

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SEDE SUR

DEPARTAMENTO DE FARMACOBIOLOGÍA

**Análisis preclínico en dolor artrítico de la combinación de un
opioide débil con el inhibidor selectivo de cox-2 celecoxib, y
determinación de las dosis óptimas**

T E S I S

Que presenta

Q.F.B. Valeria Aranda Bahena

Para obtener el grado de

**Maestra en Ciencias en
Neurofarmacología y Terapéutica Experimental**

Director de la Tesis:

Dr. Francisco Javier López Muñoz †

Ciudad de México

Julio, 2024

Este proyecto se realizó en el laboratorio No. 7 “*Dolor y Analgesia*” del Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav, Sede Sur). La tesis se realizó con la tutoría de Dr. Francisco Javier López Muñoz. Adicionalmente, el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) otorgó apoyo mediante la beca de maestría número 822972.

Dedico esta tesis al amor de mi vida: **Mi madre, Rocío Bahena Guzmán.**

Eres la mayor definición de suerte que ha existido.

Gracias por acortar las distancias con tu inmenso amor.

AGRADECIMIENTOS

A mi mentor y tutor de la maestría:

Dr. Francisco Javier López Muñoz, gracias por todo el aprendizaje y por llevarme de la mano en esta travesía académica. Me quedo con todas sus enseñanzas, pero sobre todo con su calidad humana, su fraternidad, compasión y su moral excepcional. Un ejemplo de científico y profesor. Gracias por no soltarme hasta el último momento. Su memoria perdurara en mí y en todas las personas a las que nos extendió la mano. Mi eterno e infinito agradecimiento, descanse en paz.

A mi comité sinodal:

Dra. Norma L. Gómez Viquez y Dr. Luis Alfonso Moreno Rocha, muchas gracias por sus aportes en el desarrollo de este proyecto, por todas las observaciones dadas y por su apoyo en este último paso de mi titulación que se tornó tan triste, esto no podría ser posible sin ustedes.

A mis padres:

Rene Aranda García, padre mío, le agradezco a la vida ser tu hija y poder aprender de ti, gracias por todo tu amor y cariño. Nunca me alcanzarán las palabras para decirte lo mucho que te amo y admiro.

Rocío Bahena Guzmán, mi preciosa madre y mujer excepcional. Solo espero algún día ser la mitad de mujer maravillosa que eres tú. Me has transmitido tu fuerza y tu infinita compasión y es un honor poder llamarte mamá. Que nunca me faltes, te amo y te agradezco por todo.

A mis hermanos:

Gilary Aranda Bahena, mi hermana mayor, gracias por existir, me siento muy afortunada de ser tu hermana y tener el excelente ejemplo de una mujer como tú. Te amo más de lo que las palabras pueden expresar, gracias por estar a mi lado y por acortar las distancias.

Rene Aranda Bahena, mi Renecito, gracias por siempre estar a mi lado y ofrecerme tu paciencia cada vez que me quejo de las cosas, eres la brújula de mi vida. Te amo infinitamente.

Al laboratorio 7:

Sr. Sabino, gracias por ser un pilar fundamental de mi investigación, por todas las mañanas donde madrugamos para correr el PIFIR. Gracias por su cariño y apoyo.

Amalia Alejo Martínez, gracias por tus observaciones en este proyecto, por todo el apoyo y las risas.

Juan Pablo Bejarano Ponce, gracias por sostener mi mano cuando más quise rendirme, por estar a mi lado y escuchar mis interminables debates sobre la vida. Le agradezco al universo haberte conocido y que te hayas convertido en mi mejor amigo. Gracias por todas las regañadas y por darme ánimos cuando pensaba que no podía con este proyecto. Le agradezco a la vida poder crecer tanto académicamente como personalmente alado del mejor compañero de equipo que podría pedir: tú.

A mis amigos de la maestría:

Luis Gómez, Diana Esparza y Martín Rico, su compañía me hace recordar que hay personas buenas en este mundo tan cruel. Me da mucho gusto haber cruzado caminos con compañeros como ustedes. Gracias por las risas infinitas, los quiero y espero que la vida nos permite seguir coincidiendo.

Por último y no menos importante, agradezco a todas las mujeres de mi vida:

Mis abuelas, tías, primas, sobrinas, amigas, compañeras, etc. Gracias por sostenerme siempre. Nunca más un mundo sin nosotras. Las amo con todo mi corazón y les dedico todos mis logros por todas esas mujeres que han sido pilar fundamental de que hoy podamos estudiar y expresarnos. Queda mucho camino que recorrer, pero lo haremos JUNTAS.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	xvi
ÍNDICE DE GRÁFICAS	xvii
ÍNDICE DE TABLAS	xix
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	xxi
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. MARCO TEÓRICO.....	3
1.1 GENERALIDADES DEL DOLOR	3
1.2 DEFINICIÓN	3
1.3 TRANSMISIÓN NOCICEPTIVA.....	4
1.4 CLASIFICACIÓN	7
1.4.1 Dolor nociceptivo.....	8
1.4.2 Dolor inflamatorio	8
1.4.3 Dolor neuropático.....	8
1.4.4 Dolor nociplástico.....	9
1.5 CLASIFICACIÓN NUEVA DE LA IASP DEL DOLOR	10
1.6 DOLOR ARTRÍTICO.....	11
1.6.1 Artritis gotosa.....	12
1.6.1.1 Proceso fisiopatológico de la artritis tipo gota	13
2. TERAPIA FARMACOLÓGICA	15
2.1 ANALGÉSICOS ANTINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS	16
2.1.1 Celecoxib.....	19
2.2 OPIOIDES.....	24
2.2.1 Tramadol.....	26
3. COMBINACIÓN DE FÁRMACOS	29
3.1 ISOBOLOGRAMA.....	30
3.2 ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE INTERACCIÓN SINÉRGICA	31

4. COMBINACIÓN DE TRAMADOL CON FÁRMACOS NO OPIOIDES	34
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	37
6. HIPÓTESIS.....	38
7. OBJETIVOS	39
7.1 OBJETIVO GENERAL	39
7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
8. MATERIALES Y MÉTODOS	40
8.1 ANIMALES.....	40
8.2 FÁRMACOS Y REACTIVOS	40
8.3 GRUPOS EXPERIMENTALES PARA LA EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ANTINOCICEPTIVOS	41
8.3.1 <i>Tratamientos individuales</i>	41
8.3.2 <i>Tratamientos en combinación</i>	42
8.4 EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO	42
8.4.1 <i>Modelo de disfunción inducida por dolor en rata</i>	42
8.5 EVALUACIÓN DE EFECTOS ADVERSOS	43
8.5.1 <i>Evaluación de daño gástrico</i>	43
8.5.2 <i>Evaluación de la coordinación motora</i>	44
8.5.3. <i>Evaluación de tolerancia farmacológica mediante un esquema de administraciones repetidas</i>	46
9. RESULTADOS	46
9.1 GRUPOS CONTROLES DEL MODELO EXPERIMENTAL PIFIR	47
9.2 EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE CEL EN ADMINISTRACIÓN INDIVIDUAL P.O. EN EL MODELO DE DOLOR ARTRÍTICO	47
9.2.1 <i>Análisis de cursos temporales</i>	47
9.3 EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE TRA EN ADMINISTRACIÓN INDIVIDUAL P.O. EN EL MODELO DE DOLOR ARTRÍTICO	49
9.3.1 <i>Análisis de cursos temporales</i>	49

9.4 CURSO TEMPORAL DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO OBTENIDO CON LAS DOSIS MÁS EFICACES DE CEL VS TRA EN ADMINISTRACIÓN INDIVIDUAL P.O.....	51
9.5 CURVA DOSIS-RESPUESTA DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DADO POR CEL VS TRA EN ADMINISTRACIÓN INDIVIDUAL P.O.	51
9.6 CURSOS TEMPORALES DE LAS COMBINACIONES CELECOXIB (CEL) + TRAMADOL (TRA)	
.....	54
9.6.1 Cursos temporales de CEL 1 mg/kg + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.	54
9.6.2 Cursos temporales de CEL 3.2 mg/kg + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.	55
9.6.3 Cursos temporales de CEL 10 mg/kg + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.	57
9.6.4 Cursos temporales de CEL 17.8 mg/kg + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o. ..	58
9.6.5 Cursos temporales de CEL 31.6 mg/kg + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o. ..	60
9.7 ANÁLISIS DE LA SUPERFICIE DE INTERACCIÓN SINÉRGICA DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE CEL + TRA	61
9.7 ANÁLISIS Y COMPARACIÓN DE LA COMBINACIÓN CEL + TRA DE MÁS ALTA POTENCIACIÓN VS TRATAMIENTOS INDIVIDUALES.....	66
9.7.1 Cursos temporales y efectos globales de CEL 3.2 + TRA 10 mg/kg vs CEL 3.2 y TRA 10 mg/kg individuales p.o.	66
9.8 ANÁLISIS Y COMPARACIÓN DE LA COMBINACIÓN CEL + TRA DE MÁS ALTA EFICACIA VS TRATAMIENTOS INDIVIDUALES.....	68
9.8.1 Cursos temporales y efectos globales de CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg vs CEL 17.8 y TRA 23.7 mg/kg individuales p.o.....	68
9.9 EVALUACIÓN DE EFECTOS ADVERSOS DE LOS TRATAMIENTOS ADMINISTRADOS P.O.	70
9.9.1 Evaluación de la coordinación motora.....	70
9.9.2 Evaluación de daño gástrico.....	71
9.10 EFECTOS ANTINOCICEPTIVOS EN ADMINISTRACIÓN AGUDA S.C. EN EL MODELO DE DOLOR ARTRÍTICO.....	73
9.10.1 Efectos antinociceptivos de CEL 56.2 y 17.8 mg/kg, TRA 31.6 y 23.7 mg/kg y la combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg en administración aguda s.c.	73
9.10.2 Esquema de administraciones repetidas s.c.....	75
9.10.2.1 Efectos antinociceptivos de CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 mg/kg y la combinación CEL 17.8 + TRA 23 mg/kg en administración repetida s.c.....	75

9.10.3 Evaluación de efectos adversos de los tratamientos administrados s.c.....	77
9.10.3.1 Evaluación de la coordinación motora	77
9.10.3.2 Evaluación de daño gástrico	78
10. DISCUSIÓN	79
11. CONCLUSIONES	90
12. PERSPECTIVAS.....	90
13. REFERENCIAS	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características principales de las fibras aferentes nociceptivas.....	5
Figura 2. El proceso nociceptivo	7
Figura 3. El dolor se puede categorizar con relación a sus mecanismos neurobiológicos.	9
Figura 4. Clasificación más reciente de la IASP para el dolor.	11
Figura 5. Los mecanismos moleculares involucrados en la artritis gotosa	15
Figura 6. Mecanismo general de los AINEs.....	17
Figura 7. El mecanismo de acción del celecoxib.....	19
Figura 9. Los metabolitos M1 y M2 son los metabolitos activos del tramadol.....	27
Figura 10. El mecanismo de acción del tramadol.....	28
Figura 11. Isoblograma.....	31
Figura 12. Gráfica tridimensional de los efectos antinociceptivos solos y en combinación generados por fármaco A (eje X) y por fármaco B (eje Z).....	32
Figura 13. Gráfica tridimensional de los efectos antinociceptivos de las combinaciones de fármaco A (eje X) y fármaco B (eje Z), después de restar sus efectos individuales.	33
Figura 14. Gráfica tridimensional que resulta de unir los puntos de todas las proporciones de las combinaciones del fármaco A y fármaco B	33
Figura 15. Estrategia experimental empleada en el proyecto.	41
Figura 16. Protocolo empleado para la evaluación de lesiones gástricas	44
Figura 17. Animales de experimentación sobre el equipo Rotarod.....	45
Figura 18. Protocolo para la evaluación de cambios en la coordinación motora	45
Figura 19. Esquema de administraciones repetidas para la evaluación de tolerancia farmacológica.	46

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Curso temporal del % de índice de funcionalidad del grupo SHAM	47
Gráfica 2. Cursos temporales del efecto antinociceptivo de las dosis 1, 3.2, 10, 17.8, 31.6 y 56.2 mg/kg con la administración p.o. individual de celecoxib	48
Gráfica 3. Cursos temporales del efecto antinociceptivo de las dosis 1, 3.2, 10, 17.8, 23.7 y 31.6 mg/kg con la administración p.o. individual de tramadol	50
Gráfica 4. Cursos temporales del efecto antinociceptivo de la administración p.o. individual de celecoxib 56.2 mg/kg y tramadol 31.6 mg/kg	51
Gráfica 5. Curva dosis-respuesta de celecoxib vs tramadol	53
Gráfica 6. Curva dosis-respuesta de celecoxib vs tramadol (mmol/kg)	53
Gráfica 7. Cursos temporales del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de las combinaciones celecoxib 1 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg y el control de s.s	54
Gráfica 8. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de las combinaciones celecoxib 3.2 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg y el control de s.s	56
Gráfica 9. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de las combinaciones celecoxib 10 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg y el control de s.s	57
Gráfica 10. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de las combinaciones celecoxib 17.8 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg y el control de s.s	59
Gráfica 11. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de las combinaciones celecoxib 31.6 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8, y 23.7 mg/kg y el control de s.s	60
Gráfica 12. Gráfica tridimensional del efecto antinociceptivo global obtenido de las combinaciones celecoxib (eje Z) y tramadol (eje X).....	62

