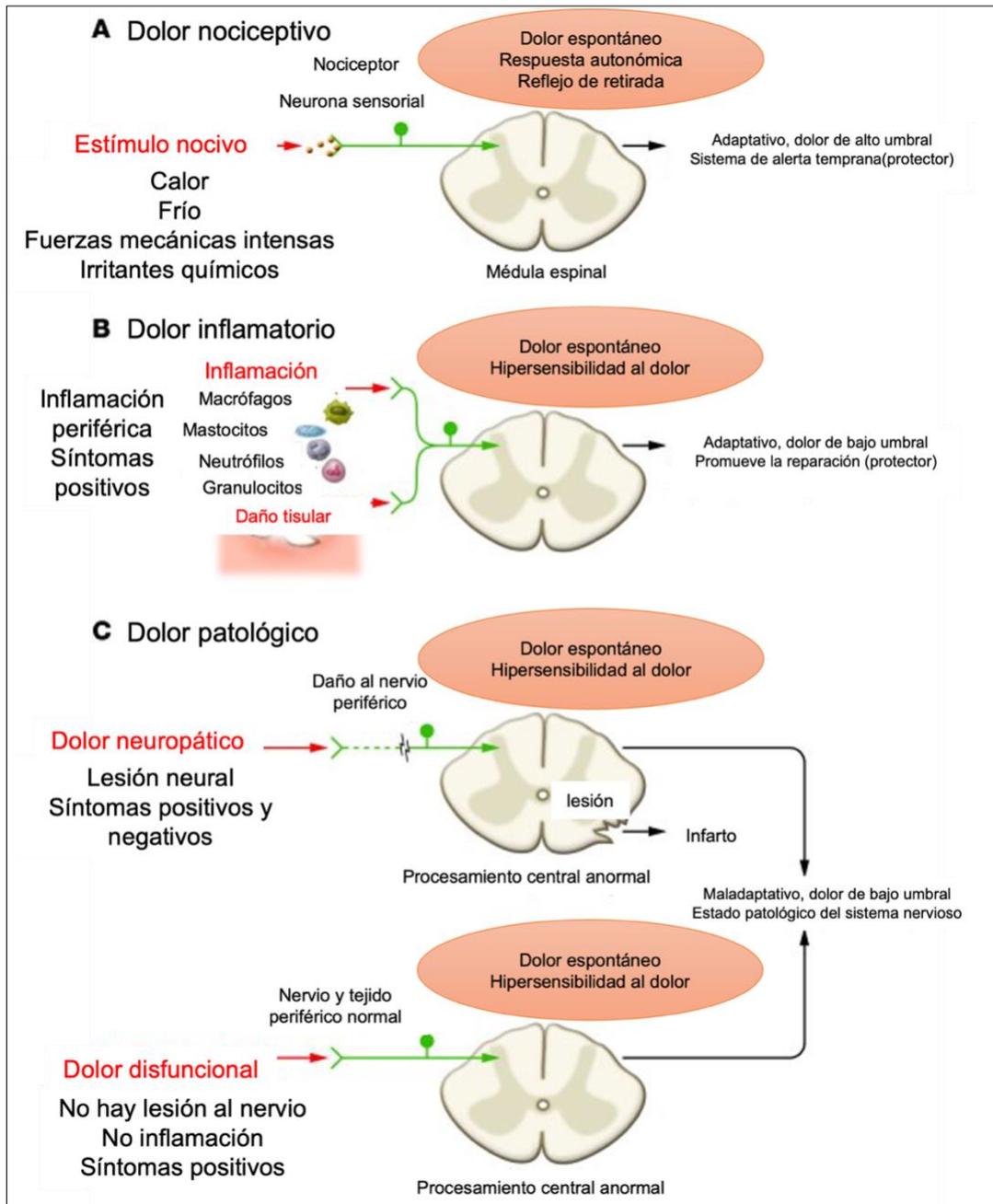


Figura 8. Clasificación del dolor. A) Dolor nociceptivo. B) Dolor inflamatorio. C) Dolor patológico, con subdivisión en dolor neuropático y disfuncional (Modificado de Woolf, 2010).

Nociceptivo

Este tipo de dolor detecta estímulos nocivos intensos de calor, frío, mecánicos y químicos. Evita un daño potencial tisular y con ello la pérdida de la función. Tiene un papel protector, generando un dolor espontáneo, seguido de una reacción inmediata que produce el reflejo de retirada. El dolor produce desagrado que evita daños futuros y preserva la vida. La falta de este tipo de dolor como sucede en mutaciones de los genes que codifican el canal de sodio dependiente de voltaje Na_v 1.7, mutaciones en el canal del receptor neurotrófico de tirosina quinasa (RTKs) y NGF, mencionados en la sección de transducción del dolor, resulta en autolesiones, amputaciones, fracturas y deformidades óseas, recalcando el papel intercesor del dolor nociceptivo (Woolf, 2010).

Inflamatorio

Producido por la activación del sistema inmunitario, debido a una lesión o infección tisular. Uno de los síntomas cardinales de la inflamación es el dolor, el cual es adaptativo y de bajo umbral aumentando la sensibilidad, proceso conocido como hiperalgesia. Un ejemplo de lo anterior puede ser la presión al tacto ligero de la articulación que genera dolor y la sensación de dolor ante algo inocuo como es el rango normal de movimiento, alodinia. Ejemplos de este tipo de dolor son los distintos tipos de artritis o lesiones graves o extensas (Woolf, 2010).

Patológico

Este tipo de dolor resulta del funcionamiento anormal del sistema nervioso, se considera desadaptativo y no protector. Se puede producir después de un daño directo al sistema nervioso (dolor neuropático) o en ausencia de daño o inflamación (dolor disfuncional). Este tipo de dolor es consecuencia de señales sensoriales amplificadas (Woolf, 2010).

Neuropático

Existe una lesión neural, provocando un estado patológico de dolor maladaptativo y de bajo umbral. Se caracteriza por hiperalgesia y alodinia. Ejemplos de este tipo de dolor lo podemos encontrar en pacientes con lesiones en el sistema nervioso periférico como el caso de la neuropatía diabética, neuralgia postherpética,

radiculopatías, o al sistema nervioso central en pacientes con esclerosis múltiple o lesión de la médula espinal (Woolf, 2010).

Disfuncional

No existe evidencia de un daño directo al sistema nervioso o inflamación. Se vincula a un procesamiento central anormal. Con características similares al dolor neuropático de dolor espontáneo e hipersensibilidad. El prototipo clásico de este tipo de dolor es la fibromialgia, aunque existen condiciones relacionadas como el síndrome del intestino irritable y cefaleas tensionales (Woolf, 2010).

1.2 Dolor artrítico

Los componentes léxicos de la palabra artritis provienen del griego “arthron” que significa articulación o coyuntura y el sufijo itis que denota inflamación. El compuesto de dichos elementos se define como inflamación de la articulación (RAE, 2023). Este tipo de enfermedad siempre está relacionado con el síntoma cardinal de estudio, dolor. El dolor relacionado a la inflamación de la articulación no proviene solo de una enfermedad. El dolor tipo artrítico se caracteriza primordialmente por hiperalgesia y alodinia. Es decir, una respuesta exagerada en la percepción de un estímulo nocivo como puede ser el tacto a la articulación y la sensación de dolor ante algo inocuo como es el rango normal de movimiento articular (Schaible et al., 2002). Se conoce que los mecanismos de sensibilización son la génesis del dolor artrítico (Schaible et al., 2002). Comprender los mecanismos multifactoriales que subyacen al dolor en la osteoartritis (OA) y artritis gotosa (AG), proporciona información valiosa para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. El tipo de artritis más común a nivel mundial es la OA, que está asociado a un daño al cartílago articular (Neogi et al., 2016). La artritis inflamatoria con mayor prevalencia en el mundo es la artritis gotosa (Ragab et al., 2017). El síntoma cardinal de ambos tipos de artritis es el dolor. El uso adecuado de fármacos o sus combinaciones podrían generar tratamientos más eficaces y seguros para el dolor de la OA y AG.

1.2.1 Epidemiología del dolor artrítico

A nivel mundial el dolor es un problema con carga social, económica y clínica (Henschke et al., 2015). Realizar una adecuada semiología lleva a la conjetura de muchos diagnósticos y es empleado como indicador pronóstico (Scholten-Peeters et al., 2003). Específicamente abordaremos estos temas referentes a un dolor tipo artrítico.

Cual sea la causa de la inflamación articular siempre va a generar consigo limitaciones en la actividad, esto a su vez repercute en la calidad de vida y genera un costo muy alto para los sistemas de salud, ya que es la primera causa de discapacidad laboral (Barbour et al., 2017). En el año 2013 los costos nacionales en Estados Unidos por artritis ascendieron a los \$304 mil millones en total, de los cuales \$140 mil millones eran atribuibles a costos médicos y el otro tanto \$164 mil millones a los salarios perdidos (Barbour et al., 2017).

El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) estima que para el 2030, aumente el diagnóstico médico de artritis. El riesgo de padecer algún tipo de artritis se incrementa con la edad y es más frecuente en mujeres que en hombres (Barbour et al., 2017).

Se conoce poca información de la prevalencia de enfermedades reumáticas en México; un estudio en el 2011 señaló una prevalencia de dolor músculo esquelético del 25.5% y encontraron en distintas regiones de México la siguiente distribución: 10.5% osteoartritis, 5.8% lumbalgia, 3.8% síndrome de dolor regional reumático, 1.6% artritis reumatoide, 0.7% fibromialgia y 0.3% artritis gotosa (Peláez-Ballesteros et al., 2011).

Comenzando con la forma más común de artritis, la osteoartritis en 2017 afectó a más de 303 millones de pacientes alrededor del mundo, siendo las articulaciones más afectadas las de rodilla, manos y cadera (James et al., 2018). La artritis inflamatoria más común es la gota, con una carga mundial del 1 al 4% y a diferencia de otros tipos de estudio, es más común en hombres que en mujeres (Almutairi, 2021).

1.2.2 Mecanismos fisiopatológicos de la osteoartritis

En la OA, el dolor esta ocasionado por un daño al cartílago articular, si bien es cierto en esta estructura no se encuentran nervios ni vasos sanguíneos, el dolor puede generarse por estructuras contiguas al cartílago (Salaffi et al., 2014).

Los tejidos adyacentes en la articulación como lo son la membrana y liquido sinovial, ligamentos, almohadilla grasa infrapatelar (AGI), cápsula articular y el tejido subcondral, cuentan con fibras aferentes primarias y simpáticas, por lo que están implicados en la génesis del dolor nociceptivo (Salaffi et al., 2014). Cuando existe inflamación de la capa de tejido conjuntivo que reviste las estructuras articulares (sinovitis) o, también llamada membrana sinovial genera dolor característico de la OA (Y. Zhang et al., 2011). Los osteoclastos también juegan un papel importante en el dolor de esta patología, estas células en condiciones fisiológicas se encargan de la reabsorción y remodelación ósea. Se ha observado que la remodelación aberrante del tejido subcondral conlleva a una degeneración progresiva del cartílago articular, a través de la actividad excesiva del factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β 1) (Zhu et al., 2019). El anticuerpo 1D11, dirigido a TGF- β 1, ha demostrado que disminuye la progresión de la OA en administración sistémica o local (Xie et al., 2016). El uso de bifosfonatos ha resultado beneficioso para el tratamiento de la OA ya que reduce la intensidad del dolor evaluado con una escala numérica en los primeros 3 años de uso (Laslett et al., 2014). El mecanismo de acción de los bifosfonatos como el ácido zoledrónico, actúan inhibiendo a los osteoclastos. Estos fármacos presentan considerables efectos adversos como osteonecrosis (Zhu et al., 2019). Estos hallazgos han demostrado que después de la inducción de OA, se incrementa la proporción de neuronas CGRP que inervan al tejido subcondral (Aso et al., 2016). Las almohadillas de tejido adiposo en la rodilla (grasa de hoffa) con ubicación infrapatelar anormal, las anomalías en el cartílago y hueso subcondral, la proliferación excesiva de osteofitos en la articulación y la hipertensión intraósea se han asociado con el síntoma cardinal en la OA (Belluzzi et al., 2019). La inflamación de la membrana sinovial y ahora hallazgos recientes demuestran la participación de la AGI en respuesta al daño para la generación de dolor en OA (Belluzzi et al., 2019).

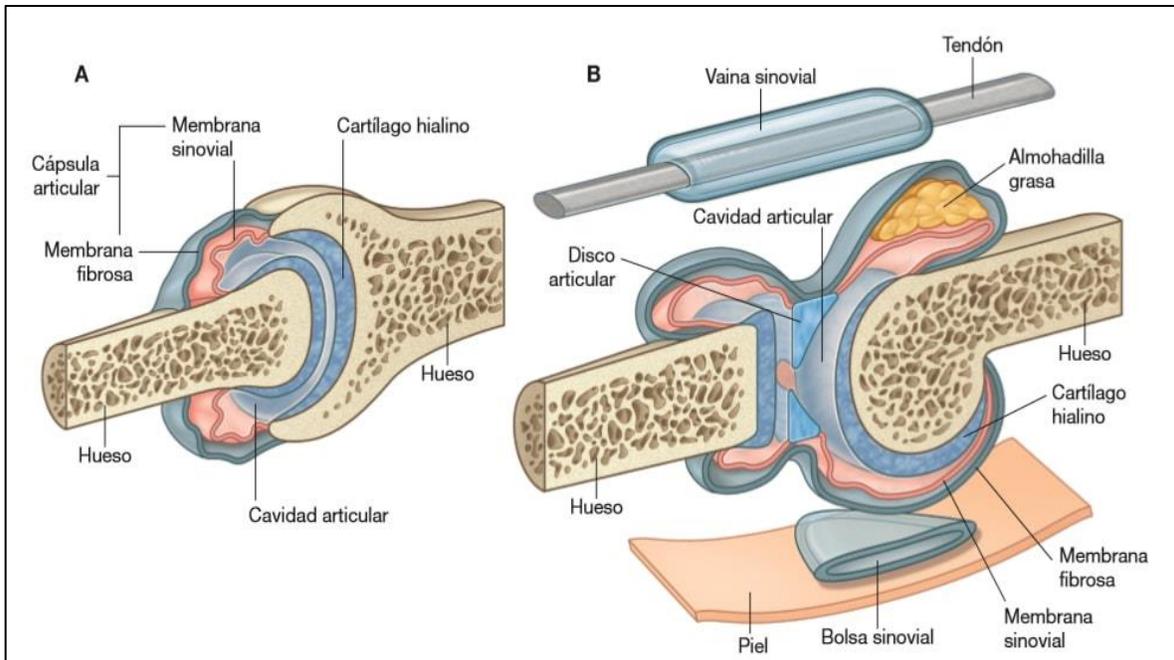


Figura 9. Estructuras articulares involucradas en la génesis del dolor en la osteoartritis (OA). Los tejidos adyacentes en la articulación como lo son la membrana y líquido sinovial, ligamentos, almohadilla grasa, cápsula articular y el tejido subcondral, cuentan con fibras aferentes primarias y simpáticas, por lo que están implicados en la génesis del dolor nociceptivo de la OA. (Tomado de Apuntes de Anatomía. Tipos de Articulaciones: Sinoviales y Sólidas, n.d.).

Un estímulo dañino (mecánico, térmico o químico) directo en las estructuras articulares desencadena un impulso eléctrico, gracias a la variedad de canales de transducción. De relevancia para el dolor se encuentran los receptores de potencial transitorio (TRP, TRPV1, TRPM3, TRPA 1) y canales de sodio dependientes de voltaje (Nav1.7 y Nav 1.8). Estos canales se encuentran expresados en las terminales periféricas de los nociceptores (Bamps et al., 2021). En la OA la inflamación sinovial podría desencadenar mecanismos de sensibilización periférica y central (Neogi et al., 2016). El tejido sinovial sano y la AGI poseen nervios perivasculares con SP y CGRP, así como inervación simpática con tirosina hidrolasa (Mapp & Walsh, 2012). Las moléculas que subyacen al dolor en la OA son de tres tipos: neuropéptidos y hormonas peptídicas, factores de crecimiento y citocinas. Dos neuropéptidos relevantes para la génesis de este tipo de dolor son la SP y CGRP presentes en los nociceptores. La SP estimula la producción de interleucinas o citoquinas inflamatorias, de células inmunitarias (células T o macrófagos), las interleucinas secretas por estos tipos celulares son: IL-1 β , IL-6 e IL-8. La SP tiene

un rol importante en el mecanismo fisiopatológico de la OA ya que induce inflamación local, activa células inmunitarias (mastocitos, monocitos o linfocitos) e induce así una inflamación neurogénica (Stanisz, 2001). La SP, está involucrada en la contracción del músculo liso, aumento de la permeabilidad capilar y atracción al sitio de lesión de neutrófilos y macrófagos (Stanisz, 2001). Las células sinoviales estimuladas con SP producen colagenasa y PGE2. En estudios in vitro la exposición con SP induce hipertrofia y proliferación aberrante de la membrana sinovial en el espacio articular (Matayoshi et al., 2005). El CGRP, es otro neuropéptido involucrado en el dolor y progresión del daño en la OA (Dong et al., 2015). Se ha identificado expresión de CGRP en el líquido sinovial y en la almohadilla grasa infrapatelar, teniendo un papel importante en el desarrollo de sinovitis (Cruwys et al., 1992). Existe una correlación directa de CGRP y COX2 en muestras tomadas de rodillas en pacientes con OA, lo que abre paso a investigar como la vía de la enzima COX2 participa en la regulación y expresión de este neuropéptido en las estructuras involucradas en la progresión y dolor de la OA. La AGI, es productora de una triada de citocinas relacionadas con la inflamación; TNF- α , IL-6 e IL-8. A su vez las TNF- α , IL-1 β y PGE2 regulan la expresión de CGRP, en células del tejido sinovial, inmunitarias, epiteliales y neurales (Aikawa et al., 2017).

Se ha dilucidado que el factor de crecimiento nervioso (NGF), es también una citocina inflamatoria y esta mediado por citocinas como TNF y producido por macrófagos, mastocitos, sinoviocitos y neutrófilos en la articulación (Ohashi et al., 2021). Este factor actúa acoplándose a su receptor de alta afinidad TrkA, la asociación entre el ligando y el receptor (NGF/TrkA) induce la liberación de citocinas inflamatorias y activación de canales TRPV1 y Nav 1.8 lo que contribuye la transmisión del dolor a través del GRD y vías centrales (Ohashi et al., 2021).

El dolor se transmite a lo largo de los GRD, donde se aloja el cuerpo celular de las neuronas sensoriales y la asta dorsal de la médula espinal, en esta estructura (GRD) comienza el alza de expresión de la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1) o también llamado CCL2, NLRP3 y Wnt/ β -catenina. La CCL2, se produce por muchas células activadas como los macrófagos, fibroblastos, linfocitos, células endoteliales y funciona como quimioatrayente de monocitos, macrófagos, células

dendríticas y linfocitos T en el sitio de inflamación como sucede en la OA. Un estudio experimental demostró que la inyección intraarticular de CCL2, aumentó la hiperalgesia de la rodilla en ratones, mientras el antagonista de CCL2 disminuyó la respuesta hiperalgésica inducida (Ishihara et al., 2021). El inflamasoma NLRP3, es un receptor del sistema inmune innato y se encuentra involucrado en el alza de citocinas inflamatorias como IL-1 β y TNF- α y enzimas que degradan el cartílago y evocan una inflamación sinovial, como lo son MMP13 y Adamt5 (Yu et al., 2021). Otra vía involucrada en la progresión de la OA es la señalización de Wnt/ β -catenina, necesaria para la homeostasis del hueso en adultos y la formación de articulaciones embrionarias (Yuasa et al., 2008). Un alza aberrante en la sobreexpresión de β -catenina en los condrocitos induce la expresión de enzimas que degradan los proteoglicanos de la matriz cartilaginosa y forman osteofitos (Yuasa et al., 2008). En modelos animales, un antagonista de β -catenina (XAV-939) revirtió el comportamiento antinociceptivo asociado a dolor crónico (Kim et al., 2021). Los mecanismos de sensibilización central se desarrollan a partir de hiperexcitabilidad de las neuronas de la médula espinal, las vías ascendentes y descendentes del dolor (Bjurström et al., 2022). Los neurotransmisores claves que se encuentran en esta área son: glutamato, el CGRP y SP (antes descritos). La sensibilización central está involucrada, en el desarrollo, amplificación y mantenimiento del dolor crónico característico de la OA (Schaible, 2008). El control descendente del dolor está presente durante la fase aguda de la inflamación. En la OA existen mecanismos crónicos de inflamación que conllevan a una desregulación de la inhibición descendente, ocasionando que esta patología sea progresiva y tenga un peor pronóstico y deterioro con el tiempo (Arendt-Nielsen et al., 2010). Un incremento en la sensibilización central se relaciona con mecanismos de alodinia e hiperalgesia, relacionados con el dolor neuropático, por lo que se ha propuesto que el dolor de la OA no solo sea un dolor nociceptivo ocasionado por tejido lesionado o inflamado si no mediado por mecanismos neuropáticos (Hochman et al., 2010).

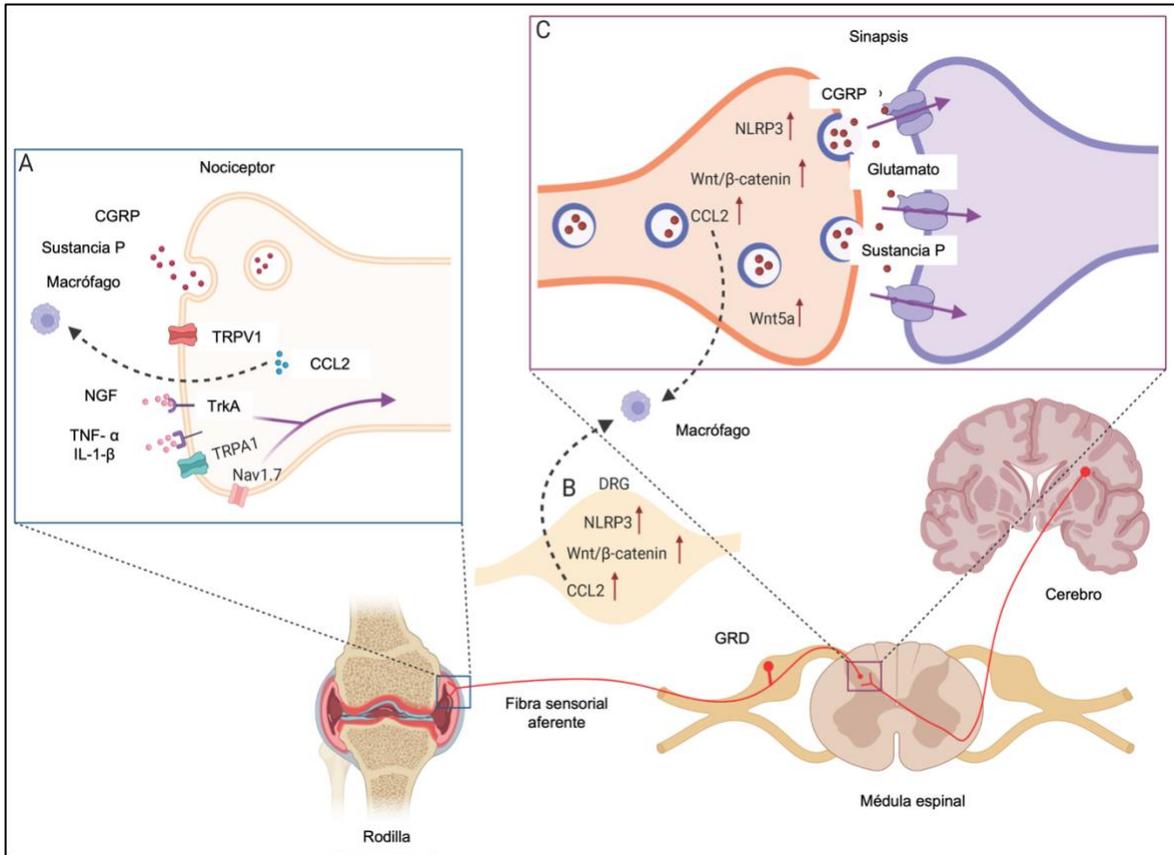


Figura 10. Mecanismos de transmisión y transducción de señales en el dolor por osteoartritis (OA). **A)** Sensibilización periférica, los nociceptores detectan un estímulo dañino, los canales en las fibras nociceptores (TRPV1, TRPA1 y NAV 1.7.) convierten el estímulo en actividad eléctrica, lo que desencadena un potencial de acción axoaxónico reflejos axoaxónicos que envían bidireccionalmente una señal drómicamente a la médula espinal o tronco encefálico y antidrómica hacia la periferia. NGF, IL-1 β y TNF- α , se unen a sus receptores para contribuir a juntos con los canales de los nociceptores a la transmisión de la señal a través de la fibra sensorial aferente. CCL2 comienza a expresarse para el reclutamiento de macrófagos. **B)** En el GRD se alojan los cuerpos celulares de los nociceptores, aquí participan al alza NLRP3, Wnt/ β -catenina y CCL2, moléculas involucradas en la génesis del dolor crónico característico de la OA. **C)** El axón central se dirige a las láminas de la médula espinal donde hace sinapsis y libera neuropéptidos (SP y CGRP) y neurotransmisores como el glutamato para excitar a la neurona de segundo orden nociceptiva. En la neurona presináptica, existe una expresión positiva de NLRP3, Wnt/ β -catenina y CCL2 (Modificado de Yu et al., 2022).

1.2.3 Mecanismos fisiopatológicos de la artritis gotosa

La forma ionizada de ácido úrico es el urato. La artritis gotosa, se origina por el cúmulo excesivo de urato en los tejidos, principalmente articulaciones. El depósito

de cristales de urato monosódico (CUM) ocurre cuando los niveles de ácido úrico se incrementan por arriba de lo normal (Ragab et al., 2017). Factores predisponentes de formación de cristales son: el pH, concentración de electrolitos, los componentes articulares en el líquido sinovial, la temperatura, la solubilidad de uratos (Chhana et al., 2015).

La deposición de CUM desencadena que las células inmunitarias, en especial los macrófagos, inicien la cascada inflamatoria al fagocitar los cristales. Esto a su vez ocasiona la liberación de citocinas como leucotrienos, IL-8, que inducen el reclutamiento de neutrófilos en el sitio de lesión y el proceso de artritis se exacerbe (Schiltz et al., 2002).

El aumento de cristales de CUM en el tejido sinovial, provoca la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (NOS) en los sinoviocitos, lo que conlleva a muerte celular (Zamudio-Cuevas et al., 2016). Los cristales pueden estimular la citotoxicidad directa en los tejidos y desarrollar inflamación de la membrana sinovial, y desarrollar necrosis celular (Mulay et al., 2016). La proteína que interactúa con el receptor quinasa 3 (RIPK3) y la pseudoquinasa similar al dominio quinasa de linaje mixto (MLKL), forman el complejo de necrosoma, que culmina con la alteración de las membranas plasmáticas y mitocondrial e induce la muerte celular (Mulay et al., 2016). El proceso anterior desencadena la liberación de patrones moleculares asociados al daño (DAMPs), incrementando la respuesta inmunitaria, con la atracción de neutrófilos y macrófago en el tejido sinovial (Mulay et al., 2016). Los DAMPs activan a los receptores de reconocimiento de patrones ubicados sobre la superficie o en citosol de los fagocitos mononucleares, lo que exacerba la inflamación local (Lamprecht et al., 2008). El concentrado de neutrófilos y monocitos, y la liberación de IL-1 por estas células ocasiona la liberación de más citocinas y quimiocinas (IL-8, IL-6 y CXCL8), ocasionando un bucle de autoinflamación con aumento de selectinas e integrinas en la superficie de células endoteliales, con aumento de permeabilidad capilar. Los cristales de CUM activan a los neutrófilos e inducen la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (Nets).

No se ha dilucidado el mecanismo exacto por lo que los macrófagos fagocitan CUM, se ha propuesto que al ser CUM higroscópico, es decir que tiene la capacidad de absorber agua y unir proteínas a su superficie, se incluya el acople de IgG y proteínas del complemento, que interactúan con receptores de los leucocitos para promover su reclutamiento y fagocitosis (Ortiz-Bravo et al., 1993). Se ha identificado que los CUM interactúan directamente con el antígeno CD14 que se encuentran en la membrana superficial de leucocitos y participa a partir de receptores tipo toll (TLR2 y TLR4) para activar a células inmunitarias (Scott et al., 2006).

Otra vía descrita en la interacción de los CUM y el inicio de la cascada inflamatoria es a partir de NALP3. El inflamasoma NALP3, está compuesto de un complejo proteico, donde la proteína ASC (adaptadora) induce la activación de la caspasa 1, o proteinasa 3 (PR3), ubicada en el citoplasma de los neutrófilos. PR3 escinde pro-IL-1 β , para producir IL-1 β activa (pirógeno endógeno), este último producto se libera al medio extracelular para la generación de autoinflamación con reclutamiento exacerbado de leucocitos, aumento de la permeabilidad capilar y producción de más citocinas inflamatorias, como IL-1 (Martinon et al., 2006).

En investigaciones preclínicas la ausencia del NALP3, Caspasa 1, ASC en macrófagos, se asoció con una producción deficiente de IL-1 β , inducida por cristales (Martinon et al., 2006). Lo que subyace a que uno de los mecanismos fisiopatológicos de esta entidad sea el inflamasoma. Otros factores contribuyen a la producción del pirógeno endógeno (IL-1 β) a partir de la interacción con CUM, son los ácidos grasos libres, que activan a los receptores TLR2 e incrementa la expresión de IL-1 β (Joosten et al., 2010). Se ha demostrado que la administración de ácido úrico intraarticular genera mayor expresión de ciclooxigenasa-2 (COX2), que induce la producción de prostanoïdes, que contribuye al proceso inflamatorio y posiblemente un incremento de producción de IL-1 β (Ventura et al., 2010).

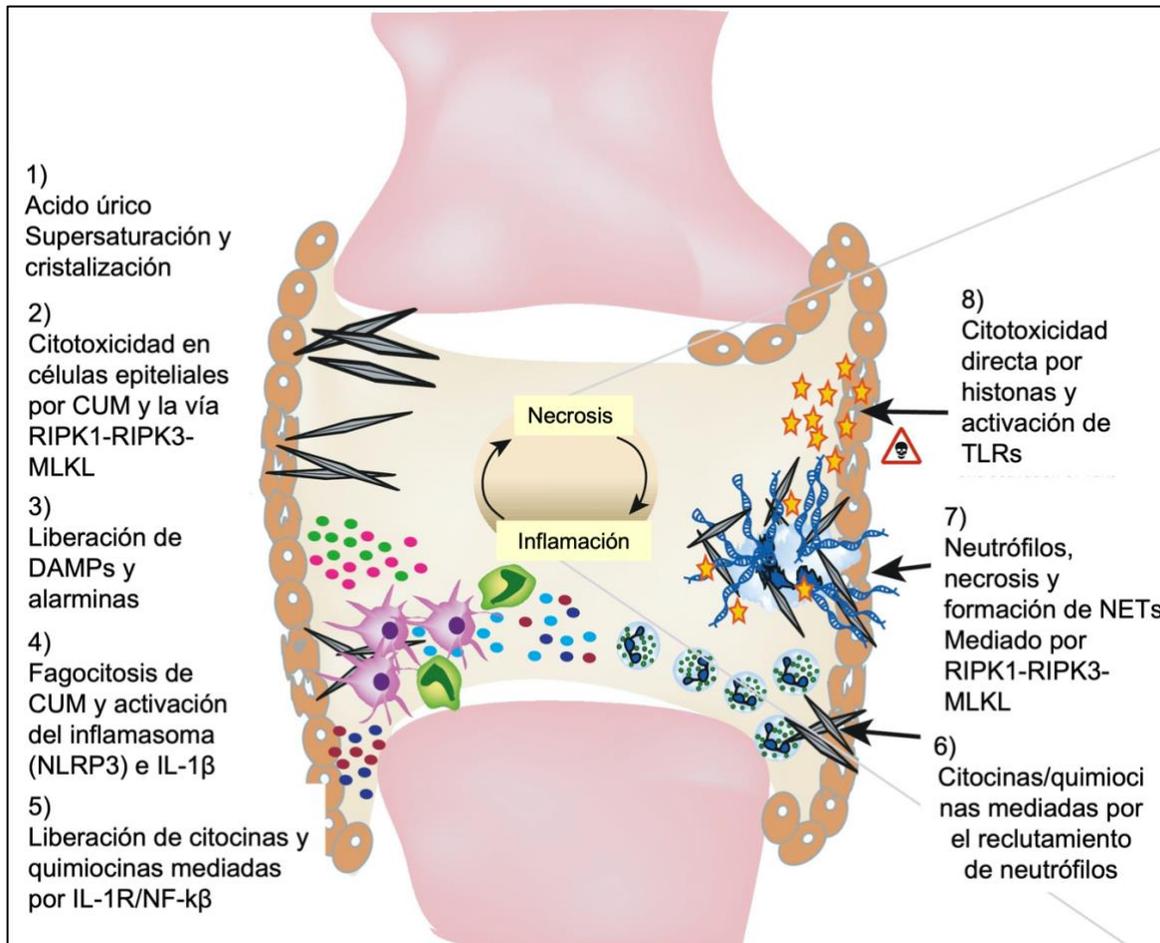


Figura 11. Mecanismos moleculares que subyacen en la artritis gotosa. 1 y 2. La deposición de cristales ocasiona directa o indirectamente efectos citotóxicos en células epiteliales a través de la vía RIPK1-RIPK3-MLKL. **3.** Se produce la liberación de patrones moleculares asociados al daño (DAMP). **4.** La fagocitosis de cristales de urato monosódico induce la activación del complejo Inflamasoma (NLRP3 e IL-1 β). **5 y 6.** Se desencadena la liberación de citocinas y quimiocinas mediadas por IL-1R/NF-k β . **7 y 8.** Se induce el reclutamiento de neutrófilos, los cuales entran en contacto con CUM y sufren necroptosis y formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) mediados por la vía RIPK1-RIPK3-MLKL. **9.** Liberación de mediadores inflamatorios como proteasas e histonas citotóxicas, provenientes de los neutrófilos necróticos y NETs. Todos estos procesos suceden simultáneamente y ocasionan un aumento en la amplificación de la necroinflamación en la artritis gotosa (Modificado de Desai et al., 2017).

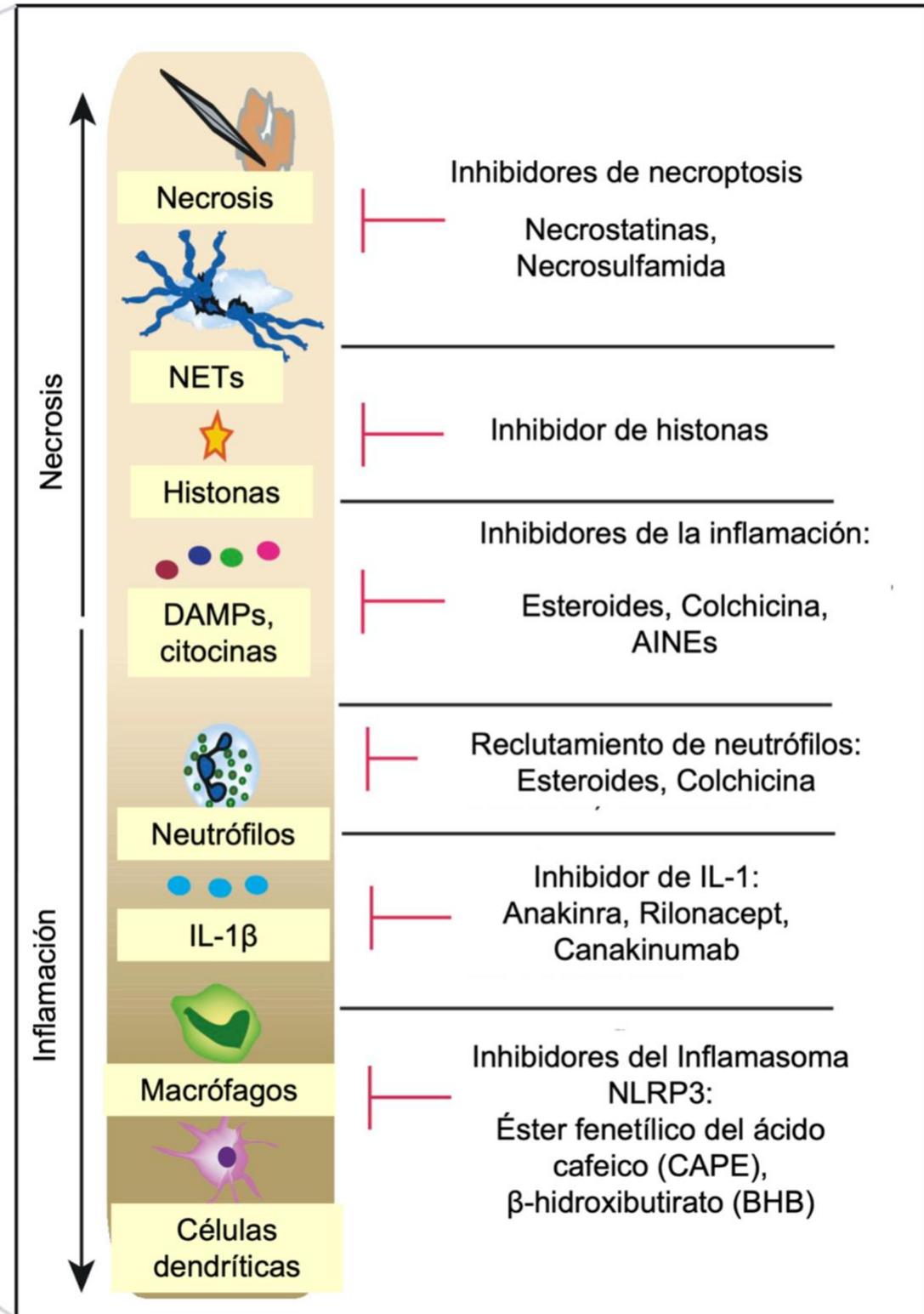


Figura 12. Blancos terapéuticos en la necroinflamación por gota. Los tratamientos se basan en la regulación o inhibición de las vías involucradas en la necroinflamación iniciada por deposición de cristales de urato monosódico (Modificado de Desai et al., 2017).

1.3.3 Modelos animales para la investigación del dolor en la OA y AG.

La importancia de los modelos preclínicos en estas entidades de inflamación articular, es proveer información de la fisiopatología, los mecanismos que subyacen al dolor y la búsqueda de tratamientos modificadores, que atenúen la progresión de OA y AG. Reproducir de forma controlada el progreso de daño articular, puede identificar estrategias terapéuticas nuevas y seguras para modular el síntoma cardinal de esta enfermedad (Teeple et al., 2013).

Los modelos animales de OA pueden dividirse en tres categorías: los animales genéticamente modificados que presentan degeneración articular, la inducción por medio de cirugía o trauma, y la inyección intraarticular de sustancias con propiedades condrotóxicas o proinflamatorias (Teeple et al., 2013).

La inducción por medio de cirugía representa una OA postraumática, se logra con modelos que engloban meniscectomía, transección del ligamento cruzado anterior y osteotomía. Un modelo que ejemplifica esta categoría es el “desgarro de menisco medial en rata”, en este modelo se secciona el ligamento colateral medial justo por debajo de la unión al menisco, este se contrae hacia el fémur y se corta en su punto más estrecho (Bendele, 2001). Este modelo busca investigar la participación de los tratamientos de la condroprotección. Otro modelo por inducción de trauma es la sección del ligamento cruzado anterior después de realizar una incisión quirúrgica en la articulación, este procedimiento puede provocar que la almohadilla grasa infrapatelar inflame como sucede en la progresión de OA (Teeple et al., 2013).

El método de inyección intraarticular de sustancias con propiedades condrotóxicas o proinflamatorias, funcionan a partir de generar un daño directo en el tejido articular y propiciar inflamación. Se ha descrito un modelo en ratas con una inyección intraarticular de 200 µg de yodoacetato monosódico a través del ligamento infrapatelar de ambas rodillas para simular la progresión e inflamación de la OA (Barve et al., 2007).

Modelos animales de OA, inducidos por obesidad o movilización forzada. Un estudio observó la progresión de OA a partir de la inducción de obesidad, en dicho modelo se emplean ratones C57BL/6J hembras y se les añade una dieta de 10% o 45% de kcal de grasa desde la semana 9 hasta las 54 semana de edad. La dieta alta en

grasa genera obesidad dietética que se asocia a cambios musculoesqueléticos relacionados con los de la OA (Griffin et al., 2010).

Se han desarrollado modelos animales a partir de movilización forzada, con ejercicio de alta intensidad para acelerar la progresión de la OA. En este modelo primero se realiza una transección del ligamento cruzado anterior para posteriormente ser sometidos a diferentes intensidades de ejercicio (ligero, moderado e intenso). Se observó que el ejercicio intenso que se realiza en entrenamientos de carrera una vez al día, 5 días a la semana durante 2 o 4 semanas con ayuda de una cinta rodante (velocidad promedio de 30 cm/s por 60 min), generó mayores lesiones histológicas observadas, relacionadas con la progresión de OA (Galois et al., 2004). Los modelos animales de artritis gotosa (AG) incluyen la inyección de cristales de urato monosódico (30 mg/ml) por vía intraarticular en el tobillo derecho. Las variables medidas en este estudio son la relación de hinchazón, los niveles séricos de IL-1 β , TNF- α y proteína quimioatrayente de monocitos. Se realizan estudios patológicos a partir de cortes histopatológicos de cápsulas articulares y articulaciones del tobillo (Li et al., 2019).

Para la medición de los efectos antinociceptivo en el modelo de disfunción inducida por dolor en ratas (PIFIR) se administra una inyección de 0.05ml de ácido úrico en la articulación fémoro-tibio-rotuliana de la extremidad derecha utilizando una jeringa de vidrio de 1 ml con una aguja calibre 24 de 5 mm. La suspensión se prepara homogenizando en un mortero de vidrio 3 g de ácido úrico con su vehículo (10 ml de aceite mineral) (López-Muñoz et al., 1993).