Gráfica 13. Tipos de sinergismo.....	63
Gráfica 14. Superficie de interacción sinérgica del efecto antinociceptivo generado de las 20 combinaciones entre celecoxib + tramadol	64
Gráfica 15. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de la combinación celecoxib 3.2 mg/kg + tramadol 10 mg/kg comparado contra los tratamientos individuales y el grupo control de s.s	67
Gráfica 16. Efectos antinociceptivos globales (ABC) de las dosis individuales de celecoxib 3.2 mg/kg, tramadol 10 mg/kg y la combinación celecoxib 3.2 mg/kg + tramadol 10 mg/kg	68
Gráfica 17. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de la combinación celecoxib 17.8 mg/kg + tramadol 23.7 mg/kg comparado contra los tratamientos individuales y el grupo control de s.s	69
Gráfica 18. Efectos antinociceptivos globales (ABC) de las dosis individuales de celecoxib 17.8 mg/kg, tramadol 23.7 mg/kg y la combinación celecoxib 17.8 mg/kg + tramadol 23.7 mg/kg.....	70
Gráfica 19. Efectos globales del efecto adverso de incoordinación motora mediante la prueba de Rotarod	71
Gráfica 20. Efectos globales del efecto adverso de daño gástrico.....	72
Gráfica 21. Efectos antinociceptivos de CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 mg/kg, CEL 17.8 mg/kg, TRA 23.7 mg/kg, la combinación CEL 17.8 + TRA 23 mg/kg, grupo control s.s. y grupo control SHAM en administración aguda vía subcutánea	73
Gráfica 22. Efectos antinociceptivos de CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 mg/kg, la combinación CEL 17.8 + TRA 23 mg/kg, grupo control s.s. y grupo control SHAM en administración repetida vía subcutánea.....	76
Gráfica 23. Efectos globales del efecto adverso de incoordinación motora mediante la prueba de Rotarod en administraciones repetidas subcutáneas.....	78
Gráfica 24. Efectos globales del efecto adverso de daño gástrico en administraciones repetidas subcutáneas	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estudios de celecoxib vs AINEs y/o placebo	21
Tabla 2. Ejemplos de combinaciones de tramadol con otros compuestos.	34
Tabla 3. Combinaciones de tramadol con diversos fármacos evaluados en el Lab. 07 “Dolor y Analgesia”	35
Tabla 4. Combinaciones propuestas de CEL + TRA	42
Tabla 5. Parámetros de los cursos temporales de la evaluación antinociceptiva de celecoxib p.o. vs control s.s.	49
Tabla 6. Parámetros de los cursos temporales de la evaluación antinociceptiva de tramadol p.o. vs control s.s.	50
Tabla 7. Parámetros comparativos de celecoxib 56.2 vs tramadol 31.6 mg/kg p.o.	53
Tabla 8. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de las combinaciones celecoxib 1 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.	55
Tabla 9. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de las combinaciones celecoxib 3.2 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.	56
Tabla 10. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de las combinaciones celecoxib 10 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.	58
Tabla 11. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de las combinaciones celecoxib 17.8 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.	59
Tabla 12. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de las combinaciones celecoxib 31.6 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.	61
Tabla 13. Unidades de ABC del efecto antinociceptivo de la terapia en conjunto CEL + TRA y tipo de sinergismo.....	65
Tabla 14. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de celecoxib 56.2 y 17.8 mg/kg, tramadol 31.6 y 23.7 mg/kg y la combinación celecoxib 17.8 + tramadol 23.7 mg/kg s.c. aguda.....	74

Tabla 15. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de celecoxib 56.2 y 17.8 mg/kg, tramadol 31.6 y 23.7 mg/kg y la combinación celecoxib 17.8 + tramadol 23.7 mg/kg s.c. repetida.	76
Tabla 16. Comparación de los tratamientos administración aguda s.c. vs administración repetida s.c.	77

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

% IF: Porcentaje de índice de funcionalidad	ASIC: Canal iónico sensible a ácido
‰: Porcentaje	ATP: Adenosín trifosfato
CI_{50} : Concentración inhibitoria 50	CDC: Centros para el control y prevención de enfermedades
±: Signo más/menos	CDR: Curva dosis respuesta
°C: Grados centígrados	CE ₅₀ : Concentración efectiva cincuenta
μ: Receptor mu	CEL: Celecoxib
5-HT: Serotonina	CICUAL: Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio
AA: Ácido araquidónico	CLASS: Estudio de seguridad a largo plazo del celecoxib en la artritis
ABC: Área bajo la curva	cm: Centímetros
AC: Adenilato ciclasa	CMC: Carboximetilcelulosa
ACR20: Mejora del 20% en los criterios de respuesta del colegio americano de reumatología	COX-1: Ciclooxygenasa 1
<i>Ad libitum</i> : A libre demanda	COX-2: Ciclooxygenasa 2
AINES: Antinflamatorios no esteroideos	DAMPs: Patrones moleculares asociados al daño
AMPA: Alfa-amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazol propiónico	DE ₃₀ : Dosis efectiva treinta
AMPc: Adenosín monofosfato cíclico	DE ₄₀ : Dosis efectiva cuarenta
ANOVA: Análisis de varianza	DE ₅₀ : Dosis efectiva cincuenta
AR: Artritis reumatoide	DE ₈₀ : Dosis efectiva ochenta
ASC: Proteína adaptadora de señales de apoptosis asociada a CARD	E.E.: Error estándar
	g: Gramo

GABA: Ácido γ -aminobutírico	Mmol: Mili moles
GIRK: Canales de potasio regulados por proteínas G	NA: Noradrenalina
Gli: Glicina	NETS: Trampas extracelulares de neutrófilos
Glu: Glutamato	NK1: Neurocinina
GRD: Ganglio de la raíz dorsal	NMDA: N-metil-D-espartato
h: Hora/horas	NOS: Especies reactivas de nitrógeno
IASP: Asociación Internacional para el Estudio del Dolor	OA: Osteoartritis
IgG: Inmunoglobulina G	PAG: Sustancia gris periacueductal
IL: Interleucina	p.o.: Administración vía oral
IL-1 β : Interleucina 1- β	PG12: Prostaciclina
IL-6: Interleucina-6	PGD2: Prostaglandina D2
IL-8: Interleucina-8	PGE3: Prostaglandina E3
Kg: Kilogramo	PGs: Prostaglandinas
Mg: Miligramo	PIFIR: Disfunción inducida por dolor en la rata
Mg ²⁺ : Ion magnesio	PKA: Proteína cinasa A
mGluR: Receptores metabotrópicos de glutamato	PM: Peso molecular
min: Minutos	RIPK3: Receptor cinasa 3
ml: Mililitros	ROS: Especies reactivas de oxígeno
MLKL: Pseudocinasa similar al dominio cinasa de linaje mixto	RPM: Revoluciones por minuto
mm ² : Milímetro cuadrado	RRPs: Receptores de reconocimiento de patrones en fagocitos mononucleares

RVM: Bulbo raquídeo ventromedial
rostral

s.s.: Solución salina

s: Segundo

SIS: Superficie de interacción sinérgica

SNC: Sistema nervioso central

SP: Sustancia P

T₀: Tiempo cero

T₆₀: Tiempo sesenta

TLR2: Receptor tipo Toll 2

TLR4: Receptor tipo Toll 4

TNF α : Factor de necrosis tumoral α

TRA: Tramadol

UMS: Urato monosódico

VAS: Escala visual analógica

vs: Versus

WOMAC: Índice de osteoartritis de las
Universidades de Western Ontario y
McMaster

κ : Receptor kappa

μ L: Microlitros

RESUMEN

El dolor artrítico ha ido en aumento los últimos años, representando una problemática de salud pública a nivel mundial. Este tipo de dolor viene vinculado de padecimientos como la artritis reumatoide, la osteoartritis y la gota. En dichos padecimientos se manifiestan síntomas de movilidad limitada, rigidez, inflamación y deformidad articular que limitan la capacidad de socializar y la actividad física, disminuyendo la calidad de vida de las personas que lo padecen. Suele presentarse en los periodos de alto rendimiento y productividad laboral (edades entre 30-50 años) resultando en altas tasas de discapacidad laboral. La primera línea para el tratamiento del dolor artrítico es el uso de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Como segunda línea de tratamiento, están los fármacos tipo opioide, los cuales se tienen evidencias de sus excelentes propiedades analgésicas dado su dualidad farmacéutica. Pero, su uso puede estar limitado por los efectos adversos que producen. Frecuentemente, el enfoque farmacológico no es suficiente para contrarrestar el dolor artrítico. Dicho lo anterior, las terapias en combinación suelen ser de gran utilidad. Con base en esto, una estrategia es la monoterapia de AINEs con un opiáceo débil, como el tramadol. En el presente proyecto se estudió el efecto antinociceptivo de la administración individual y en conjunto de un AINE (celecoxib) con un opioide débil (tramadol) en dolor artrítico en un modelo de dolor inflamatorio. El propósito de este estudio fue determinar la posible interacción sinérgica entre estos fármacos. Para la evaluación del efecto antinociceptivo, se empleó el modelo experimental PIFIR en ratas Wistar hembra. Se formaron cinco grupos: control SHAM, control vehículo, celecoxib 1-56.1mg/kg (CEL), tramadol 3.2-31.6 mg/kg (TRA) y CEL (1-31.6 mg/kg) + TRA (3.2-23.7 mg/kg) dando 20 combinaciones. La determinación del tipo de interacción de las combinaciones se hizo con el análisis “Superficie de Interacción Sinérgica (SIS)”. Se empleó la prueba de Rota-Rod para la evaluación de la coordinación motora, se cuantificó la aparición de úlceras gástricas o erosiones usando como referencia a indometacina como control positivo y se evaluó la tolerancia farmacológica mediante un esquema de administraciones repetidas. Se obtuvieron y analizaron los cursos temporales y curvas dosis-respuesta de cada tratamiento individual y en combinación. CEL y TRA individualmente presentan efecto antinociceptivo de tipo dosis-dependiente. Al coadministrarlos se detectaron interacciones de tipo aditivas y supra-aditivas, siendo la combinación de CEL 3.2 mg/kg + TRA 10 mg/kg la de mayor potenciación y, CEL 17.8 mg/kg +TRA 23.7 mg/kg la que generó la mayor eficacia antinociceptiva. Ambas combinaciones no generaron cambios en la coordinación motora ni la aparición de úlceras gástricas o erosiones, pero sí se generó tolerancia farmacológica cuando se les administró repetidamente.

ABSTRACT

Arthritic pain has been increasing in recent years, representing a global public health problem. This type of pain is related to conditions such as rheumatoid arthritis, osteoarthritis and gout. These conditions manifest symptoms of limited mobility, stiffness, inflammation and joint deformity that limit the ability to socialize as well as physical activity, reducing the quality of life of those suffering from arthritic pain. This condition usually appears during periods of high work performance and productivity (ages between 30 and 50 years), resulting in high rates of work disability. The first line of treatment for arthritic pain is the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). As a second line of treatment, there are opioid-type drugs, for which there is evidence of excellent analgesic properties. However, the use of these drugs is limited by their adverse effects. Often, a single pharmacological approach is not sufficient to counteract arthritic pain. Therefore, combination therapies are a better option. On this basis, one strategy is NSAID monotherapy together with the use of a weak opioid such as tramadol. In the present project, the antinociceptive effect of single administration as well as the combination of an NSAID (celecoxib) with a weak opioid (tramadol) to combat arthritic pain was characterized using the experimental model of pain-induced dysfunction in the rat. The purpose of this study was to determine the possible synergistic interaction between these drugs. For the evaluation of the antinociceptive effect, the PIFIR experimental model was used in female Wistar rats. Five groups were formed: SHAM control, vehicle control, celecoxib 1-56.2 mg/kg (CEL), tramadol 3.2-31.6 mg/kg (TRA), and CEL (1- 31.6 mg/kg) + TRA (3.1-23.7 mg/kg), resulting in a total of 20 combinations. The determination of the interaction type of the combinations was performed by “Synergistic Interaction Surface (SIS)” analysis. The Rota-Rod test was used to assess motor coordination. Likewise, the appearance of gastric ulcer or erosion was quantified using indomethacin as a positive control and pharmacological tolerance was evaluated by means of a repeated administration scheme. Temporal courses and dose-response curves were obtained and analyzed for each individual and combined treatments. CEL and TRA individually showed a dose-dependent antinociceptive effect. When administered together, predominantly additive and supra-additive interactions were detected, with the combination of CEL 3.2 mg/kg + TRA 10 mg/kg showing the greatest potentiation and CEL 17.8 mg/kg + TRA 23.7 mg/kg resulting in the greatest antinociceptive efficacy. Both combinations did not induce changes in motor coordination or the appearance of gastric ulcers or erosions, but pharmacological tolerance was observed when administered repeatedly.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Generalidades del dolor

El dolor es un proceso neurofisiológico de alta plasticidad con vital importancia para la supervivencia humana (Hudspith, 2016). El dolor nos permite tanto reparar como prevenir lesiones tisulares, por lo que la sensación de dolor se considera una función protectora (Dinakar y Stillman, 2016). No obstante, el dolor puede llegar a ser producido por una patología, perdiendo así su efecto positivo de preservar la integridad del organismo y requerirá entonces de un tratamiento adecuado.

Mundialmente, el dolor tiene altas repercusiones clínicas, sociales y económicas (Raja et al., 2020). El dolor es el motivo principal de consulta médica y la razón más común de discapacidad. Aunado a esto, las comorbilidades ligadas a este padecimiento como la disminución de la autoestima, depresión, ansiedad, dependencia y abuso de opiáceos y problemas económicos repercuten en la vida de los pacientes y en la de sus familiares y/o cuidadores (Dinakar y Stillman, 2016). Aparte de generar elevados costos a nivel familiar, también lo hace a nivel gubernamental. A lo largo de los años, compañías farmacéuticas, organizaciones de salud e instituciones científicas han reunido esfuerzos para desarrollar tratamientos eficaces contra el dolor (Vargas-Schaffer, 2010). No obstante, el tratamiento del dolor está lejos de ser el ideal. Por lo tanto, es necesario seguir investigando nuevas alternativas terapéuticas.

1.2 Definición

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) define al dolor como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada, o similar a la asociada, con daño tisular real o potencial” (Raja et al., 2020). Dicho lo anterior, es preciso recalcar que el dolor no es una simple sensación, es una experiencia compleja que conlleva un procesamiento integral de información nociceptiva que responde a modulaciones tanto excitatorias como inhibitorias en diversas regiones del sistema nervioso central (SNC) (Hudspith, 2019). También, el dolor se puede describir en términos de sufrimiento, incluyendo así procesos emocionales y cognitivos (Woolf, 2004).

1.3 Transmisión nociceptiva

El proceso de nocicepción se manifiesta mediante la activación de una subpoblación de neuronas periféricas denominadas nociceptores. Los nociceptores responden a estímulos químicos, térmicos o mecánicos de alto umbral (Basbaum et al., 2009). Estos nociceptores se distribuyen en diversas localizaciones anatómicas abarcando la piel, membranas, tejido conectivo de órganos viscerales, músculos, tendones, ligamentos, mucosas y periostio (Almeida et al., 2004a). Dichos nociceptores constituyen las terminaciones nerviosas que representan la porción distal de las fibras aferentes primarias o de primer orden. Las fibras aferentes primarias se clasifican con base en su estructura, diámetro y velocidad de conducción (Julius y Basbaum, 2001; Dubin y Patapoutian, 2010):

- a) Fibras de tipo C, caracterizadas por un diámetro axonal de 0.4-1.4 μm , una velocidad de conducción de 0.5-2 m/s y carecer de mielinización, poseen un umbral elevado y responden a estímulos mecánicos, térmicos y químicos (Julius y Basbaum, 2001).
- b) Fibras A δ , con un diámetro axonal de 6-10 μm , velocidad de conducción de 5-30 m/s y escasa mielinización. Estas fibras se dividen en dos categorías: tipo I, que reaccionan predominantemente a estímulos mecánicos de alta intensidad (mecanorreceptores) y débilmente a estímulos térmicos o químicos, y tipo II, que responden a temperaturas elevadas (45-53 °C) y a frío intenso (-15 °C) (Julius y Basbaum, 2001).
- c) Fibras A β , están mielinizadas, con un diámetro axonal superior a 10 μm y una velocidad de conducción de 30-100 m/s, no generan potenciales de acción en condiciones normales, pero sí lo hacen en presencia de inflamación (Millan, 1999).

Axones aferentes primarios

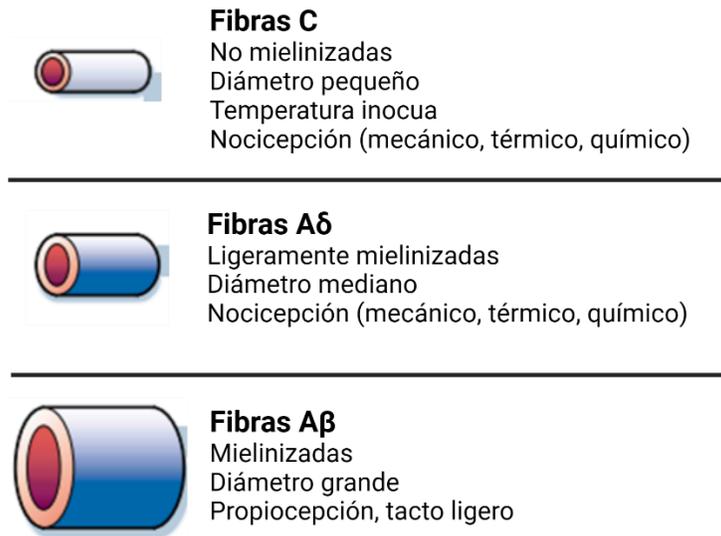


Figura 1. Características principales de las fibras aferentes nociceptivas. Modificado de Julius y Basbaum, 2001.

Los nociceptores cumplen la función de codificar el tipo, la intensidad, la duración y la ubicación de los estímulos nocivos, transduciéndolos en potenciales de acción (Muir y Woolf, 2001). El proceso se encuentra mediado por la activación de canales presentes en las terminales periféricas, entre los que destacan los receptores TRPV1 y TRPV2, canales iónicos sensibles a ácido (ASIC), así como los canales de sodio y potasio. La transmisión de estímulo nocivo implica la propagación del impulso nervioso mediante las neuronas de primer orden desde la periferia hasta la médula espinal, a través de los nervios periféricos y el ganglio de la raíz dorsal (GRD). Estos se introducen por las raíces dorsales de los nervios espinales, para posteriormente ramificarse e inervar las diversas láminas de la sustancia gris de la asta dorsal posterior (Willis y Coggeshall, 2004). Las fibras C culminan en la lámina I (zona marginal) y II (sustancia gelatinosa), mientras que las fibras A δ terminan en las láminas I y V (capa profunda) de la asta dorsal (Willis y Coggeshall, 2004).

Cuando se manifiestan potenciales de frecuencia alta, las fibras aferentes liberan neurotransmisores, tales como glutamato y sustancia P en el espacio sináptico y/o extrasináptico (Julius y Basbaum, 2001), con el propósito de activar a los receptores ácido

alfa-amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazol propiónico (AMPA), N-metil-D-espartato (NMDA) y neurocinina (NK1), respectivamente. Bajo condiciones normales, los canales NMDA se encuentran bloqueados por el ion magnesio (Mg^{2+}) (Doubell et al., 1999).

El glutamato se une principalmente al receptor AMPA. La activación de los canales AMPA dan como resultado la despolarización de la membrana. Tales sucesos, favorecen la anulación del bloqueo de los receptores NMDA dada por el ion Mg^{2+} e inician una respuesta despolarizante postsináptica de mayor intensidad y sostenida (Muir y Woolf, 2001). Dicha despolarización genera potenciales postsinápticos excitatorios rápidos en neuronas inhibitoras locales y descendentes. Que, a su vez, inhiben a las sustancias inhibitorias como glicina (Gli) y al ácido γ -aminobutírico (GABA) (Doubell et al., 1999; Goicoechea y Martín, 2006).

Por otro lado, en las terminales nerviosas sensoriales aferentes, los estímulos mecánicos y/o térmicos intensos incrementan la liberación de glutamato y sustancia P, activando a los receptores metabotrópicos de Glu (mGluR) y NK1, respectivamente. Este proceso promueve la liberación de calcio intracelular (Ca^{2+}), dando lugar a potenciales de acción por la activación de canales de calcio voltaje dependiente (Muir y Woolf, 2001).

La médula espinal constituye el punto inicial de transmisión para la información sensorial dirigida hacia el SNC. En este contexto, facilita la modulación de los mensajes que no han alcanzado el umbral, al tiempo que amplifica los estímulos nocivos que necesitan una respuesta (Romera et al., 2000).

Los cuerpos celulares de las neuronas de segundo orden se encuentran en el asta dorsal de la médula espinal, mientras que sus axones proyectan hacia la sustancia blanca del cuadrante anterolateral del lado contrario. Posteriormente, la información nociceptiva asciende al tálamo por el tracto espinotalámico y al tallo cerebral a través de los tractos espinoparabraquial y espinomesencefálico (Pertovaara y Almeida, 2006). En tanto, las neuronas de tercer orden se activan en el tálamo. Tales neuronas son las encargadas de integrar y transmitir la información a la corteza somatosensorial (que proyecta hacia áreas de asociación cortical adyacentes). En dicha estructura, tienen lugar el proceso de percepción, recepción, integración y transferencia del potencial nociceptivo (Almeida et al., 2004; Brodin et al., 2016).

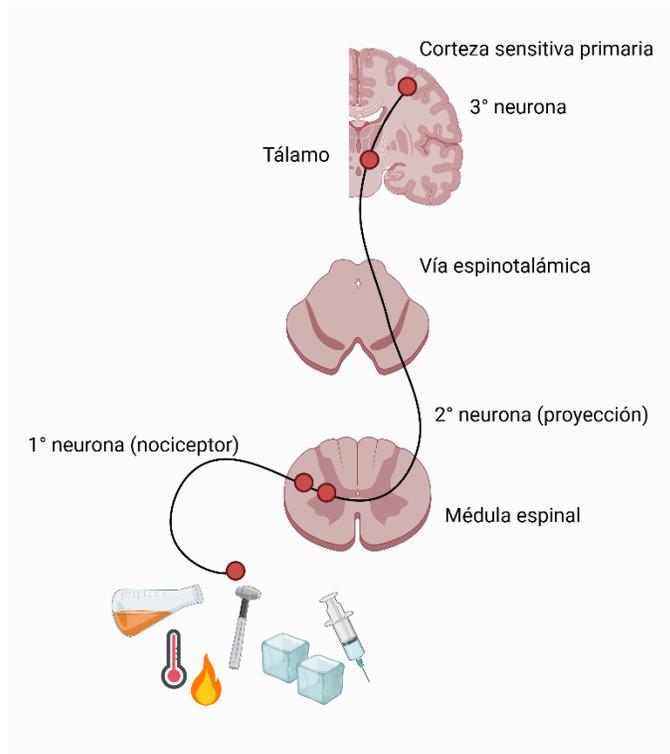


Figura 2. El proceso nociceptivo. Los nociceptores se activan mediante estímulos nocivos convirtiéndose en señales eléctricas que activan a las neuronas de primer orden que proyectan hacia la médula espinal, donde despolarizan a las neuronas de segundo orden que envían la información a los centros superiores para su interpretación posterior. Modificado de Mario Campero, 2014.

1.4 Clasificación

A lo largo de los años, el dolor se ha clasificado de diversas formas. De acuerdo con la clasificación de Woolf (2004), se considera que puede dividirse en adaptativo y maladaptativo. La primera categoría corresponde al dolor que es esencial para sobrevivir, ya que nos alerta de lesiones y permite la reparación cuando es necesario. Por su parte, la segunda categoría se refiere al dolor como una enfermedad *per se*, constituyendo un proceso patológico y disfuncional del sistema nervioso.

El dolor se puede catalogar de otra manera, haciendo referencia a su duración (transitorio, agudo o crónico), a su patogenia (neuropático o nociceptivo), a su localización (somático o visceral) y a su intensidad (leve, moderado o severo) (Puebla-Díaz, 2005; Woolf, 2004). Con base en sus mecanismos neurobiológicos el dolor se define en nociceptivo, inflamatorio, neuropático y nociplástico (Woolf, 2010).

1.4.1 Dolor nociceptivo

El dolor nociceptivo se presenta ante estímulos calientes, fríos o punzantes, funcionando como una alarma temprana ante estímulos potencialmente perjudiciales (Figura 3a). Este tipo de dolor se da mediante el tacto en respuesta a umbrales altos de dolor, produciendo un reflejo de retiro. Se dice que la función defensora del dolor nociceptivo requiere de atención y acción de manera inmediata (Woolf, 2010). En escenarios clínicos particulares, tales como un procedimiento quirúrgico, donde puede existir daño al tejido y/o traumatismo, el dolor nociceptivo puede manipularse, pero esto solo debe de ser de forma transitoria ya que si el sistema prevalece inhabilitado por mucho tiempo puede ocasionar daños tisulares importantes, así como automutilación de lengua, labios o dedos, entre otras (Woolf, 2004).

1.4.2 Dolor inflamatorio

El dolor inflamatorio puede ser activado por diversos estímulos, por ejemplo, cuando existe una lesión tisular generada mecánicamente o por patógenos (infección), los cuales desencadenan la respuesta inflamatoria del cuerpo como parte de su mecanismo de defensa o reparación. Esta respuesta inflamatoria da lugar a las características clásicas que conocemos coloquialmente como inflamación. Entre estas características están el enrojecimiento, calor, dolor y edema (Woolf y Salter, 2000). Puede producirse en piel, articulaciones, músculos y periostio (somático) o en vísceras torácicas o abdominales (visceral) (Puebla Díaz, 2005; Polston y Wallace, 2016). A pesar de que la inflamación aguda es una respuesta fisiológica normal frente a daño tisular, la inflamación crónica se considera de tipo maladaptativo y, por ende, resulta perjudicial provocando una cantidad significativa de dolor (Figura 3b) (Puebla Díaz, 2005; Polston y Wallace, 2016).