1.4 Escalera analgésica de la OMS

En 1986 la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció las primeras recomendaciones para sistematizar el tratamiento del dolor en cáncer mediante la escalera analgésica. Este método se ha establecido en general para uso en caso de dolor. Cada uno de los escalones va dirigido al uso de analgésicos de acuerdo con la intensidad del dolor y los diferentes espectros de este (Anekar & Cascella, 2022).

Estructura de los tres escalones con algunos ejemplos (Anekar & Cascella, 2022):

1. Dolor Leve: Analgésicos no esteroideos (AINES) +/- Coadyuvantes: Ibuprofeno, diclofenaco, paracetamol, ketorolaco.
2. Dolor Moderado: Opioides débiles +/- AINES +/- Coadyuvantes: Tramadol, buprenorfina.
3. Dolor Severo: Opioides fuertes +/- AINES +/- Coadyuvantes: Morfina, oxycodona, metadona.

		Dolor severo Eva 7-10
	Dolor moderado Eva 5-6	Tercer escalón
Dolor leve Eva 1-4	Segundo escalón	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Opioides débiles y/o ➤ Opioides fuertes y/o ➤ Paracetamol y/o ➤ Aines y/o ➤ Coadyuvantyes
Primer escalón	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Analgésicos no opioides ➤ Paracetamol y/o ➤ Aines y/o ➤ Coadyuvantes 	
	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Opioides débiles y/o ➤ Paracetamol y/o ➤ Aines y/o ➤ Coadyuvantes 	

FIGURA 13. Escalera analgésica de la OMS. *EVA: Escala visual análoga (modificado de Fernández et al., 2014).

1.4.1 Opioides

Los opioides representan el espectro de sustancias endógenas y exógenas que presentan afinidad por los tres subtipos de receptores mu (μ), delta (δ), kappa (κ) (Jamison & Mao, 2015). Posteriormente se identificó un cuarto receptor opioide, el cual no se unía con alta especificidad a ligandos opioides, pero si un péptido endógeno que tenía capacidad de unirse a este receptor, denominado nociceptina/orfanina FQ (Mollereau et al., 1994). Los receptores opioides se encuentran expresados en neuronas centrales, que modulan la vía descendente de dolor; incluido el locus coeruleus y PAG. También se encuentran en la médula espinal y, en la periferia por ejemplo articulaciones, en la glándula pituitaria y suprarrenal, en células inmunitarias y en capas germinales del embrión específicamente en ectodermo (Stein & Machelska, 2011).

Los opioides son la primera línea del tratamiento del dolor en pacientes traumatizados en estado crítico y en dolor intenso (Karamchandani et al., 2019).

Los opioides exógenos se clasifican según su origen (naturales, semisintéticos y sintéticos) también varían en su composición química y en la afinidad o eficacia sobre los receptores opioides. Los opioides exógenos se pueden comportar como agonistas, agonistas parciales, agonistas-antagonistas mixtos o antagonistas puros. Este fenómeno se conoce como dualismo farmacológico y consiste en que varios fármacos opioides pueden actuar en distintos receptores opioides (μ, κ, δ); como agonista, agonistas parciales o antagonistas, ocasionando una interacción distinta (Li et al., 2023).

Según la afinidad-eficacia pueden dividirse en:

- Agonistas puros: poseen afinidad por los receptores (principalmente μ) con actividad intrínseca. Ejemplos: morfina, heroína, petidina, metadona, fentanilo (Gallantine & Meert, 2005).
- Agonistas-antagonistas mixtos: Actúan sobre algunos receptores (κ) como agonistas y en otros receptores (μ) como agonistas parciales o antagonistas. Ejemplos: Pentazocina, butorfanol o la nalorfina (Hoskin & Hanks, 1991).

- Agonistas parciales: Tienen una eficacia menor que los agonistas puros, pueden ser analgésicos cuando se administran solo, pero contrarrestan o antagonizan los efectos del agonista puro cuando se dan en combinación. Ejemplo: buprenorfina (van Niel et al., 2016).
- Antagonistas puros: poseen afinidad por los receptores, pero no presentan actividad intrínseca, es decir carecen de efectos, pero impiden o revierten la acción del agonista. Ejemplos: naloxona (Sawynok et al., 1979).

Un efecto no deseable de los opioides es la tolerancia farmacológica, que se define como la disminución o acortamiento en la duración de los efectos analgésicos, tras la exposición prolongada al fármaco. La tolerancia en los opioides esta mediada entre otros, por mecanismos de contraregulación, donde existe un incremento progresivo de AMPc. Se necesita incrementar la dosis para mantener la disminución de este segundo mensajero (AMPc). El fenómeno de up-regulation o contraregulación del AMPc se ha demostrado en diversas estructuras involucradas en la modulación del dolor: locus coeruleus, núcleo accumbens, área tegmental ventral y PAG (Nestler, 2004). La vía involucrada en el fenómeno de “up regulation” es el factor de transcripción CREB, este factor aumenta la síntesis de un opioide endógeno; dinorfina, que activa los receptores Kappa en el área tegmental ventral y produce un decremento de liberación de dopamina en el núcleo accumbens (Nestler, 2004). Otra teoría que explica la tolerancia es la fosforilación de receptores opioides a través de la unión a β arrestina, donde se internaliza al receptor y disminuye el número de receptores de membrana (Nestler, 2004).

1.4.1.2 Clorhidrato de tramadol

El tramadol es un opioide sintético con mecanismo de acción dual, actúa como agonistas de los receptores μ principalmente, y con baja afinidad para los receptores κ . El otro mecanismo de acción no se debe a las propiedades opioides sino a la inhibición de la recaptura de serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT) y noradrenalina (NE) (Vazzana et al., 2015). El tramadol ostenta menor incidencia de efectos adversos que otros opioides exógenos como la morfina (Bonnet et al., 2010).

Dentro de las características farmacocinéticas del clorhidrato de tramadol se encuentra una absorción rápida y completa después de la administración por vía oral. La concentración máxima (C_{max}) plasmática se alcanza a las 2 horas, su biodisponibilidad es del 70% aproximadamente, después del metabolismo de primer paso hepático. Veinte por ciento del fármaco se une a proteínas plasmáticas como la albumina y su vida media es de 6 horas aproximadamente (Klotz, 2011). La metabolización en el hígado se logra a través de tres isoenzimas del citocromo P450; P4502D6, P4502B6 Y P4503A4. El resultado del metabolismo de primer paso son dos metabolitos: O-desmetiltramadol (M1) y N-desmetiltramadol (M2) (El-Sayed et al., 2013). El metabolito M1 es considerado el más activo, siendo 200 veces más afín para los receptores opioides que el fármaco original y 6 veces más potente (Vazzana et al., 2015). M1 y M2, se metabolizan a metabolitos secundarios; N, N-didesmetiltramadol, N, N, O-tridesmetiltramadol y N, O-desmetiltramadol. Finalmente, todos los metabolitos se conjugan a través de procesos de glucuronidación y sulfonación (Klotz, 2011)

El tramadol racémico, está compuesto de dos enantiómeros “d” y “l”. El enantiómero “d” con afinidad al receptor μ e inhibidor de la recaptura y liberación de 5-HT. El enantiómero “l” es un inhibidor de la recaptura de noradrenalina. Así, estos dos mecanismos actúan modulando los procesos inhibitorios del dolor (Scott & Perry, 2000).

Se han descrito vías de señalización del receptor opioide. Estos receptores se acoplan a proteínas transmembranales, proteínas Gi/Go. La unión del ligando al receptor opioide desencadena un gran número de fenómenos intracelulares mediados por el acople a Gi/Go y constituida por subunidades (Vazzana et al., 2015):

- La subunidad α inhibe la actividad del adenilato ciclasa, la cual se encarga de convertir el ATP en AMPc (segundo mensajero). La disminución del AMPc, regula la actividad de la proteína quinasa A (PKA), responsable de fosforilar proteínas (McKenzie & Milligan, 1990).

- La subunidad α ocasiona un aumento en la apertura de canales de K^+ , entre los que se destacan los de K^+ de rectificación interna activados por proteínas G (GIRK), ocasionando una hiperpolarización a nivel postsináptico.
- El complejo $\beta\gamma$ provoca la reducción de la apertura de canales de calcio (Ca^{2+}).
- El aumento de la expresión de la proteína quinasa activada por mitógeno, aumenta la expresión génica y activación de fosfolipasa A2.

Los mecanismos de acción no opioide de tramadol son mediados por propiedades noradrenérgicas. Receptores adrenérgicos α ubicados en el locus coeruleus, regulan el dolor y la ansiedad (Berrocoso et al., 2006). El sistema serotoninérgico también juega un papel relevante en el mecanismo de acción del tramadol ya que induce a cambios similares a los de antidepresivos convencionales. Esto incluye una disminución de receptores adrenérgicos α_2 frontocorticales, adrenoreceptores (α_1) y el subtipo de receptor de serotonina 5-HT_{2A} (Jesse et al., 2010)

Al tener mecanismos centrales también prevalecen los efectos adversos atribuibles a este fármaco. Por orden de frecuencia son: mareos, vómitos, náuseas, somnolencia y estreñimiento (Hsu et al., 2012). Otro efecto adverso más grave es debido a la inhibición de la recaptura de 5-HT y NE, esto puede ocasionar convulsiones y síndrome serotoninérgico, probablemente por interacción farmacológica con antidepresivos y antecedentes de epilepsia (Josi et al., 2012; Raiger et al., 2012). Se han observado casos de apnea por ingesta de tramadol, la cual no fue precedida de depresión respiratoria o convulsiones (Hassanian-Moghaddam et al., 2013). La depresión respiratoria ocasionado por tramadol es atribuible a interacciones farmacológicas con otros fármacos como benzodiazepinas, barbitúricos o antidepresivos tricíclicos (Hassanian-Moghaddam et al., 2013; Michael et al., 1999).

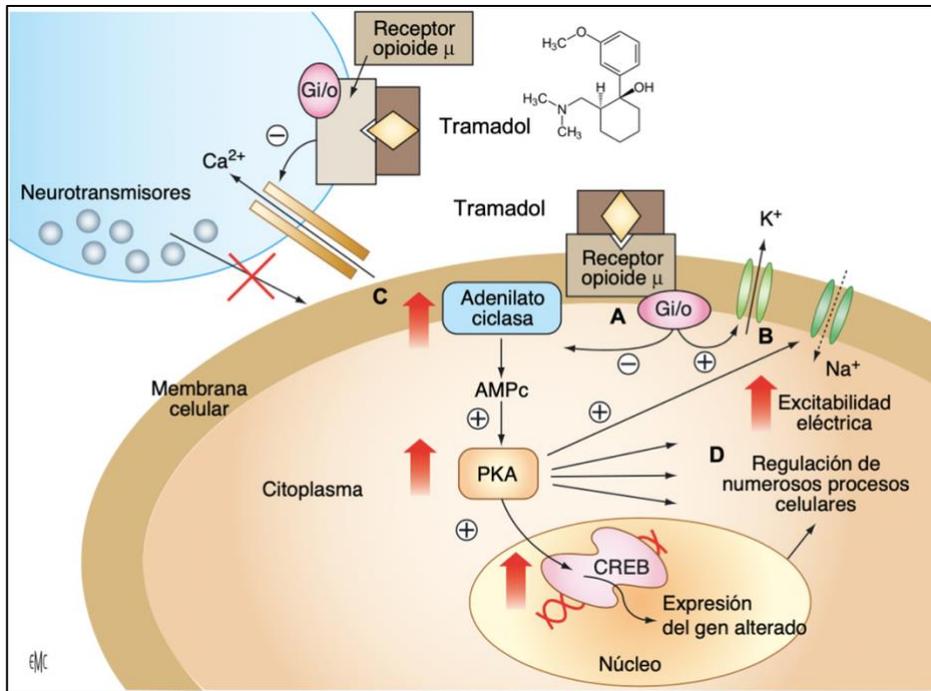


Figura 14. Señalización del receptor opioide. Transducción de señales a partir de fenómenos intracelulares mediados por acople a Gi/Go y constituida por sus subunidades. A) La subunidad α inhibe la actividad del adenilato ciclasa. B) Existe un aumento en la apertura de canales de K^+ . C) El complejo $\beta\gamma$ provoca la reducción de la apertura de canales de calcio. D) Aumento de la expresión de la proteína quinasa activada por mitógeno (Modificado de Fletcher, 2011)

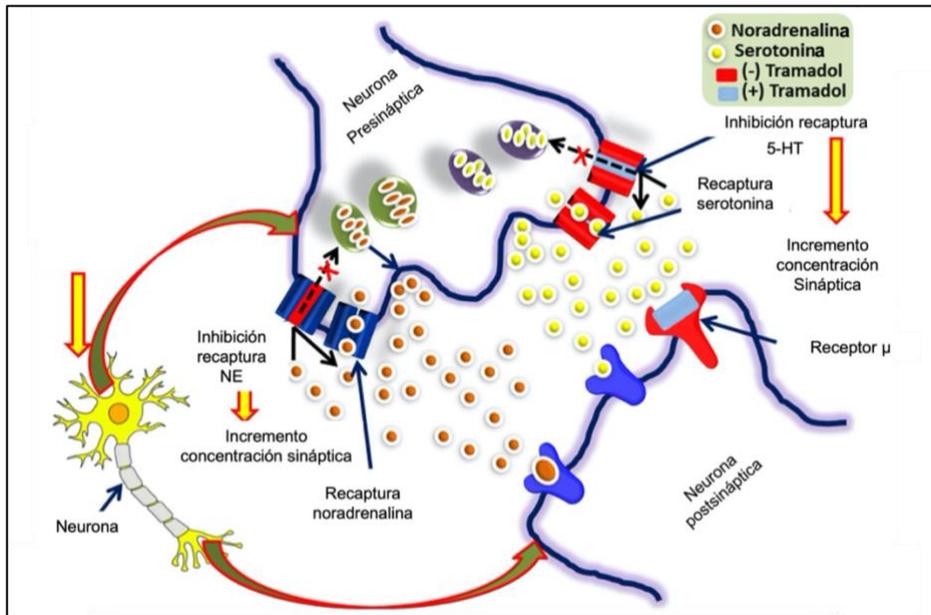


Figura 15. Mecanismo de acción no opioide del clorhidrato de tramadol. Mediado por la inhibición de neurotransmisores monoaminérgicos (5-HT y NE) (Modificado de Subedi et al., 2019)

1.4.2 Analgésicos no esteroideos (AINEs)

La mayor parte de los analgésicos no esteroideos actúan entre otros mecanismos, inhibiendo la enzima ciclooxigenasa (Cashman, 1996).

Los AINEs se pueden clasificar de acuerdo a su estructura química (Kowalski & Makowska, 2015):

- Derivados de ácido salicílico (salicilatos): sulfasalazina, ácido acetil salicílico, salicilato de sodio, diflunisal.
- Derivados de ácido acético (arilo-acéticos): diclofenaco, etodolaco, ketorolaco.
- Derivados de arilpropiónicos: ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno, dexketoprofeno.
- Derivados del ácido acético (Indolacéticos): indometacina, sulindaco.
- Derivados del ácido antranílico: diclofenaco, ácido mefenámico y ácido meclofenámico.
- Derivados del ácido enólicos: Meloxicam, piroxicam.

Existen dos isoformas de COX: 1 y 2, con una homología del 60%. Las enzimas COX difieren en su distribución y función, COX1 se produce en condiciones normales, es una enzima constitutiva involucrada en proceso de homeóstasis celular, como el flujo sanguíneo renal y la producción de moco gástrico. COX 2 es inducible posterior a una lesión tisular y por lo tanto juega un papel preponderante en el proceso inflamatorio, se expresa en una gran cantidad de células endoteliales, macrófagos, fibroblastos, sinoviocitos, mastocitos, condrocitos y osteoblastos (Sharif et al., 2000). La inhibición de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) es mediadora de gran parte de las acciones antipiréticas, analgésicas y antiinflamatorias de los AINES (Vane, 1971).

La clasificación de los AINEs según el tipo de interacción y selectividad depende de la potencia para inhibir COX1 o COX2, y se determina calculando IC_{50} (concentración de AINE que inhibe el 50% de la actividad de la enzima) en ensayos in vitro. El cociente de IC_{50} COX1/ IC_{50} COX2 determina el tipo de selectividad dependiendo el resultado (Warner et al., 1999).

La inhibición simultánea de la ciclooxigenasa-1 (COX-1) contribuye a los efectos secundarios indeseables en el tubo digestivo como lo son úlceras y erosiones gástricas (Sostres et al., 2010). Los inhibidores selectivos de la COX-2 (celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib) rompe el equilibrio entre los efectos antitrombóticos y pro-trombóticos incrementando la probabilidad de eventos tromboticos cardiovasculares (Chaiamnuay et al., 2006).

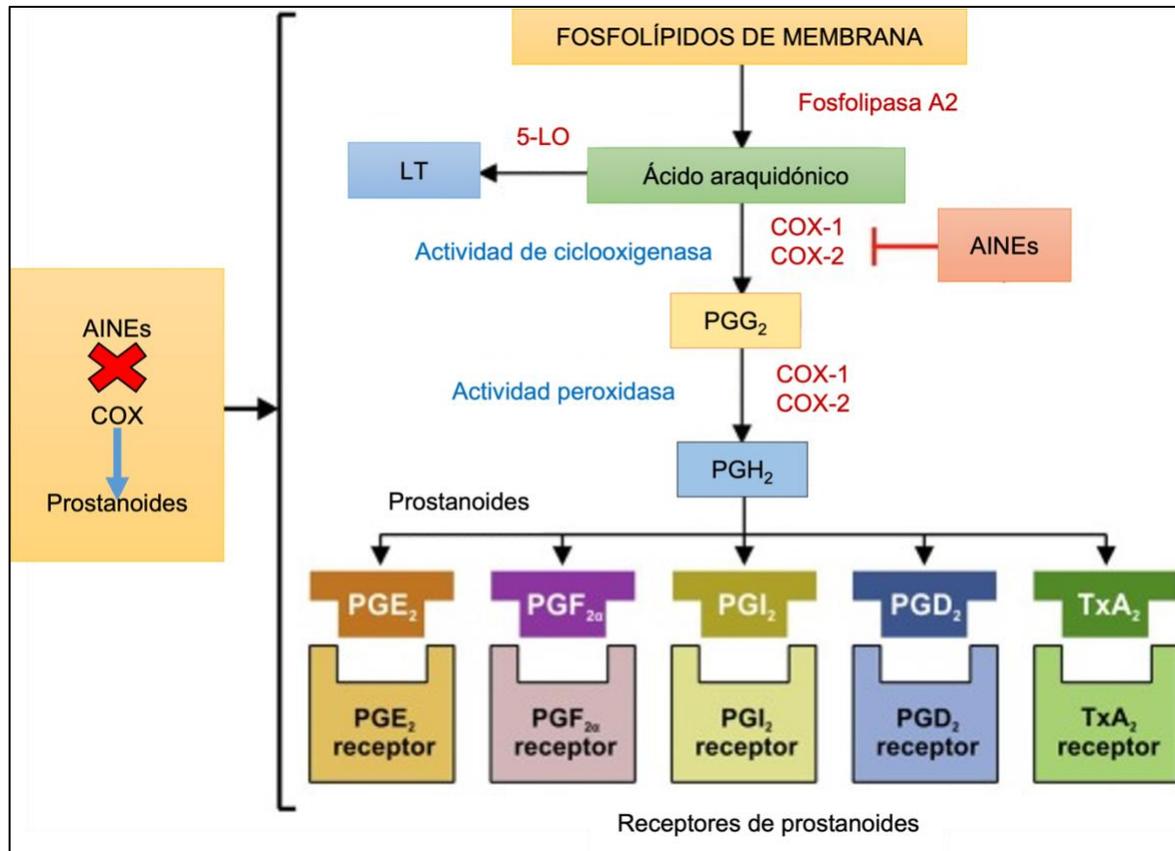


Figura 16. Eje de la biosíntesis de prostanoides. Los analgésicos no esteroideos inhiben la enzima ciclooxigenasa responsable de inducir prostaglandinas a partir del ácido araquidónico (Modificado de Bindu et al., 2020).

1.4.2.1 Ketorolaco trometamina

Es una mezcla racémica de dos enantiómeros R y S. Donde la actividad analgésica esta proporcionada por la molécula quiral S (Jamali et al., 1989; Mroszczak et al., 1996). Su biodisponibilidad es del 80 al 100% por vía oral, intramuscular e intravenosa. Se une a proteínas en >99 %, con distribución limitada a tejidos

extravasculares y barrera hematoencefálica (Jung et al., 1988). Se metaboliza a través de glucuronidación y para hidroxilación y su eliminación en el 90 % es por orina y 8 % por las heces.

Pertenece al grupo de los derivados heteroaril del ácido acético, inhibidores no selectivos de COX. Inhibe de este modo las prostaglandinas periféricas inducidas por el daño tisular, característico del dolor inflamatorio. Otros mecanismos de acción probable, involucran el sistema serotoninérgico y noradrenérgico (Bravo et al., 2019). Se ha estudiado un mecanismo que subyace el efecto analgésico de ketorolaco a través de la vía del óxido nítrico. Al utilizar un inhibidor de la sintasa de óxido nítrico, posterior administrar el ketorolaco, se observó una disminución del efecto antinociceptivo en un modelo preclínico (Granados-Soto et al., 1995a).

Los efectos adversos de ketorolaco son los asociados a todas las familias de los AINEs. Los efectos adversos más relevantes son; sangrado gastrointestinal por el desarrollo de úlceras (gástricas y pépticas), inducción de falla renal o enfermedades hematológicas debido a la inhibición de la agregación plaquetaria y la vía de los tromboxanos (Bessone, 2010; Laine, 2003).



Figura 17. Efectos adversos y benéficos de los analgésicos no esteroideos (Bindu et al., 2020).

1.5 Interacciones farmacológicas

La combinación de dos fármacos puede generar tres tipos de interacciones farmacológicas (Wessinger, 1986):

1. Potenciación o efectos supraaditivos, cuando el efecto combinado supera la suma de los efectos de la monoterapia (Tallarida, 2011).
2. Suma o efectos aditivos, cuando el efecto es igual a la suma teórica de los efectos de la monoterapia (Wessinger, 1986).
3. Antagonismo o efectos infraaditivos, disminución de los efectos evaluados en combinación (Wessinger, 1986).

1.5.1 Sinergismo

Combinar fármacos que actúan a diferentes niveles con distintos mecanismos farmacológicos de acción, puede proporcionar beneficios terapéuticos en analgesia o efectos antinociceptivos (López-Muñoz et al., 1993; 1994; López-Muñoz 1994). La utilidad de la interacción farmacológica del tipo potenciación involucra (Filitz et al., 2008): aumentar la eficacia analgésica, ampliar el espectro analgésico, disminuir las dosis individuales en la monoterapia y con ello; disminuir los efectos adversos y retrasar el mecanismo de tolerancia como es el caso de los opioides (López-Muñoz et al., 1993; 1994; López-Muñoz 1994).

Dadas las múltiples vías involucradas en la percepción del dolor, la Organización Mundial de la Salud y la Sociedad Americana del Dolor han recomendado la combinación terapéutica (Hamrick et al., 2019).

1.5.2 Métodos para evaluar la combinación de dos fármacos.

Existen métodos cuantitativos para determinar si dos fármacos al combinarse producen un efecto superior al de la suma de sus efectos individuales ($1+1 > 2$).

1.5.2.1 Isobologramas

El método más común utilizado en experimentos farmacológicos preclínicos y clínicos en interacciones farmacológicas; es el isoblograma, desarrollado por Loewe (Tallarida, 2011).

En un plano cartesiano se grafica la dosis efectiva 50 (DE_{50}) del fármaco A en el eje de las abscisas y la DE_{50} del fármaco B en el eje las ordenadas. Se puede calcular a cualquier dosis efectiva, pero lo más común es a DE_{50} . Los puntos se conectan y forman la línea de suma o aditividad (Huang et al., 2019). Una vez trazada esa línea

se localiza el punto de la combinación experimental, si este punto (P) cae por debajo de la línea de aditividad se considera una interacción supraditativa o de potenciación, si por otro lado el punto experimental (Q) se encuentra por encima de la línea, se interpreta como una interacción de efectos infraditivos o antagonismo (Tallarida, 2011).

Tiene ciertas limitaciones y desventajas este método: solo determina el tipo de interacción o sinergismo de dosis equiefectivas entre dos fármacos, y no permite determinar la combinación de máxima eficacia o máxima potenciación.

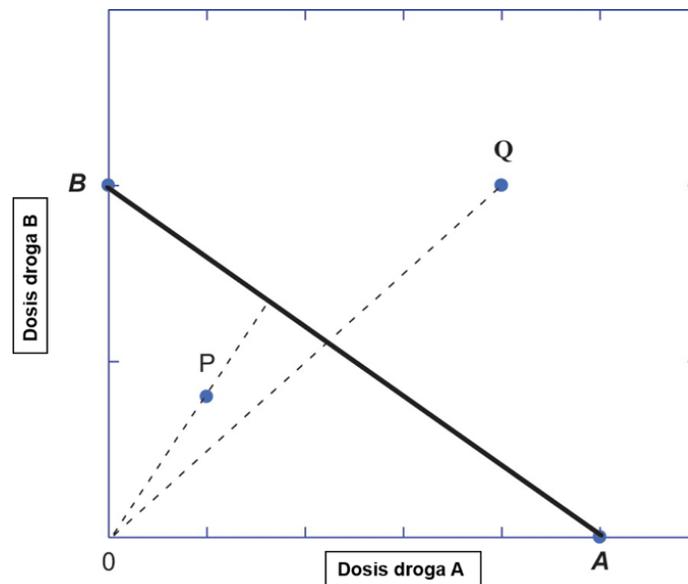


Figura 18. Isoblograma. (Modificado de Tallarida, 2011)

1.5.2.2 Superficie interacción sinérgica (SIS)

Otra manera de determinar el tipo de interacción entre combinaciones de fármacos es a través de la construcción tridimensional de una gráfica, donde se muestra en el eje de las abscisas (X) el efecto producido por el fármaco A de manera individual con distintas dosis, en el eje Z se traza al fármaco B de forma individual con distintas dosis evaluadas. Por último, el eje de las ordenadas (Y) representa el área bajo la curva (ABC) obtenida del curso temporal (CT) (Figura 19 A). En la parte central del gráfico se obtienen de forma experimental los resultados de las combinaciones de las dosis del fármaco A + B. Para obtener el tipo de interacción producida por las

combinaciones, se resta al efecto de la combinación, los efectos individuales de los componentes de la combinación; donde los valores obtenidos sobre el plano del “0” denotan una interacción del tipo suma o aditivos, mientras tantos valores “> 0” indican una interacción de tipo supraditiva o potenciación, los valores “<0” muestran un efecto infraaditivo o “antagonismo” (Figura 19 B) (López-Muñoz, 1994).

La determinación de la superficie de interacción sinérgica es la unión de todos los puntos de la figura 19 B para obtener un plano tridimensional (Figura 19 C).

El análisis con SIS tiene ventajas sobre el isoblograma:

- Puede detectar los tipos de interacción que se generen con las distintas proporciones entre el fármaco A y B.
- Permite detectar la combinación que genera el mayor efecto y la que genera la mayor potenciación.
- Permite analizar el sinergismo en curso temporal.

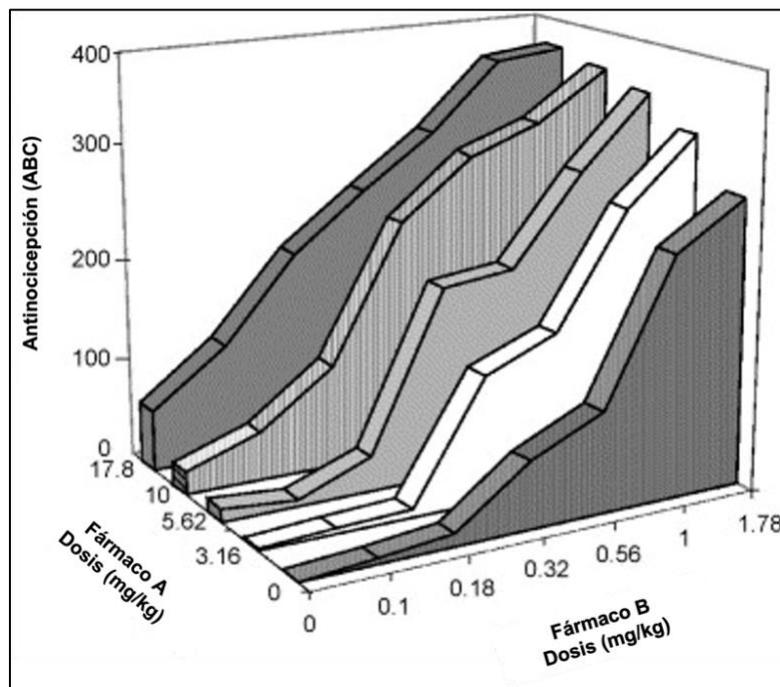


Figura 19 A). Construcción tridimensional de los efectos obtenidos del Fármaco A y B, en eje X y Z respectivamente, ya sea solos o en combinación. El eje Y representa el área bajo la curva (ABC) (Modificado de López-Muñoz, 1994).

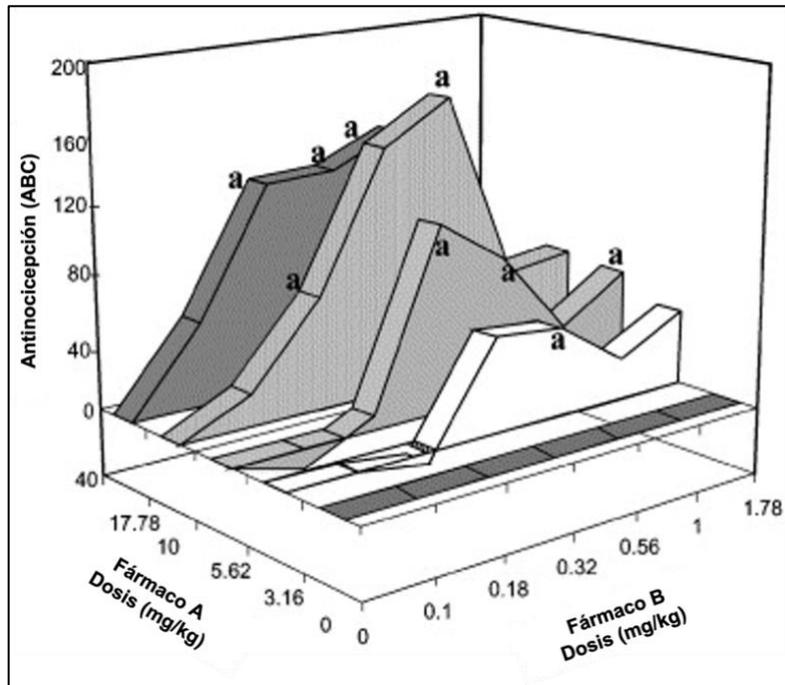


Figura 19 B). Efectos producidos por las diferentes combinaciones del fármaco A y B después de restar al efecto de la combinación, los efectos individuales (Modificado de López-Muñoz, 1994).

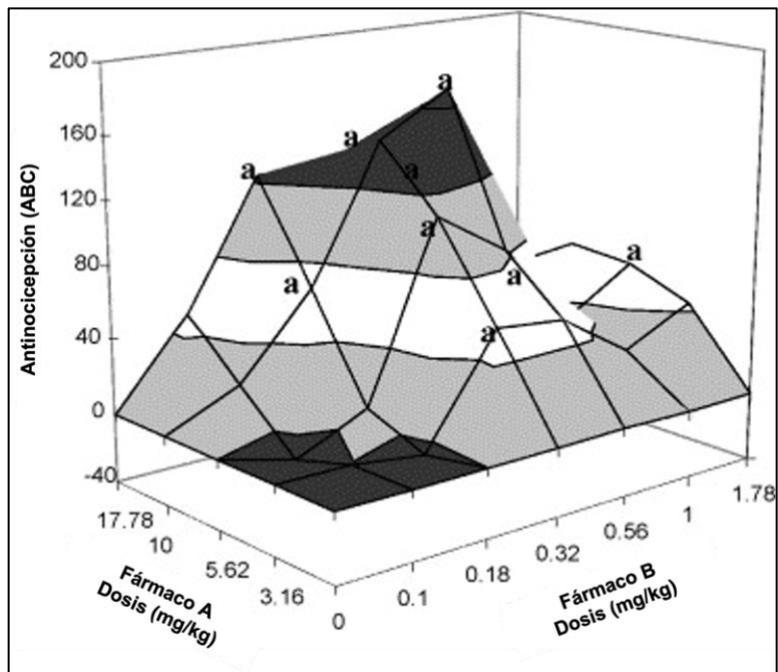


Figura 19 C). La determinación de la superficie de interacción sinérgica (SIS) es la unión de todos los puntos de la figura 19 B para obtener un plano tridimensional característico de esta combinación de fármacos en diferentes proporciones (modificado de López-Muñoz, 1994).

2. ANTECEDENTES

2.1 Estudios preclínicos de la combinación de un AINE y un opioide.

López-Muñoz y cols. (2004) caracterizó por primera vez la interacción antinociceptiva sinérgica de los efectos de ketorolaco trometamina y clorhidrato de tramadol por vía oral, usando el modelo de disfunción inducida por dolor en rata en un nivel moderado de nocicepción (López-Muñoz et al., 2004). Estos fármacos fueron administrados de forma individual y combinados. Los datos se interpretaron usando el análisis de superficie interacción sinérgica e isoblograma para establecer el tipo de interacción. Se emplearon diferentes dosis de ketorolaco individual por vía oral (0.18, 0.32, 0.56, 1.0, 1.78, 3.16 y 5.62 mg/kg), así como tramadol individual (3.16, 5.62, 10.0, 17.78, 31.62, 56.23 y 100.0 mg/kg) o 24 diferentes combinaciones de ketorolaco más tramadol. Las dosis individuales más eficaces fueron las de 3.16 y 31.62 (mg/kg) de ketorolaco y tramadol respectivamente. Se observaron dos combinaciones importantes: una generó un alto efecto de potenciación y fue Ket 0.56mg/kg + Tra 10 mg/kg, y otra combinación que generó los máximos efectos antinociceptivos o la máxima eficacia, siendo la combinación de Ket1,78 mg/kg + 17,78 mg/kg. Estas combinaciones generaron menos lesiones gástricas que las producidas por el control positivo indometacina. Esta investigación abrió paso a que la combinación fuera usada exitosamente en clínica para usos terapéuticos a la par de no aumentar los efectos adversos (López-Muñoz et al., 2004).

En un estudio descrito por López-Muñoz y cols. (2008) evaluaron metamizol (177.8 mg/kg sc) y morfina (3.2 mg/kg sc) de forma individual y combinada en diferentes niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) empleando un modelo preclínico tipo gota en rata (PIFIR). Demostrando que la combinación proporcionó una mejor cobertura antinociceptiva para los 3 niveles evaluados que la monoterapia. La morfina mantuvo sus efectos antinociceptivos al aumentar la intensidad de la nocicepción, a diferencia del fármaco de referencia que disminuyó sus efectos conforme se escalaba de intensidad (López-Muñoz et al., 2008).

2.2 Estudios clínicos de la combinación de un AINE y un opioide.

En un ensayo aleatorizado, doble ciego realizado por Cepeda y cols. (2005) evaluaron a 1003 pacientes de entre 18 y 60 años en el periodo postquirúrgico y se registraba la intensidad de dolor referido. Si indicaban que el dolor era moderado inmediatamente recibían 30 mg de ketorolaco intravenoso (IV) o 0.1mg/kg de morfina, 30 minutos posteriores a la infusión analgésica se pidió a los pacientes calificar del 0 al 10 la intensidad del dolor, siendo 0 ausencia de dolor y 10 el peor dolor experimentado. Si el dolor que referían era mayor a 5 los pacientes de ambos grupos recibían 2.5 mg de morfina IV cada 10 minutos hasta que el dolor cediera a una escala de 4 o menos. Por lo tanto, se dividieron en dos grupos, aquellos que solo recibieron morfina y el grupo que recibió ketorolaco seguido de morfina. A la par de estimar la intensidad del dolor, evaluaron la presencia de efectos secundarios (mareos, náuseas, vómitos, purito y sedación). Este estudio concluyó que los opiáceos resultan mejores analgésicos que los AINES y que la combinación de un AINE con el opioide reduce los requisitos de morfina a la par de disminuir efectos secundarios (Cepeda et al., 2005).

En otro estudio prospectivo, aleatorio, doble ciego realizado por Villegas-Gómez y cols. (2009) estudiaron a 258 pacientes en el periodo postoperatorio de colecistectomías abiertas, se dividieron en tres grupos; el primer grupo recibió 50 mg de tramadol más 20 mg de ketorolaco, el segundo grupo recibió 100 mg y 40 mg respectivamente y el tercer grupo “placebo” administrándoles 1gr de metamizol por cuestiones éticas. Se valoró la intensidad del dolor con la escala visual análoga y la versión simplificada del cuestionario de McGill cada 4 horas por un periodo de 24 horas. La coadministración de 100mg de tramadol más 40mg de ketorolaco resultó ser la combinación más eficaz para el alivio del dolor. En los tres grupos no hubo diferencias en la presencia o disminución de efectos adversos registrados (náusea y vómitos) (Villegas-Gómez et al., 2009).

En otro estudio descriptivo, longitudinal y retrospectivo se estudiaron 66 expedientes de pacientes polifracturados de entre 18 y 80 años, en el cual se compararon dos grupos con distinto tratamiento, en el grupo 1 se prescribió un AINE y en el grupo 2 morfina más ketorolaco. Encontrando que el grupo 1 logró mejor

analgésia con diferencia estadísticamente significativa, aunque en ninguno de los dos grupos se logró la ausencia de dolor (Sánchez-Zermeño et al., 2014).

3. JUSTIFICACIÓN

El dolor es el síntoma cardinal de la artritis y la terapia actual se dirige a disminuir su intensidad. La monoterapia empleada para este tipo de dolor presenta en ocasiones poca eficacia y considerables efectos adversos. Los analgésicos con que se cuenta actualmente pueden ser terapéuticamente adecuados en ciertas condiciones de dolor, pero se reduce importantemente su utilidad o eficacia y la gama de analgésicos útiles cuando la intensidad del dolor aumenta.

Empleando el sinergismo que genera la combinación entre un AINE (ketorolaco) y un opioide débil (tramadol) se pretende analizar si las combinaciones que generan alta potenciación y mayor efecto antinociceptivo pueden ser útiles y aplicadas en niveles de dolor o nocicepción artrítico más intensos, como una opción terapéutica, a la par de no aumentar efectos adversos y retrasar la tolerancia.

La importancia de este proyecto radica en que no ha sido documentada la utilidad antinociceptiva o analgésica terapéutica de las mejores combinaciones de ketorolaco y tramadol en un modelo preclínico o clínico de dolor tipo artrítico en diferentes niveles de nocicepción o dolor.

4. HIPÓTESIS

1. La coadministración de ketorolaco y tramadol genera alta eficacia antinociceptiva y alta potenciación en tratamientos agudos y administraciones repetidas, en los tres niveles nociceptivos que es posible establecer (moderado, subintenso e intenso) en artritis tipo gota en rata.

2. La combinación entre ketorolaco y tramadol no aumenta los efectos adversos de constipación, coordinación motora y lesiones gástricas en tratamientos agudos y administraciones repetidas.

5. OBJETIVO GENERAL

Analizar el efecto antinociceptivo de la coadministración de ketorolaco y tramadol (en su combinación más eficaz y de mayor grado de potenciación) en diferentes niveles de nocicepción en un modelo preclínico de dolor tipo artrítico en rata.

5.1 Objetivos específicos:

1. Analizar los efectos antinociceptivos de ketorolaco, tramadol y las combinaciones (combinación más eficaz "C2" y de mayor grado de potenciación "C1") en 3 diferentes niveles o intensidades de dolor: moderado, subintenso e intenso, tras una administración de los tratamientos individuales y combinados. Empleando el modelo de disfunción inducida por dolor en rata (PIFIR).
2. Analizar los efectos antinociceptivos en 3 diferentes intensidades de dolor, moderado, subintenso e intenso tras 12 administraciones repetidas de los fármacos individuales y combinados (C1 y C2, empleando el modelo de disfunción inducida por dolor en rata (PIFIR).
3. Detectar si las combinaciones de máxima eficacia (C2) y mejor grado de potenciación (C1) en administración repetida generan tolerancia antinociceptiva.
4. Evaluar los posibles efectos adversos de constipación, lesiones gástricas, y en la coordinación motora tras una sola administración de los tratamientos individuales y combinados (C1 y C2).
5. Evaluar los efectos adversos de constipación, lesiones gástricas, coordinación motora tras 12 administraciones repetidas de los fármacos individuales y combinados (C1 y C2).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Animales

Se emplearon ratas hembra de la cepa Wistar proporcionados por el bioterio de CINVESTAV, sede sur. Con un peso corporal de 180 a 220 g. Los animales fueron usados bajo condiciones estandarizadas de ciclos de luz/oscuridad 12:12, los periodos experimentales se llevaron a cabo durante la fase de luz del ciclo e ingesta de agua ad libitum y previo a los experimentos 12h de restricción de alimento.

El manejo de animales se llevó a cabo bajo los lineamientos internacionales del Comité para la Investigación y Cuestiones Éticas de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (Covino et al., 1980), las Directrices sobre estándares éticos

para investigaciones de dolor experimental en animales (Zimmermann, 1983) y los lineamientos del Comité Interno para el cuidado y uso de animales de laboratorio (CICUAL) del Cinvestav. Al finalizar las determinaciones experimentales, las ratas fueron sacrificadas por el método de cámara de CO₂ para evitar un sufrimiento innecesario.

6.2 Reactivos

Ácido úrico, aceite mineral, ketorolaco trometamina, clorhidrato de tramadol e indometacina obtenidos del laboratorio Sigma (St. Louis, MO, EE. UU.). El ketorolaco y tramadol fueron disueltos en solución salina al 0.9% e indometacina en 0.5% de carboximetilcelulosa (CMC). El ácido úrico fue suspendido en aceite mineral. La vía de administración de los analgésicos fue por vía oral a un volumen de 8 ml/kg de peso, a través de una cánula intragástrica. Se realizaron las correcciones necesarias de dosis, tomando en cuenta las sales de ketorolaco trometamina.