1.4.3 Dolor neuropático

Este tipo de dolor se caracteriza por ser del tipo maladaptativo, siendo así una enfermedad *per se*. Surge como resultado del daño en el sistema nervioso somatosensorial, ya sea central o periférico, y puede perdurar durante períodos que se extienden por meses o incluso años. Es decir, su función no es la de proteger y no hay circunstancias que indiquen inflamación o lesión (Figura 3c) (Woolf, 2010).

1.4.4 Dolor nociplástico

El dolor nociplástico es un tipo de dolor crónico en el cual existe una alteración en el procesamiento de las señales del dolor por parte de SNC (Figura 3d). No hay evidencia de que exista un daño o lesión aparente. Dicho de otra manera, no se relaciona con la activación de los receptores de dolor por estímulos externos, sino más bien por cambios en la forma en que el cerebro y la médula espinal interpretan y responden a estas señales dolorosas. Este tipo de dolor suele ser persistente y debilitante (Woolf, 2010).

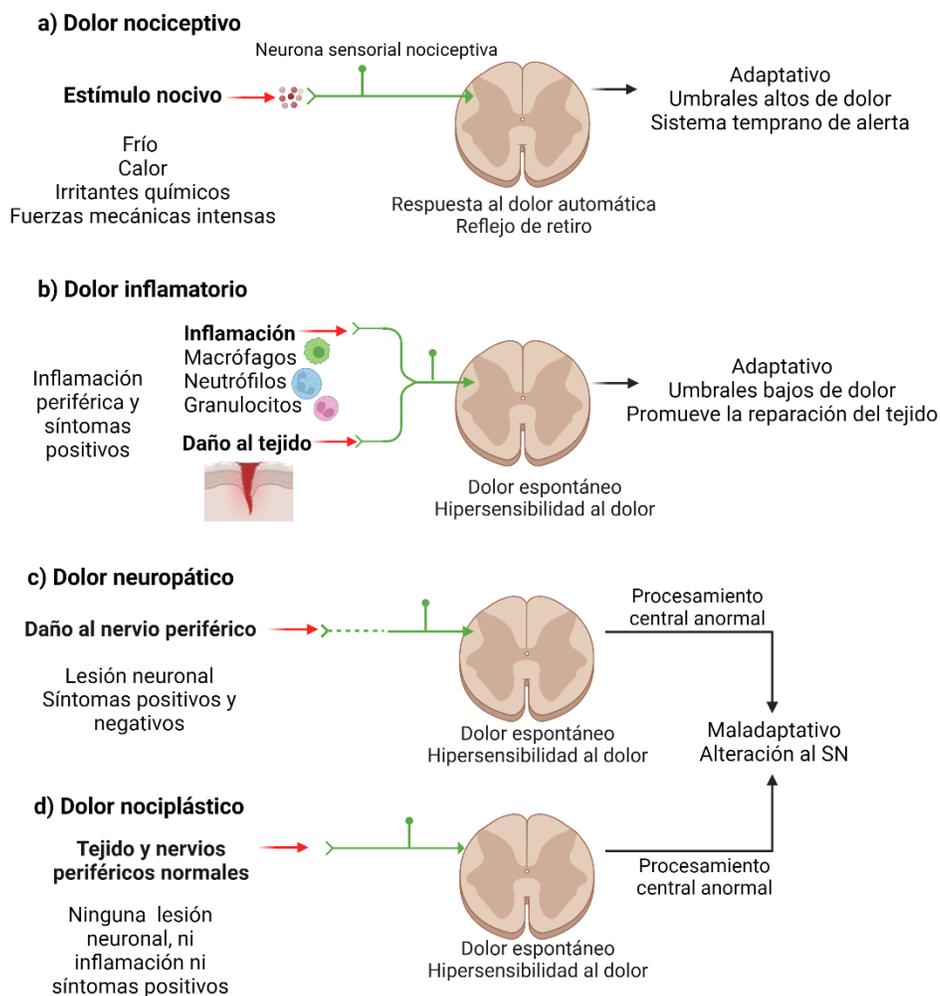


Figura 3. El dolor se puede categorizar con relación a sus mecanismos neurobiológicos. En esta clasificación se incluye el a) dolor nociceptivo, b) dolor inflamatorio, c) dolor neuropático y d) dolor nociplástico. Modificado de Woolf, 2010.

1.5 Clasificación nueva de la IASP del dolor

En años recientes, la IASP junto con investigadores a nivel mundial actualizaron la clasificación en tres amplias categorías: nociceptivo, neuropático y nociplástico (Kosek et al., 2016; Raja et al., 2020). Para esta nueva caracterización se tomaron en cuenta los mecanismos involucrados en la percepción individual del dolor, así como su manejo en las personas que lo padecen. Esto incluye factores sociales, culturales y psicológicos que modifican la percepción del dolor (Murphy et al., 2023), debido a que están correlacionados con los mecanismos neurobiológicos del mismo. El propósito de clasificar el dolor en dichas categorías fue simplificar la comunicación entre médicos, investigadores y pacientes, y optimizar los métodos de identificación y clasificación a los participantes en estudios centrados en los mecanismos del dolor. La importancia de esto radica en que la información recopilada de estos estudios podría generar nuevas estrategias de gestión del dolor (Murphy et al., 2023).

Según la reciente categorización, el dolor nociceptivo indica una reacción fisiológica típica frente a lesiones causadas por traumatismo, una herida que no ha sanado o algún proceso inflamatorio. Este tipo de dolor suele ser específico en su localización y descrito detalladamente por los pacientes. En los ejemplos clásicos de este dolor se incluyen enfermedades como la artritis reumatoide o el dolor post operatorio. Asimismo, la terapia farmacológica que resulta efectiva para este tipo de dolor son los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los opioides (Kosek et al., 2016; Murphy et al., 2023). En contraste, el dolor neuropático surge como consecuencia de una lesión propia del sistema somatosensorial (a nivel periférico o central) según indica Raja et al 2020. Suele presentarse por episodios, ser lacerante y presentar alodinia e hiperalgesia. La gestión del dolor neuropático es un proceso complejo. El tratamiento farmacológico para este tipo de dolor se centra en fármacos antiepilépticos y antidepresivos (Finnerup et al., 2015). Por último, la necesidad de introducir una tercera categoría en la clasificación del dolor, denominada dolor nociplástico, surge de la necesidad de definir aquellas patologías que no tienen una activación clara de los nociceptores o una ausencia de daño aparente (Fitzcharles et al., 2021). El dolor nociplástico se describe como el dolor que emerge de una alteración en el procesamiento nociceptivo. Y a su vez, se cree que existe una desregularización en las vías que modulan el dolor en el SNC. También, puede ser localizado o generalizado ya que participan diversos

circuitos del sistema nervioso (aumentan las señales dolorosas, disminuyen los mecanismos inhibitorios endógenos del dolor o ambos casos) (Murphy et al., 2023). Otros padecimientos vinculados al dolor nociplástico son los trastornos del sueño, el cansancio y problemas cognitivos, entre otros (Kosek et al., 2016; Nicholas et al., 2019).

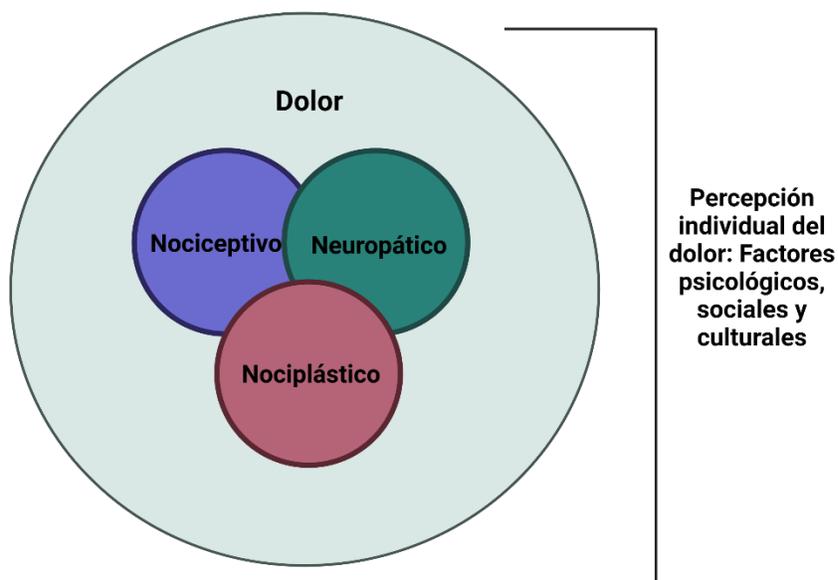


Figura 4. Clasificación más reciente de la IASP para el dolor. Modificado de Murphy et al., 2023.

1.6 Dolor artrítico

El dolor artrítico es un tipo de dolor inflamatorio. Se estima que esta condición ha ido en aumento los últimos años, representando un problema de salud pública a nivel mundial (González-Chica et al., 2018). En el 2013, solo en Estados Unidos, los costos de esta enfermedad llegaron a los \$304 mil millones de dólares (\$140 mil millones de dólares representaron los gastos médicos y \$164 mil millones de dólares en salarios perdidos) (Barbour et al., 2017).

A menudo este tipo de dolor viene vinculado con padecimientos como la artritis reumatoide, osteoartritis y gota. En estos padecimientos se manifiestan en síntomas como movilidad limitada, rigidez, inflamación y deformidad articular, entre otras, que limitan la capacidad de socializar y la actividad física, así como también aumentan el estrés y la ansiedad, trayendo

consecuencias en la calidad de vida de las personas que lo padecen (Peláez-Ballestas et al., 2011). El dolor artrítico suele presentarse en los periodos de alto rendimiento y productividad laboral (que son edades entre 30-50 años de los individuos) resultando en altas tasas de discapacidad laboral (Ruiz-Mejía et al., 2016).

La investigación e información de las enfermedades reumáticas es casi nula en países de América Latina, en comparación con los países desarrollados. Aun así, se han hecho esfuerzos por conocer más sobre la prevalencia de este tipo de condiciones. Por ejemplo, en México se estima que el predominio de la artritis reumatoide es de 1.6% y de la gota de 0.3% aproximadamente (Peláez-Ballestas et al., 2011). Cabe mencionar que esta prevalencia está ligada al sexo femenino y al envejecimiento (Barbour et al., 2017). Además, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) hizo proyecciones para el 2023 que indicaron un aumento en el diagnóstico de artritis (Barbour et al., 2017).

1.6.1 Artritis gotosa

La artritis gotosa es una enfermedad metabólica que se origina por la acumulación de urato monosódico en el organismo (Tao et al., 2023). Dicha acumulación de urato monosódico da como resultado cristales en forma de aguja que se agrupan en las articulaciones causando una reacción inflamatoria (NIAMS, 2010). Se puede presentar en ataques agudos con duración de 12-24 h que incluyen hinchazón e inflamación en la articulación. Sin embargo, la gota crónica se desarrolla después de varios ataques agudos recurrentes lo que conlleva dolor intenso y rigidez causados por la destrucción continua y progresiva de los tejidos (Abhishek et al., 2017).

La artritis inflamatoria con mayor incidencia mundial es la artritis de tipo gota (Ragab et al., 2017). Se estima que el 3% de la población mexicana padece de esta condición (Secretaría de Salud, 2017). Por su parte, Gabriela Huerta (2017), encargada del Servicio de Reumatología del Hospital General de México “Eduardo Liceaga”, destaca que la gota es el tercer motivo de consulta en este hospital, y a su vez, advirtió que es una patología que ha ido en aumento los últimos años debido al aumento de personas con obesidad, hipertensión y diabetes, entre otros padecimientos.

1.6.1.1 Proceso fisiopatológico de la artritis tipo gota

Existen factores que pueden contribuir a la formación de cristales de UMS. Estos incluyen la concentración de electrolitos, la temperatura, el pH, los componentes articulares del líquido sinovial, etc. (Chhana et al., 2015). A su vez, la acumulación de cristales de urato desencadena una cascada inflamatoria dada por los macrófagos que intentarán fagocitar los cristales. Adicionalmente, se liberan citocinas (IL- 8) y leucotrienos que reclutan neutrófilos en el sitio del daño, causando los síntomas característicos de esta patología (Schiltz et al., 2002).

El incremento de urato monosódico en el tejido sinovial causa la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS), así como de especies reactivas de nitrógeno (NOS) en los sinoviocitos, llevando a la muerte celular (Zamudio-Cuevas et al., 2016). La acumulación de estos cristales facilita la estimulación de la citotoxicidad directa en los tejidos, desencadenando un proceso inflamatorio en la membrana sinovial y necrosis celular (Mulay et al., 2016).