6.3 Medición de la actividad antinociceptiva

Para la medición de los efectos antinociceptivos se utilizó el modelo de disfunción inducida por dolor en ratas (PIFIR model) (López-Muñoz et al., 1993).

Los animales fueron anestesiados con isoflurano en una cámara de anestesia. Una vez perdida la sensibilidad general, la nocicepción fue inducida por la inyección de 0.05ml de ácido úrico en la articulación fémoro-tibio-rotuliana de la extremidad posterior derecha utilizando una jeringa de vidrio de 1 ml (Becton Dickinson LTDA, Brasil) con una aguja calibre 24 de 5 mm. Inmediatamente después de la inyección, a las ratas se les colocó un electrodo en la superficie plantar en cada extremidad posterior. A lo animales se les permitió recuperarse de la anestesia e inmediatamente fueron colocados en un cilindro de acero inoxidable de 30 cm de diámetro, con carriles propios para cada animal. A las ratas se les obligó a caminar girando el cilindro a 4 revoluciones por minuto. Los periodos de entrenamientos no fueron necesarios ya que las ratas aprenden a caminar en el cilindro de manera inmediata. El registro de la variable medida es el tiempo en que el electrodo colocado en cada pata hace contacto con el cilindro, esto a su vez cierra un circuito

y una computadora registró el tiempo que el electrodo entra en contacto con el cilindro.

Posterior a la inyección de ácido úrico, las ratas generaron progresivamente una disfunción de la extremidad posterior derecha (inyectada). Cuando el registro del tiempo de contacto del electrodo de la extremidad posterior derecha fue igual a cero o menor al 10 % en comparación con la extremidad control (extremidad posterior izquierda) del mismo animal, en este punto se inicia la evaluación de los efectos antinociceptivos generados por los tratamientos durante periodos de 2 minutos cada 30 minutos por cuatro horas. La antinocicepción se estableció como la recuperación del tiempo de contacto de la extremidad administrada con ácido úrico. Los datos se expresan como el porcentaje del índice de funcionalidad (IF %).

$$IF = \frac{\text{Tiempo de contacto de la extremidad inyectada (derecha)}}{\text{Tiempo de contacto de extremidad control (izquierda)}} \times 100$$

Esta metodología permitió formar gráficos de cursos temporales (CT) y a partir del efecto global durante las 4 h de evaluación (ABC) formar curvas dosis-respuesta de las dosis individuales y combinadas de los tratamientos.

Un estudio previo en el laboratorio estableció los diferentes niveles o intensidades de nocicepción a través de la inyección intra-articular de 0.05 ml de ácido úrico a distintas concentraciones (López-Muñoz et al., 2008). Para un nivel de nocicepción moderado (nivel I) el ácido úrico fue preparado al 30%, la suspensión se preparó homogenizando en un mortero de vidrio (Pyrex) 3 g de ácido úrico con su vehículo (10 ml de aceite mineral). Para establecer un nivel nociceptivo subintenso (nivel II) fue preparado al 50%, la suspensión se preparó con 5 g de ácido úrico y el vehículo. Para el nivel nociceptivo intenso (nivel III) se realiza la inyección de ácido úrico al 50% en dos ocasiones con un intervalo de 7 días.

El tiempo en el que se genera la disfunción después de la inyección intra-articular alcanzando un IF%= 0 o menor a 10% varía en cada nivel nociceptivo. Para un nivel I la disfunción se consigue a las 2.5 h, con el nivel II a las 2.0 h y en un nivel III a 1.5 h.

Para el propósito del presente estudio, inducir nocicepción en las ratas era inevitable. Empero, se evitó el sufrimiento innecesario. Todos los experimentos se realizaron entre las 6:00 y 14:00 horas.

6.4 Determinación de porcentaje de lesión gástrica (Lee et al., 1971; Déciga-Campos et al., 2003)

Previo a los experimentos las ratas son sometidas a restricción de alimento por 24 h. con agua a libre demanda. Transcurrido este tiempo se realizó la primera administración por vía oral de los fármacos y las dosis correspondientes a evaluar. La segunda administración se efectuó a 2.5 h después de la primera con las mismas dosis. Los estómagos se examinaron 2.5 h después de la segunda administración de la siguiente manera: se sacrifican a las ratas por dislocación cervical y se remueve el estómago. Inmediatamente se enjuaga con solución salina al 0.9% para posteriormente añadir formaldehído al 2% (1 ml) al interior del estómago y se deja reposar en un recipiente con formaldehído al 2% por 30 minutos. Una vez realizado el procedimiento anterior, se abrió el estómago por la curvatura menor y se enjuago el interior con solución salina al 0.9%, para retirar el contenido gástrico. Una vez extendido, se cuantifico el número de lesiones (úlceras y erosiones). Una vez cuantificadas las lesiones, se estableció el área lesionada multiplicando el número de lesiones por el tamaño de estas en milímetros (mm).

El control positivo fue indometacina a una dosis de 20 mg/kg. Las lesiones generadas por la indometacina fueron tomadas como el 100% para compararlas con las distintas dosis de los tratamientos a evaluar. Se empleó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Lesión gástrica} = \frac{\text{Número de lesiones de un tratamiento dado (mm}^2\text{)}}{\text{Número de lesiones de indometacina (mm}^2\text{)}} \times 100$$

6.5 Determinación de Constipación (Schulz et al., 1979; Manara et al., 1986)

Se realizó la medición del tránsito gastrointestinal usando la prueba de carbón activado. Previo a los experimentos las ratas son privadas de alimento por 12 horas con agua ad libitum. Posteriormente se administró los tratamientos individuales y

combinados. 30 minutos después se administró una suspensión al 5% de carbón activado, 5% de goma arábica en 0.2% de carboximetilcelulosa en un volumen de 2 ml. Esta suspensión se administra vía intragástrica y 30 minutos después los animales son sacrificados por dislocación cervical para remover el estómago junto con el intestino delgado. Para obtener la respuesta de porcentaje de motilidad intestinal y determinar el efecto adverso de constipación se midió la longitud del intestino delgado desde el esfínter pilórico hasta la unión íleocecal y se midió cuanto recorrido hizo el carbón activado. El porcentaje de tránsito gastrointestinal se obtiene con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ TGI} = \frac{\text{Distancia recorrida por el carbón activado}}{\text{Longitud total del intestino delgado.}} \times 100$$

6.6 Determinación de la coordinación motora

(Durham & Miya, 1957; López-Rubalcava & Fernández-Guasti, 1994)

Para evaluar el efecto sobre la coordinación motora se empleará la prueba de Rota-rod. Se realizó colocando a las ratas sobre cilindros de 7 cm de diámetro obligándolas a caminar a una velocidad de 11 rpm. La prueba consistió de 4 sesiones de marcha con periodos de tiempo de 5 minutos. Las sesiones se organizan de la siguiente manera: Las primeras dos sesiones son de entrenamiento. La tercera sesión se realiza previo a la administración de tratamientos. Inmediatamente después de la tercera sesión se administraron los tratamientos. Una hora post-administración se realizó una última sesión donde se registró el número de caídas. Después de cada caída las ratas fueron colocadas inmediatamente en el cilindro hasta completar el tiempo definido.

6.7 Esquema de administraciones repetidas (tolerancia)

Se evaluaron los efectos antinociceptivos en el nivel nociceptivo I (moderado), así como los efectos adversos (coordinación motora, lesiones gástricas, constipación) tras varias administraciones repetidas de los tratamientos individuales y combinados, se realizó 1 administración del analgésico o combinaciones cada 8 horas por 4 días, es decir con un total de 12 administraciones (las administraciones

se realizan a las 7:00, 15:00, 23:00 horas). Al quinto día se realizó la determinación de efectos antinociceptivos y efectos adversos que producen los fármacos solos o combinados antes descritos.

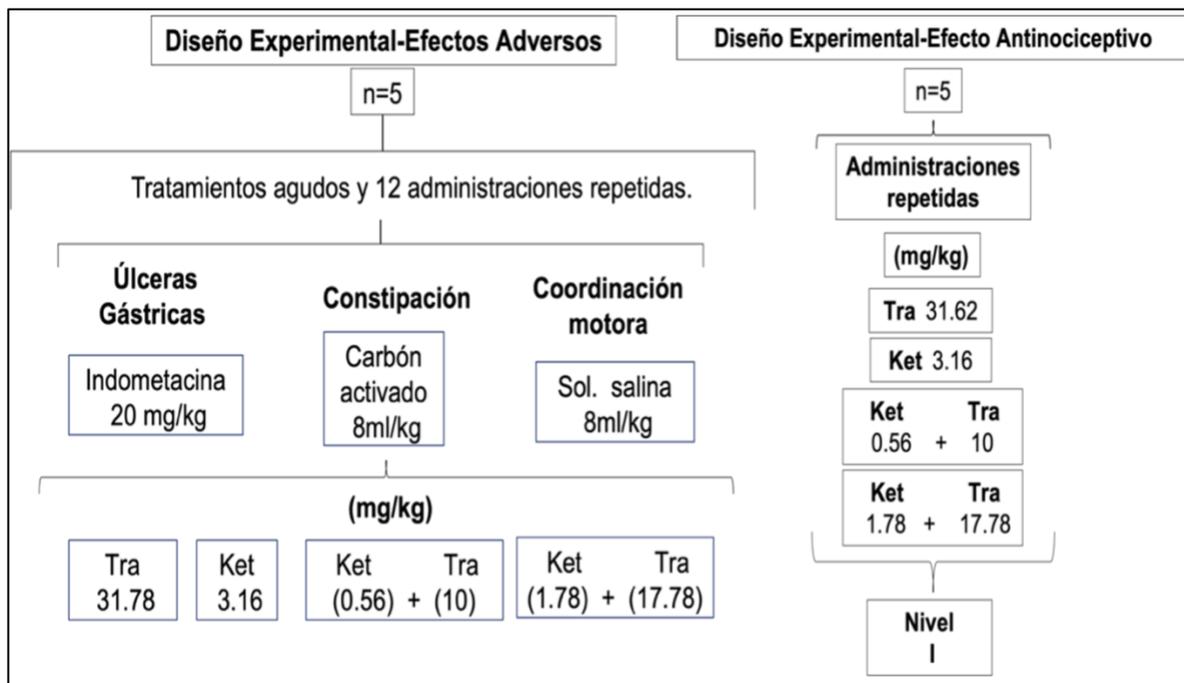
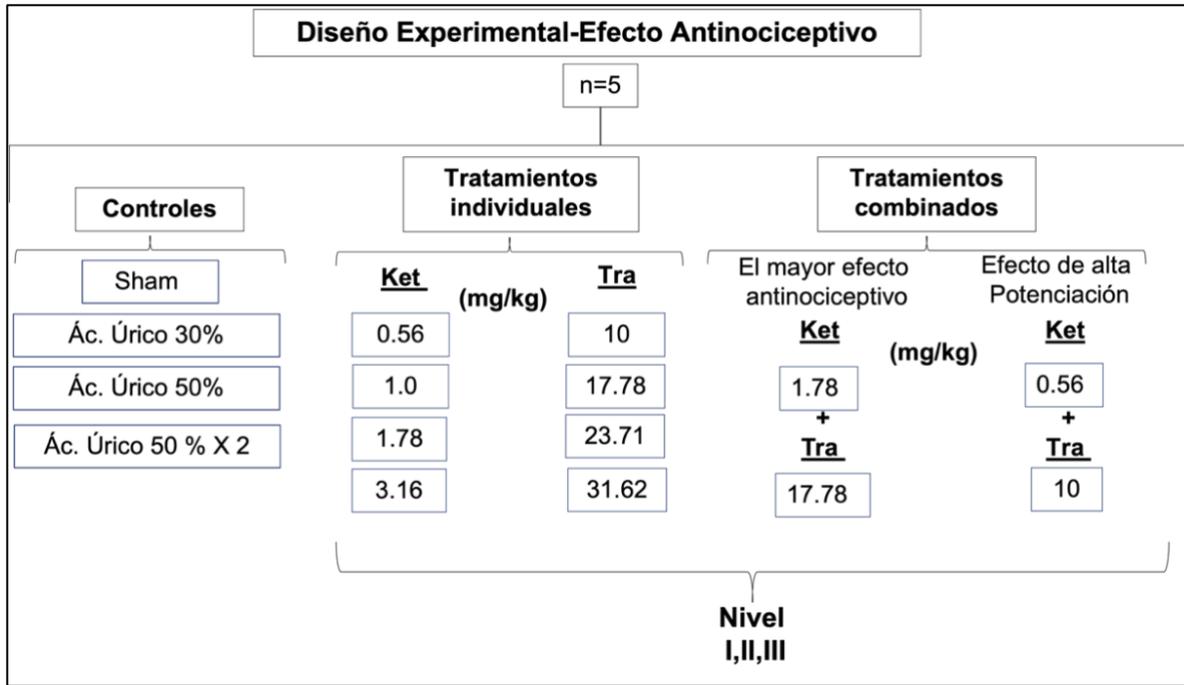
6.8 Diseño Experimental

Las dosis que se utilizaron fueron seleccionadas de un estudio previo en el laboratorio bajo la misma condición de dolor y tratamientos (López-Muñoz et al., 2004).

Para los efectos antinociceptivos se construyeron curvas dosis-respuesta a partir de una n=5 animales con las siguientes dosis 0.56, 1.0, 1.78, 3.16 mg/kg de Ketorolaco (Ket) y 10, 17.78, 23.71 31.62 mg/kg de tramadol (Tra). Se analizaron las dosis individuales más efectivas que corresponde a 3.16 y 31.62 (mg/kg) de Ket y Tra, respectivamente. Las combinaciones empleadas que generan alta potenciación (C1) y máximo efecto antinociceptivo (C2) fueron Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg y Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg, respectivamente. Los tratamientos individuales y combinados serán evaluados posterior a generar los efectos nociceptivos de ácido úrico al 30%(moderado), 50% (subintenso) y 50% x2(intenso) (nivel I, II, III). En cada nivel fueron determinados los controles adecuados y un grupo Sham con la inyección de aceite mineral utilizado como vehículo para suspender el ácido úrico. Para evaluar los efectos adversos (coordinación motora, lesiones gástricas, constipación) a partir de una n=5 animales se analizaron las dosis individuales más efectivas que corresponde a 3.16 y 31.62 (mg/kg) de Ket y Tra, respectivamente, así como las combinaciones que generan alta potenciación (C1= Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y mayor efecto antinociceptivo (C2= Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg). El control positivo para evaluar lesiones gástricas fue indometacina a una dosis de 20 mg/kg. Como control para determinar los otros dos efectos adversos fue empleada solución salina al 0.9%.

Adicionalmente fueron evaluados los efectos antinociceptivos en el nivel moderado y los efectos adversos (coordinación motora, lesiones gástricas, constipación) tras 12 administraciones repetidas de las dosis más efectivas de los tratamientos individuales de ketorolaco y tramadol (3.16 y 31.62 mg/kg respectivamente). Del

mismo modo fueron evaluadas las combinaciones que generan alta potenciación (C1) y mayor efecto antinociceptivo C2.



6.9 Análisis estadístico

Los datos representan el promedio +/- error estándar (EE) con una n=5 por grupo. La variable medida de antinocicepción, expresa el porcentaje de índice de funcionalidad (IF %). A partir del efecto antinociceptivo en el curso temporal (CT) de una evaluación de 4 horas en el modelo PIFIR, se obtiene el Área Bajo la Curva (ABC) de las dosis individuales y combinadas de Ket y Tra. El ABC se calcula a través de la regla trapezoidal (Gibaldi, 1991), el valor máximo asequible bajo estas condiciones experimentales es de 375 unidades de área (ua), tomando en cuenta el área del primer triángulo, ya que la primera determinación se obtiene a las 0.5 h. Las Curvas Dosis Respuesta (CDR) se construyeron con los efectos globales de los CT. Para establecer el tipo de interacción de las dos combinaciones propuestas (C1 y C2), se comparó los efectos obtenidos contra los efectos de la suma teórica de los tratamientos individuales, si existían diferencias estadísticamente significativas se consideraba interacción del tipo supraditiva o de potenciación. Del mismo modo si no se encontraban diferencias estadísticas entre ambos grupos, se consideran efectos aditivos. Lo anterior se realizó utilizando una prueba T de Student con corrección de Bonferroni para muestras independientes, en caso de que los datos se distribuyeran normalmente. Cuando los datos no presentaban una distribución normal según la prueba de Shapiro-Wilk, se comparó a través de una prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney. Para contrastar el ABC e IF de los tratamientos en distintos niveles de nocicepción, se empleó un análisis de varianza (ANOVA), seguido de pruebas post hoc. Cuando las varianzas fueron heterogéneas se utilizó una prueba de Dunnett, por el contrario, cuando las varianzas fueron homogéneas, se utilizó la prueba de Tukey. Para evaluar la tolerancia de los efectos antinociceptivos y adversos, se comparó la administración simple y repetida a través de una prueba t de Student o U de Mann-Whitney según la distribución de normalidad. Los análisis estadísticos y gráficos (CT, ABC y CDR) se llevaron a cabo por medio del programa GraphPad Prism 8.0.1. La diferencia estadísticamente significativa se consideró con un valor de $p < 0.05$ (*).

7. RESULTADOS

7.1 Controles

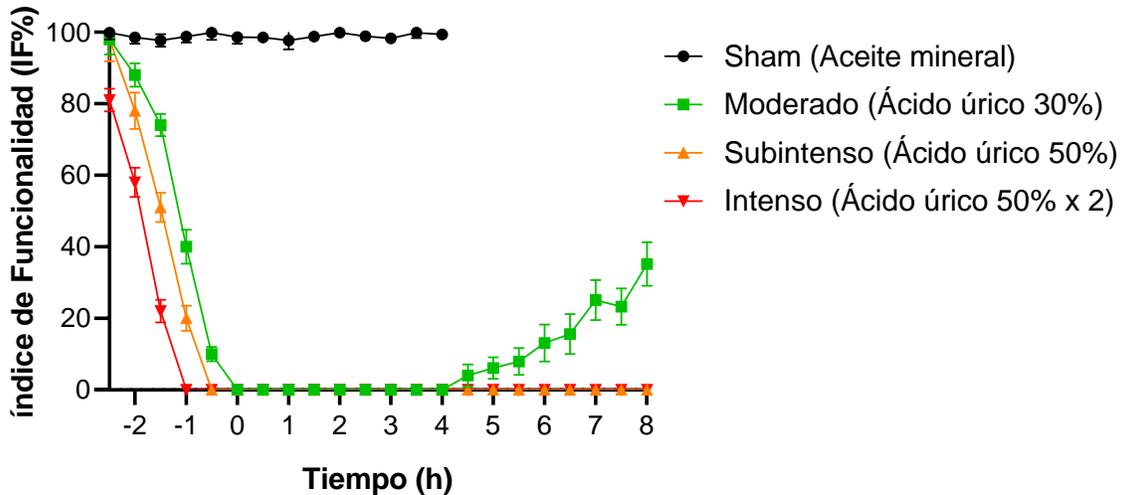


Figura 20: Curso Temporal de tres niveles de nocicepción: I, II, III (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR. CT del modelo de disfunción inducida por dolor en rata (PIFIR), el eje de las abscisas representa el tiempo en horas y el eje de las ordenadas el índice de funcionalidad (%). Los datos representan la media \pm error estándar, $n=5$ /grupo.

En el grupo Sham, la inyección intraarticular del aceite mineral (vehículo del ácido úrico) no genera disminución del índice de funcionalidad a través del tiempo. La administración intraarticular de ácido úrico con su vehículo genera progresivamente un descenso del IF%. Establecer un IF= 0% o <10% varía de acuerdo con el nivel nociceptivo: en el nivel I, se alcanza hasta aproximadamente 2.5 h, después de la administración intraarticular, en el nivel II, hasta las 2.0 h y en un nivel III, hasta 1.5 h después. La administración y evaluación de los tratamientos analgésicos se realiza durante el periodo de disfunción total. La recuperación espontánea del IF% va en relación con el nivel de intensidad de nocicepción; en un nivel de nocicepción moderado, se observa un aumento progresivo del IF% a las 5 h, mientras que para el nivel subintenso e intenso, el tiempo recuperación espontánea se va hasta las 48 y >72 h, respectivamente.

7.2 Ketorolaco en diferentes niveles de nocicepción

7.2.1 Nivel moderado

En la figura 21 se observa el curso temporal de Ket en las dosis empleadas (0.56, 1.00, 1.78 y 3.16 mg/kg) en un nivel moderado de nocicepción. Destacando parámetros del CT, se observa que la latencia del inicio de acción para todas las dosis fue de 30 minutos. La latencia al efecto máximo difirió en cada dosis siendo de 1 hora para 0.56 y 1.78 (mg/kg), de 1.5 h para 3.16 mg/kg y 2 h para 1.00 mg/kg. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$) a las 0.5 h y 4 h de evaluación con las dosis más altas (1.78 y 3.16 mg/kg) respecto a las dosis inferiores (0.56 y 1.00 mg/kg). Los efectos antinociceptivos se mantienen durante el curso temporal evaluado de 4 horas para las dosis de 1.0, 1.78 y 3.16 (mg/kg). Los efectos antinociceptivos después de una hora de administración decrecen progresivamente con la dosis inferior (0.56 mg/kg).

En la figura 22A se graficaron los efectos globales obtenidos del área bajo la curva de los cursos temporales de las distintas dosis de Ket. Se encontraron diferencias significativas ($***p < 0.001$) del efecto antinociceptivo global de la dosis de 1.78 mg/kg y 3.16 mg/kg con respecto a la dosis inferior 0.56 mg/kg. Y diferencias estadísticas ($**p < 0.01$) de 0.56 mg/kg vs 1.00 mg/kg. El Ket produjo un efecto antinociceptivo representado como efecto global (ABC) dependiente de la dosis en un nivel moderado de nocicepción.

La figura 22B representa la CDR de Ket en el nivel moderado, se puede observar que la dosis antinociceptiva eficaz fue 3.16 mg/kg.

Ketorolaco (mg/kg)	Efectos globales (ABC) ± EE	Latencia inicio acción (h)	Latencia efecto máximo (h)
0.56	109.66 ± 16.75	0.5	1.0
1.00	211.20 ± 27.78	0.5	2.0
1.78	250.41 ± 11.97	0.5	1.0
3.16	286.79 ± 15.02	0.5	1.5

Tabla 1. Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de ket en un nivel moderado de nocicepción.

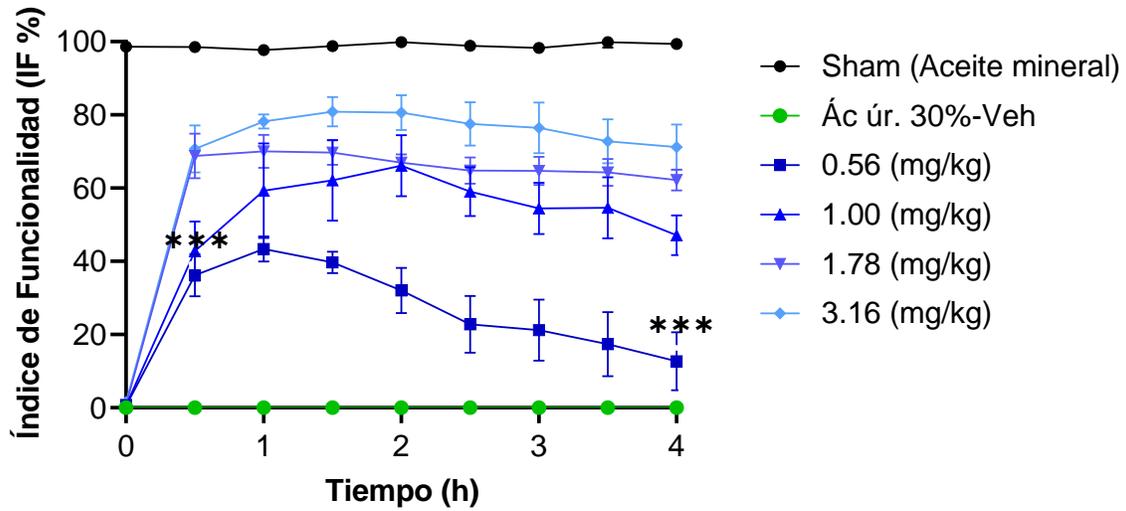


Figura 21. CT de las dosis individuales de ketorolaco, en un nivel moderado de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. A las 0.5 h y 4h ***p<0.001 vs 1.0, 1.78 y 3.16 mg/kg. Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

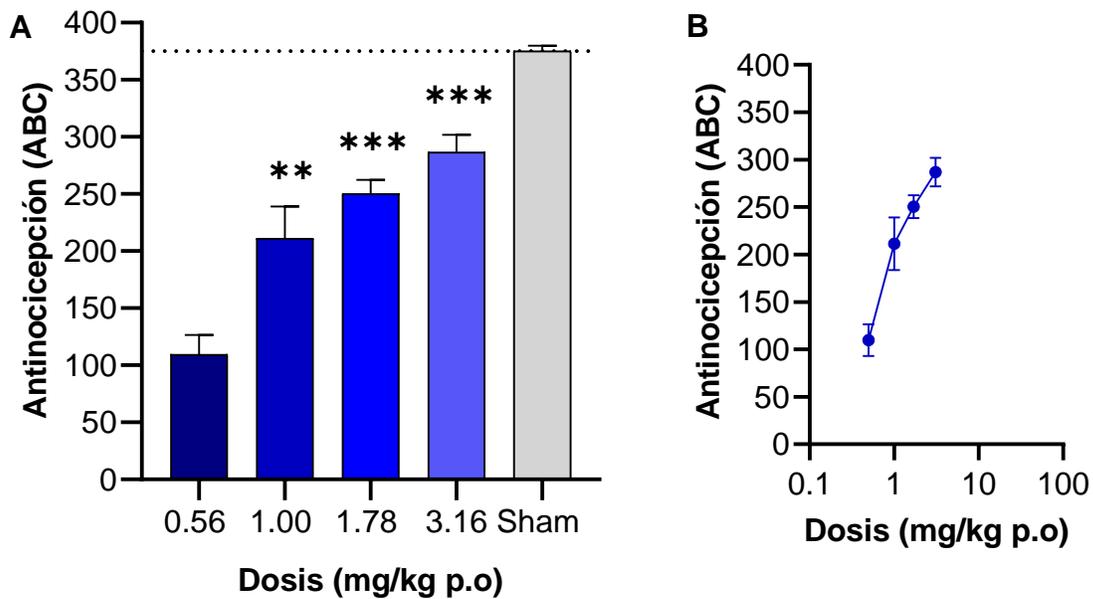


Figura 22. A) Efectos antinociceptivos globales de las dosis individuales de ketorolaco obtenidos como ABC del CT en un nivel moderado de nocicepción. B) CDR del efecto antinociceptivo de ketorolaco en intensidad moderada. A y B: Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. ***p<0.001 y **p<0.01 vs 0.56 mg/kg. Anova de una vía, seguido de una prueba Tukey.

7.2.2 Nivel subintenso

En la figura 23 se observa el curso temporal de Ket en las dosis empleadas (0.56, 1.00, 1.78 y 3.16 mg/kg) en un nivel subintenso de nocicepción. Destacando parámetros del CT, se identificó que la latencia del inicio de acción para todas las dosis fue de 30 minutos. La latencia al efecto máximo difirió en cada dosis siendo de 1 hora para 0.56 y 1.78 (mg/kg), de 0.5 h para 1.00 mg/kg y 2 h para 3.16 mg/kg. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$) a las 0.5 h y 4 h de evaluación con la dosis más alta de 3.16 mg/kg respecto a todas las dosis inferiores a (0.56, 1.00 y 1.78 mg/kg). Las dosis más altas (3.16 y 1.78 mg/kg) mantienen sus efectos a través del tiempo. Con las dosis inferiores (0.56 y 1.00 mg/kg) el efecto evaluado después de una hora de administración decrece progresivamente a través del tiempo.

En la figura 24A se encuentran graficados los efectos globales del área bajo la curva de los cursos temporales de las distintas dosis de Ket en el nivel subintenso. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($***p < 0.001$) del efecto antinociceptivo global de la dosis más alta que fue 3.16 mg/kg con respecto a las dosis inferiores utilizadas (0.56, 1.00 y 1.78 mg/kg). El Ket produjo un efecto antinociceptivo representado como efecto global (ABC) dependiente de la dosis en un nivel subintenso de nocicepción.

La figura 24B representa la CDR de Ket en el nivel subintenso, se puede observar que la dosis eficaz fue 3.16 mg/kg y las dosis inferiores (0.56 y 1.00 mg/kg) redujeron su efecto a 51.38 y 72.68 unidades área, respectivamente.

Ketorolaco (mg/kg)	Efectos globales (ABC) ± EE	Latencia inicio acción (h)	Latencia efecto máximo (h)
0.56	51.38 ± 6.73	0.5	1.0
1.00	72.68 ± 13.89	0.5	0.5
1.78	212.55 ± 18.02	0.5	1.0
3.16	314.02 ± 16.07	0.5	2.0

Tabla 2. Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de ketorolaco en un nivel subintenso de nocicepción.

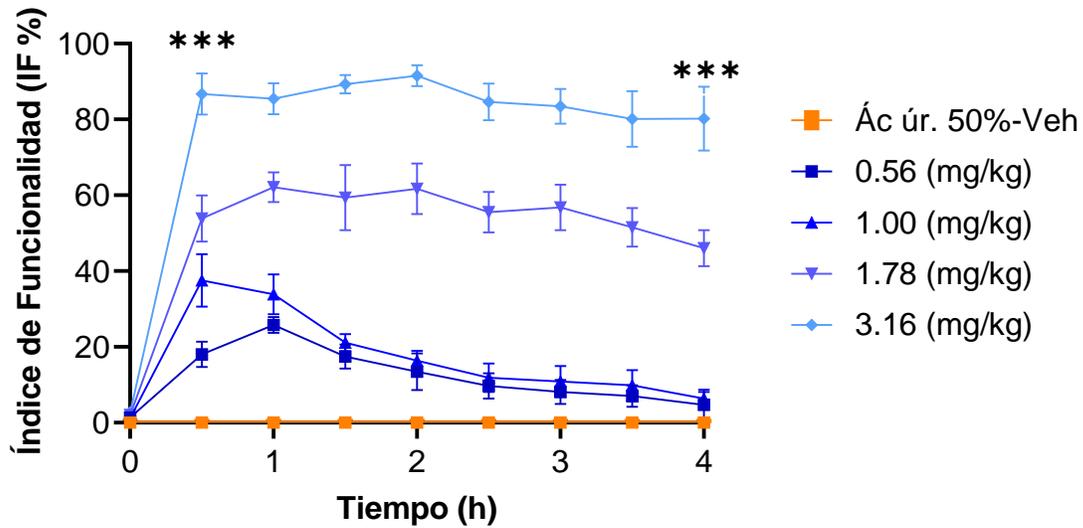


Figura 23. CT de las dosis individuales de ketorolaco en un nivel subintenso de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. A las 0.5h y 4h ***p<0.001 vs 0.56, 1.0 y 1.78mg/kg. Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

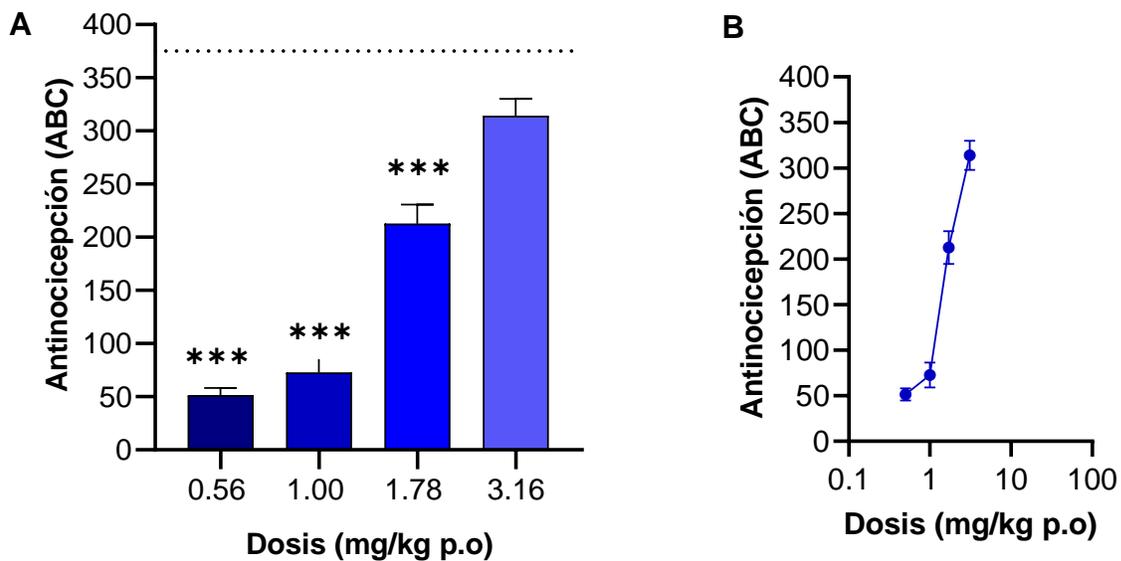


Figura 24. A) Efectos globales de las dosis individuales de ketorolaco obtenidos como ABC de los CT en el nivel subintenso de nocicepción. B) CDR del efecto antinociceptivo de ketorolaco en el nivel II (subintenso). A y B: Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. ***p<0.001 vs 3.16 mg/kg. Anova de una vía, seguido de una prueba Tukey.

7.2.3 Nivel intenso

En la figura 25 se observa el curso temporal de Ket en las dosis empleadas (0.56, 1.00, 1.78 y 3.16 mg/kg) en un nivel intenso de nocicepción. En esta figura se identifica que la latencia del inicio de acción se extendió para todas las dosis a 1.5 h. No existieron diferencias significativas en el índice de funcionalidad, el cual permaneció por debajo del 10% a través del tiempo con tres dosis (0.56, 1.0, 1.78 mg/kg). La dosis más alta de 3.16 mg/kg presentó diferencia significativa (**p<0.01) a las 2.5 h en el CT con respecto a las demás dosis y alcanzando solo un IF% máximo de 24.11%. No se encontraron diferencias estadísticas (ns) a las 0.5 h y 4 h en el CT para los efectos de Ket, en las dosis experimentales, en un nivel III de nocicepción (intenso). Para todas las dosis, el efecto evaluado después de una hora de administración decrece progresivamente a través del tiempo.

En la figura 26A se encuentran graficados los efectos globales (ABC) de Ket en el nivel intenso. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas (ns) del efecto antinociceptivo global de las dosis experimentales. El Ket no produce un efecto antinociceptivo representado como efecto global (ABC) dependiente de la dosis en un nivel intenso de nocicepción.

La figura 26B representa la CDR de Ket en el nivel intenso. En el nivel III, no se observa una CDR clásica, ya que los efectos obtenidos por ABC no son significativos entre las dosis experimentales.

Ketorolaco (mg/kg)	Efectos globales (ABC) ± EE	Latencia inicio acción (h)	Latencia efecto máximo (h)
0.56	12.85 ± 6.73	1.5	1.5
1.00	18.99 ± 8.00	1.5	1.5
1.78	35.46 ± 18.11	1.5	3.5
3.16	45.76 ± 13.45	1.5	2.5

Tabla 3. Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de ketorolaco en un nivel intenso de nocicepción.

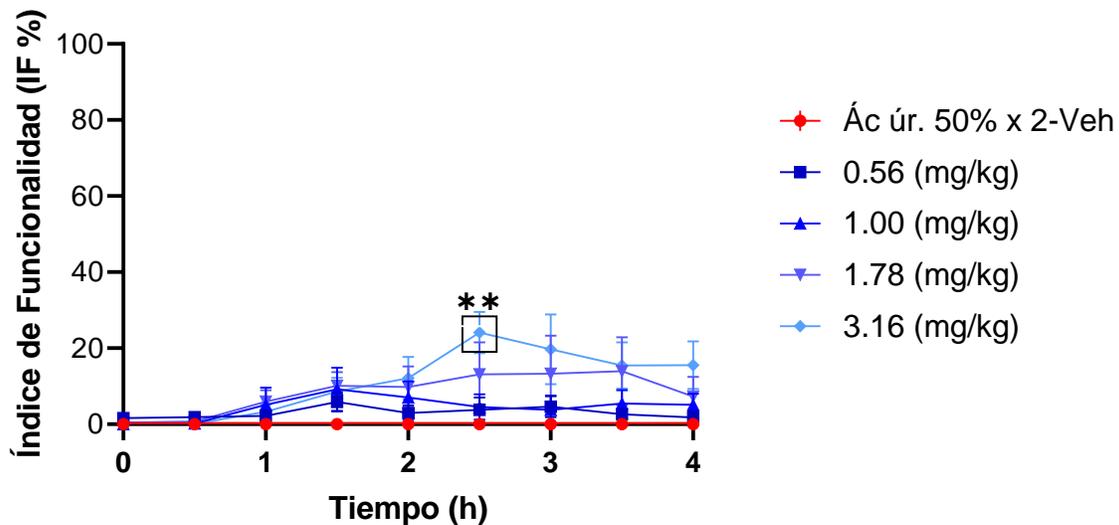


Figura 25. CT de las dosis individuales de ketorolaco en un nivel intenso de nocicepción en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, $n=5$ /grupo. $**p<0.01$ vs 3.16 mg/kg a las 2.5 h en el CT. Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

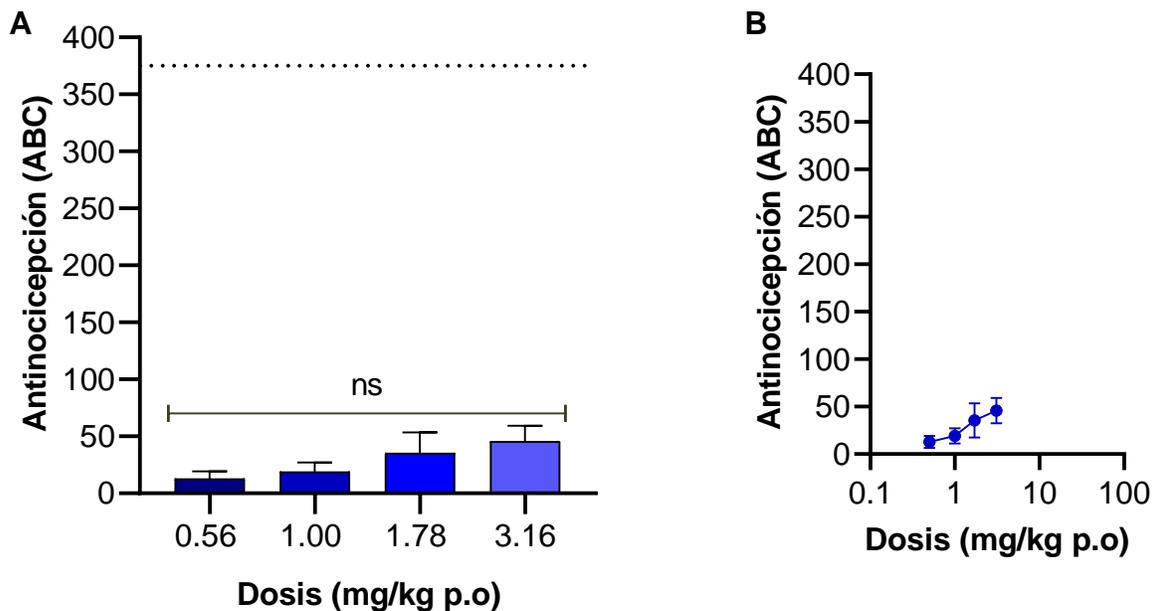


Figura 26. A) Efectos globales de las dosis individuales de ketorolaco obtenidos como ABC del CT en un nivel intenso de nocicepción. B) CDR del efecto antinociceptivo de ketorolaco en el nivel III. A y B: Los datos representan la media \pm error estándar, $n=5$ /grupo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas (ns) del efecto antinociceptivo global de las dosis experimentales. Anova de una vía, seguido de una prueba Tukey.

7.2.4 Comparativa de ketorolaco en diferentes niveles de nocicepción

En la figura 27 se observa el comportamiento antinociceptivo representado por área bajo la curva obtenido de los CT de cuatro dosis de ketorolaco, administrado por vía oral, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso). La dosis inferior de 0.56 mg/kg presentó diferencias estadísticas (**p<0.01) entre el nivel moderado y el nivel subintenso. En la misma dosis (0.56 mg/kg) hubo diferencias estadísticamente significativas (**p<0.001) entre el nivel de nocicepción moderado e intenso. Con la dosis de 1.00 mg/kg, persistieron las diferencias estadísticas (**p<0.001) en el efecto evaluado entre el nivel moderado, subintenso e intenso. Con las dosis más altas de ket (1.78 y 3.16 mg/kg) no existió diferencia significativa entre los niveles moderado y subintenso, pero sí hallando diferencia estadística (**p<0.001) con el nivel intenso. En un nivel intenso de nocicepción, los efectos de Ket se vieron reducidos con una diferencia estadísticamente significativa (**p<0.001) comparados con los efectos en un moderado y subintenso.

En la tabla 4 son representados los efectos globales, obtenidos del área bajo la curva de cada dosis experimental de Ket, en los diferentes niveles de nocicepción. Se puede notar que los efectos en unidades de área van disminuyendo conforme se aumenta la intensidad de dolor. En la columna 4 y 6 de la tabla 4 se colocó el porcentaje de reducción del efecto antinociceptivo entre los niveles subintenso e intenso, comparado con el nivel moderado de nocicepción.

Ket (mg/kg)	Moderado (ABC) ua ± EE	Subintenso (ABC) ua ± EE	Reducción del efecto (%) entre Nivel I y II	Intenso (ABC) ua ± EE	Reducción del efecto (%) entre Nivel I y III
0.56	109.66 ± 16.75	51.36 ± 6.73	53.17	12.85 ± 6.37	88.29
1.0	211.2 ± 27.78	72.68 ± 13.89	65.58	18.99 ± 8.00	91.00
1.78	250.4 ± 11.97	214.2 ± 18.02	14.45	35.46 ± 18.11	85.83
3.16	286.8 ± 15.02	314 ± 16.07	Incremento 9.4	45.76 ± 13.45	84.04

Tabla 4. Efectos globales (ABC) en unidades de área de los efectos antinociceptivos de ketorolaco en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR.