La formación del complejo necrosoma (compuesto por la proteína que interactúa con el receptor cinasa 3 (RIPK3)) y la pseudocinasa similar al dominio cinasa de linaje mixto (MLKL) contribuyen a la alteración de las membranas celulares y la inducción de muerte celular (Mulay et al., 2016). Dicho proceso inicia la liberación de patrones moleculares asociados a daño (DAMPs), aumentando la respuesta inmunitaria con la atracción de macrófagos y neutrófilos en el tejido sinovial (Mulay et al., 2016). Por su parte, los DAMPs intensifican la inflamación local mediante la activación de RRP (receptores de reconocimiento de patrones en fagocitos mononucleares). La concentración de neutrófilos y monocitos, junto con la liberación de IL-1, dan como consecuencia la liberación de otras citocinas y quimiocinas como IL-8, IL-6 y IL-8, generando un ciclo de autoinflamación inducida con aumento de la permeabilidad capilar. Sumado a esto, los cristales de urato monosódico activan a los neutrófilos que posteriormente forman las trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) (Lamprecht et al., 2008).

Aunque el mecanismo de la fagocitosis de urato monosódico por los macrófagos no se ha dilucidado completamente, se sabe que dada la característica higroscópica de los cristales de urato monosódico (es decir, la capacidad de retener agua y unir proteínas a la superficie)

podría incluir el acoplamiento de IgG y proteínas del complemento. Estas interacciones podrían promover su reclutamiento y fagocitosis (Ortiz-Bravo et al., 1993). Además, se han estudiado las interacciones directas de urato monosódico con el antígeno CD14, que activa receptores tipo Toll (en específico TLR2 y TLR4), estimulando células inmunitarias (Scott et al., 2006). Otra vía de señalización implicada en la cascada inflamatoria es la interacción de urato monosódico con el inflamasoma NLRP3. Este inflamasoma está constituido por un conjunto proteico en el cual la proteína ASC activa la caspasa 1, facilita la producción de IL-1 β y su liberación al entorno extracelular, dando lugar a un proceso autoinflamatorio con un reclutamiento excesivo de leucocitos y un aumento en la permeabilidad capilar (Martinon et al., 2006). La ausencia de NALP3, caspasa 1 y ASC en macrófagos se ha asociado en ensayos preclínicos con una producción deficiente de IL-1 β inducida por cristales (Martinon et al., 2006).

La administración intraarticular de ácido úrico también ha demostrado incrementar la expresión de la COX-2 por inducción de la síntesis de prostanooides, que abona al proceso inflamatorio y, posiblemente, aumente la producción de IL-1 β (Martínez et al., 2002).

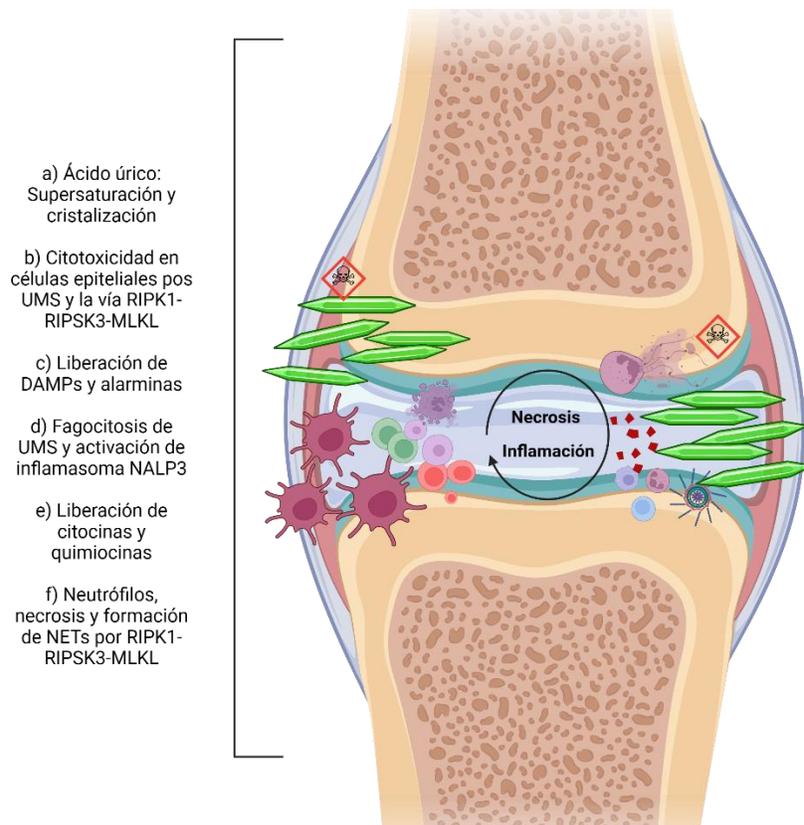


Figura 5. Los mecanismos moleculares involucrados en la artritis gotosa, a) y b) se refiere a que la deposición de cristales induce efectos citotóxicos directos o indirectos en células epiteliales mediante la vía RIPK1-RIPK3-MLKL, c) se liberan DAMPs como respuesta, d) la fagocitosis de cristales de urato monosódico activa el complejo inflamasoma, NLRP3, e) se desencadena la liberación de citocinas y quimiocinas mediadas por IL-1R/NF- κ B y f), se produce el reclutamiento de neutrófilos, los cuales, al entrar en contacto con urato monosódico, experimentan necroptosis y NETs a través de la vía RIPK1-RIPK3-MLKL. Modificado de Desai et al., 2017.

2. TERAPIA FARMACOLÓGICA

Las aproximaciones generales para el tratamiento de dolor artrítico de las enfermedades caracterizadas por dolor en músculo esquelético crónico (como la artritis reumatoide o la gota) abarcan desde la prevención tanto del daño articular como de la pérdida de la función hasta el manejo del dolor (Kidd et al., 2007). En estas terapias farmacológicas la primera línea es el uso de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) ya que han demostrado dar mejoría en los pacientes que sufren de este tipo de dolor (Bournia et al., 2017). Como segunda línea de tratamiento, encontramos a los fármacos de tipo opiáceo, a pesar de que su uso está limitado por sus efectos adversos, se tienen evidencias de sus excelentes propiedades analgésicas. Por mencionar alguna, se reportó un análisis donde 1025 pacientes que padecían de dolor crónico no maligno notaron un decremento importante del 30% de su nivel de dolor.

Cabe mencionar que, el efecto fue parecido en dolor artrítico cuando se administró oralmente en un periodo de cuatro días a ocho semanas (Kalso et al., 2004).

Frecuentemente, un único enfoque farmacológico no es suficiente para contrarrestar el dolor artrítico, por lo que las terapias en combinación suelen ser de gran utilidad. Con base en esto, una estrategia puede ser la coadministración de un AINE y un opioide débil, como el tramadol.

2.1 Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos

Este grupo de fármacos posee propiedades antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas. Dada su eficacia y su gran accesibilidad, los AINEs se consideran como uno de los grupos de fármacos más empleados en clínica a nivel mundial (Williams y Buvanendran, 2011). Curiosamente, los AINEs no tienen una estructura química base, pero sí comparten algunos mecanismos de acción comunes (Sostres y Lanás, 2016). Entre ellos, se encuentra evidencia de que los AINEs modifican la actividad de las vías de transmisión neuronal y ejercen su efecto terapéutico cambiando los niveles intracelulares de neuromoduladores (Sostres y Lanás, 2016). Adicionalmente, los AINEs pueden inhibir la síntesis de prostaglandinas (Vane, 1971), suprimir la síntesis de citocinas (Funakoshi-Tago et al., 2008), disminuir la expresión de canales sensibles a ácidos (Voilley et al., 2001) y elevar los niveles de endocannabinoides (Guindon y Beaulieu, 2006), entre otros mecanismos de acción.

En cuanto al bloqueo de la síntesis de varios prostanoideos, que abarcan a las PGs y al tromboxano, es importante mencionar que ambos se generan a partir del metabolismo de ácidos grasos por la acción enzimática de la COX, de las PGs y el tromboxano, que varía según el tejido. Su papel fundamental radica en ser mediadores tanto en procesos fisiológicos como en patológicos, participando en procesos como la inflamación, el dolor, la osteoporosis, enfermedades cardiovasculares y el cáncer, entre otras (Fitzgerald, 2004).

La síntesis de PGs está vinculada a la disponibilidad de ácido araquidónico (AA). La estimulación de la membrana celular por señales inflamatorias o mitógenos es el primer proceso para la producción de PGs, que también conlleva la liberación de AA desde los fosfolípidos celulares. Dichos sucesos, se llevan a cabo mediante la acción de la fosfolipasa

A2 secretora y fosfolipasa A2 citoplasmática. Una vez que se libera AA, la COX-1 y COX-2 participan en la conversión de este en PGs (Simmons et al., 2004).

El mecanismo de acción más investigado de los AINEs es el que describe que generan sus efectos a través de la inhibición de la enzima COX. La COX está implicada en la producción de PGs, que son indispensables para mediar el proceso de inflamación y la modulación del dolor (Leyva-López et al., 2016). La inhibición de la síntesis de PGs se da mediante la acetilación reversible o irreversible de la COX. En humanos, esta enzima presenta dos isoformas COX-1 y COX-2, pero se sabe que en animales (sobre todo en la médula espinal) se encuentra una tercera isoforma (COX-3), por lo que se cree que también participa en el procesamiento del dolor (Hersh y Dionne, 2017).

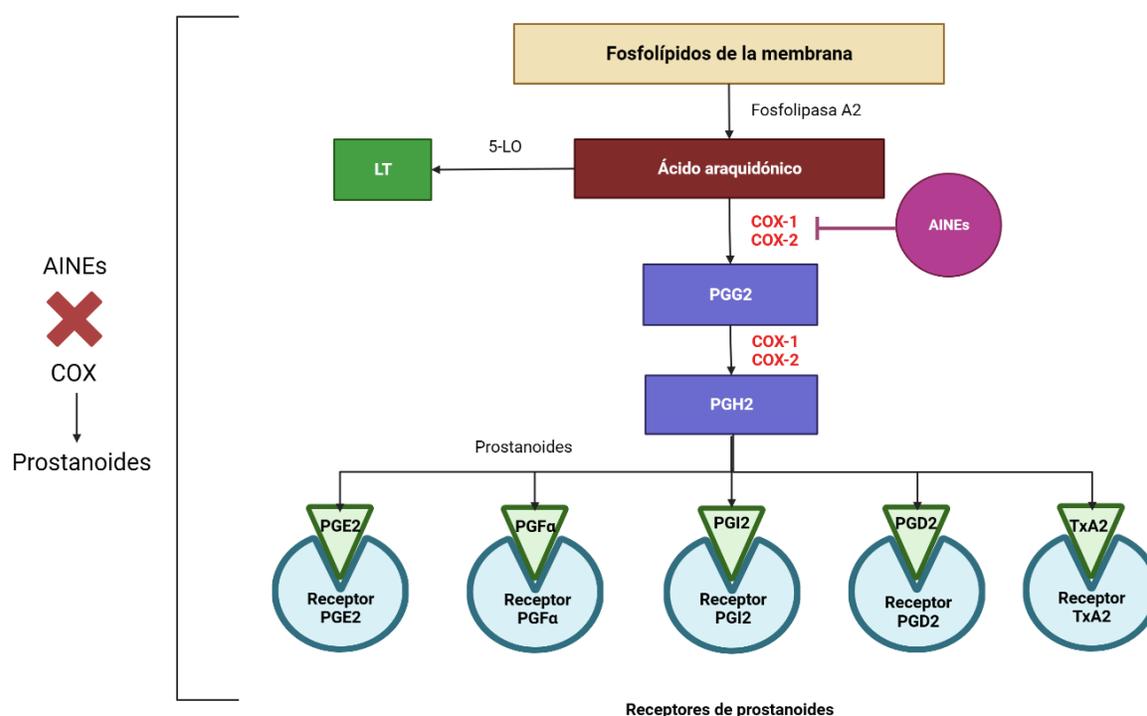


Figura 6. Mecanismo general de los AINEs. Los analgésicos no esteroideos inhiben a la COX, inhibiendo el ácido araquidónico y por consecuencia la síntesis de los prostanoideos. Modificado de Bindu et al., 2020.

La COX-1, que se expresa en la mayoría de los tejidos en condiciones normales, participa en la adhesión plaquetaria, en la síntesis de PGs que mantienen la homeostasis y en los mecanismos de protección de la mucosa gastrointestinal (Lanas et al., 2014). Esta es una enzima constitutiva (Lanas et al., 2014). Por su parte, la COX-2 participa en la síntesis de PGs, excepto que esta lo hace en escenarios donde se produce dolor, inflamación o fiebre, es decir, es una enzima inducible (Lanas et al., 2014; Williams y Buvanendran, 2011). Por último, la COX-3, aunque se sabe que es similar a la COX-1, tiene una variación de un aminoácido y sus funciones continúan en debate. Se ha observado que los fármacos que son selectivos de COX-1 también aparentan actuar sobre COX-3, por lo que se cree que esta última enzima es clave para la síntesis de prostanoides involucrados en procesos de fiebre y dolor (Hersh y Dionne, 2017; Schwab et al., 2003).

Con base en lo anterior, se puede conocer el grado de selectividad de este grupo de fármacos conociendo la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀). Esta se define como la concentración mínima que se ocupa para inhibir el 50% del efecto de la enzima. Esto se puede hacer para cada fármaco de interés con su respectiva isoforma de la enzima. En este criterio (expresado como índice COX-2/COX-1), mientras mayor sea el valor, mayor será la inhibición hacia la ciclooxigenasa-1 y, por ende, mayores serán los efectos no deseables del fármaco (Mitchell et al., 1993). Esta relación se da porque, como se describió anteriormente, la COX-1 es importante para mantener las condiciones homeostáticas en el organismo. En cambio, la COX-2 al ser inhibida produce los efectos antiinflamatorios y analgésicos deseados de los AINEs. Esto dio pie a un gran auge en la década de los 90's en cuanto al desarrollo de fármacos preferentemente selectivos de COX-2, con la hipótesis de que al ser selectivos de esta enzima generarían menos efectos adversos. No obstante, esto no fue del todo cierto, y como ejemplo claro podemos mencionar al rofecoxib que en el año 2004 fue suspendido del mercado porque se encontraron evidencias de que aumentaba el riesgo de accidentes cerebrovasculares e infartos por el uso prolongado de dicho fármaco (Bombardier et al., 2000).

Los efectos secundarios gastrointestinales de los AINEs son consecuencia del impedimento en la producción de prostaciclina (PGI₂), PGE₃ y PGD₂, las cuales inducen la secreción de moco citoprotector, bloquean la producción de ácidos estomacales y a su vez, incrementan

el flujo sanguíneo del estómago (Lanas y Scheiman, 2007). Lo anterior conlleva a la generación de lesiones, como úlceras o erosiones, y en casos más extremos, perforaciones y hemorragias (Lanas y Scheiman, 2007). Sin embargo, aunque los AINEs se relacionan con efectos no deseables cardiovasculares, renales y gastrointestinales, continúan siendo uno de los grupos de fármacos más usado en clínica, y es ahí donde el médico debe prestar atención al momento de prescribirlos para que sea la dosis eficaz mínima administrada por el menor tiempo que sea posible (Sostres y Lanas, 2016).

2.1.1 Celecoxib

El celecoxib pertenece al grupo de los AINEs. Este exhibe una inhibición de COX-2 con una selectividad aproximadamente 30 veces mayor que la inhibición sobre la COX-1 (Capone et al., 2007; Tacconelli et al., 2002). Por tal motivo, se dice que tiene una inhibición selectiva o preferente de la COX-2 (Figura 7). De hecho, fue el primer fármaco de este tipo en ser introducido al mercado (en 1998) (McCormack et al., 2011).

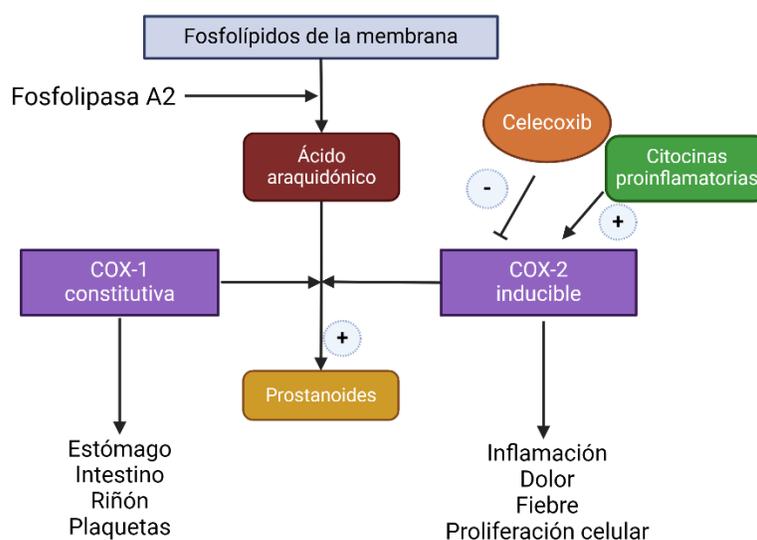


Figura 7. El mecanismo de acción del celecoxib consta de inhibir la síntesis de prostaglandinas mediante la inhibición de COX-2. Las enzimas COX catalizan el paso crucial que conduce a la producción de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico. Modificado de Gong et al., 2012.

El celecoxib se absorbe de manera rápida luego de la administración oral, llegando a su nivel máximo en la sangre a las 3 h aproximadamente. Su vida media es de 11.5 h. Se metaboliza en el hígado mayoritariamente, mientras que una pequeña cantidad de fármaco (menor del 3%) se excreta sin cambios (Marnett y DuBois, 2002; Paulson et al., 2000). Las vías de eliminación son orina y heces. Como se observa en la figura 8, el fármaco da lugar a una reacción de hidroxilación de metilo dando lugar al hidroxicelecoxib (principalmente catalizada por en la enzima CYP2C9), el hidroxicelecoxib experimenta una oxidación y se transforma en carboxicelecoxib gracias a las alcohol deshidrogenasas citosólicas (ADH₁ y ADH₂). Es importante destacar que ninguno de estos metabolitos tiene actividad farmacológica (Davies et al., 2000; Paulson et al., 2000).

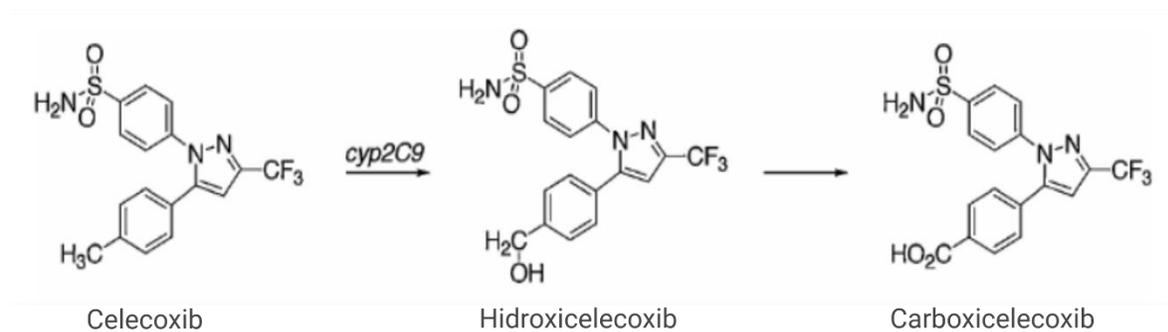


Figura 8. Metabolismo del celecoxib. Modificado de Marnett y DuBois, 2002.

Suele ser comúnmente prescrito para tratar diversas condiciones médicas, especialmente aquellas relacionadas con la inflamación y el dolor, como la artritis reumatoide (AR), la osteoartritis (OA), la artritis gotosa y la espondilitis anquilosante, entre otras enfermedades reumáticas (Clemett y Goa, 2000). La efectividad de celecoxib se ha confirmado en diversos estudios. En la mayoría de estos ensayos, se compararon diferentes dosis con placebo y/o AINEs, no solo para demostrar la eficacia, sino también para establecer la equivalencia de celecoxib. En seguida se muestra la tabla 1 con algunos ejemplos de estos estudios:

Tabla 1. Estudios de celecoxib vs AINEs y/o placebo.

Objetivo del estudio	Resultados	Referencia
Celecoxib en la artritis reumatoide y la osteoartritis, y su impacto en la agregación plaquetaria en voluntarios sanos vs la aspirina	Reducción significativa del dolor en la osteoartritis evaluado mediante la escala visual analógica (VAS), en todas las dosis de celecoxib, excepto 40 mg dos veces al día. En pacientes con artritis reumatoide, todas las dosis de celecoxib lograron una reducción significativa en la evaluación global de los pacientes. Por otra parte, la disminución de las articulaciones con dolor se limitó a dosis superiores a 40 mg dos veces al día. A diferencia de la aspirina, el celecoxib no mostró ningún efecto en la función plaquetaria	Simon et al., 1998
Eficacia y seguridad gastrointestinal de celecoxib en 1149 pacientes sintomáticos de artritis reumatoide. El celecoxib, fue evaluado en diferentes dosis frente a naproxeno y un placebo durante 12 semanas	El celecoxib mostró equieficacia con 500 mg de naproxeno en la reducción de articulaciones doloridas e hinchadas. Tanto celecoxib como naproxeno superaron al placebo en cuanto a la respuesta ACR20 ($p < 0.05$), y celecoxib 200 mg dos veces al día tuvo tasas de respuesta ACR20 más altas en las semanas 2 y 6 en comparación con naproxeno ($p < 0.05$)	Simon et al., 1999
Eficacia de celecoxib vs AINEs no selectivos en artritis gotosa	Los datos preliminares sugieren que el celecoxib, un inhibidor altamente selectivo de la COX-2, es superior al placebo y similar a los AINE tradicionales en el tratamiento a corto plazo del dolor debido a la gota, aunque	Fung Kirschenbaum, 1999

	se ha asociado con efectos adversos como dolor de cabeza, cambios en los hábitos intestinales, malestar abdominal y mareos.	
Efectos del uso prolongado de celecoxib usado para tratar osteoartritis en la rodilla y cadera	La evaluación de las radiografías no reveló indicios de progresión de la enfermedad, excepto por un estrechamiento significativo del espacio en la articulación de la cadera ($p=0.029$). Este estrechamiento observado en la cadera fue pequeño y ya estaba presente antes del uso de celecoxib, y no se observó una relación de dependencia con la dosis	Tindall et al., 2002
Celecoxib vs AINEs no selectivos en el tratamiento de gota	El celecoxib demostró eficacia comparable a los AINEs no selectivos, pero con un menor riesgo de efectos secundarios gastrointestinales	Bingham, 2002
Celecoxib en el tratamiento de la artritis gotosa aguda	El celecoxib es efectivo en el tratamiento de la artritis gotosa aguda y está asociado a menos efectos adversos que los AINE tradicionales, al menos en el tratamiento a corto plazo	Terkeltaub, 2003
Celecoxib vs pelubiprofeno	Equieficacia en la reducción del dolor, medida a través de la VAS, en pacientes con artritis reumatoide	Choi et al., 2014
Celecoxib vs ibuprofeno en el tratamiento de la osteoartritis exclusivamente en la rodilla	Celecoxib es efectivo y seguro en el tratamiento de la osteoartritis en la rodilla, y puede mejorar la calidad de vida de los pacientes	Gordo et al., 2017
Celecoxib vs naproxeno en el tratamiento de la osteoartritis de la rodilla	Hubo una mejora del 20% en la puntuación WOMAC OA desde el inicio hasta los 6 meses de duración del estudio, se logró en el	Essex et al., 2014

		52.7% frente al 49.7% de los pacientes en los grupos de celecoxib y naproxeno, respectivamente ($p \geq 0.05$). Entre los usuarios de celecoxib, hubo significativamente menos interrupciones relacionadas con eventos adversos del tracto gastrointestinal (4.1% frente al 15.1%, $p < 0.0001$)	
Celecoxib vs diclofenaco en el tratamiento de la osteoartritis		El celecoxib se consideró un AINE de menor eficacia en el tratamiento de la osteoartritis, particularmente en lo que respecta a la reducción del dolor y la mejora de la función	Da Costa et al., 2017

Adicionalmente, se han recabado datos (en ensayos preclínicos) que sugieren que el celecoxib disminuye el dolor agudo y crónico en animales de experimentación mediante los sistemas opioide y cannabinoide (Correa et al., 2010). El celecoxib modula los canales iónicos K_v7 , dependiendo de su concentración (en específico, aumentó las corrientes de $K_v7.2-7.4$, $K_v7.2/7.3$ y $K_v7.3/7.5$ e inhibió las corrientes de $K_v7.1$ y $K_v7.1/KCNE1$) (Du et al., 2011).

Cabe mencionar que, a pesar de ser un medicamento usado con mucha frecuencia debido a sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas, la literatura donde se reportaba un perfil de daño gastrointestinal adecuado era mucho más escasa, comparándola con los datos de otros fármacos de esta clase (coxibs). En el año 2000, se publicó el “Estudio de Seguridad a Largo Plazo de Celecoxib en la Artritis” (CLASS, por sus siglas en inglés), un ensayo a gran escala que involucró a 8059 pacientes con AR u OA. En dicho estudio, fueron comparados los efectos de celecoxib con los de ibuprofeno y diclofenaco. Es relevante señalar que se optó por regímenes de dosis elevadas (celecoxib 400 mg dos veces al día, ibuprofeno 800 mg tres veces al día, diclofenaco 75 mg dos veces al día). La incidencia de complicaciones por úlceras en la parte superior del tracto gastrointestinal no mostró diferencias significativas entre celecoxib y ambos AINEs (Silverstein et al., 2000). Sin embargo, la combinación de

complicaciones de úlceras gastrointestinales y úlceras sintomáticas fue menor con celecoxib vs ambos AINEs (Silverstein et al., 2000).

Los resultados del estudio CLASS han generado controversia. El estudio abarca dos ensayos separados que no se incluyeron en el artículo antes mencionado. En este, se hizo la comparación de celecoxib vs diclofenaco durante 12 meses, mientras que el otro comparó celecoxib con ibuprofeno por 15 meses (Loewen, 2002; James y Cleland, 2006). Inicialmente, el resultado principal en estos ensayos se había definido como complicaciones de úlceras gástricas (como sangrado de úlceras), no como úlceras sintomáticas (Jüni et al., 2002). Posteriormente, Silverstein y col., solo mostraron los resultados de los primeros 6 meses. Las diferencias informadas que favorecían a celecoxib perdieron relevancia (Jüni et al., 2002; Loewen, 2002). Por consiguiente, la interpretación de los hallazgos del ensayo CLASS es compleja.