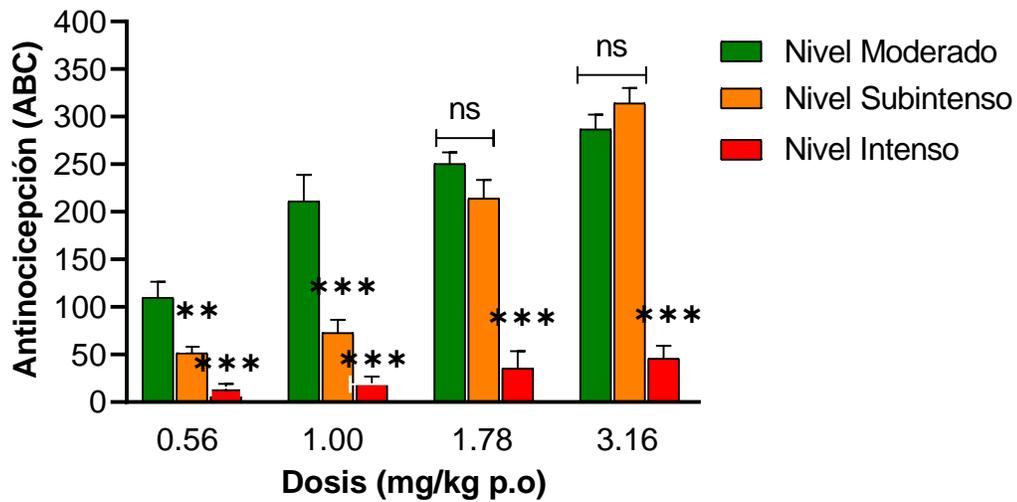


Figura 27. Efectos globales antinociceptivos de ketorolaco expresados en área bajo la curva (ABC) obtenidos de los CT en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR. Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. Con la dosis de 0.56mg/kg **p<0.01 vs moderado, ***p<0.001 vs moderado. En la dosis de 1.00 mg/kg, (**p<0.01) vs moderado. Sin diferencia significativa (ns) con las dosis de 1.78 y 3.16 mg/kg en el nivel moderado y subintenso. ***p<0.001 vs moderado y subintenso. Anova de dos vías, seguido de una prueba post hoc, Tukey.

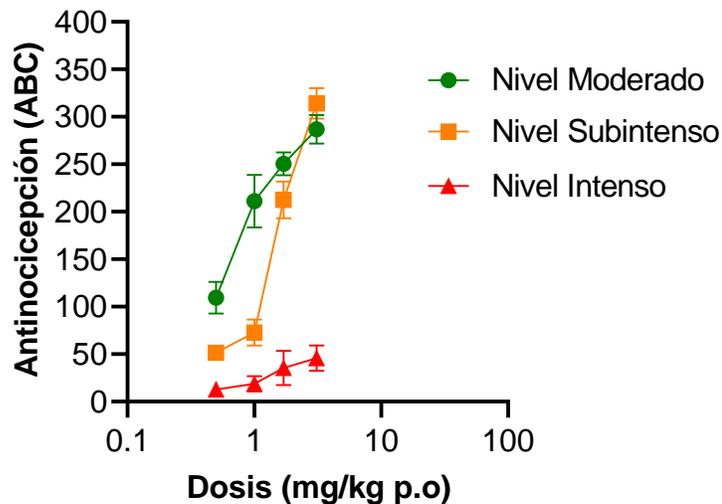


Figura 28: Curva dosis respuesta de ketorolaco después administración oral, en diferentes niveles de nocicepción en el modelo PIFIR. Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. El eje X representa los efectos antinociceptivos expresados como ABC obtenido de los CT. El eje Y representa las dosis empleadas de Ket en mg/kg.

7.3 Tramadol en diferentes niveles de nocicepción

7.3.1 Nivel moderado

En la figura 29 se observa el curso temporal del Tra en las dosis empleadas (10, 17.78, 23.71 y 31.62 mg/kg) en un nivel moderado de nocicepción. Destacando parámetros del CT, se observa que la latencia del inicio de acción para todas las dosis fue de 30 minutos. La latencia al efecto máximo difirió en cada dosis, siendo de 1 hora para 10 mg/kg, de 1.5 h para 17.78 y 23.71 (mg/kg) y 2 h para 31.62 mg/kg. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($***p<0.001$) a las 0.5 h y 4.0 h de la evaluación entre dos dosis experimentales (23.71 y 31.62 mg/kg) y la dosis inferior de 10 mg/kg. Existe también diferencia significativa ($**p<01$) con la dosis de 10mg/kg respecto a 17.78 mg/kg a las 0.5 h y 4 h. Una vez llegando al efecto máximo en la curva del CT, los efectos con las dosis de 17.78 y 23.71 (mg/kg) decrecen a través del tiempo. La duración del IF% con la dosis de 31.62 mg/kg permanecen durante la evaluación de 4 h. Con la dosis inferior de 10 mg/kg el IF% permanece por debajo del 10% durante el tiempo experimental.

En la figura 30^a son graficados los efectos globales obtenidos del área bajo la curva de los cursos temporales de las distintas dosis de Tra. Se encontraron diferencias significativas ($***p<0.001$) del efecto antinociceptivo entre todas las dosis experimentales. El Tra produjo un efecto antinociceptivo representado como efecto global (ABC) dependiente de la dosis en un nivel moderado de nocicepción.

La figura 30B representa la CDR de Tra en el nivel moderado, se puede observar que la dosis más efectiva fue 31.62 mg/kg.

Tramadol (mg/kg)	Efectos globales (ABC) ± EE	Latencia inicio acción (h)	Latencia efecto máximo (h)
10	16.74 ± 5.90	0.5	1.0
17.78	126.76 ± 18.12	0.5	1.5
23.71	234.83 ± 24.48	0.5	1.5
31.62	335.11 ± 5.60	0.5	2.0

Tabla 5. Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de tramadol en un nivel moderado de nocicepción.

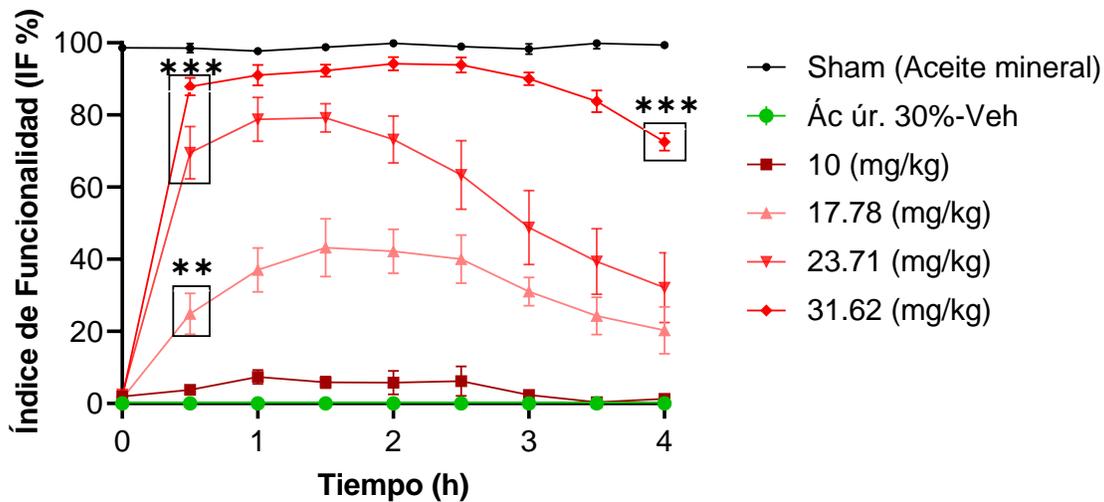


Figura 29. CT de las dosis individuales de tramadol, en el modelo PIFIR, en un nivel moderado de nocicepción. Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. ***p<0.001 a las 0.5 h y 4.0 h vs 10 mg/kg y una diferencia significativa **p<01 vs 10 mg/kg. Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

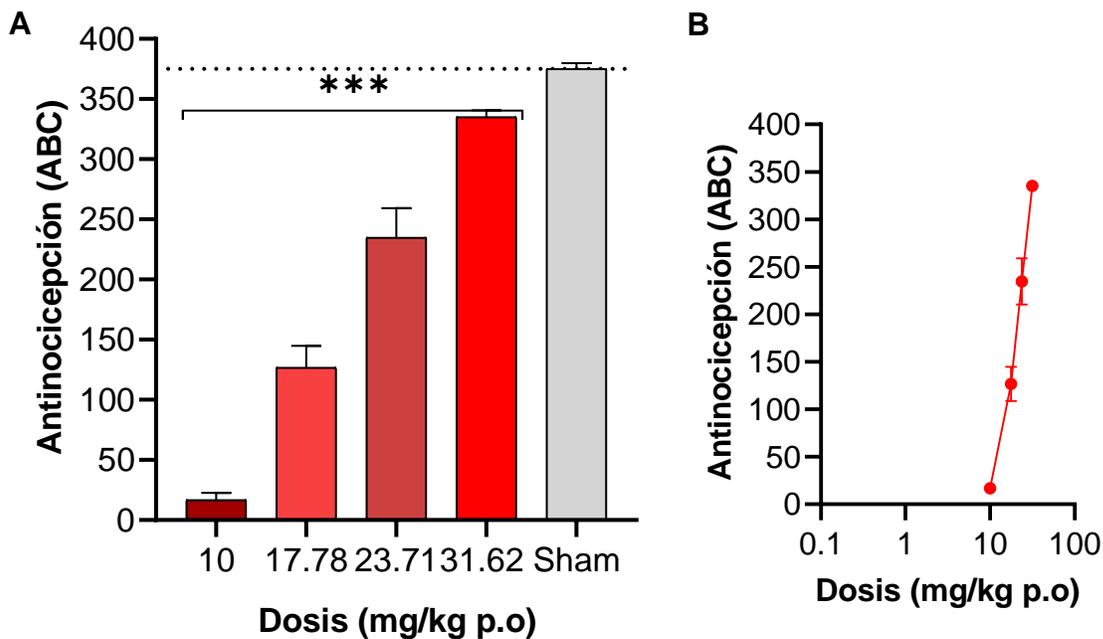


Figura 30. A) Efectos globales de las dosis individuales de tramadol obtenidos como ABC de los CT en un nivel moderado de nocicepción. B) CDR del efecto antinociceptivo de tramadol en el nivel I. A y B: Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. Existen diferencias estadísticamente significativas (**p<0.001) entre todas las dosis experimentales. Anova de una vía, seguido de una prueba Tukey.

7.3.2 Nivel subintenso

En la figura 31 se observa el curso temporal de Tra en las dosis empleadas (10, 17.78, 23.71 y 31.62 mg/kg) en un nivel subintenso de nocicepción. Destacando parámetros del CT, se observa que la latencia del inicio de acción para todas las dosis fue de 30 minutos. La latencia al efecto máximo difirió en cada dosis, siendo de 1.5 horas para 10, 17.78 y 23.71 (mg/kg), y de 1.5 h para 31.62 mg/kg. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas (**p<0.001) a las 0.5 h entre tres dosis experimentales (17.78, 23.71 y 31.62 mg/kg) y la dosis inferior de 10 mg/kg. Una vez llegando al efecto máximo en la curva del CT, el efecto antinociceptivo con las dosis de 17.78 mg/kg decae a través del tiempo. El efecto de la dosis más alta (31.62 mg/kg) permanece durante el tiempo de evaluación (4 h). Con la dosis inferior de 10 mg/kg el IF% permanece por debajo del 10% durante el tiempo experimental.

En la figura 32A se graficaron los efectos globales obtenidos del área bajo la curva de los cursos temporales de las distintas dosis de Tra. Se encontraron diferencias significativas (**p<0.001) del efecto antinociceptivo entre las dosis experimentales inferiores (10 y 17.78 mg/kg) y la dosis más alta (31.62 mg/kg). Existe diferencia estadística (*p<0.05) entre la dosis de 23.71mg/kg y 31.62 mg/kg. El Tra produjo un efecto antinociceptivo representado como efecto global (ABC) dependiente de la dosis en un nivel subintenso de nocicepción.

La figura 32B representa la CDR de Tra en el nivel subintenso, se puede observar que la dosis más efectiva fue 31.62 mg/kg.

Tramadol (mg/kg)	Efectos globales (ABC) ± EE	Latencia inicio acción (h)	Latencia efecto máximo (h)
10	25.27 ± 4.36	0.5	1.5
17.78	139.94 ± 14.68	0.5	1.5
23.71	197.32 ± 21.29	0.5	1.5
31.62	271.55 ± 17.87	0.5	1.0

Tabla 6. Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de Tra en un nivel subintenso de nocicepción.

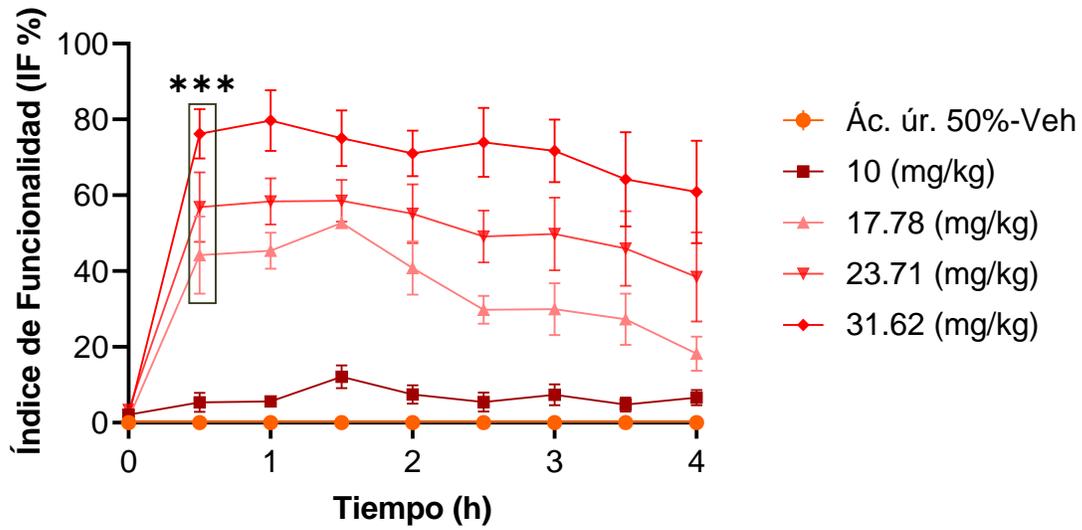


Figura 31. CT de las dosis individuales de Tra en un nivel subintenso de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, $n=5$ /grupo. *** $p<0.001$ a las 0.5 h vs 10 mg/kg. Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

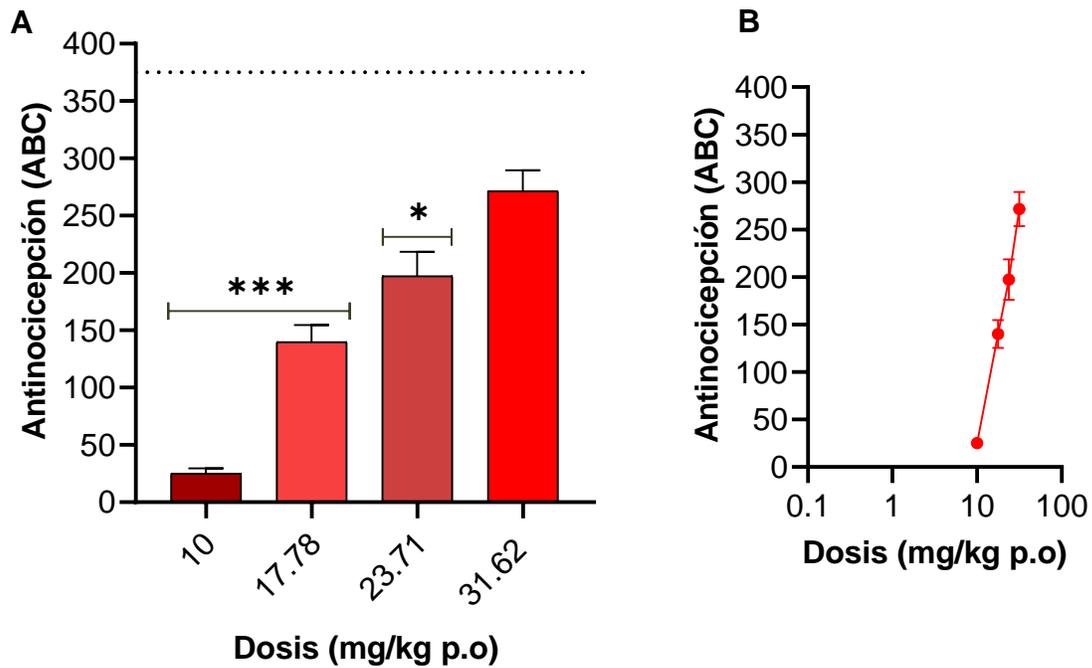


Figura 32. A) Efectos globales de las dosis individuales de Tra obtenidos del ABC de los CT en un nivel subintenso de nocicepción. B) CDR del efecto antinociceptivo de Tra en un nivel subintenso de nocicepción. A y B: Los datos representan la media \pm error estándar, $n=5$ /grupo. *** $p<0.001$ vs 31.62 mg/kg. * $p<0.05$ vs 31.62 mg/kg. Anova de una vía, seguido de una prueba Tukey.

7.3.3 Nivel intenso

En la figura 33 se observa el curso temporal de Tra en las dosis empleadas (10, 17.78, 23.71 y 31.62 mg/kg) en un nivel intenso de nocicepción. Destacando parámetros del CT, se observa que la latencia del inicio de acción para todas las dosis fue de 30 minutos, exceptuando la dosis inferior (10 mg/kg) donde no se observó una respuesta en el aumento de IF%. La latencia al efecto máximo difirió en cada dosis, siendo de 2.0 horas para 17.78 mg/kg, de 1.5 h para 23.71 mg/kg y de 1.0 h para 31.62 mg/kg. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($***p<0.001$) a las 0.5 h entre dos dosis empleadas (23.71 y 31.62 mg/kg) y la dosis inferior de 10 mg/kg. Se encontró diferencia ($**p<0.01$) a las 0.5 h en los efectos de 10 mg/kg vs 17.78 mg/kg. Una vez llegando al efecto máximo en la curva del CT en cada dosis, se observa posteriormente un descenso del IF% a través del tiempo.

En la figura 34A se graficaron los efectos globales obtenidos del área bajo la curva de los cursos temporales de las distintas dosis de Tra. Se encontraron diferencias significativas ($***p<0.001$) del efecto antinociceptivo (ABC) entre dos dosis experimentales (23.71 y 31.62 mg/kg) y la dosis inferior de 10 mg/kg. Existe diferencia estadística ($**p<0.01$) entre la dosis de 10 mg/kg y 17.78 mg/kg. El Tra produjo un efecto antinociceptivo representado como efecto global (ABC) dependiente de la dosis en un nivel intenso de nocicepción.

La figura 34B representa la CDR de Tra en el nivel intenso, se puede observar que la dosis más efectiva fue 31.62 mg/kg.

Tramadol (mg/kg)	Efectos globales (ABC) \pm EE	Latencia inicio acción (h)	Latencia efecto máximo (h)
10	4.13 \pm 1.88	0.5	0
17.78	112.92 \pm 20	0.5	2.0
23.71	180.35 \pm 20.24	0.5	1.5
31.62	238.59 \pm 24.24	0.5	1.0

Tabla 7. Parámetros obtenidos del curso temporal y efectos globales (ABC) en unidades de área (ua) de las dosis de Tra en un nivel intenso de nocicepción.

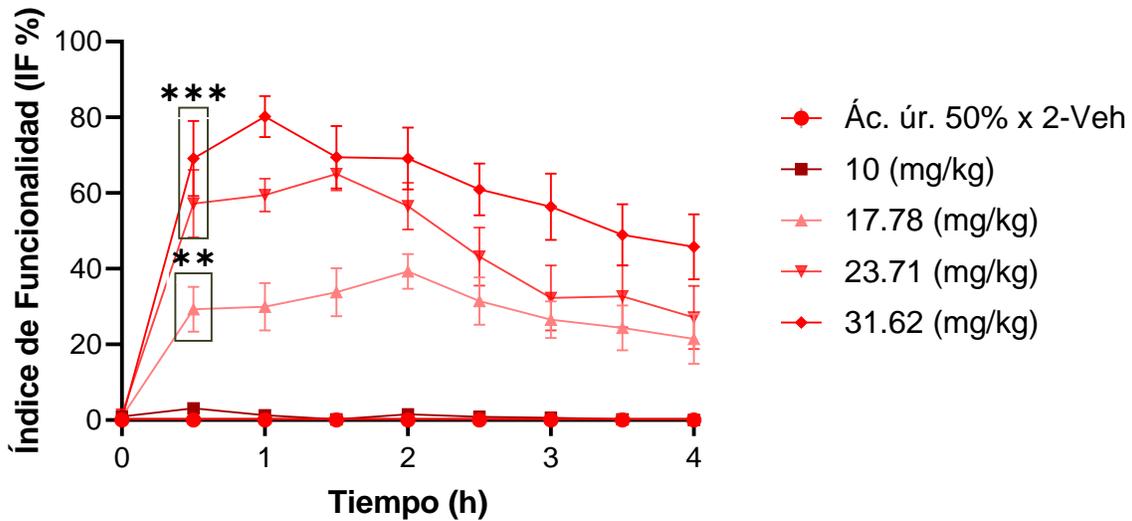


Figura 33. CT de las dosis individuales de Tra en un nivel intenso de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. ***p<0.001 a las 0.5 h vs 10 mg/kg. Diferencia significativa **p<0.01 vs 10 mg/kg en el tiempo de 0.5 h. Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

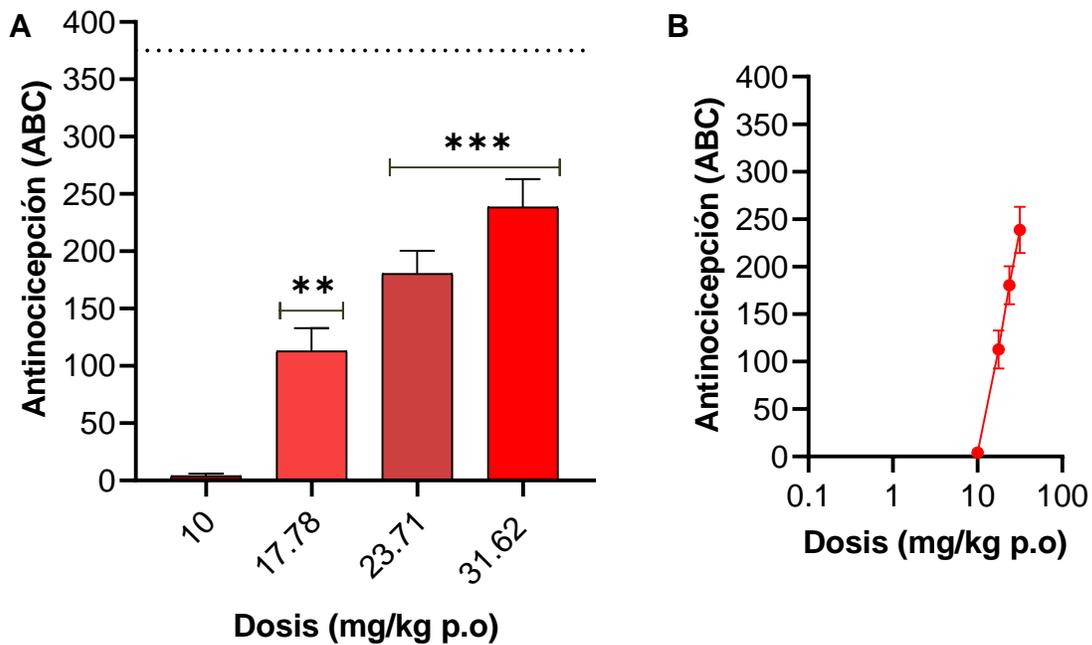


Figura 34. A) Efectos globales de las dosis individuales de Tra en un nivel subintenso de nocicepción, en el modelo PIFIR. B) CDR del efecto antinociceptivo de Tra en el nivel III. A y B: Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. ***p<0.001 vs 10 mg/kg. **p<0.01 vs 10 mg/kg. Anova de una vía, seguido de una prueba Tukey.

7.3.4 Comparativa de tramadol en tres niveles de nocicepción

En la figura 35 se observa el comportamiento antinociceptivo representado por área bajo la curva obtenido de los CT de cuatro dosis de tramadol (10,17.78,23.71 y 31.62 mg/kg), administrado por vía oral, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso). No existen diferencias estadísticas entre los efectos antinociceptivos la dosis de 10, 17.78 y 23.71 (mg/k) en los diferentes niveles nocicepción. Existen diferencias significativas (**p<0.01) de los efectos globales (ABC) de la dosis más alta (31.62 mg/kg) en un nivel moderado e intenso de nocicepción. Existe una reducción del efecto global de la dosis de 31.62 mg/kg del 28.80% en el nivel intenso, con respecto al nivel moderado.

Tramadol (mg/kg)	Moderado Efectos globales (ABC) ± EE	Subintenso Efectos globales (ABC) ± EE	Intenso Efectos globales (ABC) ± EE
10	16.74 ± 5.90	25.27 ± 4.36	4.13 ± 1.88
17.78	126.8 ± 18.12	139.9 ± 14.68	112.92 ± 20
23.71	234.8 ± 24.48	197.3 ± 21.29	180.35 ± 20.04
31.62	335.1 ± 5.60	271.6 ± 17.87	238.59 ± 24.24

Tabla 8. Efectos globales (ABC) en unidades de área de los efectos antinociceptivos de Tra en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR.

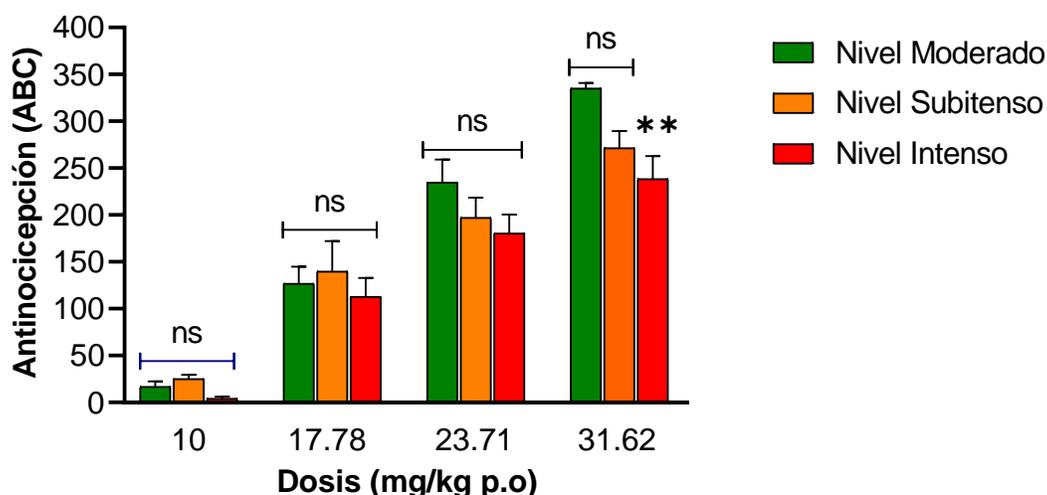


Figura 35. Efectos globales (ABC) antinociceptivos de tramadol en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR. Sin diferencia significativa (ns). **p<0.01 vs moderado y subintenso. Anova de dos vías, seguido de una prueba post hoc, Tukey.

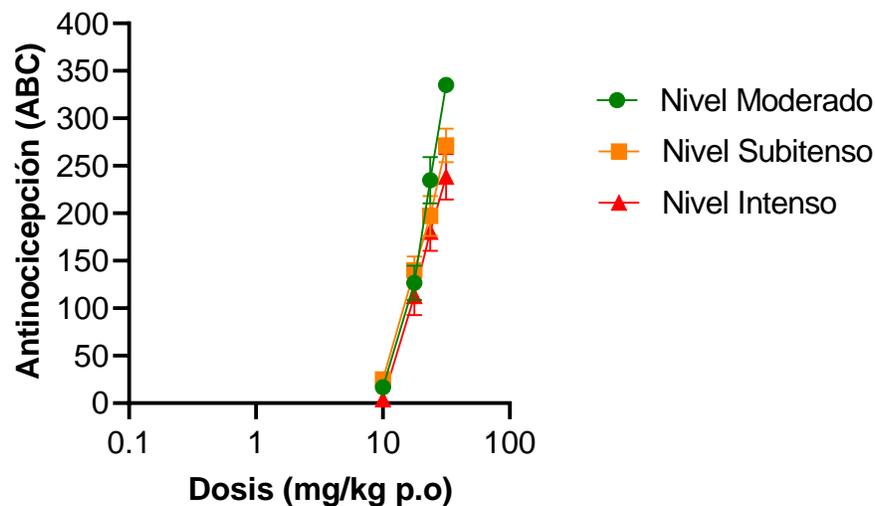


Figura 36. Curva dosis respuesta de ketorolaco, en diferentes niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR. Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. El eje X representa los efectos antinociceptivos expresados como ABC obtenido de los CT. El eje Y representa las dosis empleadas de Ket en mg/kg.

7.4 Ketorolaco y tramadol en tres niveles de nocicepción

En la figura 37 se muestran las CDR de Ket y Tra, tras administración por vía oral, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso). En la CDR, de Ket y Tra en el nivel moderado, las dosis más efectivas fueron 3.16mg/kg y 31.62 mg/kg, respectivamente. No se encuentran diferencias significativas (ns) en los efectos globales de Ket y Tra, con respecto a sus dosis más efectivas en un nivel moderado de nocicepción. La dosis para alcanzar un efecto de 200 unidades de área del ABC de los CT es de 1.37 mg/kg para el Ket y de 22.22 mg/kg para Tra, interpretando que el Ket es 16 veces más potente que el Tra, en un nivel moderado. En la CDR, de Ket y Tra en el nivel subintenso, las dosis eficaces fueron 3.16mg/kg y 31.62 mg/kg, respectivamente. No se encuentran diferencias significativas (ns) en los efectos globales de Ket y Tra, con respecto a sus dosis eficaces en el nivel subintenso. La dosis para alcanzar un efecto de 200 unidades de área de ABC de los CT es de 1.97 mg/kg para el ket y de 24.45 mg/kg para Tra, interpretando que el Ket es 12 veces más potente que el Tra, en un nivel subintenso de nocicepción. En la CDR, las dosis más efectivas de Tra fue de 31.62 mg/kg en un nivel intenso

de nocicepción. No hubo una respuesta en los efectos antinociceptivos de Ket en este nivel nociceptivo (intenso). Existen diferencias estadísticamente significativas (**p<0.001) en los efectos globales antinociceptivos de los tratamientos, resaltando que Tra tiene mayor eficacia que Ket en un nivel intenso de nocicepción artrítica, en el modelo PIFIR.

Parámetros	Nivel I (Moderado)		Nivel II (Subintenso)		Nivel III (Intenso)	
	Ket	Tra	Ket	Tra	Ket	Tra
Em ₅₀ (ABC) ua ± EE	286.8 ± 15.02	335.1 ± 5.60	314 ± 16.07	271.6 ± 17.87	45.76 ± 13.45	238.59 ± 24.24
Eficacia	Tra > Ket		Ket > Tra		Tra > Ket	
Dosis/200 (ABC) ua	1.37 mg/kg	22.22 mg/kg	1.97 mg/kg	24.45 mg/kg	No existen efectos	26.84 mg/kg
Potencia	Ket 16 veces > Tra		Ket 12 veces > Tra		Sin determinar	

Tabla 9. Comparativa de la respuesta antinociceptiva (eficacia y potencia) de ketorolaco y tramadol, tras administración por vía oral, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR.

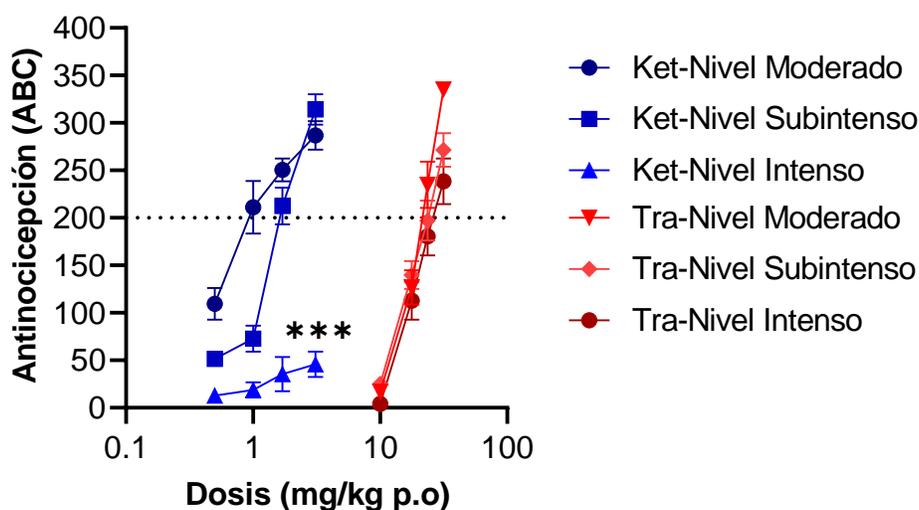


Figura 37. Curvas dosis respuesta de ketorolaco y tramadol, tras administración por vía oral, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en el modelo PIFIR. Los datos representan la media +/- error estándar, n=5/grupo. El eje X representa los efectos antinociceptivos expresados como ABC obtenido de los CT. El eje Y representa las dosis empleadas de Ket y Tra en mg/kg. *p<0.001 vs Ket y Tra en el nivel moderado, subintenso e intenso. Anova de una vía, seguido de una prueba post hoc, tukey.**

7.5 Combinación 1 (alto efecto de potenciación) en diferentes niveles de nocicepción

7.5.1 Nivel moderado

En la figura 38 se observan el curso temporal de los efectos antinociceptivos en el nivel moderado, de la combinación 1; conformada por 0.56mg/kg de Ket + 10 mg/kg de Tra. También se graficaron las dosis individuales (0.56mg/kg y 10mg/kg) de Ket y Tra. En parámetros obtenidos en el CT, la latencia al inicio de acción de la C1 y los componentes individuales, fue de 0.5 h. Existe diferencia estadísticamente significativa (**p<0.001) a la hora de evaluación entre la C1 vs Ket y Tra. Después de alcanzar el efecto máximo obtenido a la hora en el CT, los efectos de la C1, Ket y Tra decrecen a través del tiempo.

En la figura 39, fueron graficados los efectos globales, obtenidos del área bajo la curva de los CT de C1 en el nivel moderado de nocicepción. El efecto global de Tra 10 mg/kg fue de 16.74 ± 12.69 ua. El efecto global de Ket 0.56 mg/kg fue de 109.66 ± 16.75 ua. La suma teórica de Ket + Tra en las dosis anteriormente mencionados fue 126.4 ± 12.76 . Existe diferencia estadísticamente significativa (**p<0.001) entre la C1 y la suma teórica, encontrando una interacción farmacológica con efectos supraaditivos o de potenciación del 101%, con efectos globales de 252.93 ± 5.9 .

Tramadol (mg/kg)	Efectos globales (ABC) \pm EE	
Tra 10	16.74 ± 12.69	
Ket 0.56	109.66 ± 16.75	
Suma teórica	126.4 ± 12.76	
Ket 0.56 + Tra 10	252.93 ± 5.9	Interacción farmacológica: Efectos supraaditivos 101%

Tabla 10. Efectos globales (ABC) de la combinación 1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 1 (de máxima potenciación) en el nivel moderado de nocicepción.

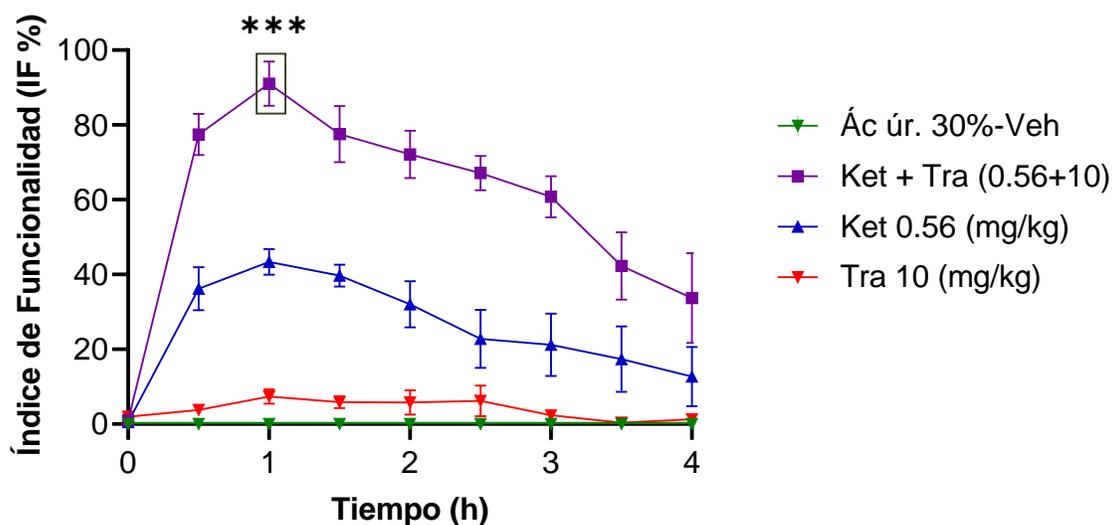


Figura 38. Curso temporal de las dosis individuales de Ket (0.56mg/kg), Tra (10 mg/kg) y C1 (Ket 0.56mg/kg +Tra 10 mg/kg) en el nivel moderado de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. (***) $p < 0.001$ a 1.0 h vs Ket (0.56mg/kg) y Tra (10 mg/kg). Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

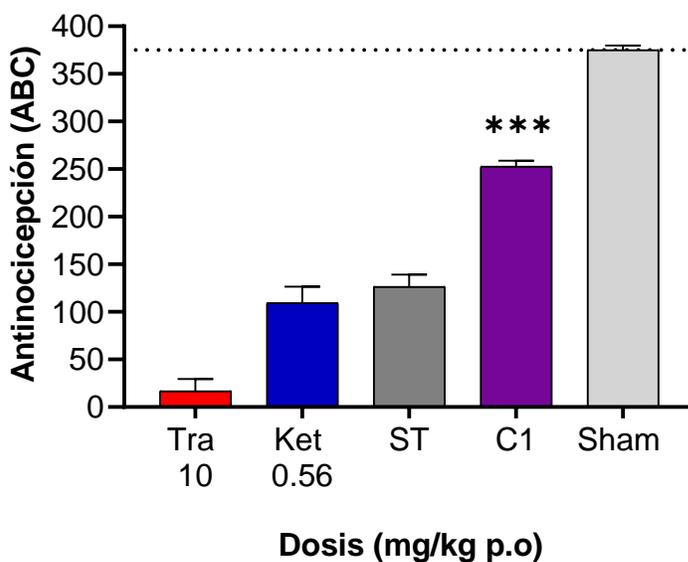


Figura 39. Efecto antinociceptivo global (ABC) de las dosis individuales de ketorolaco (0.56mg/kg), tramadol (10 mg/kg) y combinación 1 (Ket 0.56mg/kg +Tra 10 mg/kg) en el nivel moderado de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. (***) $p < 0.001$ vs suma teórica. Prueba t de Student con corrección de Bonferroni.

7.5.2 Nivel subintenso

En la figura 40 se observan el curso temporal de los efectos antinociceptivos en el nivel subintenso, de la combinación 1; conformada por 0.56mg/kg de Ket + 10 mg/kg de Tra. También se graficaron las dosis individuales (0.56mg/kg y 10mg/kg) de Ket y Tra. En parámetros obtenidos en el CT, la latencia al inicio de acción de la combinación 1 y los componentes individuales, fue de 0.5 h. Existe diferencia estadísticamente significativa (**p<0.001) a la hora de evaluación entre la C1 vs Ket y Tra. Después de alcanzar el efecto máximo obtenido a la hora en el CT, los efectos de la C1, Ket y Tra decrecen a través del tiempo.

En la figura 41, se graficaron los efectos globales, obtenidos del área bajo la curva de los CT de C1 en el nivel subintenso de nocicepción. El efecto global de Tra 10 mg/kg fue de 25.27 ± 4.36 ua. El efecto global de Ket 0.56 mg/kg fue de 51.36 ± 6.73 ua. La suma teórica de Ket + Tra en las dosis anteriormente mencionados fue 76.63 ± 5.67 . Existe diferencia estadísticamente significativa (**p<0.001) entre la C1 y la suma teórica, encontrando una interacción farmacológica con efectos supraaditivos o de potenciación del 76 %, con efectos globales de 134.57 ± 21.69 .

Tramadol (mg/kg)	Efectos globales (ABC) ± EE	
Tra 10	25.27 ± 4.36	
Ket 0.56	51.36 ± 6.73	
Suma teórica	76.63 ± 5.67	
Ket 0.56 + Tra 10	134.57 ± 21.69	Interacción farmacológica: Efectos supraaditivos 76 %

Tabla 11. Efectos globales (ABC) de la combinación 1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 1 en el nivel subintenso de nocicepción.