Además, debido a que a inicios de los 2000s se sacaron del mercado al rofecoxib y valdecoxib, ambos inhibidores preferentemente selectivos de la enzima COX-2, el celecoxib junto con otros AINEs (selectivos y no selectivos) han estado bajo supervisión constante (Crofford, 2002).

2.2 Opioides

El término opioide hace referencia a compuestos que poseen una estructura similar a la de los productos encontrados en el opio. No se debe confundir con el término opiáceo que se usa para distinguir a los compuestos que son originarios del opio (Khademi et al., 2016; Mesa-Vanegas, 2017).

Dicho esto, los opioides son sustancias que se caracterizan por tener una afinidad selectiva por los receptores opioides en el sistema nervioso central y periférico, lo que resulta en la inhibición de la transmisión de señales de dolor (Pedrero-Pérez et al., 2021). Los opioides pueden ser tanto endógenos como exógenos, los cuales tienen afinidad por receptores mu (μ), delta (δ), kappa (κ) (Jamison y Mao, 2015) y nociceptina/orfanina FQ (Mollereau et al., 1994).

Los opioides exógenos se clasifican de tres formas a) naturales, b) semisintéticos y c) sintéticos. Todos presentan variabilidad en su composición química, así como en su afinidad respecto a los receptores opioides. Asimismo, son agonistas, agonistas parciales, agonistas-antagonistas mixtos o antagonistas puros. Esta característica es denominada dualismo farmacológico e implica que varios fármacos opioides pueden interactuar en los distintos receptores (μ , κ , δ), ya sea como agonistas, agonistas parciales o antagonistas (Li et al., 2023).

El alivio del dolor proporcionado por los opioides se atribuye a su acción en diversas áreas, incluyendo el cerebro, el tallo cerebral, la médula espinal y en las terminaciones nerviosas periféricas de las neuronas aferentes (O'Connor y Dworkin, 2009). La evidencia general sugiere que este grupo de medicamentos reduce la sensación de dolor (son la primera línea del manejo del dolor en pacientes con dolor intenso y/o en estado crítico (Karamchandani et al., 2019a), incluido el dolor artrítico, pero existe polémica sobre su uso. Probablemente su efecto adverso más importante es la tolerancia farmacológica, es decir, que después de administraciones prolongadas o repetidas, hay una disminución en los efectos analgésicos (Nestler, 2004). Dicha tolerancia, está regulada entre otros mecanismos, por procesos de “up-regulation” o contra regulación, que implican un aumento gradual de los niveles de AMPc. Por lo tanto, se vuelve necesario aumentar la dosis para mantener la disminución de este segundo mensajero. El fenómeno de up-regulation del AMPc se ha observado en varias estructuras implicadas en la modulación del dolor, como el locus coeruleus, el núcleo accumbens, el área tegmental ventral y la PAG. La vía involucrada en dicho fenómeno es el factor de transcripción CREB, que aumenta la síntesis de un opioide endógeno, la dinorfina, activando así los receptores kappa en el área tegmental ventral y reduce la liberación de dopamina en el núcleo accumbens (Nestler, 2004). Otra explicación de porque se da la tolerancia es la fosforilación de receptores opioides mediante la unión de β -arrestina, que como consecuencia internaliza a los receptores disminuyendo su disponibilidad en la membrana de las células (Nestler, 2004).

Por esta razón, se ha optado por considerar a los opioides como una segunda opción en el tratamiento. Generalmente, se reservan para casos en donde otras estrategias de manejo del dolor no han sido efectivas (Corder et al., 2018). Además, es importante seguir las pautas de

dosificación y llevar un monitoreo adecuado para reducir el riesgo de efectos secundarios y dependencia.

2.2.1 Tramadol

El tramadol es un analgésico que ejerce su acción sobre el sistema nervioso central y está clasificado como un opioide débil. Su mecanismo de acción implica la activación de receptores mu (μ) y kappa (κ), además de la inhibición del transportador de serotonina y noradrenalina (Vazzana et al., 2015). Gracias a esta modalidad de acción, el tramadol exhibe un perfil farmacológico peculiar, caracterizado por su dualidad en la modulación del dolor (Hassamal et al., 2018).

En lo que concierne a las propiedades farmacocinéticas del tramadol, se destaca una absorción rápida tras su administración oral. La concentración máxima en plasma se alcanza a las 2 h, con una biodisponibilidad cercana al 70-90%, considerando el metabolismo de primer paso hepático. Aproximadamente, el 20% del fármaco se une a proteínas plasmáticas, principalmente a la albumina, y presenta una vida media de aproximadamente 6 h (Klotz, 2003). El metabolismo del tramadol en el hígado se lleva a cabo mediante tres isoenzimas del citocromo P450: P4502D6, P4502B6 y P4503A4. De aquí, se originan dos metabolitos principales: O-desmetiltramadol (M1) y N-desmetiltramadol (M2) (Figura 9) (El-Sayed et al., 2013). El metabolito M1 es el más activo, exhibiendo una afinidad 200 veces mayor hacia los receptores opioides y es 6 veces más potente en comparación con el fármaco original (Vazzana et al., 2015).

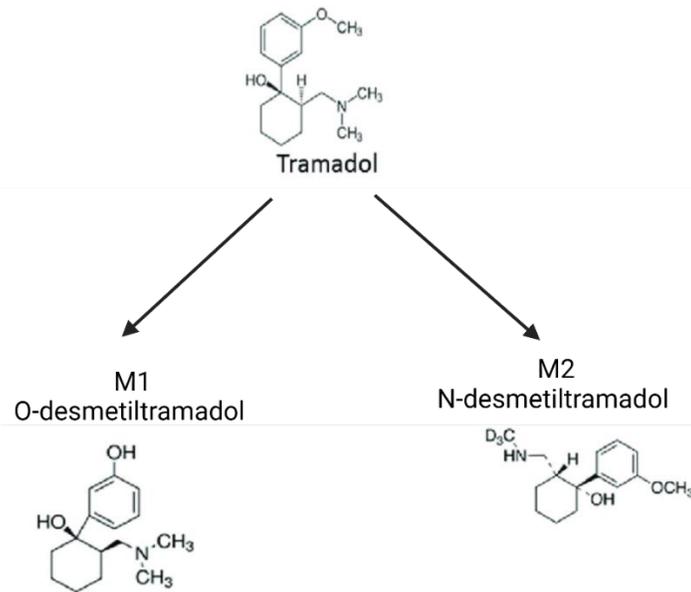


Figura 9. Los metabolitos M1 y M2 son los metabolitos activos del tramadol. Modificado de Rodieux et al., 2018.

Es importante mencionar que el tramadol está constituido de dos enantiómeros: "D" (tiene afinidad por el receptor μ e inhibe la recaptura de serotonina) y "L" (inhibe la recaptura de noradrenalina). Ambos mecanismos operan de manera conjunta en la modulación de la inhibición del dolor (Scott y Perry, 2000; Schug, 2007).

Todas las vías de señalización relacionadas a los receptores opioides se acoplan a proteínas transmembranales G (Gi/Go). Esta interacción desencadena fenómenos intracelulares dados por las subunidades y el acople a Gi/Go, según sea el caso (Vazzana et al., 2015). Por ejemplo, la subunidad α ejerce inhibición sobre la actividad del adenilato ciclasa (AC), cuya función es transformar el ATP a adenosín monofosfato cíclico (AMPC), este último actúa como segundo mensajero. La inhibición de AMPC afecta la actividad de la proteína cinasa A (PKA), que desempeña un papel crucial en la fosforilación de proteínas (McKenzie y Milligan, 1990). Aunado a ello, la subunidad α incrementa la apertura de canales de K^+ (especialmente los canales GIRK) que resulta en la hiperpolarización postsináptica. En cambio, la subunidad $\beta\gamma$ disminuye la apertura de canales de Ca^{2+} . Por otra parte, aumenta la expresión de PKA activada por mitógenos, por consiguiente, incrementa la activación de la fosfolipasa A2 (Vazzana et al., 2015).

Ahora bien, con respecto a los mecanismos de acción no opioides del tramadol, estos están vinculados al sistema noradrenérgico. Se ha reportado en la literatura que los receptores adrenérgicos α (localizados en el locus coeruleus y médula espinal) desempeñan un papel importante regulando la ansiedad y el dolor (Berrocoso et al., 2006). De igual manera, el sistema serotoninérgico provoca modificaciones como la reducción de receptores adrenérgicos α_2 en la corteza prefrontal, receptores adrenérgicos β y el receptor 5-HT_{2A}. Estos cambios son parecidos a los observados con los antidepresivos (Jesse et al., 2010).

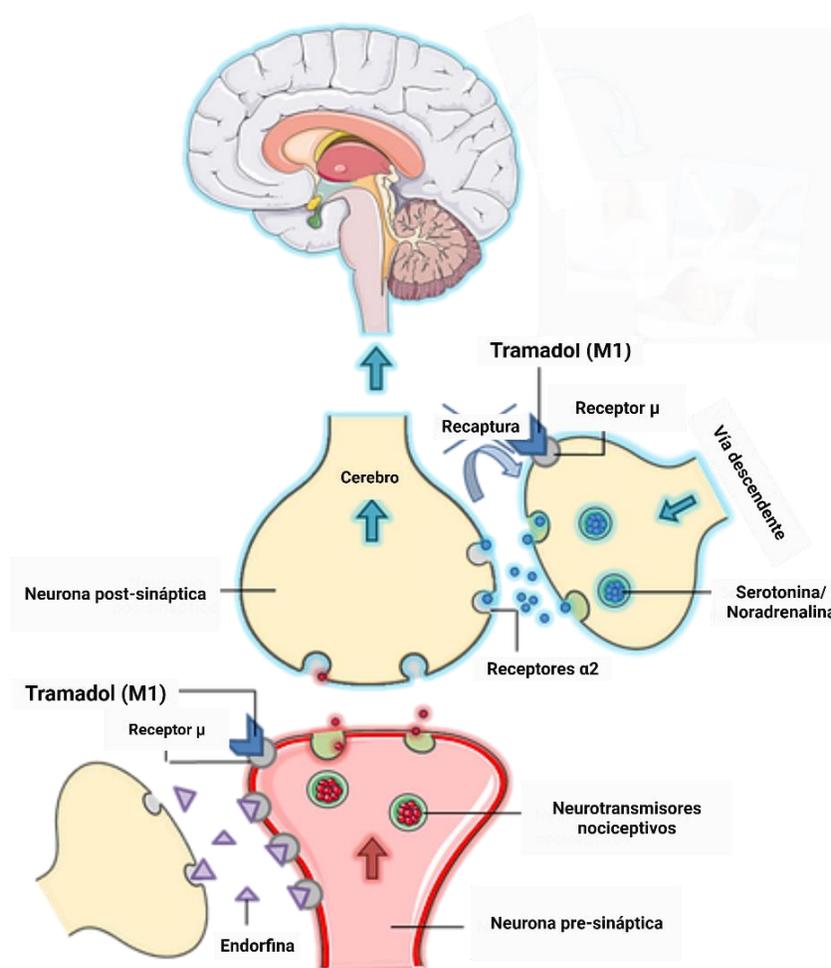


Figura 10. El mecanismo de acción del tramadol es mediante la activación de receptores opioides y de la inhibición de la recaptura de serotonina y noradrenalina en el sistema nervioso central, lo que contribuye a reducir la percepción del dolor y mejorar el alivio de este. Modificado de Schug, 2007.

El tramadol ha recibido aprobación sustancial para su aplicación en casos de dolor moderado, dolor severo y como parte de la terapia integral en el dolor artrítico (Kidd et al., 2007). No obstante, es relevante señalar que el uso del tramadol puede verse limitado por la aparición de efectos secundarios indeseables, tales como náuseas, somnolencia, mareos, estreñimiento, depresión respiratoria y tolerancia farmacológica, entre otros (Nafziger y Barkin, 2018). También, sus efectos adversos relacionados con la inhibición del transportador de serotonina y noradrenalina son las convulsiones y la presencia de síndrome serotoninérgico (Joshi et al., 2012; Raiger et al., 2012). Por ende, se destaca la necesidad de considerar alternativas más viables para la administración de este fármaco.

3. COMBINACIÓN DE FÁRMACOS

La combinación de agentes farmacológicos ha demostrado ser de considerable utilidad para la optimización de la administración de dosis, con el propósito de obtener efectos farmacológicos más eficaces con menores dosis y con la posibilidad de atenuar los efectos adversos asociados. La literatura documenta que la coadministración de dos o más fármacos, los cuales poseen efectos similares de manera individual (analgésicos) y actúan mediante mecanismos de acción diversos, puede resultar en ocasiones en una potenciación de sus efectos (López-Muñoz et al., 1993b; Tallarida, 2011).

La coadministración de fármacos puede dar lugar a tres tipos de interacciones:

- a) Interacción aditiva. Se manifiesta cuando el efecto de la combinación es equivalente a la suma de los efectos de los tratamientos individuales.
- b) Interacción supra-aditiva o sinérgica. Es cuando el efecto de la combinación supera la suma de los efectos individuales de los fármacos.
- c) Interacción infra-aditiva. Se presenta cuando el efecto de la combinación es inferior al efecto de los tratamientos individuales (Chou, 2006).