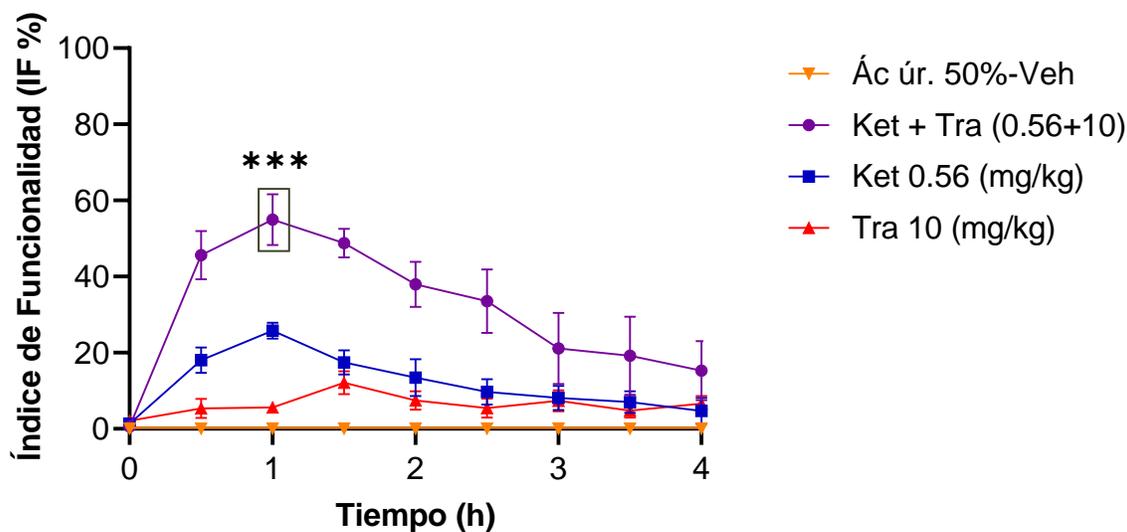


Figura 40. CT de las dosis individuales de Ket (0.56mg/kg), Tra (10 mg/kg) y C1 (Ket 0.56mg/kg +Tra 10 mg/kg) en el nivel subintenso de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. (***) $p < 0.001$ a 1.0 h vs Ket (0.56mg/kg) y Tra (10 mg/kg). Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

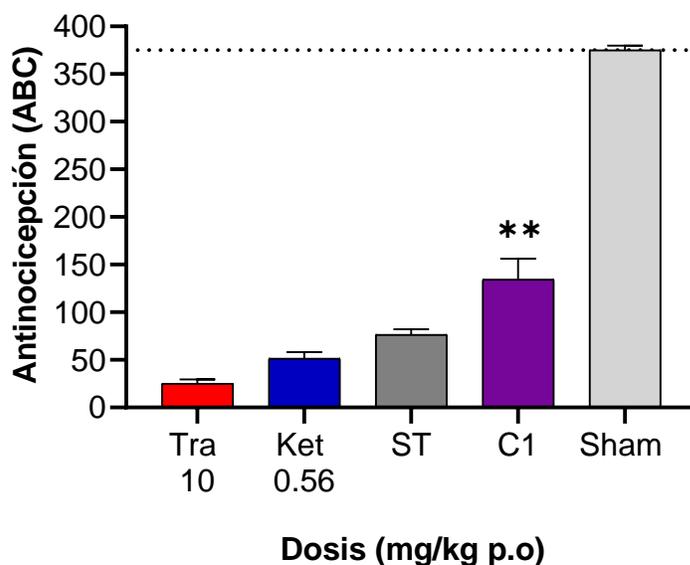


Figura 41. Efecto antinociceptivo global (ABC) de las dosis individuales de Ket (0.56mg/kg), Tra (10 mg/kg) y C1 (Ket 0.56mg/kg +Tra 10 mg/kg) en el nivel subintenso de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. (***) $p < 0.001$ vs suma teórica. Prueba t de Student con corrección de Bonferroni.

7.5.3 Nivel intenso

En la figura 42 se observa el curso temporal de los efectos antinociceptivos en el nivel intenso, de la combinación 1; conformada por 0.56mg/kg de Ket + 10 mg/kg de Tra. También se graficaron las dosis individuales (0.56mg/kg y 10mg/kg) de Ket y Tra. Existe diferencia estadísticamente significativa (**p<0.001) a la hora de evaluación entre la C1 vs Tra.

En la figura 43, se graficaron los efectos globales, obtenidos del área bajo la curva de los CT. El efecto global de Tra 10 mg/kg fue de 4.13 ± 1.88 ua. El efecto global de Ket 0.56 mg/kg fue de 12.85 ± 6.37 ua. La suma teórica de Ket + Tra en las dosis anteriormente mencionados fue 16.98 ± 6.64 . No existe diferencia estadísticamente significativa (ns) entre la C1 y la suma teórica, encontrando una interacción farmacológica con efectos aditivos, con efectos globales de 48.49 ± 25.2 ua.

Tramadol (mg/kg)	Efectos globales (ABC) \pm EE	
Tra 10	4.13 ± 1.88	
Ket 0.56	12.85 ± 6.37	
Suma teórica	16.98 ± 6.64	
Ket 0.56 + Tra 10	48.49 ± 25.2	Interacción farmacológica: Efectos aditivos

Tabla 12. Efectos globales (ABC) de la combinación 1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 1 en el nivel intenso de nocicepción.

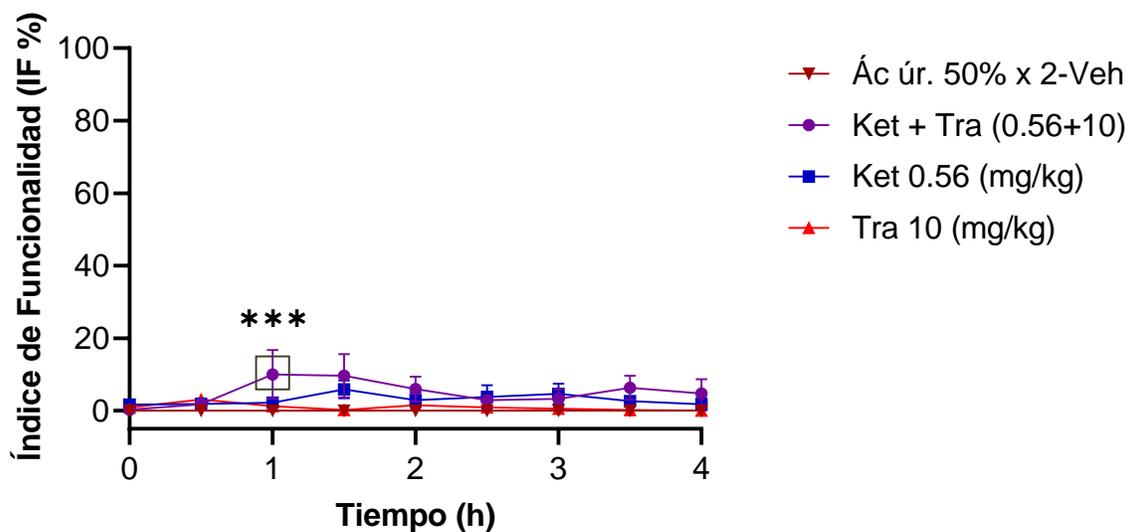


Figura 42. CT de las dosis individuales de Ket (0.56mg/kg), Tra (10 mg/kg) y C1 (Ket 0.56mg/kg +Tra 10 mg/kg) en el nivel intenso de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. (***) $p < 0.001$ a 1.0 h vs Tra (10 mg/kg). Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

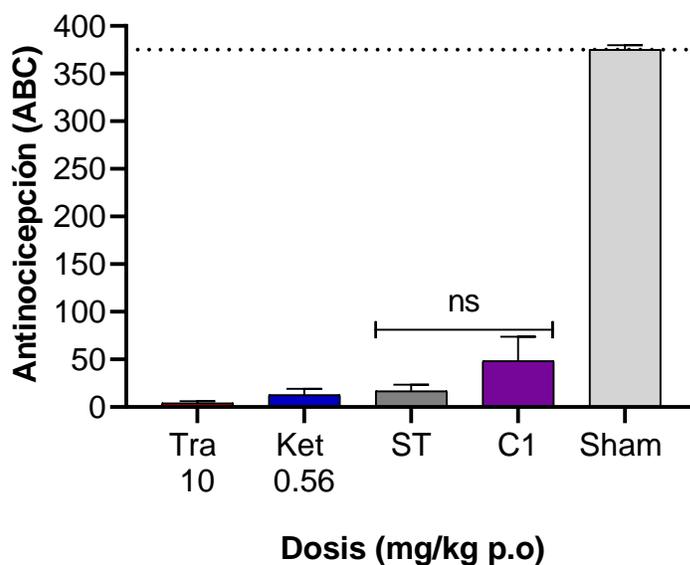


Figura 43. Efecto antinociceptivo global (ABC) de las dosis individuales de Ket (0.56mg/kg), Tra (10 mg/kg) y C1 (Ket 0.56mg/kg +Tra 10 mg/kg) en el nivel intenso de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. No significancia estadística (ns) vs suma teórica. Prueba t de Student con corrección de Bonferroni.

7.5.4 Comparativa de C1 en diferentes niveles de nocicepción

En la figura 44 se muestran los efectos globales de las dosis individuales de Ket (0.56mg/kg), Tra (10 mg/kg) y la combinación 1 (Ket 0.56mg/kg + Tra 10 mg/kg) en tres niveles de nocicepción artrítica (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR. No existe diferencia significativa (ns) con la dosis individual de Tra en tres niveles evaluados. La dosis individual de Ket presenta diferencia entre las intensidades de nocicepción, viéndose reducidos los efectos conforme se incrementa la intensidad. Para el nivel subintenso hay diferencia estadística (**p<0.01) de la dosis de Ket (0.56 mg/kg) con respecto al nivel moderado, mientras que para un nivel intenso la diferencia se incrementa (**p<0.001). La combinación 1 sufre cambios en la interacción farmacológica de los efectos antinociceptivos evaluados entre los niveles experimentales. En un nivel moderado de nocicepción, la C1 arrojo un resultado de efectos supraaditivos del 101% con respecto a su suma teórica. Para el nivel subintenso esta combinación (C1) permaneció con efectos de potenciación del 75%, viéndose claramente reducido la interacción en un 26% con respecto al nivel moderado. Para el nivel intenso, la C1 genero efectos aditivos o de suma, con efectos globales de 21.17 ± 10.19 ua.

DOSIS (mg/kg)	MODERADO Efectos globales (ABC) ± EE	SUBINTENSO Efectos globales (ABC) ± EE	INTENSO Efectos globales (ABC) ± EE
Tra 10	16.74 ± 5.9	25.27 ± 4.36	4.13 ± 1.88
Ket 0.56	109.56 ± 16.8	51.36 ± 6.73	12.85 ± 6.37
Suma teórica	126.4 ± 12.6	76.63 ± 5.67	16.98 ± 4.70
C1	252.93 ± 5.9	134.57 ± 21.7	21.17 ± 10.19
Interacción	Potenciación (101%)	Potenciación (75%)	Aditivos

Tabla 13. Comparativa de los efectos globales (ABC) antinociceptivos de la combinación 1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR. Resultado de interacción farmacológica de la C1 en los tres niveles experimentales.

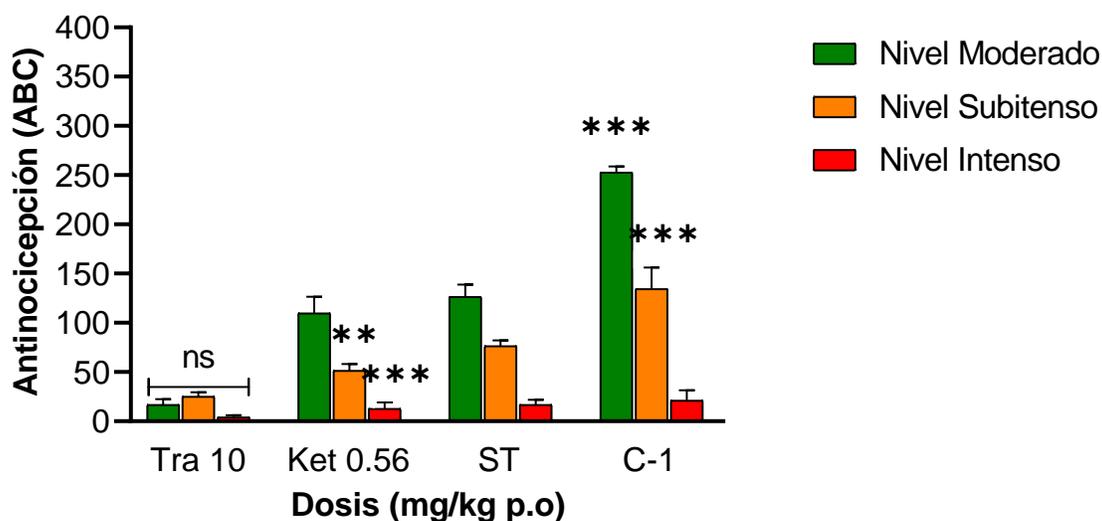


Figura 44. Efectos antinociceptivos de la combinación 1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) expresados en área bajo la curva (ABC) obtenidos de los CT en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. No significancia estadística (ns) en Tra 10 mg/kg. Ket 0.56mg/kg, **p<0.01 vs Moderado. Ket 0.56mg/kg, ***p<0.001 vs Moderado. C1, ***p<0.001 vs Nivel intenso. Anova de vías, seguido de una prueba post hoc, tukey.

7.6 Combinación 2 (de máximo efecto) en diferentes niveles de nocicepción

7.6.1 Nivel moderado

En la figura 45 se observan el curso temporal de los efectos antinociceptivos en el nivel moderado, de la combinación 2; conformada por 1.78 mg/kg de Ket + 17.78 mg/kg de Tra. También fueron graficadas las dosis individuales (1.78 mg/kg y 17.78 mg/kg) de Ket y Tra. En parámetros obtenidos en el CT, la latencia al inicio de acción de la combinación 2 y los componentes individuales, fue de 0.5 h. Existe diferencia estadísticamente significativa (**p<0.001) a las 0.5 h y 4h de evaluación entre la C2 vs Ket y Tra. Después de alcanzar el efecto máximo obtenido a la hora en el CT, los efectos de la C2 y de Ket permanece durante las 4 h de evaluación. Después de 2.5 h en el CT el IF% decrecen a través del tiempo con los efectos de 17.78 mg/kg de Tra.

En la figura 46 se graficaron los efectos globales, obtenidos del área bajo la curva de los CT. El efecto global de Tra 17.78 mg/kg fue de 126.76 ± 18.12 ua. El efecto global de Ket 1.78 mg/kg fue de 250.41 ± 11.97 ua. La suma teórica de Ket + Tra

en las dosis anteriormente mencionados fue 377.17 ± 15.36 . No existe diferencia estadísticamente significativa (ns) entre la C2 y la suma teórica, encontrando una interacción farmacológica con efectos aditivos o de suma, los efectos globales registrados de C2 fueron de 345.36 ± 7.27 ua.

Tramadol (mg/kg)	Efectos globales (ABC) \pm EE	
Tra 17.78	126.76 ± 18.12	
Ket 1.78	250.41 ± 11.97	
Suma teórica	377.17 ± 15.36	
Ket 1.78 + Tra 17.78	345.36 ± 7.27	Interacción farmacológica: Efectos aditivos

Tabla 14. Efectos globales (ABC) de la combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 2 en el nivel moderado de nocicepción.

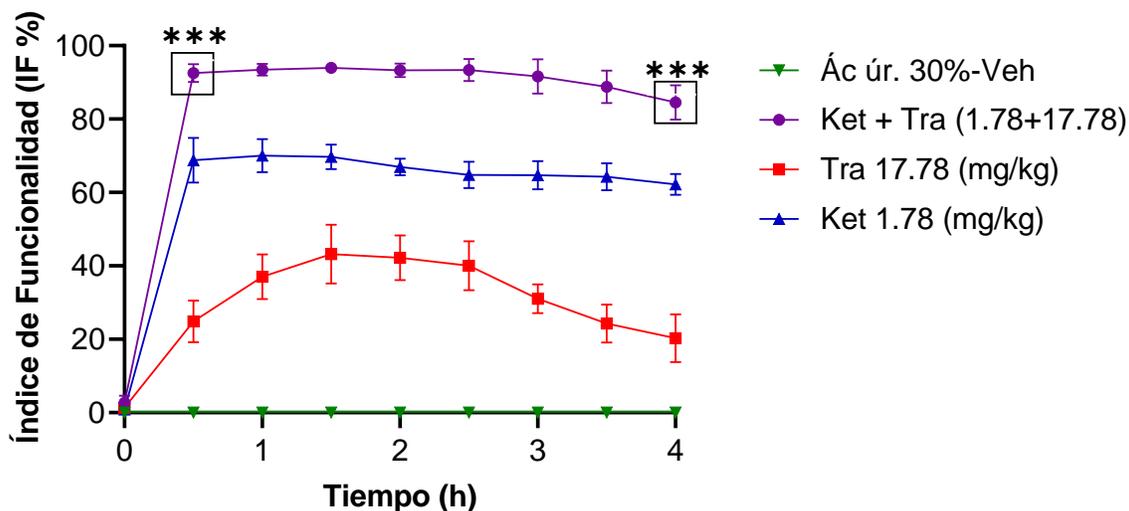


Figura 45. CT de las dosis individuales de Ket (1.78mg/kg), Tra (17.78 mg/kg) y C1 (Ket 1.78 mg/kg +Tra 17.78 mg/kg) en el nivel moderado de nocicepción, modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. (***) $p < 0.001$ a 1.0 h vs Ket (1.78 mg/kg) y Tra (17.78 mg/kg). Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

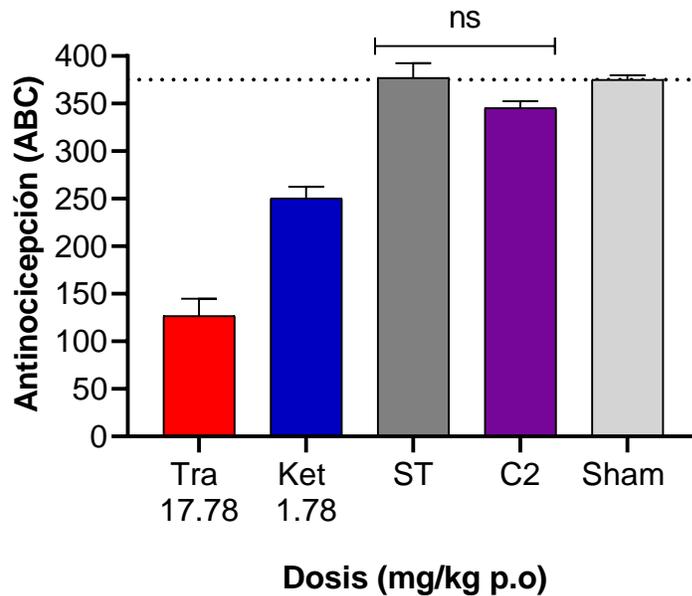


Figura 46. Efecto antinociceptivo global (ABC) de las dosis individuales de Ket (1.78 mg/kg), Tra (17.78 mg/kg) y C1 (Ket 1.78 mg/kg +Tra 17.78 mg/kg) en el nivel moderado de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. Sin diferencia significativa (ns) vs suma teórica. Prueba t de Student con corrección de Bonferroni.

7.6.2 Nivel subintenso

En la figura 47 se observan el curso temporal de los efectos antinociceptivos en el nivel subintenso, de la combinación 2; conformada por 1.78 mg/kg de Ket + 17.78 mg/kg de Tra. También se graficaron las dosis individuales (1.78 mg/kg y 17.78 mg/kg) de Ket y Tra. En parámetros obtenidos en el CT, la latencia al inicio de acción de la combinación 2 y los componentes individuales, fue de 0.5 h. Existe diferencia estadísticamente significativa ($***p<0.001$) a las 0.5 h de evaluación entre la C2 vs Ket y Tra. Sin diferencia significativa entre los efectos de las dosis individuales de Ket y Tra (1.78 y 17.78 mg/kg, respectivamente). A las 4 h de evaluación existe diferencia significativa ($***p<0.001$) entre los efectos de la C2 y Tra. Sin significancia estadística (ns) a las 4 h entre C2 y Ket. Después de alcanzar el Emáx obtenido a la hora en el CT, los efectos de la C2 y de Ket permanece durante las 4 h de evaluación. Después de 1.5 h en el CT el IF% decrece a través del tiempo con los efectos de 17.78 mg/kg de Tra.

En la figura 48, se graficaron los efectos globales, obtenidos del área bajo la curva de los CT. El efecto global (ABC) de Tra 17.78 mg/kg fue de 139.94 ± 14.68 ua. El efecto global (ABC) de Ket 1.78 mg/kg fue de 214.23 ± 19.4 ua. La suma teórica de Ket + Tra en las dosis anteriormente mencionados fue 354.17 ± 17.21 . No existe diferencia estadísticamente significativa (ns) entre la C2 y la suma teórica, encontrando una interacción farmacológica con efectos aditivos o de suma, los efectos globales registrados de C2 fueron de 323.21 ± 5.75 ua.

Tramadol (mg/kg)	Efectos globales (ABC) \pm E. E	
Tra 17.78	139.94 ± 14.68	
Ket 1.78	214.23 ± 19.4	
Suma teórica	354.17 ± 17.21	
Ket 1.78 + Tra 17.78	323.21 ± 5.75	Interacción farmacológica: Efectos aditivos

Tabla 15. Efectos globales (ABC) de la combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 2 en el nivel subintenso de nocicepción.

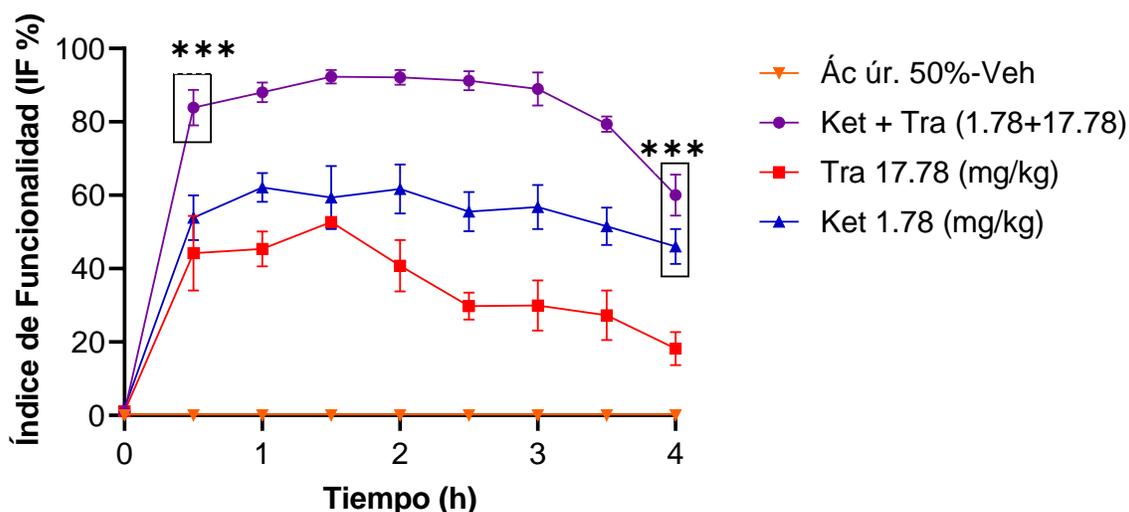


Figura 47. CT de las dosis individuales de Ket (1.78mg/kg), Tra (17.78 mg/kg) y C1 (Ket 1.78 mg/kg +Tra 17.78 mg/kg) en el nivel subintenso de nocicepción, modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. (***)p<0.001) a 1.0 h vs Ket (1.78 mg/kg) y Tra (17.78 mg/kg). (***)p a las 4 h vs Tra (17.78 mg/kg). Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

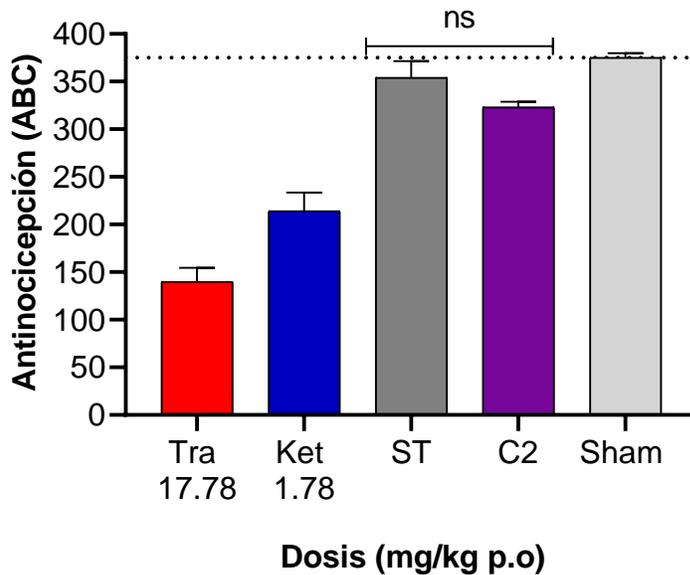


Figura 48. Efecto antinociceptivo global (ABC) de las dosis individuales de Ket (1.78 mg/kg), Tra (17.78 mg/kg) y C1 (Ket 1.78 mg/kg +Tra 17.78 mg/kg) en el nivel subintenso de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. Sin diferencia significativa (ns) vs suma teórica. Prueba t de Student con corrección de Bonferroni.

7.6.3 Nivel intenso

En la figura 49 se observan el curso temporal de los efectos antinociceptivos en el nivel intenso, de la combinación 2; conformada por 1.78 mg/kg de Ket + 17.78 mg/kg de Tra. También se graficaron las dosis individuales (1.78 mg/kg y 17.78 mg/kg) de Ket y Tra. En parámetros obtenidos en el CT, la latencia al inicio de acción de la combinación 2 y de Tra 17.78 mg/kg, fue de 0.5 h. Mientras que la latencia de inicio de acción de Ket 1.78mg/kg fue a 1 h. Existe diferencia estadísticamente significativa ($***p<0.001$) a las 2.0 h de evaluación entre la C2 vs Ket y Tra. A las 4 h de evaluación existe diferencia significativa ($***p<0.001$) entre los efectos de la C2 y Ket 1.78 mg/kg. Sin significancia estadística (ns) a las 4h entre C2 y Tra 17.78 mg/kg. Después de alcanzar el efecto máximo obtenido a las 2h en el CT, los efectos de la C2 y de Tra decrecen en el tiempo. Mientras que los efectos de Ket 1.78 mg/kg permanecen por debajo de 10% de IF.

En la figura 50 se graficaron los efectos globales, obtenidos del área bajo la curva de los CT. El efecto global (ABC) de Tra 17.78 mg/kg fue de 112.92 ± 20 ua. El

efecto global de Ket 1.78 mg/kg fue de 35.46 ± 18.11 ua. La suma teórica de Ket + Tra en las dosis anteriormente mencionados fue 148.38 ± 19.08 ua. Existe diferencia estadísticamente significativa (** $p > 0.01$) entre la C2 y la suma teórica, encontrando una interacción farmacológica con efectos supraaditivos o de potenciación, los efectos globales registrados de C2 fueron de 238.06 ± 11 ua.

Tramadol (mg/kg)	Efectos globales (ABC) \pm E. E	
Tra 17.78	112.92 ± 20	
Ket 1.78	35.46 ± 18.11	
Suma teórica	148.38 ± 19.08	
Ket 1.78 + Tra 17.78	238.06 ± 11	Efectos supraaditivos 60 %

Tabla 16. Efectos globales (ABC) de la combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) y de sus componentes individuales. Resultado de la interacción farmacológica de la Combinación 2 en el nivel intenso de nocicepción.

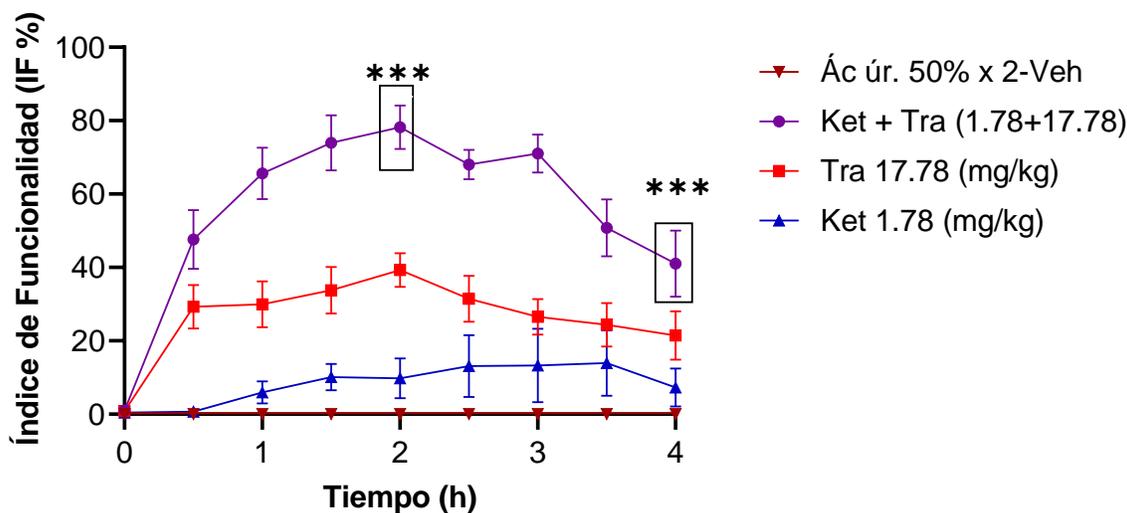


Figura 49. CT de las dosis individuales de Ket (1.78mg/kg), Tra (17.78 mg/kg) y C1 (Ket 1.78 mg/kg +Tra 17.78 mg/kg) en el nivel intenso de nocicepción, modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. (** $p < 0.001$) a 2.0 h vs Ket (1.78 mg/kg) y Tra (17.78 mg/kg). (** p) a las 4 h vs Ket (1.78 mg/kg). Anova de dos vías, seguido de una prueba Tukey.

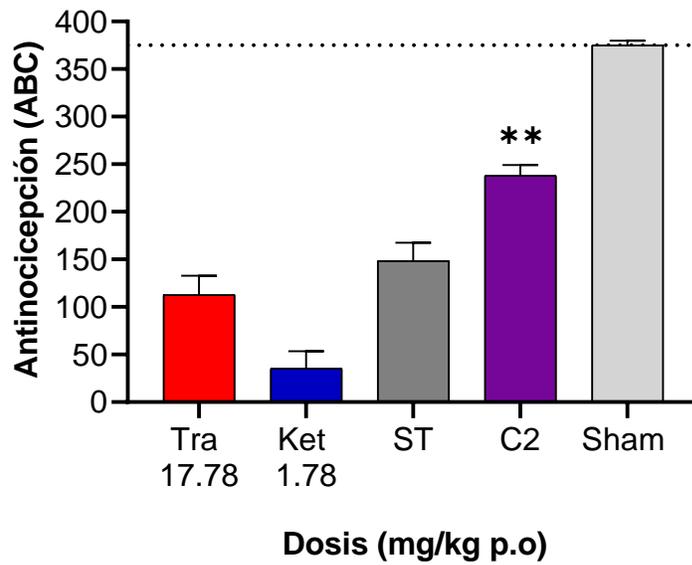


Figura 50. Efecto antinociceptivo global (ABC) de las dosis individuales de Ket (1.78 mg/kg), Tra (17.78 mg/kg) y C1 (Ket 1.78 mg/kg +Tra 17.78 mg/kg) en el nivel intenso de nocicepción, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. **p<0.01 vs suma teórica. Prueba t de Student con corrección de Bonferroni.

7.6.4 Comparativa de C2 en diferentes niveles de nocicepción

En la figura 51 se muestran los efectos globales de las dosis individuales de Ket (1.78 mg/kg), Tra (17.78 mg/kg) y la combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) en tres niveles de nocicepción artrítica (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR. No existe diferencia significativa (ns) con la dosis individual de Tra (17.78 mg/kg) en tres niveles evaluados. Para un nivel intenso Ket (1.78 mg/kg) presenta diferencia estadística (**p<0.001) con respecto al nivel moderado y subintenso obteniendo efectos globales de 35.46 ± 18.11 ua. La combinación 2 sufre cambios en la interacción farmacológica de los efectos antinociceptivos evaluados entre los niveles experimentales. En un nivel moderado de nocicepción, con la C2 se obtuvo un resultado de efectos aditivos o de suma con respecto a la suma teórica de los componentes individuales. Para el nivel subintenso la combinación (C2) permaneció con efectos aditivos. Para el nivel intenso, la C2 generó efectos supraaditivos o de potenciación del 60% con respecto a la ST de las dosis

individuales de Ket y Tra (1.78mg/kg y 17.78 mg/kg, respectivamente) con efectos globales de C2, 238.06 ± 11 ua.

DOSIS (mg/kg)	MODERADO Efectos globales (ABC) \pm E. E	SUBINTENSO Efectos globales (ABC) \pm E. E	INTENSO Efectos globales (ABC) \pm E. E
Tra 17.78	126.76 \pm 18.12	139.94 \pm 14.68	112.92 \pm 20
Ket 1.78	250.41 \pm 11.97	214.23 \pm 19.40	35.46 \pm 18.11
Suma teórica	377.17 \pm 15.35	354.17 \pm 17.21	148.38 \pm 19.08
C2	345.36 \pm 7.27	323.21 \pm 5.75	238.06 \pm 11
Interacción	Aditivos o de suma	Aditivos o de suma	Potenciación

Tabla 17. Comparativa de los efectos globales (ABC) antinociceptivos de la combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR. Resultado de interacción farmacológica de la C2 en los tres niveles experimentales.

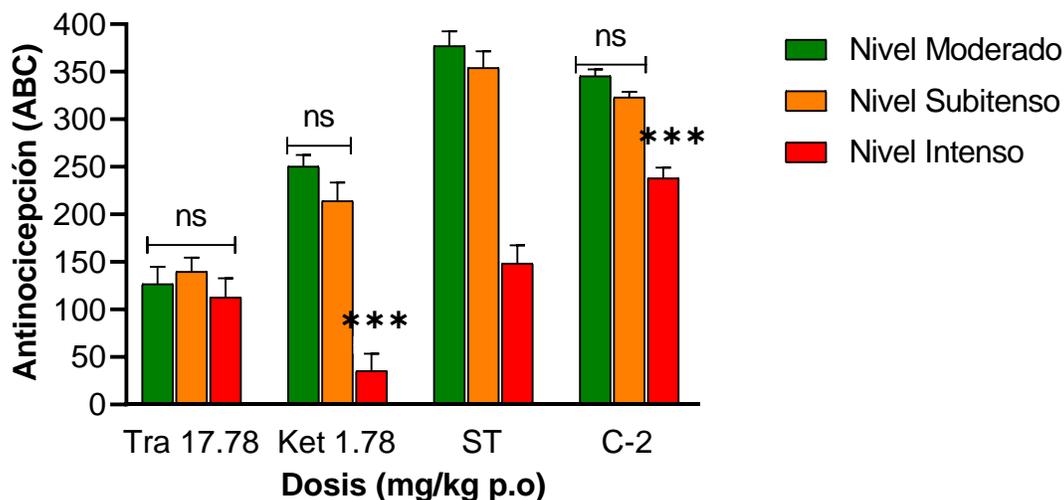


Figura 51. Efectos antinociceptivos de la combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) expresados en área bajo la curva (ABC) obtenidos de los CT en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. No significancia estadística (ns) en Tra 17.78 mg/kg. Ket 1.78 mg/kg, **p<0.01 vs moderado y subintenso. C2, ***p<0.001 vs Nivel moderado y subintenso. Anova de vías, seguido de una prueba post hoc, Tukey.

7.7 Ket, Tra y C2 en diferentes niveles de nocicepción

En la figura 52 se muestran los efectos globales de las dosis más efectivas individuales de Ket (3.16 mg/kg), Tra (31.62 mg/kg) y la combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) en tres niveles de nocicepción artrítica (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR. En el nivel moderado y subintenso no existen diferencias significativas (ns) con la dosis más efectiva de Tra 31.62 mg/kg. Existe diferencia significativa (** $p < 0.01$) en el nivel intenso con respecto al nivel moderado en los efectos globales de Tra 31.62 mg/kg. La dosis más efectiva de Ket fue 3.16 mg/kg en los niveles moderado y subintenso sin diferencia significativa (ns). En el nivel intenso la dosis más efectiva de Ket, presentó diferencias estadísticas (** $p < 0.001$) con respecto a los efectos globales en el nivel moderado y subintenso, reduciendo su efecto global (ABC) a 45.76 ± 13.45 .

DOSIS (mg/kg)	MODERADO Efectos globales (ABC) \pm EE	SUBINTENSO Efectos globales (ABC) \pm EE	INTENSO Efectos globales (ABC) \pm EE
Tra 31.62	335.11 ± 5.6	271.60 ± 17.87	238.6 ± 24.24
Ket 3.16	286.8 ± 15	314 ± 16.07	45.76 ± 13.45
C2	345.36 ± 7.27	323.21 ± 5.75	238.06 ± 11

Tabla 18. Comparativa de las respuestas antinociceptiva de los efectos globales (ABC) de las dosis más efectivas de Ket (3.16 mg/kg), Tra (31.62 mg/kg) y de la combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) tras administración por vía oral, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR

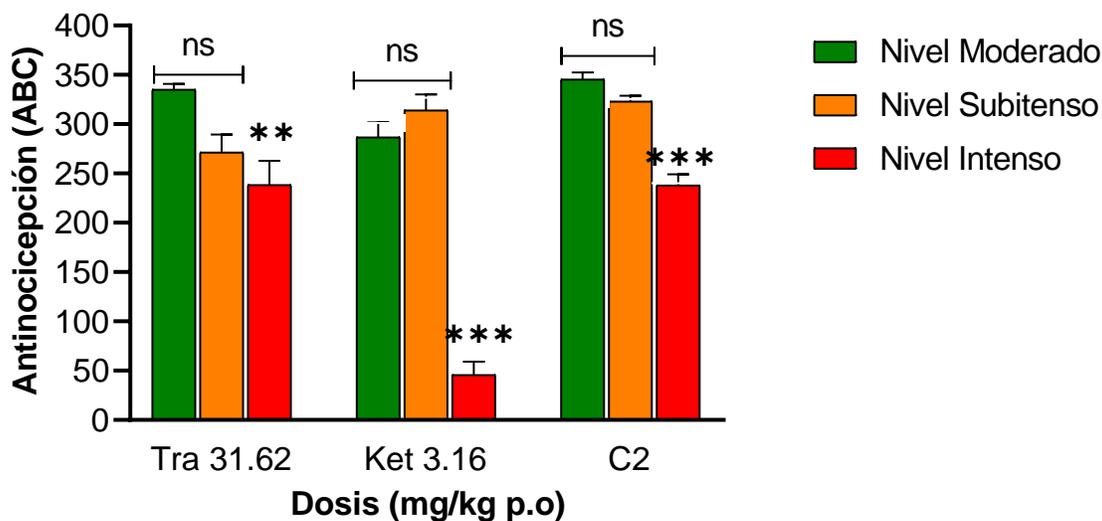


Figura 52. Efectos globales (ABC) de los efectos antinociceptivos de las dosis eficaces de Ket (3.16 mg/kg), Tra (31.62 mg/kg) y de la combinación 2 (ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) tras administración por vía oral, en tres niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso), en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. No significancia estadística (ns) con Tra 31.62 mg/kg en nivel moderado vs subintenso. Ket 3.16 mg/kg, (ns) vs moderado y subintenso. Ket * $p > 0.001$ vs moderado y subintenso. C2, *** $p < 0.001$ vs Nivel moderado y subintenso. Anova de vías, seguido de una prueba post hoc, Tukey.**

La combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) presentó los mejores efectos antinociceptivos comparados con las dosis más efectivas individuales de Ket y Tra (3.16 mg/kg y 31.62 mg/kg, respectivamente) empleando 44 % menos de las dosis. Realizando la comparativa y estadística, no existe diferencia entre los efectos de la C2 y Tra en el nivel moderado de nocicepción. Si existe diferencia significativa (** $p < 0.01$) entre la C2 y Ket. Y diferencia (* $p < 0.05$) en los efectos obtenidos de Ket vs Tra. En el nivel subintenso de nocicepción, no existió diferencia significativa entre los tratamientos individuales y C2. En el nivel intenso la C2 no tuvo diferencias estadísticas (ns) con respecto al Tra, mientras que Ket sí presentó diferencias estadísticamente significativas en comparación con C2 y Tra.

7.8 Efectos adversos: administración aguda

7.8.1 Constipación: Porcentaje de tránsito gastrointestinal

Al evaluar el efecto adverso de constipación, a través de la prueba de carbón activado, se observó que el porcentaje de tránsito gastrointestinal (%TGI) contrastó entre los tratamientos: Vehículo (sol. Sal. 0.9%), Tra (31.62mg/kg), Ket (3.16 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), tras una administración por vía oral.

El %TGI del control (sol. Salina al 0.9%) fue del 81 ± 2.5 %. Comparado con el control hubo una disminución estadísticamente significativa ($***p < 0.001$) del tránsito gastrointestinal con la administración de Tra (31.62 mg/kg) y C2, reflejado en 57 ± 7.17 y 58 ± 3.48 de %TGI, respectivamente. No hubo diferencia estadística (ns) entre el control vs Ket 3.16 mg/kg.

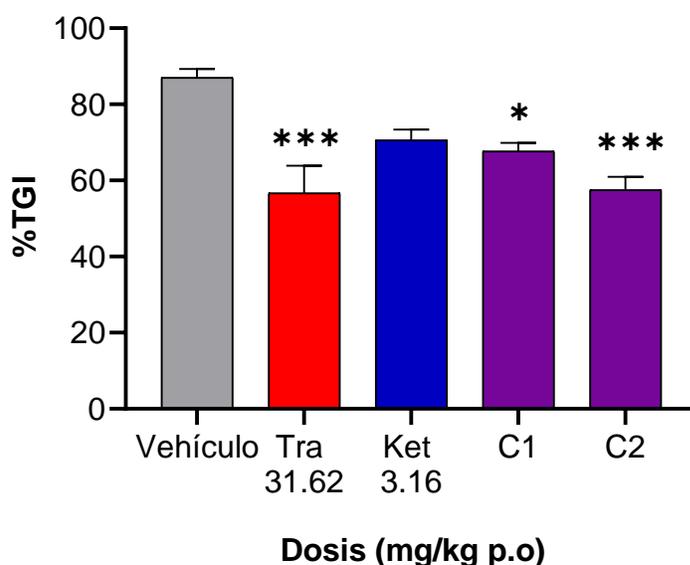


Figura 53. Efecto adverso de constipación, a través de la prueba de carbón activado entre los tratamientos: Vehículo (sol. Sal. 0.9%), Tra (31.62mg/kg), Ket (3.16 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), tras una administración por vía oral. Los datos representan la media \pm error estándar, $n=5$ /grupo. $***p < 0.001$ vs vehículo. $*p < 0.05$ vs vehículo. Anova de una vía, seguido de una prueba post hoc, Tukey.

7.8.2 Coordinación motora: Prueba de rota-rod

Al evaluar el efecto adverso de coordinación motora, a través de la prueba del rota-rod, la variable medida fue el registro de caídas postratamiento VO. Los tratamientos evaluados fueron: Tra (31.62mg/kg), Ket (3.16 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), tras una administración por vía oral. La dosis de 31.62 mg/kg de Tra, generó el mayor número de caídas entre los tratamientos con significancia estadística (**p<0.001). Los animales evaluados con Ket (3.16 mg/kg), y las combinaciones 1 y 2 no generaron caídas en la prueba del rota-rod.

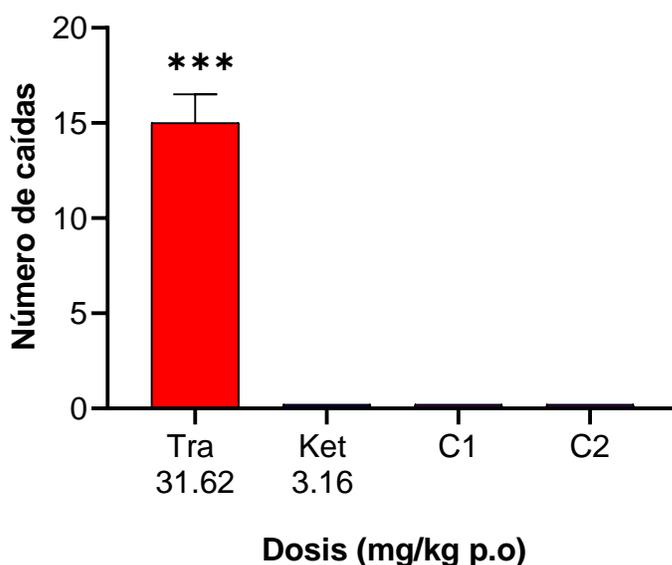


Figura 54. Efecto adverso de coordinación, a través de la prueba del rota-rod. Tra (31.62mg/kg), Ket (3.16 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), tras una administración por vía oral. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. ***p<0.001 vs Ket y C1, C2. Anova de una vía, seguido de una prueba post hoc, Tukey.

7.8.3 Porcentaje de lesión gástrica: úlceras y erosiones

Al evaluar el efecto adverso de úlceras y erosiones, de los tratamientos: Vehículo (sol. sal. 0.9%), Tra (31.62mg/kg), Ket (3.16 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) tras una administración por vía oral. Se encontró que Tra (31.62 mg/kg) y el vehículo (sol. salina 0.9%) no

generaron efectos adversos gastrointestinales expresados como porcentaje de lesión gástrica (úlceras y erosiones). El daño que genera indometacina es tomado como el 100% de lesión gástrica y se compara con los efectos de los tratamientos individuales y combinados. Ket 3.16 mg/kg genero 43.18 % de lesión gástrica. C1 y C2 generó 7.58 y 19.70 % de lesión gástrica, respectivamente. Las combinaciones (C1 y C2) generaron menos % lesión gástrica que indometacina y Ket en su dosis más efectiva (3.16 mg/kg) con diferencia estadísticamente significativa (***) $p < 0.001$).

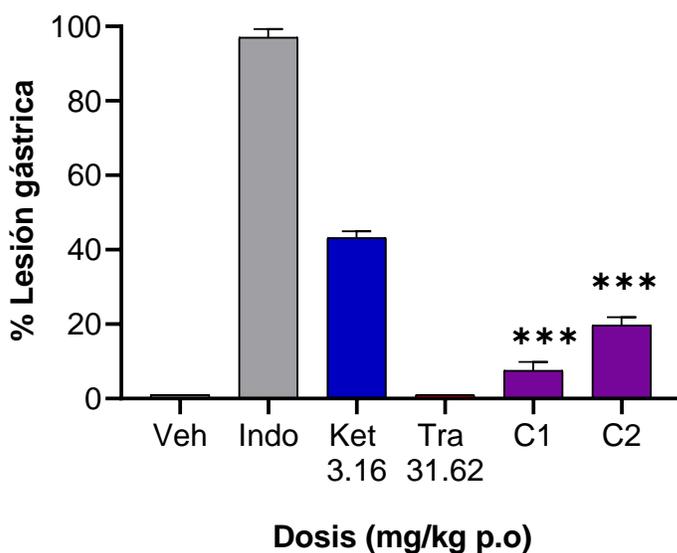


Figura 55. Efectos gastrointestinales representados como % de lesión gástrica producido por Indometacina 20 mg/kg, Ket 3.16 mg/kg, Tra 31.62 mg/kg, C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 combinación 2 (ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) tras una administración por vía oral. Los datos representan la media \pm error estándar, $n=5$ /grupo. * $p < 0.001$ vs indometacina. Anova de una vía, seguido de una prueba post hoc, Tukey.**

Tratamiento (mg/kg)	Número de erosiones	Úlceras (mm ²)	%Lesión gástrica
Vehículo	0	0	0
Ind 20	8.2 \pm 2.1	26.4 \pm 3.3	100
Ket 3.16	4.2 \pm 1.3	11.4 \pm 2.8	43.18
Tra 31.62	0	0	0
C1	0.8 \pm 0.2	2 \pm 0.6	7.58
C2	2 \pm 1.2	5.2 \pm 1.4	19.70

Tabla 19: Comparación de los efectos gastrointestinales representados como % de lesión gástrica producidos por Indometacina 20 mg/kg, Ket 3.16 mg/kg, Tra 31.62 mg/kg, C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg).

7.9 Administraciones repetidas: Efecto antinociceptivo

7.9.1 Ketorolaco en administraciones repetidas

En la figura 56 se encuentran las CDR de los efectos antinociceptivos, después de una y 12 administraciones repetidas de Ket en el modelo PIFIR. El porcentaje de reducción del efecto, se calculó a partir de tomar los efectos de cada dosis evaluada en administración aguda como el 100 % y restar los efectos que se obtuvieron tras la administración repetida. El Ket (AINE) reduce el porcentaje de efecto antinociceptivo, dependiente de la dosis, tras administraciones repetidas. Con la dosis de 0.56 mg/kg la reducción del efecto antinociceptivo fue del 92.41 %, con la dosis de 1.00 mg/kg se reduce 63%, 1.78mg/kg redujo su efecto en el 41% y 3.16 mg/kg presento una reducción del 35.98%. El incremento de la dosis de Ket, reduce la tolerancia representada como la reducción del efecto tras el esquema de 12 administraciones (1 cada 8 horas por 4 días), en modelo preclínico de dolor artrítico.

Tolerancia-Ketorolaco			
Dosis (mg/kg)	Una Administración (ABC) ua ± EE	Administración repetida (ABC) ua ± EE	Reducción del efecto (%)
0.56	109.66 ± 16.75	8.32 ± 3.85	92.41
1.0	211.20 ± 27.78	78.13 ± 18.35	63
1.78	250.41 ± 11.97	147.73 ± 14.05	41
3.16	286.79 ± 15.02	183.6 ± 18.90	35.98

Tabla 20: Se colocan los efectos antinociceptivos, de una y 12 administraciones repetidas de Ket en el modelo PIFIR. El porcentaje de reducción del efecto, se calculó a partir de tomar los efectos de cada dosis evaluada en una administración como el 100% y restar los efectos que se obtuvieron tras la administración repetida.

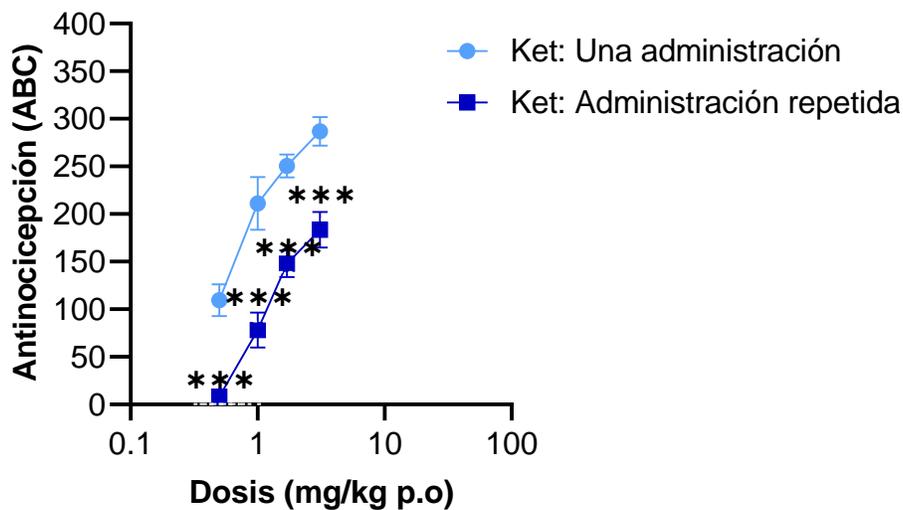


Figura 56. CDR de los efectos antinociceptivos de la administración aguda y 12 administraciones repetidas de las dosis experimentales (0.56, 1.0, 1.78 y 3.16 mg/kg) de ketorolaco, en el modelo PIFIR. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. ***p<0.001 vs Ket en una administración. Anova de dos vías, seguido de una prueba post hoc, Tukey.

7.9.2 Tramadol en administraciones repetidas

En la figura 57 se encuentran las CDR de los efectos antinociceptivos, de una y 12 administraciones repetidas de Tra en el modelo PIFIR. El porcentaje de reducción del efecto, se calculó a partir de tomar los efectos de cada dosis evaluada en una administración aguda como el 100 % y restar los efectos que se obtuvieron tras la administración repetida. El Tra (Opioide) reduce el porcentaje de efecto antinociceptivo, dependiente de la dosis, tras administraciones repetidas. Con la dosis de 10 mg/kg la reducción del efecto antinociceptivo fue del 8.54 %, con la dosis de 17.78 mg/kg reduce 92.11 % el efecto, 23.71 mg/kg redujo su efecto en el 95.65% y 31.62 mg/kg presento una reducción del 96.31%. El incremento de la dosis de Tra, no reduce la tolerancia representada como la reducción del efecto tras el esquema de 12 administraciones (1 cada 8 horas por 4 días), en modelo preclínico de dolor artrítico.

Tolerancia-Tramadol			
Dosis (mg/kg)	Una Administración (ABC) ua ± EE	Administración repetida (ABC) ua ± EE	Reducción del efecto (%)
10	16.74 ± 5.90	15.31 ± 9.45	8.54
17.78	126.76 ± 18.12	9.99 ± 8.19	92.11
23.71	234.83 ± 24.48	10.21 ± 6.19	95.65
31.62	335.11 ± 5.60	12.35 ± 6.44	96.31

Tabla 21. Se colocan los efectos antinociceptivos de una y 12 administraciones repetidas de tramadol en el modelo PIFIR. El porcentaje de reducción del efecto, se calculó a partir de tomar los efectos de cada dosis evaluada en una administración como el 100% y restar los efectos que se obtuvieron tras la administración repetida.

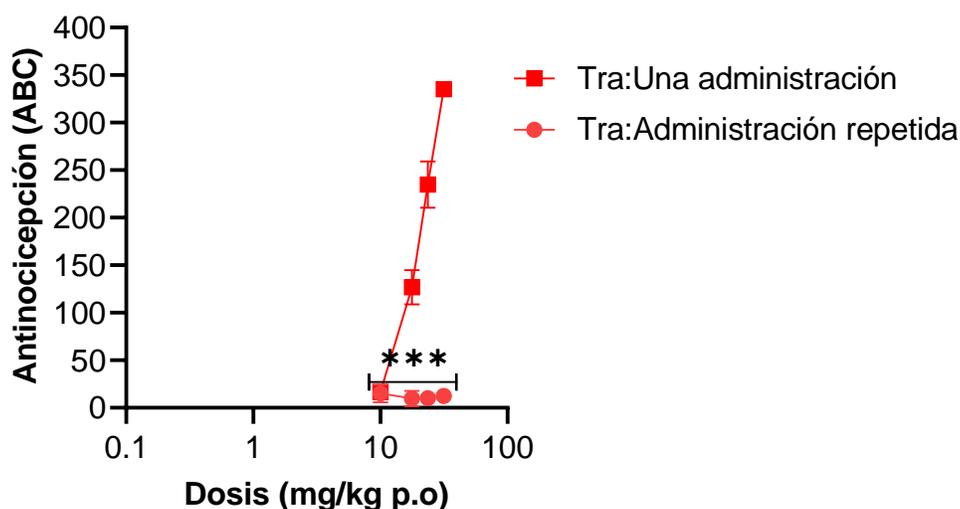


Figura 57. CDR de los efectos antinociceptivos, de la administración aguda y 12 administraciones repetidas de las dosis experimentales (10, 17.78, 23.71 y 31.62 mg/kg) de Tra en el modelo PIFIR. Los datos representan la media ± error estándar, n=5/grupo. ***p<0.001 vs Tra en una administración. Anova de dos vías, seguido de una prueba post hoc, Tukey.

7.10 Administración aguda y repetida de Ket, Tra, C1 y C2

En la figura 58 se observan las CDR de Ket y Tra, de una administración y 12 administraciones repetidas (esquema:1 cada 8 horas por 4 días), vía oral en el modelo PIFIR. Las comparativas entre los tratamientos agudos y repetidos, se describieron en líneas anteriores. Los efectos antinociceptivos de la dosis más efectiva de Tra (31.62 mg/kg) se ven reducidos en un 96.3% después del esquema

de 12 administraciones repetidas por vía oral. Tras administraciones repetidas (12 ocasiones) la dosis más efectiva de Ket (3.16 mg/kg) reduce su efecto anticonceptivo en un 35.98%. Se destaca que existe diferencia estadística (** $p < 0.001$) entre el efecto de tolerancia farmacológica del tramadol (opioides sintético) y la tolerancia generada por el ketorolaco (AINE). Generando mayor tolerancia farmacológica el Tra que el Ket, en un modelo de disfunción inducido por dolor en rata (PIFIR). La C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg), redujo sus efectos antinociceptivos tras 12 administraciones repetidas, observando una reducción del efecto del 90.30% con respecto a la administración aguda de C1. La C2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), redujo sus efectos antinociceptivos tras 12 administraciones repetidas, observando una reducción del efecto del 76.47% con respecto a la administración aguda de C2.

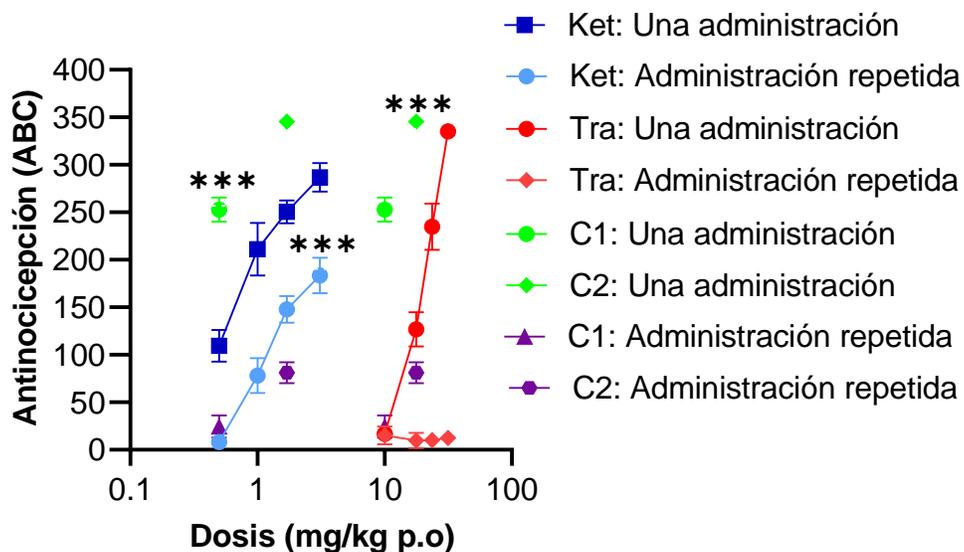


Figura 58. CDR de los efectos antinociceptivos de la administración aguda y 12 administraciones repetidas de ketorolaco y tramadol, en el modelo PIFIR. También se encuentran graficados los puntos (ABC) de C1 y C2 de su administración aguda y repetida. Los datos representan la media \pm error estándar, $n=5$ /grupo. *** $p < 0.001$ vs Tra 31.62 mg/kg en administración repetida. *** $p < 0.001$ vs C1 y C2 en administración repetida. Anova de una vía, seguido de una prueba post hoc, tukey.

Tolerancia			
Dosis (mg/kg)	Una Administración (ABC) ua ± EE	Administración repetida (ABC) ua ± EE	Reducción del efecto (%)
Ket 3.16	286.79 ± 15.02	183.6 ± 18.90	35.98
Tra 31.62	335.11 ± 5.60	12.35 ± 6.44	96.31
C1	252.93 ± 12.69	24.52 ± 11.63	90.30
C2	345.36 ± 7.27	81.26 ± 11.02	76.47

Tabla 22: Se colocan los efectos antinociceptivos después de una y 12 administraciones repetidas de Ket (3.16 mg/kg), Tra (31.62 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) en el modelo PIFIR. El porcentaje de reducción del efecto, se calculó a partir de tomar los efectos de cada dosis evaluada en una administración como el 100% y restar los efectos que se obtuvieron tras la administración repetida.

7.11 Administración repetidas: efectos adversos

7.11.1 Constipación: porcentaje de tránsito gastrointestinal

Al evaluar el efecto adverso de constipación con el esquema de 12 administraciones repetidas (esquema: 1 administración cada 8 horas por 4 días) a través de la prueba de carbón activado, se observó que no hubo una reducción del porcentaje de tránsito gastrointestinal. No se encontraron diferencias estadísticas (ns) en el %TGI entre los tratamientos evaluados: Vehículo (sol. Sal. 0.9%), Tra (31.62mg/kg), Ket (3.16 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), tras 12 administraciones repetidas por vía oral. Se generó un efecto de tolerancia farmacológica de este efecto adverso tras el esquema repetido de los tratamientos.

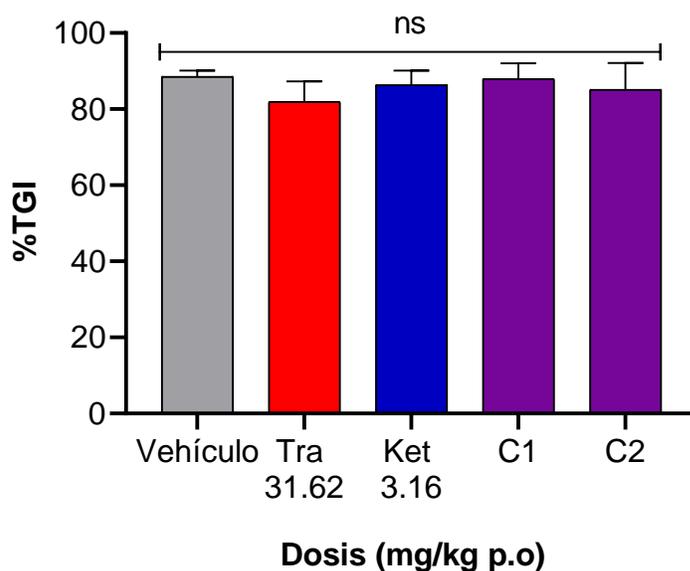


Figura 59. Efecto adverso de constipación, a través de la prueba de carbón activado. Porcentaje de tránsito gastrointestinal (%TGI) de los tratamientos: Vehículo (sol. Sal. 0.9%), Tra (31.62mg/kg), Ket (3.16 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), tras 12 administraciones por vía oral. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. No significancia estadística (ns). Anova de una vía, seguido de una prueba post hoc, Tukey.

7.11.2 Coordinación motora: Prueba de rota-rod

Al evaluar el efecto adverso de coordinación motora a través de la prueba del rota-rod, la variable medida fue el registro de caídas postratamiento con el esquema de 12 administraciones repetidas (esquema: 1 administración cada 8 horas por 4 días) VO. Los tratamientos evaluados: Tra (31.62mg/kg), Ket (3.16 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), no generaron caídas en la prueba del rota-rod tras el esquema de administraciones repetidas. Se generó un efecto de tolerancia farmacológica de este efecto adverso tras el esquema repetido de los tratamientos.

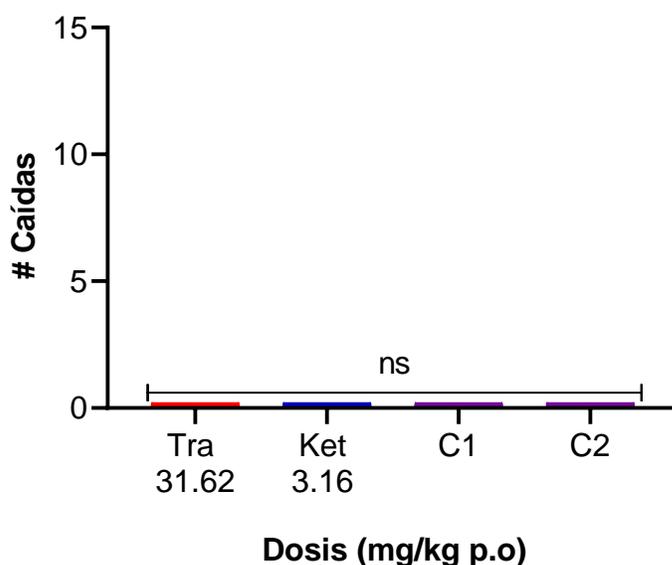


Figura 60. Efecto adverso de coordinación motora, a través de la prueba del rota-rod. Tra (31.62mg/kg), Ket (3.16 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), tras 12 administraciones por vía oral. Los datos representan la media \pm error estándar, n=5/grupo. No significancia estadística (ns). Anova de una vía, seguido de una prueba post hoc, Tukey.

7.11.3 Porcentaje de lesión gástrica: úlceras y erosiones

Al evaluar el efecto adverso de úlceras y erosiones, de los tratamientos: Vehículo (sol. sal. 0.9%), Tra (31.62mg/kg), Ket (3.16 mg/kg), C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), tras el esquema de 12 administraciones repetidas (esquema:1 administración cada 8 horas por 4 días) VO. Se encontró que Tra (31.62 mg/kg) y el vehículo (sol. salina 0.9%) no generaron efectos adversos gastrointestinales expresados como porcentaje de lesión gástrica (úlceras y erosiones). El daño que genera indometacina es tomado como el 100% de lesión gástrica y se compara con los efectos de los tratamientos individuales y combinados. Ket 3.16 mg/kg generó 51.52 % de lesión gástrica. C1 y C2 generó 25.76 y 31.82 % de lesión gástrica, respectivamente. Las combinaciones (C1 y C2) generaron menos % lesión gástrica que indometacina y Ket en su dosis más efectiva (3.16 mg/kg) con diferencia estadísticamente significativa (**p<0.001).

Tratamiento (mg/kg)	Número de erosiones	Úlceras (mm ²)	%Lesión gástrica
Vehículo	0	0	0
Ind 20	8.2 ± 2.1	26.4 ± 3.3	100
Ket 3.16	3.8 ± 1.3	13.6 ± 2.8	51.52
Tra 31.62	0	0	0
C1	1.2 ± 0.2	6.8 ± 1.6	25.76
C2	2 ± 1.2	8.4 ± 2.4	31.82

Tabla 23. Comparación de los efectos gastrointestinales representados como % de lesión gástrica producidos por Indometacina 20 mg/kg, Ket 3.16 mg/kg, Tra 31.62 mg/kg, C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 combinación 2 (ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg), tras 12 administraciones repetidas.

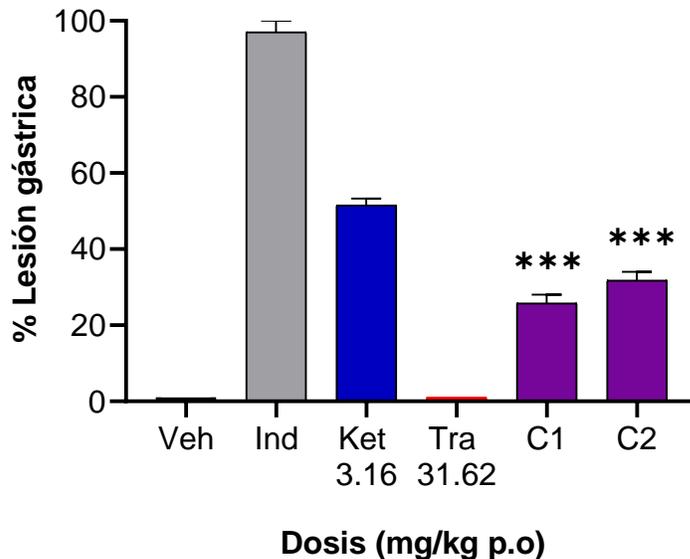


Figura 61. Efectos gastrointestinales representados como % de lesión gástrica producido por Indometacina 20 mg/kg, Ket 3.16 mg/kg, Tra 31.62 mg/kg, C1 (Ket 0.56 mg/kg + Tra 10 mg/kg) y C2 combinación 2 (Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg) tras 12 administraciones por vía oral. Los datos representan la media ± error estándar, n=5/grupo. ***p<0.001 vs indometacina y Ket 3.16 mg/kg. Anova de una vía, seguido de una prueba post hoc, tukey.

7.12 Resumen de resultados

1. Distintas intensidades de dolor artrítico tipo gota, generan cambios en los efectos antinociceptivos individuales de ketorolaco.
2. Tramadol mantiene sus efectos antinociceptivos al aumentar la intensidad de nocicepción en un dolor artrítico tipo gota, pero genera efectos adversos considerables.
3. La coadministración de ketorolaco y tramadol genera combinaciones importantes del tipo suma y supraaditivos que pueden emplearse en niveles de dolor o nocicepción más intensos, como una opción terapéutica, a la par de no aumentar efectos adversos.
4. Las combinaciones empleadas entre Ket y Tra (C1 y C2) no aumentaron los efectos adversos de coordinación motora, constipación y efectos gastrointestinales (úlceras) en rata.
5. Tras administraciones repetidas (12 ocasiones) el Tra (opioide) pierde su efecto antinociceptivo en un modelo preclínico de dolor tipo artrítico.
6. Tras administraciones repetidas (12 ocasiones) el Ket (AINE) reduce su efecto antinociceptivo en un modelo preclínico de dolor tipo artrítico.
7. Las combinaciones empleadas entre Ket y Tra (C2) no reducen el efecto de tolerancia farmacológica.
8. No se observan cambios en los efectos adversos de constipación y coordinación motora, tras 12 administraciones repetidas de Ket, Tra, C1 y C2.

8. DISCUSIÓN

Los modelos animales preclínicos in vivo proporcionan un gran aporte en los conocimientos fisiopatológicos y terapéuticos del dolor artrítico. Este proyecto se enfocó en el efecto terapéutico, también mencionado en el presente trabajo como efecto antinociceptivo.

El modelo de disfunción inducido por dolor en rata (PIFIR model), representa un dolor artrítico tipo gota (López-Muñoz et al., 1993). En el Modelo PIFIR se induce disfunción de la extremidad, a través de la inyección intraarticular de ácido úrico en la articulación fémoro-tibio-rotuliana, provocando así una disminución en el porcentaje de índice de funcionalidad (%IF). La disminución en el %IF se traduce como la conducta nociceptiva observada en el animal. Esta metodología permite evaluar fármacos de manera individual o combinada y conocer sus posibles efectos antinociceptivos. El efecto antinociceptivo en el modelo PIFIR, se interpreta como el incremento en el %IF o recuperación de la funcionalidad de la extremidad inyectada con ácido úrico posterior a utilizar un fármaco analgésico (López-Muñoz et al., 1993). En un estudio previo se observó que la inyección intraarticular de distintas concentraciones de ácido úrico (30%, 50 % y 50% x 2) cambia parámetros en el modelo de disfunción inducido por dolor en rata (López-Muñoz et al., 2008). Estos parámetros modificables de acuerdo con la concentración de ácido úrico que se administra en la articulación son: tiempo para establecer el IF%=0, tiempo de recuperación espontánea del IF% y cambio en el efecto antinociceptivo de un fármaco de referencia como lo es el ácido acetil salicílico (AAS) (López-Muñoz et al., 2008).

Esto es comparable con otros modelos preclínicos de dolor artrítico, donde se induce la conducta nociceptiva con la administración intraarticular de yodoacetato monosódico (YAM) en la articulación fémoro-tibio-rotuliana de la rata, en este modelo la conducta medida es la redistribución del peso de la pata inyectada con la medición de fuerza a través de panales transductores. En el modelo mencionado anteriormente distintas dosis administradas intraarticulares de YAM generan cambios histopatológicos dependiente de la dosis (Bove et al., 2003a; Fernihough et al., 2004; Guingamp et al., 1997). En el presente estudio se observó que

establecer un IF=0 o <10% varía de acuerdo con la concentración de ácido úrico que se administre de manera intraarticular: ácido úrico al 30%, el IF=0 se alcanza a la 2.5 h después de la administración intraarticular, con la concentración de 50% y dos inyecciones de 50% (con intervalo de 7 días), el IF=0 se obtiene a las 2.0 y 1.5 h, respectivamente después de la administración intraarticular. La recuperación espontánea del IF% también va en relación con la concentración de ácido úrico administrado; con la concentración del 30% se observa un inicio de recuperación espontánea del IF% a las 5 h, mientras que para una concentración de 50% y 50% x 2, la recuperación espontánea se va hasta las 48h y >72 h, respectivamente. El efecto antinociceptivo de fármacos de referencia como el Ket y AAS (AINEs) reducen su efecto de acuerdo con la concentración de ácido úrico administrado en la articulación. Con los parámetros antes mencionados se demuestra que es posible establecer distintas intensidades de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) en un modelo preclínico de dolor artrítico y de esta manera como se realizó en el presente trabajo poder describir el comportamiento de un AINE (Ket), un opioide (Tra) y sus combinaciones al escalar la intensidad de nocicepción artrítica.

La administración de sustancias condrotóxicas en las articulaciones de animales pequeños (ratas, ratones, cobayos) simulan los efectos progresivos de las enfermedades articulares más frecuentes; osteoartritis y artritis gotosa. (Little & Zaki, 2012). La administración intraarticular de yodoacetado monosódico (YAM), carragenina/caolín, adyuvante de Freund y urato de sodio, para la inducción de artropatía inflamatoria aguda, son los modelos más empleados para el estudio del dolor en la OA y AG (Bove et al., 2003b; Calvino et al., 1987; Coderre & Wall, 1987; Hwang et al., 2008). El modelo PIFIR, presenta ventajas sobre los modelos mencionados, ya que la variable medida no es dependiente del observador y es adecuado para estimar la eficacia de los compuestos analgésicos.

No se puede abordar la farmacoterapia sin antes describir la etiología y fisiopatología del dolor artrítico. Se ha asociado el dolor artrítico con los cambios estructurales de la articulación (Dieppe & Lohmander, 2005). Se ha demostrado que las ratas presentan una abundante inervación en la rodilla, siendo que el 80 % de todas las neuronas aferentes de la articulación femoro-tibio-rotuliana, son

nociceptores(Hildebrand et al., 1991). La estimulación con sustancias condrotóxicas activan y sensibilizan a los nociceptores ubicados en la estructura articular: la cápsula articular, el hueso subcondral, el tejido sinovial, la almohadilla grasa, ligamentos y meniscos (Dye et al., 1998; McDougall et al., 1997). En un modelo donde se induce artritis por la inyección intraarticular de un antígeno (albúmina sérica bovina metilada), con adyuvante de Freund, se ocasiona una hipersensibilidad mecánica a través del incremento de citocinas proinflamatorias; TNF-e IL-6 (H.-G. Schaible et al., 2010). Se ha demostrado un aumento en la expresión de canales de sodio regulados por voltaje en GRD que inervan la articulación de la rodilla de la rata (Nav 1.7, Nav 1.8 y Nav 1.9) en fibras C y fibras A delta en un modelo de dolor articular inflamatorio crónico inducido por YAM (Strickland et al., 2008). Se conoce que una de las principales fuentes de producción de eicosanoides (PGE2 y leucotrienos), posterior a un daño inflamatorio articular, es el tejido sinovial (Wittenberg et al., 1993). Ya se ha estudiado el componente inflamatorio del dolor artrítico (Berenbaum, 2013). Cada vez hay más evidencia de un componente neuropático en el dolor artrítico(Hochman et al., 2010). Un incremento en la sensibilización central se relaciona con mecanismos de alodinia e hiperalgesia, por lo que se ha propuesto que el dolor artrítico no solo se compone del elemento inflamatorio ocasionado por tejido lesionado o inflamado, también esta mediado por mecanismos neuropáticos (Hochman et al., 2010). En un modelo murino de OA, se evidencio un aumento en ATF-3-IR en el GRD L5 posterior a la inyección de YAM intraarticular (Ivanavicius et al., 2007). ATF-3 es marcador de daño celular posterior a una axotomía de neuronas aferentes y eferentes (Tsujino et al., 2000). La administración de amitriptilina y gabapentina ha demostrado efectos antinociceptivos en la segunda fase del modelo de YAM (Ivanavicius et al., 2007a; Levine et al., 1986).

Los AINEs, son la primera línea de tratamiento en OA y AG (Crofford, 2013), su mecanismo de acción periférico con la inhibición de COX/1-2 sustenta su utilización como analgésicos y desinflamatorios (Shrestha et al., 1994). La caracterización farmacológica aguda de Ket, en el modelo PIFIR demostró que el efecto

antinociceptivo de este AINE, depende de la dosis administrada y que el efecto evaluado disminuye conforme se aumenta el nivel de nocicepción. La construcción de las CDR de Ket se realizaron sobre incrementos logarítmicos de 0.25, siendo la dosis más efectiva 3.16 mg/kg, y siendo esta dosis la que no presentó efectos adversos graves y podía ser útil para los fines experimentales.

En este trabajo se observó que las dosis experimentales más bajas de Ket (0.56 mg/kg y 1.0 mg/kg) presentan diferencias significativas entre todos los niveles de nocicepción evaluados (moderado, subintenso e intenso) en un modelo de dolor artrítico tipo gota en rata (figura 27). No se encontraron diferencias significativas entre las dosis más altas de Ket (1.78mg/kg y 3.16 mg/kg) en los niveles moderado y subintenso (figura 27). Este trabajo demostró que existe diferencia significativa en la CDR de Ket en un nivel intenso de nocicepción, comparados con las CDR en los niveles de nocicepción moderado y subintenso (Figura 28). Se observa claramente una diferencia del efecto antinociceptivo de Ket dependiente de la intensidad de nocicepción, por lo que es importante discernir algunos puntos importantes sobre estos hallazgos.

La actividad analgésica de Ket trometamina, esta proporcionada por la molécula quiral S (Jamali et al., 1989; Jung et al., 1988; Mroszczak et al., 1996), la inhibición de la COX/1-2 es mediadora de las acciones analgésicas y antiinflamatorias de los AINEs (Lorenzetti & Ferreira, 1985; Shrestha et al., 1994; Vane, 1971). La inducción de prostaglandinas posterior a la inyección intraarticular de sustancias condrotóxicas, conlleva al efecto nociceptivo en modelos preclínicos de dolor artrítico (Pomonis et al., 2005). Un aumento en la inducción de COX2, contribuye al proceso inflamatorio e hipersensibilidad del dolor artrítico (Vardeh et al., 2009). Se ha propuesto que la IL-1 β , se encuentra involucrada en la degeneración de la matriz del cartílago articular y es un mediador del proceso fisiopatológico articular. (Kapoor et al., 2011). Una investigación previa demostró que la administración de ácido úrico intraarticular genera mayor expresión de COX-2, que induce la producción de prostanoïdes, que contribuyen al proceso inflamatorio y posiblemente a un incremento de IL-1 β (Ventura et al., 2010).

El efecto antinociceptivo de Ket en los niveles de nocicepción moderado y subintenso podrían estar relacionados con la disminución de los sensibilizadores neurales (prostaglandinas y leucotrienos) (Anderson et al., 1996; Déciga-Campos et al., 2003). En estudios in vitro, bajo una línea celular condrogénica (ATDC5), con inducción de OA por IL-1, se demostró que el tratamiento con Ket trometamina aumenta la viabilidad celular de condrocitos y disminuye la expresión de COX2, dependiente de la dosis (C. Liu & Chen, 2022). En otro estudio se demostró que Ket trometamina suprime el fenotipo secretor asociado a senescencia en los condrocitos inducidos por IL-1 β y regula a la baja la expresión de IL-6 e IL-8, MMP-3 y MMP-13 (W. Zhang et al., 2022). Otro de los mecanismos involucrados en el efecto analgésico de los AINEs, es mediante el sistema adrenérgico, un estudio demostró que la administración de antagonistas del receptor alfa 1 (prazosin) y un antagonista de los receptores β adrenérgicos, revirtieron los efectos antinociceptivos de diclofenaco y dipirona en un modelo inflamatorio de inyección subcutánea de prostaglandina E2, realizada en la prueba de Randall Sellito (Silva et al., 2015). Se ha propuesto la participación de la vía del óxido nítrico, ya que un estudio probó que previo a la administración de Ket, la administración con un inhibidor de la sintasa de óxido nítrico, disminuye los efectos antinociceptivos de Ket y dipirona (Granados-Soto et al., 1995b). La evidencia también demuestra que hay mecanismos centrales involucrados en el mecanismo de analgesia de los AINEs (Jurna & Brune, 1990). Ket también ha demostrado tener efecto en la hiperalgesia inducida por la activación del neurotransmisor glutamato a nivel o espinal (Malmberg & Yaksh, 1992).

En el presente trabajo se demostró el nulo efecto antinociceptivo de Ket trometamina en un nivel de nocicepción intenso artrítico en rata. Bajo las mismas condiciones experimentales, estudios previos demostraron diferencias en las CDR de dos AINEs; ácido acetil salicílico e indometacina, en un nivel intenso de nocicepción (López-Muñoz et al., 2008).

Dos administraciones intraarticulares con ác. úr. al 50% en un intervalo de una semana en la rodilla de la rata parece ser una entrada nociceptiva continua e intensa para generar mecanismos centrales, con un aumento en la respuesta nociceptiva, y una inhibición descendente anómala, que reduce el umbral de excitación de las

neuronas a nivel central en la medula espinal. Se ha relacionado el grado de sensibilización con la intensidad de nocicepción (Danziger et al., 1999; Neugebauer et al., 1993; H.-G. Schaible, 2008b). Destacar que los factores moduladores del dolor más relevantes son la intensidad y la duración del estímulo, por lo que la inducción del nivel nociceptivo intenso en el modelo PIFIR podría estar produciendo cambios bioquímicos y estructurales en las distintas etapas del procesamiento del dolor (Woolf, 2011).

En un modelo artrítico se observaron los efectos antinociceptivos de un AINE y paracetamol en los días 3, 14 y 28 postinducción de artritis en la rodilla de la rata con la inyección de YAM, en este estudio se observó que diclofenaco y paracetamol fueron efectivos en el día tres después de la inyección de YAM, coincidiendo con el grado de inflamación medible en la articulación de la rodilla, lo que traduce el componente inflamatorio que caracteriza la artritis. Del mismo modo en el estudio anterior se reportó una respuesta antinociceptiva reducida casi en su totalidad de los mismos fármacos (diclofenaco y paracetamol) a los días 14 y 28 en el modelo artrítico inducido por YAM. Lo anterior podría argumentarse desde el punto de vista de los mecanismos no inflamatorios, que podrían involucrar al dolor artrítico (Fernihough et al., 2004). Un incremento en la sensibilización central se relaciona con mecanismos de alodinia e hiperalgesia, relacionados con el dolor neuropático, por lo que se ha propuesto que el dolor de la OA no solo sea un dolor inflamatorio ocasionado por un tejido lesionado si no también este mediado por mecanismos neuropáticos (Hochman et al., 2010). Ya se ha demostrado que gabapentina un fármaco prototipo para tratar dolor neuropático, fue más eficaz en el modelo artrítico inducido por YAM, en la última fase que el AINE empleado, diclofenaco (Fernihough et al., 2004).

Durante la fase aguda de la inflamación los mecanismos descendentes inhibitorios y los efectos analgésicos de los fármacos de referencia como los AINEs funcionan de manera eficiente, pero en cuanto el estímulo o inflamación es persistente o se incrementa el nivel nociceptivo o de dolor, se producen cambios neuroplásticos inducidos a nivel central, donde los AINEs no parecen tener participación debido o tienen una entrada limitada al SNC y con ello se vuelven insuficientes para

proporcionar un adecuado alivio nociceptivo o de dolor en artritis tipo gota en rata (Rice et al., 1993; Woolf, 2011). Desde el punto de vista farmacocinético se ha demostrado que el Ket y sus metabolitos activos presenta una entrada limitada al SNC, como se demostró en estudio donde se administró una dosis única intramuscular de 90 mg de Ket, los resultados demostraron que la cantidad de Ket en el líquido cefalorraquídeo era mil veces inferior que la concentración en el plasma (Rice et al., 1993). Este mecanismo central todavía no se descarta ya que quizá la cantidad de fármaco necesaria para inhibición de prostaglandinas a nivel de SNC sea menor a las que se requiera para la inhibición de prostaglandinas a nivel periférico.

Los Opioides, son la primera línea del tratamiento en intensidades de dolor moderado a intenso (Karamchandani et al., 2019), uno de sus mecanismos de acción central esta mediado por la unión a los receptores opioides (μ , δ , κ) (Jamison & Mao, 2015), modulando vías ascendentes y descendente del dolor (Fletcher, 2011).

La caracterización farmacológica aguda de clorhidrato de tramadol, en el modelo PIFIR demostró que el efecto antinociceptivo de este opioide sintético, depende de la dosis administrada y que el efecto antinociceptivo se conserva aun aumentando el nivel de nocicepción o dolor artrítico en rata. La construcción de las CDR de Tra se realizaron sobre incrementos logarítmicos de 0.25, siendo la dosis más eficaz 31.62 mg/kg, y siendo esta dosis la que no presentó efectos adversos graves y que pudo ser útil para los fines experimentales. En este trabajo se observó que todas las dosis experimentales de Tra (10, 17.78, 23.71 y 31.62 mg/kg) no presentaron diferencias significativas entre los niveles de nocicepción evaluados (moderado, subintenso e intenso) en un modelo de dolor artrítico tipo gota en rata (figura 27). Este trabajo demostró que no existe diferencia significativa en la CDR de Tra en un nivel intenso de nocicepción, comparados con las CDR en los niveles de nocicepción moderado y subintenso (Figura 28). Por lo que es importante discernir algunos puntos importantes sobre estos hallazgos y compararlos con los encontrados con el AINE evaluado, Ket.

Clorhidrato de tramadol es un opioide sintético con mecanismo de acción dual, agonista parcial de los receptores μ e inhibidor de la recaptura de 5-HT Y NE (Dayer et al., 1994; Vazzana et al., 2015). El tramadol racémico, está compuesto del enantiómero "d" con afinidad al receptor μ e inhibidor de la recaptura y liberación de 5-HT. Y por otro lado, el enantiómero "l" es un inhibidor de la recaptura de noradrenalina. Tra tiene un metabolito activo M1, el cual es 200 veces más afín para los receptores opioides que el fármaco original y 6 veces más potente (Vazzana et al., 2015). El tramadol presenta una ventaja con respecto a la morfina ya que tienen mejor perfil de seguridad, y no se han registrado casos de depresión respiratoria ni adicción, cuando se administra en monoterapia por vía parental (Preston et al., 1991).

En el presente trabajo se demostró que los efectos antinociceptivos de Tra no disminuyen aumentando el nivel de nocicepción en un modelo preclínico de dolor artrítico. Se ha demostrado que el Tra en monoterapia disminuye la intensidad de dolor en OA, pero genera efectos adversos considerables (Cepeda et al., 2006). Se ha demostrado que los opioides generan analgesia o efectos antinociceptivos en tres niveles moduladores del dolor: Supraespinal, espinal y periférico (Barakat, 2019).

En el sistema nervioso periférico, los agonistas opioides median sus efectos analgésicos o antinociceptivos por medio de la activación de los receptores opioides ubicados en las neuronas aferentes primarias o nociceptores (Nozaki-Taguchi & Yaksh, 1999), este efecto se encuentra mediado por la vía de señalización del óxido nítrico/GMPc (Leáñez et al., 2009), que da como resultado una hiperpolarización de las neuronas nociceptivas. Se ha demostrado que existen receptores opioides y péptidos opioides endógenos en estructuras articulares de la rata, como lo son la cápsula articular, el tejido sinovial y periostio (Bergström et al., 2006). En un modelo inflamatorio inducido por adyuvante de Freund se demostró que los efectos antinociceptivos de agonistas μ y κ (morfina y U-50488H) se antagonizaban por naloxona tras la administración intraplantar pero no sufrían el mismo efecto antagónico si la naloxona se administraba por vía subcutánea o intravenosa. La investigación antes mencionada demostró que los receptores opioides periféricos

podrían estar involucrados en los efectos antinociceptivos de agonistas opioides μ y κ (Stein et al., 1988). En otro estudio se mostró evidencia electrofisiológica y conductual de los efectos antinociceptivos de un agonista κ (U-50488) administrado por vía intraarticular en un modelo de dolor artrítico inducido por carragenina. En el estudio previo se destaca que los receptores κ periféricos pueden inhibir la excitación neural en condiciones de inflamación (Moon et al., 2016).

Se ha demostrado también un papel antiinflamatorio de Tra en un modelo inflamatorio inducido por carragenina de la articulación temporomandibular de ratas, en este estudio se observó que el pretratamiento con tramadol disminuye los niveles de TNF- α , IL-1 β , y disminución de la migración de leucocitos y neutrófilos al sitio de inflamación, este mecanismo está mediado por la vía de señalización del óxido nítrico/GMPc (Lamana et al., 2017).

La eficacia observada de Tra en el nivel intenso de nocicepción artrítica del modelo PIFIR podría suponer la suma de los efectos centrales y periféricos del tramadol.

Los mecanismos de acción no opioide de tramadol son mediados por propiedades noradrenérgicas. Receptores adrenérgicos α ubicados en el locus coeruleus, regulan el dolor y la ansiedad (Berrocoso et al., 2006). El sistema serotoninérgico también juega un papel relevante en el mecanismo de acción del tramadol ya que induce a cambios similares a los de antidepresivos convencionales. Ya se ha discutido anteriormente el componente neuropático de OA y AG, porque también es importante mencionar que la propiedad no opioide del Tra a través de la inhibición de la recaptura de 5-HT y NE podría contribuir a los efectos antinociceptivos en un nivel intenso de nocicepción artrítica en el modelo PIFIR. Otros estudios ya han demostrado que los antidepresivos tricíclicos con la misma propiedad del Tra de recaptura y liberación de monoaminas (5-HT y NE) producen efectos antinociceptivos en modelos animales de dolor artrítico (Ivanavicius et al., 2007b). En el modelo animal de OA inducido por YAM en la articulación de la rodilla de rata se demostró que amitriptilina (inhibidor de la recaptura de 5-HT y NE) redujo la conducta nociceptiva observada en la rata como un aumento en la distribución de peso de la extremidad inyectada

En líneas anteriores ya se ha discutido de forma individual los mecanismos analgésicos o antinociceptivos del AINE (Ket) y del opioide (Tra). Se ha discutido también el papel de los mecanismos de sensibilización central y periféricos involucrados en el dolor artrítico. Por lo tanto, los efectos analgésicos o antinociceptivos se ven beneficiados si se emplea una terapia multimodal, con una combinación de fármacos que se dirijan a diferentes blancos terapéuticos, como ya se ha descrito en diversos estudios (Déciga-Campos et al., 2003; López-Muñoz et al., 2008; López-Muñoz, 1994; López-Muñoz et al., 2004; Sánchez-Zermeño et al., 2014; Cialdaiet al., 2013). Es importante mencionar que no todas las combinaciones entre un AINE y un opioide generan efectos esperados de suma o de potenciación como se evidenció en un estudio previo donde la combinación de rofecoxib y tramadol generaron efectos infraaditivos en el modelo PIFIR (García-Hernández et al., 2007). Por lo que es sumamente importante siempre dilucidar la farmacodinamia de los efectos antinociceptivos de la combinación de fármacos.

En un estudio previo se demostró que la combinación entre Ket y Tra en el modelo PIFIR, generó una combinación de alto efecto de potenciación y fue C1: Ket 0.56mg/kg + Tra 10 mg/kg, y otra combinación que generó los máximos efectos antinociceptivos o la máxima eficacia, siendo la combinación de C2: Ket 1.78 mg/kg + Tra 17.78 mg/kg (López-Muñoz et al., 2004). En el presente trabajo se emplearon las combinaciones anteriormente mencionadas (C1 y C2) en diferentes niveles de nocicepción artrítico, pudiendo instaurar tres niveles nociceptivos (moderado, subintenso e intenso) dependiendo la concentración administrada de ácido úrico en la articulación fémoro-tibio-rotuliana en rata. La C1 y C2 sufren cambios en la interacción farmacológica de los efectos antinociceptivos evaluados entre los niveles experimentales. En un nivel moderado de nocicepción, la C1 presenta efectos supraaditivos del 101%. Para el nivel subintenso esta combinación (C1) permaneció con efectos de potenciación del 75%. Para el nivel intenso, la C1 generó efectos aditivos o de suma. En un nivel moderado de nocicepción, con la C2 se obtuvo un resultado de efectos aditivos o de suma. Para el nivel subintenso la combinación (C2) permaneció con efectos aditivos. Para el nivel intenso, la C2 generó efectos supraaditivos o de potenciación del 60%. Es importante mencionar

que la C2 presentó los mejores efectos antinociceptivos en los tres niveles de nocicepción, estableciendo que esta combinación empleó 43% menos dosis que las dosis más efectivas individuales de Ket y Tra. Otra investigación ya ha resaltado el papel de la combinación entre un AINE (metamizol) y un opioide (morfina) en diferentes niveles de nocicepción (moderado, subintenso e intenso) empleando un modelo preclínico tipo gota en rata (PIFIR), mostrando que la combinación proporcionó una mejor cobertura antinociceptiva para los 3 niveles evaluados que la monoterapia (López-Muñoz et al., 2008). Otras investigaciones han demostrado que la combinación entre un AINE y un opioide proporcionan combinaciones importantes del tipo supraaditivos o potenciación y de suma o aditivos (Déciga-Campos et al., 2003; López-Muñoz et al., 2008; López-Muñoz, 1994; López-Muñoz et al., 2004; Sánchez-Zermeño et al., 2014; Cialdai et al., 2013).

En el presente trabajo se demostró que la coadministración de Ket + Tra genera alta eficacia antinociceptiva y alta potenciación en tratamientos agudos, en tres niveles nociceptivos (moderado, subintenso e intenso) en artritis tipo gota en rata.

Si bien es cierto no se han dilucidado el mecanismo de acción en particular de la combinación empleada en el presente trabajo, se podrían discutir varias teorías que den respuesta a los efectos de suma y supraaditivos de esta combinación (Ket + Tra). El dolor artrítico, debe atenderse como la suma de los mecanismos de sensibilización periférica dado por la inflamación en el sitio de la lesión y por mecanismos centrales, donde el dolor esta mediado por mecanismos ajenos a la inflamación y que responde más a características neuropáticas cuando la intensidad y duración del estímulo se incrementan. Es entonces que para obtener una buena cobertura antinoceptiva o analgésica se requiere la modulación dual de mecanismos periféricos y centrales.

A nivel central hay estructuras que responden a AINEs y opioides; estas estructuras son PAG y bulbo raquídeo ventromedial rostral (RVM). PAG proyecta impulsos hacia el nucleo del rafe magnus y a estructuras del bulbo RVM. En RVM hay dos clases de neuronas que se dirigen a la médula espinal y cuya participación es importante para la modulación descendente del dolor; las células on, que facilitan la propagación del dolor, y las células off que inhiben la trasmisión del dolor a nivel de

la médula espinal (Tortorici et al., 2001). Estas estructuras están dotadas de receptores opioides, la microinyección de sustancias opioides exógenas como la morfina, contribuye a los efectos analgésicos (Smith et al., 1988; Yaksh et al., 1976). También se ha demostrado que algunos AINEs (diclofenaco, aspirina y metamizol) administrados en estas estructuras (PAG y RVM) provocan una disminución de las conductas nociceptivas (Björkman et al., 1992; Jones, 1996; Tortorici & Vanegas, 1994, 1995). De la misma manera se ha demostrado que los efectos antinociceptivos de los AINEs antes mencionados se ven reducidos o revertidos tras la administración de naloxona por vía sistémica o administrada directamente en el área de la PAG, lo que sugiere la relación de estos fármacos con el sistema opioide endógeno, involucrado en el control descendente del dolor (Björkman et al., 1992; Pini et al., 1997; Tortorici et al., 1996; Vazquez et al., 2005). En el modelo de la placa caliente, evaluado en ratones, la naloxona revierte o disminuye los efectos antinociceptivos de Ket (Domer, 1990).

Han sido propuestas dos vías en común del mecanismo sinérgico entre AINEs y opioides, mediado por péptidos opioides endógenos y por endocannabinoides.

Los opioides a nivel de PAG activan la PLA2 y aumentan la disponibilidad de ácido eicosatetraenoico, los AINEs al bloquear a la COX también impiden la utilización del ácido eicosatetraenoico por lo que aumenta la disponibilidad de este ácido para otras vías moleculares (Vaughan et al., 1997a). Aquí juega un papel importante las lipoxigenasas, en específico la 12-lipoxigenasa, enzima que cataliza la oxidación del ácido eicosatetraenoico en hepoxilinas que disminuyen la liberación del neurotransmisor GABA de los terminales sinápticos de los axones PAG inhibidores (Vaughan, 1998; Vaughan et al., 1997b).

Por otro lado, los AINEs no solo inhiben a la COX si no también la enzima responsable de metabolizar los endocannabinoides; la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) y monoacilglicerol lipasa. Los AINEs generan mayor disponibilidad de anandamida (AEA) y 2- araquidonilglicerol (2-AG) para unirse a receptores CB1 y CB2, que median los efectos analgésicos (Fowler et al., 2005; Piomelli, 2003). Se ha demostrado la participación de COX-2 al reducir la descomposición de 2-AG provocando con ello efectos antinociceptivos observados en un modelo artrítico

inducido por carragenina al 2% en la articulación de la rodilla en rata (Telleria-Diaz et al., 2010). En otro modelo inflamatorio, se observó que la microinyección de un antagonista del receptor CB1 (AM251) en PAG Y RVM, revirtió los efectos antinociceptivos de metamizol, demostrando que los AINEs tienen participación en el sistema endocannabinoide a nivel central (Telleria-Diaz et al., 2010). A nivel periférico también se ha demostrado la existencia de un sistema endocannabinoide en la rodilla de la rata, la administración local de un agonista del receptor CB1 (ACEA) puede modular la nocicepción en un modelo artrítico inducido por la inyección intraarticular de monoyodoacetato de sodio en rata (Schuelert & McDougall, 2008). Ya se ha demostrado que a nivel periférico las articulaciones de la rata están provistas de receptores cannabinoides y receptores opioides y sus ligandos producen efectos antinociceptivos. En un estudio se observó que la combinación de endomorfina-1 y 2-AG, producía efectos aditivos y duraderos en el CT, en un modelo artrítico inducido por la inyección de carragenina en la articulación tibio-tarsiana de la pata trasera derecha de la rata (Mecs et al., 2010).

Otro posible mecanismo para dilucidar los efectos supraditivos entre un AINE (Ket) y un Opiode (Tra) es a través de la vía del óxido nítrico (ON). La combinación de tramadol y dexketoprofeno produce efectos antinociceptivos sinérgicos en la segunda fase de la prueba de la formalina, estos mismos efectos de la combinación fueron revertidos por antagonistas del ON (L-NAME), o glibenclamida (antagonista de los canales de K⁺ sensibles a ATP) lo que sugiere que los canales de K⁺ sensibles al óxido nítrico y al ATP participan en esta interacción farmacológica (Isiordia-Espinoza et al., 2014).

Hablando de los efectos adversos de los fármacos individuales. El Ket al igual que otros AINEs produce efectos adversos a nivel gastrointestinal, al disminuir la producción de COX1, indispensable para la homeóstasis de la mucosa gastrointestinal (Laine, 2003). El uso prolongado de AINEs se ha asociado a la generación de úlceras pépticas y gástricas, que podría desencadenar una hemorragia gastrointestinal (Laine, 2003). El empleo extendido de AINEs, se asocia a daño hepático, con el subsecuente incremento de enzimas hepáticas; aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa (AST Y ALT) (Bessone, 2010). Otro

efecto adverso atribuible a los AINEs es la inhibición de componentes de la coagulación como lo es la agregación plaquetaria e inhibición del tromboxano.

Los opioides presentan por orden de frecuencia los siguientes efectos adversos: mareos, vómitos, náuseas, somnolencia y estreñimiento (Hsu et al., 2012). Otros efectos no deseables del Tra son convulsiones y síndrome serotoninérgico, probablemente por interacción farmacológica con antidepresivos y antecedentes de epilepsia (Josi et al., 2012; Raiger et al., 2012). La depresión respiratoria ocasionado por tramadol es atribuible a interacciones farmacológicas con otros fármacos como benzodiazepinas, barbitúricos o antidepresivos tricíclicos (Hassanian-Moghaddam et al., 2013; Michael et al., 1999). Si bien es cierto el Tra cuenta con mejor perfil de seguridad que otros opioides como la morfina, los efectos adversos en monoterapia observados en este trabajo fueron considerables.

En el presente estudio se demostró que las combinaciones (1 y 2) no solo generaron los mejores efectos antinociceptivos, si no también no aumentaron los efectos adversos atribuibles a los fármacos individuales. En la prueba del rota-rod Los animales evaluados con Ket (3.16 mg/kg), y las combinaciones 1 y 2 no generaron caídas, no así, la dosis de Tra (31.62 mg/kg) que generó el mayor número de caídas en esta prueba. Lo anterior se traduce a que las combinaciones propuestas en este trabajo disminuyen la incoordinación motora o somnolencia, generada por la dosis efectiva del opioide utilizado (Tra:31.62 mg/kg). Al evaluar otro efecto adverso atribuible a los opioides como lo es la constipación o disminución del porcentaje de tránsito gastrointestinal (%TGI), se observó que con la dosis de Tra 31.62 mg/kg se generó constipación. La combinación 1 y Ket 3.16 mg/kg no generaron cambios en el %TGI, en otras palabras, no hubo presencia del efecto adverso de constipación bajo las condiciones experimentales antes mencionadas.

Un efecto adverso estudiado en este trabajo atribuible a los AINEs fue la medición de lesiones gastrointestinales, cuantificado como la medición de úlceras y erosiones gástricas postratamiento. Las combinaciones (C1 y C2) generaron menor daño en la mucosa gástrica que Ket en su dosis más efectiva (3.16 mg/kg). Los resultados obtenidos respaldan otros estudios donde la combinación entre Ket y Tra generó

menos úlceras y erosiones que el control positivo con indometacina y Ket por sí solo (López-Muñoz et al., 2004).

Para evaluar el efecto de tolerancia farmacológica, definida como la disminución o acortamiento en la duración de los efectos analgésicos, tras la exposición prolongada al fármaco, se utilizó un esquema de administraciones repetidas (12 administraciones), con esta metodología fueron evaluados los efectos antinociceptivos y los efectos adversos de Ket, Tra y las combinaciones (C1 y C2). Uno de los efectos no deseables de los opioides es la tolerancia que se genera tras su uso prolongado, algunos mecanismos propuestos que median este efecto, es la contra-regulación de incrementos progresivos de AMPc (Kieffer & Evans, 2002). Se necesita incrementar la dosis para mantener la disminución de este segundo mensajero (AMPc). El fenómeno de up-regulation o contra-regulación del AMPc se ha demostrado en diversas estructuras involucradas en la modulación del dolor: locus coeruleus, núcleo accumbens, área tegmental ventral y PAG (Nestler, 2004). La vía involucrada en el fenómeno de “up regulation” es el factor de transcripción CREB, este factor aumenta la síntesis de un opioide endógeno; dinorfina, que activa los receptores Kappa en el área tegmental ventral y produce un decremento de liberación de dopamina en el núcleo accumbens (Nestler, 2004). Otra teoría que explica la tolerancia es la fosforilación de receptores opioides, a través de la unión a β arrestina, donde se internaliza al receptor y disminuye el número de receptores de membrana (Nestler, 2004). Es importante mencionar que cada opioide es único en sus propiedades farmacodinámicas por lo que contribuye a diferentes grados de tolerancia generado. Bajo las condiciones experimentales antes expuestas se observó que Tra (opioide) reduce el porcentaje de efecto antinociceptivo, tras administraciones repetidas. Nuestros hallazgos respaldan lo encontrado con otros autores sobre la tolerancia generada por los opioides (Kieffer & Evans, 2002; Moreno-Rocha et al., 2012; Pernia-Andrade et al., 2004; Tortorici & Vanegas, 2000). Bajo las condiciones experimentales mencionadas en el diseño experimental se demostró que el Ket (AINE) reduce el porcentaje de efecto antinociceptivo, dependiente de la dosis, tras administraciones repetidas en el modelo PIFIR. La tolerancia de los AINEs aun es discutida por varios autores que ponen de manifiesto

la existencia o no de tolerancia farmacológica de los efectos antinociceptivos de estos fármacos. Nuestros hallazgos son consistentes con los encontrados en otro modelo inflamatorio, el de la formalina donde se demostró que la administración repetida de algunos AINEs entre ellos el Ket, produce una disminución de los efectos antinociceptivos evaluados, cabe destacar que los efectos antinociceptivos de estos AINEs fueron contrarrestados con el pretratamiento de un antagonista opioide (naloxona) (Tsiklauri et al., 2017). Lo que sugiere un posible papel del mecanismo opioide endógeno para Ket.

Las combinaciones (C1 y C2) redujeron sus efectos antinociceptivos tras 12 administraciones repetidas, observando una reducción del efecto de 90.30% y 76.47% respectivamente comparada con sus administraciones agudas. Los datos obtenidos en el presente trabajo respaldan los hallazgos obtenidos de otros autores, donde se observó que la coadministración repetida entre metamizol y tramadol generó tolerancia farmacológica de los efectos antinociceptivos en el modelo de prueba de retirada térmica de la pata (Moreno-Rocha et al., 2012). En otro estudio se observó que la administración de ácido acetilsalicílico de lisina (AASL) dos veces al día durante tres días produjo tolerancia cruzada con morfina y que el efecto antinociceptivo de AASL fue abolido por naloxona (Pernia-Andrade et al., 2004). Lo anterior sugiere que los AINEs participan en mecanismos opioides endógenos en estructuras como PAG y la combinación entre un AINE y un opioide con esquema de administraciones repetidas este generando tolerancia cruzada (Tortorici & Vanegas, 2000).

9. CONCLUSIONES

La coadministración de Ket y Tra genera efectos antinociceptivos de potenciación o supraaditivos y efectos de suma o aditivos, después de la administración oral aguda, en tres niveles de nocicepción evaluados (moderado, subintenso e intenso) en un modelo de dolor artrítico tipo gota en rata.

La combinación entre Ket y Tra por vía oral en el tratamiento agudo, ofrece la posibilidad de reducir las dosis efectivas de la monoterapia y en consecuencia no aumentar los efectos adversos de constipación, coordinación motora y lesiones gástricas.

La coadministración repetida de Ket y Tra por vía oral puede inducir tolerancia farmacológica en el modelo de disfunción inducido por dolor en rata (PIFIR), por un probable mecanismo de tolerancia cruzada.

La coadministración repetida de Ket y Tra por vía oral puede inducir tolerancia farmacológica en los efectos adversos de constipación, coordinación motora y lesiones gástricas.

10.PERSPECTIVAS

Nuestros resultados experimentales abren la posibilidad de ampliar algunos puntos.

1. Fisiopatología del dolor artrítico en el modelo PIFIR:

- Realizar un ensayo de migración-quimioatrayante del ácido úrico.
- Realizar un estudio dosis-respuesta del ácido úrico y observar los cambios en la morfología y bioquímica de la articulación.
- Establecer la relación entre la sinovitis y los efectos nociceptivos.
- Evaluar la atracción de células inmunes tras la administración intraarticular de ácido úrico.
- Determinar los cambios que se inducen con la combinación de un AINE y un opioide en células inmunes e histología articular.

2. Efectos antinociceptivos:

- El empleo de un análisis de superficie interacción sinérgica en busca de establecer las mejores proporciones entre Ket + Tra de acuerdo a la intensidad de dolor.
- Dilucidar los mecanismos farmacocinéticos: estableciendo si un fármaco modifica la absorción, metabolismo o excreción del otro.
- Dilucidar los mecanismos farmacodinámicos periféricos y centrales: evaluar los efectos antinociceptivos de Ket, Tra y empleando antagonistas de manera intraarticular y parental.
- Evaluar si el tramadol promueve la analgesia periférica en este modelo de dolor artrítico.
- Emplear antagonistas o agonistas de endocannabinoides, péptidos endógenos, por la posible vía analgésica en común entre AINEs y opioides.

3. Dimorfismo sexual:

- Determinar las diferencias entre machos y hembras en el modelo de dolor tipo artrítico y establecer si existen diferencias o no de acuerdo a la intensidad de dolor y la interacción farmacológica entre AINES y opioides.

- Determinar la diferencia de tolerancia farmacológica entre machos y hembras con los fármacos individuales y en combinación.

11. REFERENCIAS

- Aikawa, J., Uchida, K., Takano, S., Inoue, G., Minatani, A., Miyagi, M., Iwase, D., Sekiguchi, H., Mukai, M., & Takaso, M. (2017). Expression of calcitonin gene-related peptide in the infrapatellar fat pad in knee osteoarthritis patients. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 12(1), 65. <https://doi.org/10.1186/s13018-017-0568-1>
- Almutairi, K. (2021). The global prevalence of Rheumatoid Arthritis: A meta-analysis. *International Journal of Epidemiology*, 50(Supplement_1). <https://doi.org/10.1093/ije/dyab168.034>
- Anderson, G. D., Hauser, S. D., McGarity, K. L., Bremer, M. E., Isakson, P. C., & Gregory, S. A. (1996). Selective inhibition of cyclooxygenase (COX)-2 reverses inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. *Journal of Clinical Investigation*, 97(11), 2672–2679. <https://doi.org/10.1172/JCI118717>
- Anekar, A. A., & Cascella, M. (2022). WHO Analgesic Ladder. *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 38(3), 284. https://doi.org/10.1007/978-3-642-28753-4_102537
- Apuntes de Anatomía. Tipos de articulaciones: sinoviales y sólidas.* (n.d.). Retrieved July 5, 2023, from <https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/anatomia-tipos-articulaciones-sinoviales-y-solidas>
- Arendt-Nielsen, L., Nie, H., Laursen, M. B., Laursen, B. S., Madeleine, P., Simonsen, O. H., & Graven-Nielsen, T. (2010). Sensitization in patients with painful knee osteoarthritis. *Pain*, 149(3), 573–581. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.04.003>
- Aso, K., Izumi, M., Sugimura, N., Okanoue, Y., Ushida, T., & Ikeuchi, M. (2016). Nociceptive phenotype alterations of dorsal root ganglia neurons innervating the subchondral bone in osteoarthritic rat knee joints. *Osteoarthritis and Cartilage*, 24(9), 1596–1603. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2016.04.009>

- Bamps, D., Vriens, J., de Hoon, J., & Voets, T. (2021). TRP Channel Cooperation for Nociception: Therapeutic Opportunities. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 61(1), 655–677. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010919-023238>
- Bannister, K., & Dickenson, A. H. (2017). The plasticity of descending controls in pain: translational probing. *The Journal of Physiology*, 595(13), 4159–4166. <https://doi.org/10.1113/JP274165>
- Barakat, A. (2019). Revisiting Tramadol: A Multi-Modal Agent for Pain Management. *CNS Drugs*, 33(5), 481–501. <https://doi.org/10.1007/s40263-019-00623-5>
- Barbour, K. E., Helmick, C. G., Boring, M., & Brady, T. J. (2017). Vital Signs: Prevalence of Doctor-Diagnosed Arthritis and Arthritis-Attributable Activity Limitation — United States, 2013–2015. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 66(9), 246–253. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6609e1>
- Barve, R. A., Minnerly, J. C., Weiss, D. J., Meyer, D. M., Aguiar, D. J., Sullivan, P. M., Weinrich, S. L., & Head, R. D. (2007). Transcriptional profiling and pathway analysis of monosodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis in rats: relevance to human disease. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15(10), 1190–1198. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2007.03.014>
- Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., & Julius, D. (2009). Cellular and Molecular Mechanisms of pain. *Cell*, 139(2), 267–284. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2009.09.028>
- Belluzzi, E., Stocco, E., Pozzuoli, A., Granzotto, M., Porzionato, A., Vettor, R., De Caro, R., Ruggieri, P., Ramonda, R., Rossato, M., Favero, M., & Macchi, V. (2019). Contribution of Infrapatellar Fat Pad and Synovial Membrane to Knee Osteoarthritis Pain. *BioMed Research International*, 2019, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2019/6390182>
- Bendele, A. M. (2001). Animal models of osteoarthritis. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*, 1(4), 363–376.
- Berenbaum, F. (2013). Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). *Osteoarthritis and Cartilage*, 21(1), 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2012.11.012>

- Bergström, J., Ahmed, M., Li, J., Ahmad, T., Kreicbergs, A., & Spetea, M. (2006). Opioid peptides and receptors in joint tissues: Study in the rat. *Journal of Orthopaedic Research*, *24*(6), 1193–1199. <https://doi.org/10.1002/jor.20132>
- Berrocso, E., Micó, J. A., & Ugedo, L. (2006). In vivo effect of tramadol on locus coeruleus neurons is mediated by α 2-adrenoceptors and modulated by serotonin. *Neuropharmacology*, *51*(1), 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2006.03.013>
- Bessone, F. (2010). Non-steroidal anti-inflammatory drugs: What is the actual risk of liver damage? *World Journal of Gastroenterology*, *16*(45), 5651. <https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i45.5651>
- Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical Pharmacology*, *180*, 114147. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>
- Björkman, R. L., Hedner, T., Hallman, K. M., Henning, M., & Hedner, J. (1992). Localization of the central antinociceptive effects of diclofenac in the rat. *Brain Research*, *590*(1–2), 66–73. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91082-P](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91082-P)
- Bjurström, M. F., Blennow, K., Zetterberg, H., Bodelsson, M., Waldén, M., Dietz, N., Hall, S., Hansson, O., Irwin, M. R., & Mattsson-Carlsson, N. (2022). Central nervous system monoaminergic activity in hip osteoarthritis patients with disabling pain: associations with pain severity and central sensitization. *PAIN Reports*, *7*(1), e988. <https://doi.org/10.1097/PR9.0000000000000988>
- Bonnet, M.-P., Mignon, A., Mazoit, J.-X., Ozier, Y., & Marret, E. (2010). Analgesic efficacy and adverse effects of epidural morphine compared to parenteral opioids after elective caesarean section: A systematic review. *European Journal of Pain*, *14*(9), 894.e1-894.e9. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2010.03.003>
- Bove, S. E., Calcaterra, S. L., Brooker, R. M., Huber, C. M., Guzman, R. E., Juneau, P. L., Schrier, D. J., & Kilgore, K. S. (2003a). Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, *11*(11), 821–830. [https://doi.org/10.1016/S1063-4584\(03\)00163-8](https://doi.org/10.1016/S1063-4584(03)00163-8)

- Bove, S. E., Calcaterra, S. L., Brooker, R. M., Huber, C. M., Guzman, R. E., Juneau, P. L., Schrier, D. J., & Kilgore, K. S. (2003b). Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 11(11), 821–830. [https://doi.org/10.1016/S1063-4584\(03\)00163-8](https://doi.org/10.1016/S1063-4584(03)00163-8)
- Bravo, L., Llorca-Torralla, M., Berrocoso, E., & Micó, J. A. (2019). Monoamines as Drug Targets in Chronic Pain: Focusing on Neuropathic Pain. *Frontiers in Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01268>
- Calvino, B., Crepon-Bernard, M.-O., & Le Bars, D. (1987). Parallel clinical and behavioural studies of adjuvant-induced arthritis in the rat: Possible relationship with 'chronic pain.' *Behavioural Brain Research*, 24(1), 11–29. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(87\)90032-5](https://doi.org/10.1016/0166-4328(87)90032-5)
- Cashman, J. N. (1996). The Mechanisms of Action of NSAIDs in Analgesia. *Drugs*, 52(Supplement 5), 13–23. <https://doi.org/10.2165/00003495-199600525-00004>
- Cepeda, M. S., Camargo, F., Zea, C., & Valencia, L. (2006). Tramadol for osteoarthritis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005522.pub2>
- Cepeda, M. S., Carr, D. B., Miranda, N., Diaz, A., Silva, C., & Morales, O. (2005). Comparison of Morphine, Ketorolac, and Their Combination for Postoperative Pain Results from a Large, Randomized, Double-blind Trial. *Anesthesiology*, 103(6), 1225–1232. <https://doi.org/10.1097/00000542-200512000-00018>
- Chaiamnuay, S., Allison, J. J., & Curtis, J. R. (2006). Risks versus benefits of cyclooxygenase-2-selective nonsteroidal antiinflammatory drugs. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 63(19), 1837–1851. <https://doi.org/10.2146/ajhp050519>
- Chhana, A., Lee, G., & Dalbeth, N. (2015). Factors influencing the crystallization of monosodium urate: a systematic literature review. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 16(1), 296. <https://doi.org/10.1186/s12891-015-0762-4>
- Cialdai, C., Giuliani, S., Valenti, C., Tramontana, M., & Maggi, C. A. (2013). Comparison between oral and intra-articular antinociceptive effect of dexketoprofen and tramadol combination in monosodium iodoacetate-induced

- osteoarthritis in rats. *European Journal of Pharmacology*, 714(1–3), 346–351.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.07.026>
- Coderre, T. J., & Wall, P. D. (1987). Ankle joint urate arthritis (AJUA) in rats: an alternative animal model of arthritis to that produced by Freund's adjuvant. *Pain*, 28(3), 379–393. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(87\)90072-8](https://doi.org/10.1016/0304-3959(87)90072-8)
- Covino, B., Dubner, R., Gybels, J., Liebesk, J., Sternbach, R., Vyclicky, L., Yammamura, H., & Zimmermann, M. (1980). Ethical standards for investigations of experimental pain in animals. *Pain*, 9(2), 141–143. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(80\)90002-0](https://doi.org/10.1016/0304-3959(80)90002-0)
- Crofford, L. J. (2013). Use of NSAIDs in treating patients with arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 15(S3), S2. <https://doi.org/10.1186/ar4174>
- Cruwys, S. C., Kidd, B. L., Mapp, P. I., Walsh, D. A., & Blake, D. R. (1992). The effects of calcitonin gene-related peptide on formation of intra-articular oedema by inflammatory mediators. *British Journal of Pharmacology*, 107(1), 116–119. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1992.tb14472.x>
- Danziger, N., Weil-Fugazza, J., Le Bars, D., & Bouhassira, D. (1999). Alteration of Descending Modulation of Nociception during the Course of Monoarthritis in the Rat. *The Journal of Neuroscience*, 19(6), 2394–2400. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-06-02394.1999>
- Dayer, P., Collart, L., & Desmeules, J. (1994). The Pharmacology of Tramadol. *Drugs*, 47(Supplement 1), 3–7. <https://doi.org/10.2165/00003495-199400471-00003>
- Déciga-Campos, M., López, U. G., Reval, Ma. I. D., & López-Muñoz, F. J. (2003). Enhancement of antinociception by co-administration of an opioid drug (morphine) and a preferential cyclooxygenase-2 inhibitor (rofecoxib) in rats. *European Journal of Pharmacology*, 460(2–3), 99–107. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(02\)02920-5](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(02)02920-5)
- Desai, J., Steiger, S., & Anders, H.-J. (2017). Molecular Pathophysiology of Gout. *Trends in Molecular Medicine*, 23(8), 756–768. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.06.005>

- Dieppe, P. A., & Lohmander, L. S. (2005). Pathogenesis and management of pain in osteoarthritis. *The Lancet*, 365(9463), 965–973. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)71086-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)71086-2)
- Domer, F. (1990). Characterization of the analgesic activity of ketorolac in mice. *European Journal of Pharmacology*, 177(3), 127–135. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(90\)90262-5](https://doi.org/10.1016/0014-2999(90)90262-5)
- Dong, T., Chang, H., Zhang, F., Chen, W., Zhu, Y., Wu, T., & Zhang, Y. (2015). Calcitonin gene-related peptide can be selected as a predictive biomarker on progression and prognosis of knee osteoarthritis. *International Orthopaedics*, 39(6), 1237–1243. <https://doi.org/10.1007/s00264-015-2744-4>
- Dubin, A. E., & Patapoutian, A. (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3760. <https://doi.org/10.1172/JCI42843>
- Dunham, N. W., & Miya, T. S. (1957). A Note on a Simple Apparatus for Detecting Neurological Deficit in Rats and Mice**College of Pharmacy, University of Nebraska, Lincoln 8. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific Ed.)*, 46(3), 208–209. <https://doi.org/10.1002/jps.3030460322>
- Dye, S. F., Vaupel, G. L., & Dye, C. C. (1998). Conscious Neurosensory Mapping of the Internal Structures of the Human Knee Without Intraarticular Anesthesia. *The American Journal of Sports Medicine*, 26(6), 773–777. <https://doi.org/10.1177/03635465980260060601>
- El-Sayed, A.-A. Y., Mohamed, K. M., Nasser, A. Y., Button, J., & Holt, D. W. (2013). Simultaneous determination of tramadol, O-desmethyltramadol and N-desmethyltramadol in human urine by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 926, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.02.019>
- Fenton, B. W., Shih, E., & Zolton, J. (2015). The neurobiology of pain perception in normal and persistent pain. *Pain Management*, 5(4), 297–317. <https://doi.org/10.2217/pmt.15.27>

- Fernández Hernández, M., Bouzas Pérez, D., Maldonado Vega, S., & Carceller Malo, J. M. (2014). Guía Básica de Fármacos y Dolor. *Rev Electron AnestesiaR*, 6(2), 29.
- Fernihough, J., Gentry, C., Malcangio, M., Fox, A., Rediske, J., Pellas, T., Kidd, B., Bevan, S., & Winter, J. (2004). Pain related behaviour in two models of osteoarthritis in the rat knee. *Pain*, 112(1), 83–93. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.08.004>
- Filitz, J., Ihmsen, H., Günther, W., Tröster, A., Schwilden, H., Schüttler, J., & Koppert, W. (2008). Supra-additive effects of tramadol and acetaminophen in a human pain model ☆. *Pain*, 136(3), 262–270. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2007.06.036>
- Fletcher, D. (2011). Farmacología de los opioides. *EMC - Anestesia-Reanimación*, 37(2), 1–24. [https://doi.org/10.1016/S1280-4703\(11\)71031-3](https://doi.org/10.1016/S1280-4703(11)71031-3)
- FOWLER, C., HOLT, S., NILSSON, O., JONSSON, K., TIGER, G., & JACOBSSON, S. (2005). The endocannabinoid signaling system: Pharmacological and therapeutic aspects. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 81(2), 248–262. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.01.023>
- Gallantine, E. L., & Meert, T. F. (2005). A Comparison of the Antinociceptive and Adverse Effects of the mu-Opioid Agonist Morphine and the delta-Opioid Agonist SNC80. *Basic & Clinical Pharmacology and Toxicology*, 97(1), 39–51. https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2005.pto_97107.x
- Galois, L., Etienne, S., Grossin, L., Watrin-Pinzano, A., Cournil-Henrionnet, C., Loeuille, D., Netter, P., Mainard, D., & Gillet, P. (2004). Dose–response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. *Osteoarthritis and Cartilage*, 12(10), 779–786. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2004.06.008>
- García-Hernández, L., Déciga-Campos, M., Guevara-López, U., & López-Muñoz, F. J. (2007). Co-administration of rofecoxib and tramadol results in additive or sub-additive interaction during arthritic nociception in rat. *Pharmacology*

- Biochemistry and Behavior*, 87(3), 331–340.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.05.007>
- Garcia-Larrea, L. (2012). The posterior insular-opercular region and the search of a primary cortex for pain. *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology*, 42(5), 299–313. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2012.06.001>
- Garcia-Larrea, L., & Peyron, R. (2013). Pain matrices and neuropathic pain matrices: A review. *Pain*, 154(Supplement 1), S29–S43.
<https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.09.001>
- Garland, E. L. (2012). Pain Processing in the Human Nervous System. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 39(3), 561–571.
<https://doi.org/10.1016/j.pop.2012.06.013>
- Gauriau, C., & Bernard, J.-F. (2002). Pain Pathways and Parabrachial Circuits in the Rat. *Experimental Physiology*, 87(2), 251–258.
<https://doi.org/10.1113/eph8702357>
- Gibaldi, M. (1991). Estimation of area under the curve . In *Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics*. Lea & Febiger, Philadelphia, 377–378.
- Granados-Soto, V., Flores-Murrieta, F. J., Castañeda-Hernández, G., & López-Muñoz, F. J. (1995a). Evidence for the involvement of nitric oxide in the antinociceptive effect of ketorolac. *European Journal of Pharmacology*, 277(2–3), 281–284. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(95\)00123-3](https://doi.org/10.1016/0014-2999(95)00123-3)
- Granados-Soto, V., Flores-Murrieta, F. J., Castañeda-Hernández, G., & López-Muñoz, F. J. (1995b). Evidence for the involvement of nitric oxide in the antinociceptive effect of ketorolac. *European Journal of Pharmacology*, 277(2–3), 281–284. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(95\)00123-3](https://doi.org/10.1016/0014-2999(95)00123-3)
- Griffin, T. M., Fermor, B., Huebner, J. L., Kraus, V. B., Rodriguiz, R. M., Wetsel, W. C., Cao, L., Setton, L. A., & Guilak, F. (2010). Diet-induced obesity differentially regulates behavioral, biomechanical, and molecular risk factors for osteoarthritis in mice. *Arthritis Research & Therapy*, 12(4), R130.
<https://doi.org/10.1186/ar3068>
- Guingamp, C., Gegout-Pottie, P., Philippe, L., Terlain, B., Netter, P., & Gillet, P. (1997). Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis. A dose-

- response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry. *Arthritis & Rheumatism*, 40(9), 1670–1679. <https://doi.org/10.1002/art.1780400917>
- Hamrick, K. L., Beyer, C. A., Lee, J. A., Cocanour, C. S., & Duby, J. J. (2019). Multimodal Analgesia and Opioid Use in Critically Ill Trauma Patients. *Journal of the American College of Surgeons*, 228(5), 769-775e1. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2019.01.020>
- Hassanian-Moghaddam, H., Farajidana, H., Sarjami, S., & Owliaey, H. (2013). Tramadol-induced apnea. *The American Journal of Emergency Medicine*, 31(1), 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2012.05.013>
- Henschke, N., Kamper, S. J., & Maher, C. G. (2015). The Epidemiology and Economic Consequences of Pain. *Mayo Clinic Proceedings*, 90(1), 139–147. <https://doi.org/10.1016/J.MAYOCP.2014.09.010>
- Hildebrand, C., Öqvist, G., Brax, L., & Tuisku, F. (1991). Anatomy of the rat knee joint and fibre composition of a major articular nerve. *The Anatomical Record*, 229(4), 545–555. <https://doi.org/10.1002/ar.1092290415>
- Hochman, J. R., French, M. R., Bermingham, S. L., & Hawker, G. A. (2010). The nerve of osteoarthritis pain. *Arthritis Care & Research*, 62(7), 1019–1023. <https://doi.org/10.1002/acr.20142>
- Hoskin, P. J., & Hanks, G. W. (1991). Opioid Agonist-Antagonist Drugs in Acute and Chronic Pain States. *Drugs*, 41(3), 326–344. <https://doi.org/10.2165/00003495-199141030-00002>
- Hsu, S.-K., Yeh, C.-C., Lin, C.-J., & Hsieh, Y.-J. (2012). An open label trial of the effects and safety profile of extended-release tramadol in the management of chronic pain. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*, 50(3), 101–105. <https://doi.org/10.1016/j.aat.2012.08.008>
- Huang, R., Pei, L., Liu, Q., Chen, S., Dou, H., Shu, G., Yuan, Z., Lin, J., Peng, G., Zhang, W., & Fu, H. (2019). Isobologram Analysis: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research. *Frontiers in Pharmacology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01222>
- Hwang, H.-J., Lee, H.-J., Kim, C.-J., Shim, I., & Hahm, D.-H. (2008). Inhibitory effect of amygdalin on lipopolysaccharide-inducible TNF-alpha and IL-1beta mRNA

- expression and carrageenan-induced rat arthritis. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(10), 1641–1647.
- Isaacson, W. (2018). *Leonardo da Vinci* (J. Ainaud i Escudero, Ed.; Primera edición). Penguin Random House .
- Ishihara, S., Obeidat, A. M., Wokosin, D. L., Ren, D., Miller, R. J., Malfait, A.-M., & Miller, R. E. (2021). The role of intra-articular neuronal CCR2 receptors in knee joint pain associated with experimental osteoarthritis in mice. *Arthritis Research & Therapy*, 23(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s13075-021-02486-y>
- Isiordia-Espinoza, M. A., Pozos-Guillén, A., Pérez-Urizar, J., & Chavarría-Bolaños, D. (2014). Involvement of Nitric Oxide and ATP-Sensitive Potassium Channels in the Peripheral Antinociceptive Action of a Tramadol-Dexketoprofen Combination in the Formalin Test. *Drug Development Research*, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/ddr.21180>
- Ivanavicius, S. P., Ball, A. D., Heapy, C. G., Westwood, R. F., Murray, F., & Read, S. J. (2007a). Structural pathology in a rodent model of osteoarthritis is associated with neuropathic pain: Increased expression of ATF-3 and pharmacological characterisation. *Pain*, 128(3), 272–282. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.12.022>
- Ivanavicius, S. P., Ball, A. D., Heapy, C. G., Westwood, R. F., Murray, F., & Read, S. J. (2007b). Structural pathology in a rodent model of osteoarthritis is associated with neuropathic pain: Increased expression of ATF-3 and pharmacological characterisation. *Pain*, 128(3), 272–282. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.12.022>
- Jamali, F., Mehvar, R., & Pasutto, F. M. (1989). Enantioselective Aspects of Drug Action and Disposition: Therapeutic Pitfalls. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78(9), 695–715. <https://doi.org/10.1002/jps.2600780902>
- James, S. L., Abate, D., Abate, K. H., Abay, S. M., Abbafati, C., Abbasi, N., Abbastabar, H., Abd-Allah, F., Abdela, J., Abdelalim, A., Abdollahpour, I., Abdulkader, R. S., Abebe, Z., Abera, S. F., Abil, O. Z., Abraha, H. N., Abu-Raddad, L. J., Abu-Rmeileh, N. M. E., Accrombessi, M. M. K., ... Murray, C. J. L. (2018). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived

- with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*, 392(10159), 1789–1858. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32279-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32279-7)
- Jamison, R. N., & Mao, J. (2015). Opioid Analgesics. *Mayo Clinic Proceedings*, 90(7), 957–968. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.04.010>
- Jesse, C. R., Wilhelm, E. A., Bortolatto, C. F., & Nogueira, C. W. (2010). Evidence for the involvement of the noradrenergic system, dopaminergic and imidazoline receptors in the antidepressant-like effect of tramadol in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 95(3), 344–350. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.02.011>
- Jones, S. L. (1996). Dipyrone into the nucleus raphe magnus inhibits the rat nociceptive tail-flick reflex. *European Journal of Pharmacology*, 318(1), 37–40. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(96\)00909-0](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(96)00909-0)
- Joosten, L. A. B., Netea, M. G., Mylona, E., Koenders, M. I., Malireddi, R. K. S., Oosting, M., Stienstra, R., van de Veerdonk, F. L., Stalenhoef, A. F., Giamarellos-Bourboulis, E. J., Kanneganti, T.-D., & van der Meer, J. W. M. (2010). Engagement of fatty acids with toll-like receptor 2 drives interleukin-1 β production via the ASC/caspase 1 pathway in monosodium urate monohydrate crystal-induced gouty arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 62(11), 3237–3248. <https://doi.org/10.1002/art.27667>
- Joshi, C., Ambi, U., & Mirji, P. (2012). Can we use Tramadol as an anti-shivering agent? *Indian Journal of Anaesthesia*, 56(1), 91. <https://doi.org/10.4103/0019-5049.93359>
- Jung, D., Mroszczak, E., & Bynum, L. (1988). Pharmacokinetics of ketorolac tromethamine in humans after intravenous, intramuscular and oral administration. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 35(4), 423–425. <https://doi.org/10.1007/BF00561376>
- Jurna, I., & Brune, K. (1990). Central effect of the non-steroid anti-inflammatory agents, indometacin, ibuprofen, and diclofenac, determined in C fibre-evoked

- activity in single neurones of the rat thalamus. *Pain*, 41(1), 71–80. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(90\)91111-U](https://doi.org/10.1016/0304-3959(90)91111-U)
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessel, T. M., Siegelbaum, S. A., Hudspeth, A. J., & Mack S. (2014). *Principles of Neural Science, Fifth Edition | AccessNeurology | McGraw Hill Medical: Vol. Pain* (Fifth Edition). <https://neurology.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1049>
- Kapoor, M., Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Pelletier, J.-P., & Fahmi, H. (2011). Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 7(1), 33–42. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.196>
- Karamchandani, K., Klick, J. C., Linskey Dougherty, M., Bonavia, A., Allen, S. R., & Carr, Z. J. (2019). Pain management in trauma patients affected by the opioid epidemic: A narrative review. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 87(2), 430–439. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000002292>
- Kieffer, B. L., & Evans, C. J. (2002). Opioid Tolerance—In Search of the Holy Grail. *Cell*, 108(5), 587–590. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00666-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00666-9)
- Kim, H. K., Bae, J., Lee, S. H., Hwang, S.-H., Kim, M.-S., Kim, M. J., Jun, S., Cervantes, C. L., Jung, Y.-S., Back, S., Lee, H., Lee, S.-E., Dougherty, P. M., Lee, S.-W., Park, J.-I., & Abdi, S. (2021). Blockers of Wnt3a, Wnt10a, or β -Catenin Prevent Chemotherapy-Induced Neuropathic Pain In Vivo. *Neurotherapeutics*, 18(1), 601–614. <https://doi.org/10.1007/s13311-020-00956-w>
- Kirkpatrick, D. R., McEntire, D. M., Hamsch, Z. J., Kerfeld, M. J., Smith, T. A., Reisbig, M. D., Youngblood, C. F., & Agrawal, D. K. (2015). Therapeutic Basis of Clinical Pain Modulation. *Clinical and Translational Science*, 8(6), 848–856. <https://doi.org/10.1111/cts.12282>
- Klotz, U. (2011). Tramadol — the Impact of its Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties on the Clinical Management of Pain. *Arzneimittelforschung*, 53(10), 681–687. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1299812>

- Kowalski, M. L., & Makowska, J. S. (2015). Seven Steps to the Diagnosis of NSAIDs Hypersensitivity: How to Apply a New Classification in Real Practice? *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 7(4), 312. <https://doi.org/10.4168/aair.2015.7.4.312>
- Laine, L. (2003). Gastrointestinal Effects of NSAIDs and Coxibs. *Journal of Pain and Symptom Management*, 25(2), 32–40. [https://doi.org/10.1016/S0885-3924\(02\)00629-2](https://doi.org/10.1016/S0885-3924(02)00629-2)
- Lamana, S. M. S., Napimoga, M. H., Nascimento, A. P. C., Freitas, F. F., de Araujo, D. R., Quinteiro, M. S., Macedo, C. G., Fogaça, C. L., & Clemente-Napimoga, J. T. (2017). The anti-inflammatory effect of tramadol in the temporomandibular joint of rats. *European Journal of Pharmacology*, 807, 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.04.012>
- Lamprecht, P., Till, A., & Kabelitz, D. (2008). Neue Aspekte zur Pathogenese der Gicht. *Zeitschrift Für Rheumatologie*, 67(2), 151–156. <https://doi.org/10.1007/s00393-007-0254-5>
- Laslett, L. L., Kingsbury, S. R., Hensor, E. M. A., Bowes, M. A., & Conaghan, P. G. (2014). Effect of bisphosphonate use in patients with symptomatic and radiographic knee osteoarthritis: data from the Osteoarthritis Initiative. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 73(5), 824–830. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-202989>
- Leáñez, S., Hervera, A., & Pol, O. (2009). Peripheral antinociceptive effects of μ - and δ -opioid receptor agonists in NOS2 and NOS1 knockout mice during chronic inflammatory pain. *European Journal of Pharmacology*, 602(1), 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.11.019>
- Lee, I.-S., Necka, E. A., & Atlas, L. Y. (2020). Distinguishing pain from nociception, salience, and arousal: How autonomic nervous system activity can improve neuroimaging tests of specificity. *NeuroImage*, 204, 116254. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116254>
- Lee, Y., Mollison, K., & Cheng, W. (1971). The effects of anti-ulcer agents on indomethacin-induced gastric ulceration in the rat. *Arch. Int. Pharmacodyn*, 191, 370–377.

- Leknes, S., Berna, C., Lee, M. C., Snyder, G. D., Biele, G., & Tracey, I. (2013). The importance of context: When relative relief renders pain pleasant. *Pain*, *154*(3), 402–410. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.11.018>
- Levine, J., Dardick, S., Roizen, M., Helms, C., & Basbaum, A. (1986). Contribution of sensory afferents and sympathetic efferents to joint injury in experimental arthritis. *The Journal of Neuroscience*, *6*(12), 3423–3429. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.06-12-03423.1986>
- Li, S., Li, L., Yan, H., Jiang, X., Hu, W., Han, N., & Wang, D. (2019). Anti-gouty arthritis and anti-hyperuricemia properties of celery seed extracts in rodent models. *Molecular Medicine Reports*. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10708>
- Li, Z., Liu, J., Dong, F., Chang, N., Huang, R., Xia, M., Patterson, T. A., & Hong, H. (2023). Three-Dimensional Structural Insights Have Revealed the Distinct Binding Interactions of Agonists, Partial Agonists, and Antagonists with the μ Opioid Receptor. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(8), 7042. <https://doi.org/10.3390/ijms24087042>
- Little, C. B., & Zaki, S. (2012). What constitutes an “animal model of osteoarthritis” – the need for consensus? *Osteoarthritis and Cartilage*, *20*(4), 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2012.01.017>
- Liu, C., & Chen, Y. (2022). Ketorolac tromethamine alleviates IL-1 β -induced chondrocyte injury by inhibiting COX-2 expression. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *23*(5), 337. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11267>
- Liu, J. A., Yu, J., & Cheung, C. W. (2021). Immune Actions on the Peripheral Nervous System in Pain. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(3), 1448. <https://doi.org/10.3390/ijms22031448>
- Llorca-Torralba, M., Borges, G., Neto, F., Mico, J. A., & Berrocoso, E. (2016). Noradrenergic Locus Coeruleus pathways in pain modulation. *Neuroscience*, *338*, 93–113. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2016.05.057>
- López-Muñoz, F., Godínez-Chaparro, B., Huerta-Cruz, J., Guevara-López, U., Domínguez-Ramírez, A., & Cortés-Arroyo, A. (2008). The antinociceptive efficacy of morphine, metamizol, or their combination in an experimental rat

- model with different levels of inflammatory pain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 91(1), 196–201. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2008.07.007>
- López-Muñoz, F. J. (1994). Surface of synergistic interaction between dipyrone and morphine in the PIFIR model. *Drug Development Research*, 33(1), 26–32. <https://doi.org/10.1002/ddr.430330105>
- López-Muñoz, F. J., Díaz-Reval, M. I., Terrón, J. A., & Déciga Campos, M. (2004). Analysis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rat. *European Journal of Pharmacology*, 484(2–3), 157–165. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2003.11.005>
- López-Muñoz, F. J., Salazar, L. A., Castañeda-Hernández, G., & Villarreal, J. E. (1993). A new model to assess analgesic activity: Pain-induced functional impairment in the rat (PIFIR). *Drug Development Research*, 28(2), 169–175. <https://doi.org/10.1002/ddr.430280207>
- López-Muñoz, F. L. (1994). Surface of Synergistic Interaction Between Dipyrone and Morphine in the PIFIR Model. *Drug Development Research*, 33, 26–32.
- López-Muñoz, F. L., Salazar, A. L., Castañeda-Hernández, H. G., & Villareal, E. J. (1993). A new Model to Assess Analgesic Activity: Pain-induced Functional Impairment in the Rat (PIFIR). *Drug Development Research*, 28, 169–175.
- López-Rubalcava, C., & Fernández-Guasti, A. (1994). Noradrenaline-serotonin interactions in the anxiolytic effects of 5-HT_{1A} agonists. *Behavioural Pharmacology*, 5(1), 42–51. <https://doi.org/10.1097/00008877-199402000-00005>
- Lorenzetti, B. B., & Ferreira, S. H. (1985). Mode of analgesic action of dipyrone: Direct antagonism of inflammatory hyperalgesia. *European Journal of Pharmacology*, 114(3), 375–381. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(85\)90383-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(85)90383-8)
- Malmberg, A. B., & Yaksh, T. L. (1992). Hyperalgesia Mediated by Spinal Glutamate or Substance P Receptor Blocked by Spinal Cyclooxygenase Inhibition. *Science*, 257(5074), 1276–1279. <https://doi.org/10.1126/science.1381521>
- Manara, L., Bianchi, G., Ferretti, P., & Tavani, A. (1986). Inhibition of gastrointestinal transit by morphine in rats results primarily from direct drug action on gut opioid

- sites. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 237(3), 945–949.
- Mapp, P. I., & Walsh, D. A. (2012). Mechanisms and targets of angiogenesis and nerve growth in osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 8(7), 390–398. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2012.80>
- Martinon, F., Pétrilli, V., Mayor, A., Tardivel, A., & Tschopp, J. (2006). Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature*, 440(7081), 237–241. <https://doi.org/10.1038/nature04516>
- Matayoshi, T., Goto, T., Fukuhara, E., Takano, H., Kobayashi, S., & Takahashi, T. (2005). Neuropeptide substance P stimulates the formation of osteoclasts via synovial fibroblastic cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 327(3), 756–764. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.12.055>
- McDougall, J. J., Bray, R. C., & Sharkey, K. A. (1997). Morphological and immunohistochemical examination of nerves in normal and injured collateral ligaments of rat, rabbit, and human knee joints. *The Anatomical Record*, 248(1), 29–39. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199705\)248:1<29::AID-AR4>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199705)248:1<29::AID-AR4>3.0.CO;2-A)
- McEntire, D. M., Kirkpatrick, D. R., Dueck, N. P., Kerfeld, M. J., Smith, T. A., Nelson, T. J., Reisbig, M. D., & Agrawal, D. K. (2016). Pain transduction: a pharmacologic perspective. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 9(8), 1069–1080. <https://doi.org/10.1080/17512433.2016.1183481>
- McKenzie, F. R., & Milligan, G. (1990). δ -opioid-receptor-mediated inhibition of adenylate cyclase is transduced specifically by the guanine-nucleotide-binding protein Gi2. *Biochemical Journal*, 267(2), 391–398. <https://doi.org/10.1042/bj2670391>
- Mecs, L., Tuboly, G., Toth, K., Nagy, E., Nyari, T., Benedek, G., & Horvath, G. (2010). Peripheral antinociceptive effect of 2-arachidonoyl-glycerol and its interaction with endomorphin-1 in arthritic rat ankle joints. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 37(5–6), 544–550. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2010.05346.x>

- Meeks, N. M., Glass, J. S., & Carroll, B. T. (2015). Acute pain management in dermatology. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 73(4), 533–540. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.03.061>
- Melzack, R. (1990). Phantom limbs and the concept of a neuromatrix. *Trends in Neurosciences*, 13(3), 88–92. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90179-E](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90179-E)
- Michaud, K., Augsburger, M., Romain, N., Giroud, C., & Mangin, P. (1999). Fatal overdose of tramadol and alprazolam. *Forensic Science International*, 105(3), 185–189. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(99\)00118-8](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(99)00118-8)
- Millan, M. J. (1999). The induction of pain: an integrative review. *Progress in Neurobiology*, 57(1), 1–164. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(98\)00048-3](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(98)00048-3)
- Mollereau, C., Parmentier, M., Mailleux, P., Butour, J.-L., Moisand, C., Chalon, P., Caput, D., Vassart, G., & Meunier, J.-C. (1994). ORL1, a novel member of the opioid receptor family. *FEBS Letters*, 341(1), 33–38. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(94\)80235-1](https://doi.org/10.1016/0014-5793(94)80235-1)
- Moon, S. W., Park, E. H., Suh, H. R., Ko, D. H., Kim, Y. I., & Han, H. C. (2016). The contribution of activated peripheral kappa opioid receptors (kORs) in the inflamed knee joint to anti-nociception. *Brain Research*, 1648, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.06.048>
- Moreno-Rocha, L. A., Domínguez-Ramírez, A. M., Cortés-Arroyo, A. R., Bravo, G., & López-Muñoz, F. J. (2012). Antinociceptive effects of tramadol in co-administration with metamizol after single and repeated administrations in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 103(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.07.011>
- Morgan, M. M., Gold, M. S., Liebeskind, J. C., & Stein, C. (1991). Periaqueductal gray stimulation produces a spinally mediated, opioid antinociception for the inflamed hindpaw of the rat. *Brain Research*, 545(1–2), 17–23. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91264-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91264-2)
- Mroczczak, E., Combs, D., Chaplin, M., Tsina, I., Tarnowski, T., Rocha, C., Tam, Y., Boyd, A., Young, J., & Depass, L. (1996). Chiral Kinetics and Dynamics of Ketorolac. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 36(6), 521–539. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1996.tb05042.x>

- Mulay, S. R., Desai, J., Kumar, S. V., Eberhard, J. N., Thomasova, D., Romoli, S., Grigorescu, M., Kulkarni, O. P., Popper, B., Vielhauer, V., Zuchtriegel, G., Reichel, C., Bräsen, J. H., Romagnani, P., Bilyy, R., Munoz, L. E., Herrmann, M., Liapis, H., Krautwald, S., ... Anders, H.-J. (2016). Cytotoxicity of crystals involves RIPK3-MLKL-mediated necroptosis. *Nature Communications*, *7*(1), 10274. <https://doi.org/10.1038/ncomms10274>
- Nascimento, A. I., Mar, F. M., & Sousa, M. M. (2018). The intriguing nature of dorsal root ganglion neurons: Linking structure with polarity and function. *Progress in Neurobiology*, *168*, 86–103. <https://doi.org/10.1016/J.PNEUROBIO.2018.05.002>
- Neogi, T., Guermazi, A., Roemer, F., Nevitt, M. C., Scholz, J., Arendt-Nielsen, L., Woolf, C., Niu, J., Bradley, L. A., Quinn, E., & Frey Law, L. (2016). Association of Joint Inflammation With Pain Sensitization in Knee Osteoarthritis: The Multicenter Osteoarthritis Study. *Arthritis & Rheumatology*, *68*(3), 654–661. <https://doi.org/10.1002/art.39488>
- Nestler, E. J. (2004). Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology*, *47*, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.06.031>
- Neugebauer, V., Lucke, T., & Schaible, H. G. (1993). N-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA receptor antagonists block the hyperexcitability of dorsal horn neurons during development of acute arthritis in rat's knee joint. *Journal of Neurophysiology*, *70*(4), 1365–1377. <https://doi.org/10.1152/jn.1993.70.4.1365>
- Nozaki-Taguchi, N., & Yaksh, T. L. (1999). Characterization of the Antihyperalgesic Action of a Novel Peripheral Mu-opioid Receptor Agonist-Loperamide. *Anesthesiology*, *90*(1), 225–234. <https://doi.org/10.1097/00000542-199901000-00029>
- Ohashi, Y., Uchida, K., Fukushima, K., Satoh, M., Koyama, T., Tsuchiya, M., Saito, H., Takahira, N., Inoue, G., & Takaso, M. (2021). NGF Expression and Elevation in Hip Osteoarthritis Patients with Pain and Central Sensitization. *BioMed Research International*, *2021*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2021/9212585>
- Ortiz-Bravo, E., Sieck, M. S., & Ralph Schumacher, H. (1993). Changes in the proteins coating monosodium urate crystals during active and subsiding

- inflammation. immunogold studies of synovial fluid from patients with gout and of fluid obtained using the rat subcutaneous air pouch model. *Arthritis & Rheumatism*, 36(9), 1274–1285. <https://doi.org/10.1002/art.1780360912>
- Ossipov, M. H., Morimura, K., & Porreca, F. (2014). Descending pain modulation and chronification of pain. *Current Opinion in Supportive & Palliative Care*, 8(2), 143–151. <https://doi.org/10.1097/SPC.0000000000000055>
- Peláez-Ballestas, I., Sanin, L. H., Moreno-Montoya, J., Alvarez-Nemegyei, J., Burgos-Vargas, R., Garza-Elizondo, M., Rodriguez-Amado, J., Goycochea-Robles, M.-V., Madariaga, M., Zamudio, J., Santana, N., & Cardiel, M. H. (2011). Epidemiology of the Rheumatic Diseases in Mexico. A Study of 5 Regions Based on the COPCORD Methodology. *The Journal of Rheumatology Supplement*, 86(0), 3–8. <https://doi.org/10.3899/jrheum.100951>
- Pernia-Andrade, A. J., Tortorici, V., & Vanegas, H. (2004). Induction of opioid tolerance by lysine-acetylsalicylate in rats. *Pain*, 111(1–2), 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.06.006>
- Pini, L.-A., Vitale, G., & Sandrini, M. (1997). Serotonin and Opiate Involvement in the Antinociceptive Effect of Acetylsalicylic Acid. *Pharmacology*, 54(2), 84–91. <https://doi.org/10.1159/000139473>
- Pinto, L. G., Souza, G. R., Kusuda, R., Lopes, A. H., Sant’Anna, M. B., Cunha, F. Q., Ferreira, S. H., & Cunha, T. M. (2019). Non-Peptidergic Nociceptive Neurons Are Essential for Mechanical Inflammatory Hypersensitivity in Mice. *Molecular Neurobiology*, 56(8), 5715–5728. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-1494-5>
- Piomelli, D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(11), 873–884. <https://doi.org/10.1038/nrn1247>
- Pomonis, J. D., Boulet, J. M., Gottshall, S. L., Phillips, S., Sellers, R., Bunton, T., & Walker, K. (2005). Development and pharmacological characterization of a rat model of osteoarthritis pain. *Pain*, 114(3), 339–346. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.11.008>
- Preston, K. L., Jasinski, D. R., & Testa, M. (1991). Abuse potential and pharmacological comparison of tramadol and morphine. *Drug and Alcohol Dependence*, 27(1), 7–17. [https://doi.org/10.1016/0376-8716\(91\)90081-9](https://doi.org/10.1016/0376-8716(91)90081-9)

- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., LaMantia, A.-S., McNamara, J. O., & Williams, S. M. (2001). Nociceptors. *Neuroscience*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10965/>
- RAE, R. A. E. D. de la lengua española. (2023, June 23). *RAE*, . 23.^a Ed.
- Ragab, G., Elshahaly, M., & Bardin, T. (2017). Gout: An old disease in new perspective – A review. *Journal of Advanced Research*, 8(5), 495–511. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.04.008>
- Raiger, L., Naithani, U., Bhatia, S., & Chauhan, S. (2012). Seizures after intravenous tramadol given as premedication. *Indian Journal of Anaesthesia*, 56(1), 55. <https://doi.org/10.4103/0019-5049.93345>
- Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F. J., Mogil, J. S., Ringkamp, M., Sluka, K. A., Song, X. J., Stevens, B., Sullivan, M. D., Tutelman, P. R., Ushida, T., & Vader, K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. In *Pain* (Vol. 161, Issue 9, pp. 1976–1982). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>
- Renthal, W. (2020). Pain genetics. In *Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease* (pp. 397–410). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813866-3.00023-0>
- Rice, A. S. C., Lloyd, J., Bullingham, R. E. S., & O'Sullivan, G. (1993). Ketorolac penetration into the cerebrospinal fluid of humans. *Journal of Clinical Anesthesia*, 5(6), 459–462. [https://doi.org/10.1016/0952-8180\(93\)90061-I](https://doi.org/10.1016/0952-8180(93)90061-I)
- Salaffi, F., Ciapetti, A., & Carotti, M. (2014). The sources of pain in osteoarthritis: a pathophysiological review. *Reumatismo*, 66(1), 57–71. <https://doi.org/10.4081/reumatismo.2014.766>
- Sánchez-Zermeño, M. E., Guevara-López, U., Medina-Rodríguez, F., Serratos-Vázquez, M. C., Gómez-Fuentes, S., & Espinosa-Betancourt, J. (2014). Analgesia postoperatoria en pacientes polifracturados con morfina-ketorolaco versus analgésicos no opiáceos. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 37(1), 12–17. www.medigraphic.org.mx

- Sawynok, J., Pinsky, C., & LaBella, F. S. (1979). On the specificity of naloxone as an opiate antagonist. *Life Sciences*, 25(19), 1621–1631. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(79\)90403-X](https://doi.org/10.1016/0024-3205(79)90403-X)
- Schaible, H. G., Ebersberger, A., & Segond Von Banchet, G. (2002). Mechanisms of Pain in Arthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 966(1), 343–354. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.2002.TB04234.X>
- Schaible, H. G., & Richter, F. (2004). Pathophysiology of pain. *Langenbeck's Archives of Surgery*, 389(4), 237–243. <https://doi.org/10.1007/S00423-004-0468-9/FIGURES/5>
- Schaible, H.-G. (2008a). *Spinal Mechanisms Contributing to Joint Pain* (pp. 4–27). <https://doi.org/10.1002/0470867639.ch2>
- Schaible, H.-G. (2008b). *Spinal Mechanisms Contributing to Joint Pain* (pp. 4–27). <https://doi.org/10.1002/0470867639.ch2>
- Schaible, H.-G., Von Banchet, G. S., Boettger, M. K., Bräuer, R., Gajda, M., Richter, F., Hensellek, S., Brenn, D., & Natura, G. (2010). The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1193(1), 60–69. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05301.x>
- Schiltz, C., Lioté, F., Prudhommeaux, F., Meunier, A., Champy, R., Callebert, J., & Bardin, T. (2002). Monosodium urate monohydrate crystal-induced inflammation in vivo: Quantitative histomorphometric analysis of cellular events. *Arthritis & Rheumatism*, 46(6), 1643–1650. <https://doi.org/10.1002/art.10326>
- Scholten-Peeters, G. G. M., Verhagen, A. P., Bekkering, G. E., Van Der Windt, D. A. W. M., Barnsley, L., Oostendorp, R. A. B., & Hendriks, E. J. M. (2003). Prognostic factors of whiplash-associated disorders: A systematic review of prospective cohort studies. *Pain*, 104(1–2), 303–322. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(03\)00050-2](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(03)00050-2)
- Schuelert, N., & McDougall, J. J. (2008). Cannabinoid-mediated antinociception is enhanced in rat osteoarthritic knees. *Arthritis & Rheumatism*, 58(1), 145–153. <https://doi.org/10.1002/art.23156>

- Schulz, R., Wüster, M., & Herz, A. (1979). Centrally and peripherally mediated inhibition of intestinal motility by opioids. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 308(3), 255–260. <https://doi.org/10.1007/BF00501390>
- Scott, L. J., & Perry, C. M. (2000). Tramadol: A review of its use in perioperative pain. *Drugs*, 60(1), 139–176. <https://doi.org/10.2165/00003495-200060010-00008/FIGURES/TAB9>
- Scott, P., Ma, H., Viriyakosol, S., Terkeltaub, R., & Liu-Bryan, R. (2006). Engagement of CD14 Mediates the Inflammatory Potential of Monosodium Urate Crystals. *The Journal of Immunology*, 177(9), 6370–6378. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.9.6370>
- Sharif, N. A., Williams, G. W., & Davis, T. L. (2000). Pharmacology and autoradiography of human DP prostanoid receptors using [³H]-BWA868C, a DP receptor-selective antagonist radioligand. *British Journal of Pharmacology*, 131(6), 1025–1038. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703686>
- Shrestha, M., Chiu, M. J., Martin, R. L., Cush, J. J., & Wainscott, M. S. (1994). Treatment of acute gouty arthritis with intramuscular ketorolac tromethamine. *The American Journal of Emergency Medicine*, 12(4), 454–455. [https://doi.org/10.1016/0735-6757\(94\)90061-2](https://doi.org/10.1016/0735-6757(94)90061-2)
- Silva, L. C. R., Miranda e Castor, M. G., Souza, T. C., Duarte, I. D. G., & Romero, T. R. L. (2015). NSAIDs induce peripheral antinociception by interaction with the adrenergic system. *Life Sciences*, 130, 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.03.011>
- Smith, D. J., Perrotti, J. M., Crisp, T., Cabral, M. E. Y., Long, J. T., & Scalzitti, J. M. (1988). The μ opiate receptor is responsible for descending pain inhibition originating in the periaqueductal gray region of the rat brain. *European Journal of Pharmacology*, 156(1), 47–54. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(88\)90145-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(88)90145-8)
- Sostres, C., Gargallo, C. J., Arroyo, M. T., & Lanás, A. (2010). Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 24(2), 121–132. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2009.11.005>

- Stanisz, A. M. (2001). *Neurogenic inflammation: Role of substance P* (pp. 373–378). [https://doi.org/10.1016/S1567-7443\(01\)80033-8](https://doi.org/10.1016/S1567-7443(01)80033-8)
- Steeds, C. E. (2009). The anatomy and physiology of pain. *Surgery (Oxford)*, 27(12), 507–511. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2009.10.013>
- Stein, C., & Machelska, H. (2011). Modulation of Peripheral Sensory Neurons by the Immune System: Implications for Pain Therapy. *Pharmacological Reviews*, 63(4), 860–881. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003145>
- Stein, C., Millan, M. J., Yassouridis, A., & Herz, A. (1988). Antinociceptive effects of μ - and κ -agonists in inflammation are enhanced by a peripheral opioid receptor-specific mechanism. *European Journal of Pharmacology*, 155(3), 255–264. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(88\)90511-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(88)90511-0)
- Strickland, I. T., Martindale, J. C., Woodhams, P. L., Reeve, A. J., Chessell, I. P., & McQueen, D. S. (2008). Changes in the expression of $\text{Na}^v 1.7$, $\text{Na}^v 1.8$ and $\text{Na}^v 1.9$ in a distinct population of dorsal root ganglia innervating the rat knee joint in a model of chronic inflammatory joint pain. *European Journal of Pain*, 12(5), 564–572. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2007.09.001>
- Subedi, M., Bajaj, S., Kumar, M. S., & YC, M. (2019). An overview of tramadol and its usage in pain management and future perspective. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 443–451. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.085>
- Tallarida, R. J. (2011). Quantitative Methods for Assessing Drug Synergism. *Genes & Cancer*, 2(11), 1003–1008. <https://doi.org/10.1177/1947601912440575>
- Teeple, E., Jay, G. D., Elsaid, K. A., & Fleming, B. C. (2013). Animal Models of Osteoarthritis: Challenges of Model Selection and Analysis. *The AAPS Journal*, 15(2), 438–446. <https://doi.org/10.1208/s12248-013-9454-x>
- Telleria-Diaz, A., Schmidt, M., Kreuzsch, S., Neubert, A.-K., Schache, F., Vazquez, E., Vanegas, H., Schaible, H.-G., & Ebersberger, A. (2010). Spinal antinociceptive effects of cyclooxygenase inhibition during inflammation: Involvement of prostaglandins and endocannabinoids. *Pain*, 148(1), 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.08.013>
- Tortorici, V., Morgan, M. M., & Vanegas, H. (2001). Tolerance to repeated microinjection of morphine into the periaqueductal gray is associated with

- changes in the behavior of off- and on-cells in the rostral ventromedial medulla of rats. *Pain*, 89(2), 237–244. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00367-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00367-5)
- Tortorici, V., & Vanegas, H. (1994). Putative role of medullary off- and on-cells in the antinociception produced by dipyrone (metamizol) administered systemically or microinjected into PAG. *Pain*, 57(2), 197–205. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90224-0](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90224-0)
- Tortorici, V., & Vanegas, H. (1995). Anti-nociception Induced by Systemic or PAG-microinjected Lysine-acetylsalicylate in Rats. Effects on Tail-flick Related Activity of Medullary Off- and On-cells. *European Journal of Neuroscience*, 7(9), 1857–1865. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1995.tb00706.x>
- Tortorici, V., & Vanegas, H. (2000). Opioid tolerance induced by metamizol (dipyrone) microinjections into the periaqueductal grey of rats. *The European Journal of Neuroscience*, 12(11), 4074–4080. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00295.x>
- Tortorici, V., Vásquez, E., & Vanegas, H. (1996). Naloxone partial reversal of the antinociception produced by dipyrone microinjected into the periaqueductal gray of rats. Possible involvement of medullary off- and on-cells. *Brain Research*, 725(1), 106–110. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00196-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00196-5)
- Tsiklauri, N., Nozadze, I., Gurtskaia, G., & Tsagareli, M. G. (2017). Antinociceptive tolerance to NSAIDs in the rat formalin test is mediated by the opioid mechanism. *Pharmacological Reports: PR*, 69(1), 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2016.10.004>
- Tsujino, H., Kondo, E., Fukuoka, T., Dai, Y., Tokunaga, A., Miki, K., Yonenobu, K., Ochi, T., & Noguchi, K. (2000). Activating Transcription Factor 3 (ATF3) Induction by Axotomy in Sensory and Motoneurons: A Novel Neuronal Marker of Nerve Injury. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 15(2), 170–182. <https://doi.org/10.1006/mcne.1999.0814>
- Urban, L., Thompson, S. W. N., Fox, A. J., Jeftinija, S., & Dray, A. (1995). Chapter 14 Peptidergic afferents: physiological aspects. *Progress in Brain Research*, 104(C), 255–269. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)61794-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)61794-X)

- van Niel, J., Schneider, J., & Tzschentke, T. (2016). Efficacy of Full μ -Opioid Receptor Agonists is not Impaired by Concomitant Buprenorphine or Mixed Opioid Agonists/Antagonists – Preclinical and Clinical Evidence. *Drug Research*, 66(11), 562–570. <https://doi.org/10.1055/s-0042-109393>
- Vane, J. R. (1971). Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-like Drugs. *Nature New Biology*, 231(25), 232–235. <https://doi.org/10.1038/newbio231232a0>
- Vardeh, D., Wang, D., Costigan, M., Lazarus, M., Saper, C. B., Woolf, C. J., FitzGerald, G. A., & Samad, T. A. (2009). COX2 in CNS neural cells mediates mechanical inflammatory pain hypersensitivity in mice. *Journal of Clinical Investigation*. <https://doi.org/10.1172/JCI37098>
- Vaughan, C. W. (1998). Enhancement of opioid inhibition of GABAergic synaptic transmission by cyclo-oxygenase inhibitors in rat periaqueductal grey neurones. *British Journal of Pharmacology*, 123(8), 1479–1481. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701818>
- Vaughan, C. W., Ingram, S. L., Connor, M. A., & Christie, M. J. (1997a). How opioids inhibit GABA-mediated neurotransmission. *Nature*, 390(6660), 611–614. <https://doi.org/10.1038/37610>
- Vaughan, C. W., Ingram, S. L., Connor, M. A., & Christie, M. J. (1997b). How opioids inhibit GABA-mediated neurotransmission. *Nature*, 390(6660), 611–614. <https://doi.org/10.1038/37610>
- Vazquez, E., Hernandez, N., Escobar, W., & Vanegas, H. (2005). Antinociception induced by intravenous dipyron (metamizol) upon dorsal horn neurons: Involvement of endogenous opioids at the periaqueductal gray matter, the nucleus raphe magnus, and the spinal cord in rats. *Brain Research*, 1048(1–2), 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.04.083>
- Vazzana, M., Andreani, T., Fangueiro, J., Faggio, C., Silva, C., Santini, A., Garcia, M. L., Silva, A. M., & Souto, E. B. (2015). Tramadol hydrochloride: Pharmacokinetics, pharmacodynamics, adverse side effects, co-administration of drugs and new drug delivery systems. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 70, 234–238. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.01.022>

- Ventura, R., Díaz, M., Déciga, M., Terrón, J. A., Domínguez, A., & López-Muñoz, F. J. (2010). Involvement of peripheral cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in inflammatory pain. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *54*(3), 405–412. <https://doi.org/10.1211/0022357021778475>
- Villegas-Gómez, R. M., Sánchez-Zárate, D. A., & Mejía-Terrazas, G. E. (2009). Eficacia y seguridad de la combinación tramadol-ketorolaco en cirugía del abdomen superior. *Revista Mexicana de Anestesiología*, *32*(4), 223–226. www.medigraphic.com
- Vos, T., Allen, C., Arora, M., Barber, R. M., Bhutta, Z. A., Brown, A., Carter, A., Casey, D. C., Charlson, F. J., Chen, A. Z., Coggeshall, M., Cornaby, L., Dandona, L., Dicker, D. J., Dilegge, T., Erskine, H. E., Ferrari, A. J., Fitzmaurice, C., Fleming, T., ... Murray, C. J. L. (2016). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, *388*(10053), 1545–1602. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31678-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31678-6)
- Warner, T. D., Giuliano, F., Vojnovic, I., Bukasa, A., Mitchell, J. A., & Vane, J. R. (1999). Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: A full *in vitro* analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *96*(13), 7563–7568. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.13.7563>
- Wessinger, W. D. (1986). Approaches to the study of drug interactions in behavioral pharmacology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *10*(2), 103–113. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(86\)90021-7](https://doi.org/10.1016/0149-7634(86)90021-7)
- Wittenberg, R. H., Willburger, R. E., Kleemeyer, K. S., & Peskar, B. A. (1993). *In vitro* release of prostaglandins and leukotrienes from synovial tissue, cartilage, and bone in degenerative joint diseases. *Arthritis & Rheumatism*, *36*(10), 1444–1450. <https://doi.org/10.1002/art.1780361017>
- Wolf, C. J. (2004). Pain: Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management. *Annals of Internal Medicine*, *140*(6), 441. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-140-8-200404200-00010>

- Woolf, C. J. (2010). What is this thing called pain? *Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3742–3744. <https://doi.org/10.1172/JCI45178>
- Woolf, C. J. (2011). Central sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*, 152(3), S2–S15. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.09.030>
- Xie, L., Tintani, F., Wang, X., Li, F., Zhen, G., Qiu, T., Wan, M., Crane, J., Chen, Q., & Cao, X. (2016). Systemic neutralization of TGF- β attenuates osteoarthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1376(1), 53–64. <https://doi.org/10.1111/nyas.13000>
- Yaksh, T. L., Yeung, J. C., & Rudy, T. A. (1976). Systematic examination in the rat of brain sites sensitive to the direct application of morphine: Observation of differential effects within the periaqueductal gray. *Brain Research*, 114(1), 83–103. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(76\)91009-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(76)91009-X)
- Yam, M., Loh, Y., Tan, C., Khadijah Adam, S., Abdul Manan, N., & Basir, R. (2018). General Pathways of Pain Sensation and the Major Neurotransmitters Involved in Pain Regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8), 2164. <https://doi.org/10.3390/ijms19082164>
- Yu, H., Huang, T., Lu, W. W., Tong, L., & Chen, D. (2022). Osteoarthritis Pain. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4642. <https://doi.org/10.3390/ijms23094642>
- Yu, H., Yao, S., Zhou, C., Fu, F., Luo, H., Du, W., Jin, H., Tong, P., Chen, D., Wu, C., & Ruan, H. (2021). Morroniside attenuates apoptosis and pyroptosis of chondrocytes and ameliorates osteoarthritic development by inhibiting NF- κ B signaling. *Journal of Ethnopharmacology*, 266, 113447. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113447>
- Yuasa, T., Otani, T., Koike, T., Iwamoto, M., & Enomoto-Iwamoto, M. (2008). Wnt/ β -catenin signaling stimulates matrix catabolic genes and activity in articular chondrocytes: its possible role in joint degeneration. *Laboratory Investigation*, 88(3), 264–274. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3700747>
- Zamudio-Cuevas, Y., Martínez-Flores, K., Fernández-Torres, J., Loissell-Baltazar, Y. A., Medina-Luna, D., López-Macay, A., Camacho-Galindo, J., Hernández-

- Díaz, C., Santamaría-Olmedo, M. G., López-Villegas, E. O., Oliviero, F., Scanu, A., Cerna-Cortés, J. F., Gutierrez, M., Pineda, C., & López-Reyes, A. (2016). Monosodium urate crystals induce oxidative stress in human synoviocytes. *Arthritis Research & Therapy*, *18*(1), 117. <https://doi.org/10.1186/s13075-016-1012-3>
- Zhang, W., Mei, R., & Wu, S. (2022). Ketorolac tromethamine represses senescence in aging articular chondrocytes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. <https://doi.org/10.1093/bbb/zbac047>
- Zhang, Y., Nevitt, M., Niu, J., Lewis, C., Torner, J., Guermazi, A., Roemer, F., McCulloch, C., & Felson, D. T. (2011). Fluctuation of knee pain and changes in bone marrow lesions, effusions, and synovitis on magnetic resonance imaging. *Arthritis & Rheumatism*, *63*(3), 691–699. <https://doi.org/10.1002/art.30148>
- Zhu, S., Zhu, J., Zhen, G., Hu, Y., An, S., Li, Y., Zheng, Q., Chen, Z., Yang, Y., Wan, M., Skolasky, R. L., Cao, Y., Wu, T., Gao, B., Yang, M., Gao, M., Kuliwaba, J., Ni, S., Wang, L., ... Cao, X. (2019). Subchondral bone osteoclasts induce sensory innervation and osteoarthritis pain. *Journal of Clinical Investigation*, *129*(3), 1076–1093. <https://doi.org/10.1172/JCI121561>
- Zimmermann, M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, *16*(2), 109–110. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(83\)90201-4](https://doi.org/10.1016/0304-3959(83)90201-4)