En lo que respecta a la rama del estudio del dolor, se sabe que varias vías están involucradas en la modulación del dolor. Es por esto que la Organización Mundial de la Salud junto con la Sociedad Americana del Dolor sugieren la combinación de dos o más agentes farmacológicos (Hamrick et al., 2019).

Dicho lo anterior, existen diferentes metodologías de carácter cuantitativo para evaluar la combinación de fármacos y sus interacciones. Algunos ejemplos de ello son el isoblograma y el análisis de superficie de interacción sinérgica.

3.1 Isoblograma

El isoblograma es el método más usado en pruebas preclínicas y clínicas para la determinar interacciones farmacológicas de fármacos dados en conjunto (Tallarida, 2011). El isoblograma consta de un plano cartesiano en el cual se grafican las dosis efectivas de interés (DE₅₀, DE₃₀, DE₂₀, etc.) del fármaco A en el eje X. De igual manera, se grafica la dosis efectiva a evaluar del fármaco B en el eje Y. Resultando en dos puntos que se conectan formando una línea de suma o línea de aditividad (Huang et al., 2019). Posteriormente, se localiza el punto de la combinación evaluada. Se consideran tres criterios:

1. Si el punto cae debajo de la línea de suma: Es una interacción de potenciación o supra-aditiva.
2. Si el punto cae en la línea de suma: Es una interacción aditiva.
3. Si el punto resulta por encima de la línea de aditividad: Es una interacción infra-aditiva.

Con el isoblograma se puede determinar el tipo de interacción de dosis equieficaces de los dos fármacos (Tallarida, 2011).

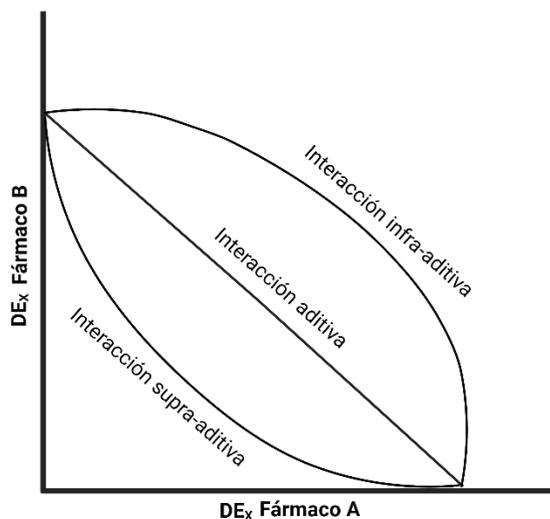


Figura 11. Isoblograma. Modificado de Langeveld et al., 2014 .

3.2 Análisis de superficie de interacción sinérgica

El análisis de superficie de interacción sinérgica (SIS) se basa en la determinación de las curvas dosis-respuesta de cada tratamiento individual y de los tratamientos en múltiples combinaciones para poder discernir el tipo de interacción entre ellas y la posible utilidad terapéutica. Con cada punto del efecto antinociceptivo de los fármacos se construye una gráfica tridimensional donde se coloca el efecto del fármaco A en el eje X y el efecto de fármaco B estará en el eje Z. Por su parte, se representará el efecto global o área bajo la curva de efectos individuales o combinados en el eje Y (Figura 12). De esta manera se pueden detectar las combinaciones antinociceptivas o analgésicas más eficaces. Para la determinación del tipo de interacción (adición, supra-aditivas o infra-aditivas) de cada combinación, se hace una resta al efecto antinociceptivo experimental de la combinación menos el efecto individual dado por los fármacos. Si el valor de esta resta se sitúa en el plano en “0”, indicará una interacción de tipo aditiva o suma, si se sitúa estadísticamente en un valor mayor a “0” se considerará de tipo supra-aditiva. Por último, si los valores son menores a “0” será una interacción infra-aditiva. Posteriormente, se construye una segunda gráfica de tres dimensiones mostrando los efectos obtenidos de las combinaciones sobre los efectos esperados (Figura 13) para determinar tipo de interacción. Finalmente, también se realiza una gráfica tridimensional representando la superficie que muestra un repertorio de todas las

posibles combinaciones entre los fármacos A y B de interés (Figura 14) que corresponderá a la Superficie de interacción Sinérgica (López-Muñoz, 1994).

El análisis de SIS es capaz de detectar la importancia de una gama amplia de interacciones producidas al combinar dos fármacos porque usa múltiples proporciones de estos, y también es posible evaluar el tipo de sinergismo en las CDR y en los cursos temporales.

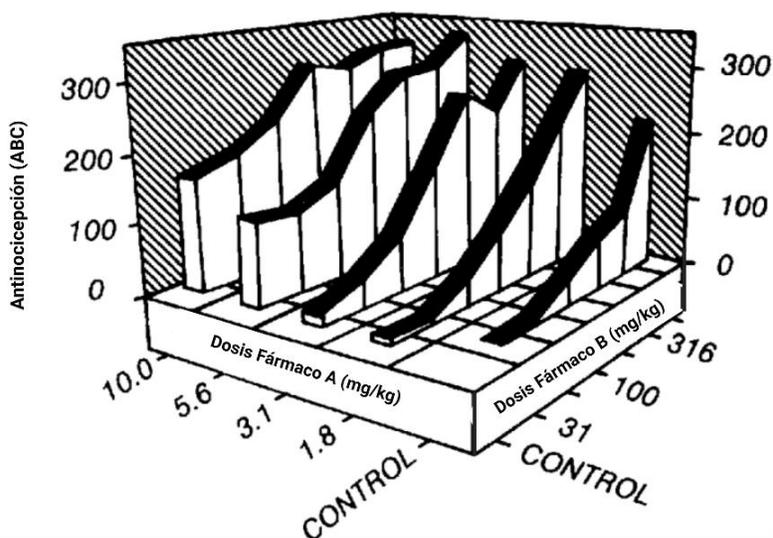


Figura 12. Gráfica tridimensional de los efectos antinociceptivos solos y en combinación generados por fármaco A (eje X) y por fármaco B (eje Z). El eje Y representa el área bajo la curva del curso temporal (López-Muñoz, 1994).

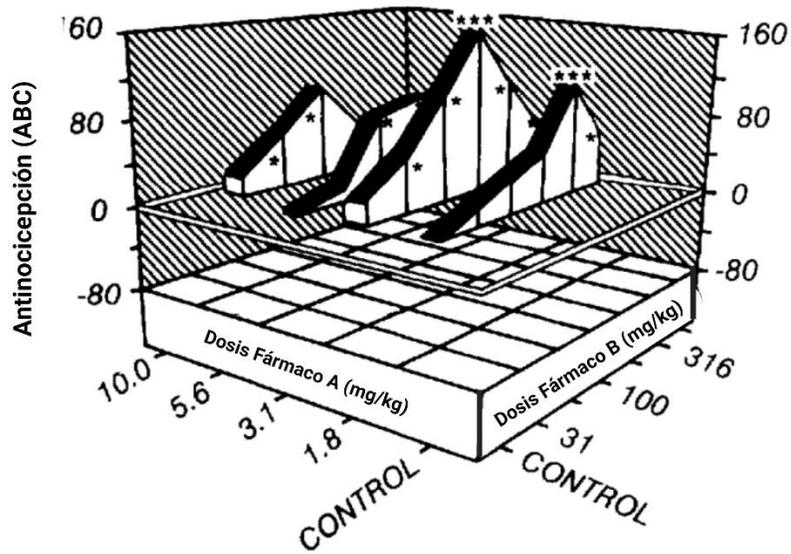


Figura 13. Gráfica tridimensional de los efectos antinociceptivos de las combinaciones de fármaco A (eje X) y fármaco B (eje Z), después de restar sus efectos individuales. El eje Y representa el área bajo la curva de los cursos temporales (López-Muñoz, 1994).

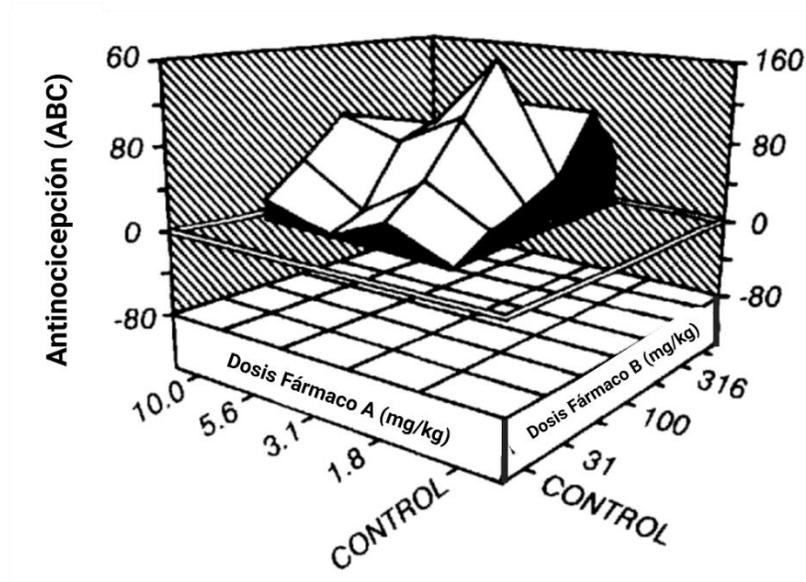


Figura 14. Gráfica tridimensional que resulta de unir los puntos de todas las proporciones de las combinaciones del fármaco A y fármaco B (López-Muñoz, 1994).

4. COMBINACIÓN DE TRAMADOL CON FÁRMACOS NO OPIOIDES

Una estrategia comúnmente adoptada cuando se prescribe tramadol consiste en la coadministración con otros fármacos no opioides con el propósito principal de reducir las dosis de tramadol y, por consiguiente, mitigar los efectos adversos previamente mencionados, al tiempo que se buscan efectos aditivos o de potenciación.

A continuación (tabla 2), se muestran ejemplos de reportes de evaluaciones preclínicas en la literatura de las combinaciones de tramadol con otros fármacos no opioides u coadyuvantes.

Tabla 2. Ejemplos de combinaciones de tramadol con otros compuestos.

Combinación	Tipo de dolor	Modelo experimental	Resultados	Referencia
Tramadol + Celecoxib	Dolor post operatorio	Modelo de incisión plantar	Isoblograma (DE ₅₀) 1 combinación (1:1) evaluada, sinergismo supra-aditivo en efecto antialodínico y anti-hiperalgésico	Merlos et al., 2018
Tramadol + Acetaminofén	Dolor inflamatorio	Modelo de carragenina	1 combinación generó efecto antinociceptivo supra-aditivo	Shinozaki et al., 2015
Tramadol + Ácido ursólico	Dolor	Inducción nociceptiva por ácido acético	Isoblograma (DE ₅₀) 2 combinaciones evaluadas (1:1 y 1:3), ambas con efectos infra-aditivos	Déciga-Campos et al., 2014
Tramadol + Ibuprofeno	Dolor inflamatorio	Modelo de la formalina	Isoblograma (DE ₅₀) 1 combinación evaluada (3:1) con efectos aditivos en fase 1 y 2	Chavarría-Bolaños et al., 2014
Tramadol + Fentanilo	Dolor inflamatorio	Modelo de la formalina orofacial	Isoblograma DE ₅₀ La combinación 1:1 produjo efectos supra-aditivos en fase 1 y 2	Miranda et al., 2012
Tramadol + Cafeína	Dolor inflamatorio	Modelo de la formalina	Isoblograma DE ₅₀ No hubo efectos	Díaz-Reval et al., 2010

			antinociceptivos en la fase 1. En la fase 2, se generó un efecto supra-aditivo en 10 combinaciones e infra-aditivo en 2 combinaciones	
Tramadol + Ketamina	Dolor inflamatorio	Modelo de la formalina y modelo de la retirada de cola	Isoblograma DE ₅₀ La combinación 1:1 y 3:1 (modelo de la formalina) generó efectos supra-aditivos en la fase 2 La combinación 1:1 y 3:1 (modelo de la retirada de cola), la ketamina no produjo efectos antinociceptivos	Chen et al., 2002

De igual manera, en el laboratorio No. 7 “Dolor y Analgesia” del Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav, Sede Sur) también han sido evaluadas diversas combinaciones de tramadol con otros fármacos. Dichos estudios se presentan en la siguiente tabla 3:

Tabla 3. Combinaciones de tramadol con diversos fármacos evaluados en el Lab. 07 “Dolor y Analgesia” Cinvestav, Sede Sur.

Combinación	Tipo de dolor	Modelo experimental	Resultados	Referencia
Tramadol + Ácido acetil salicílico	Dolor artrítico	Disfunción inducida por dolor en la rata	24 combinaciones evaluadas: 8 combinaciones resultaron en efectos supra-aditivos y	Salazar et al., 1995

			16 combinaciones resultaron en efectos aditivos	
Tramadol + Ketorolaco	Dolor artrítico	Disfunción inducida por dolor en la rata	Análisis de SIS 24 combinaciones evaluadas: 10 combinaciones presentaron efectos supra-aditivos 14 combinaciones tuvieron efectos aditivos	López-Muñoz et al., 2004
Tramadol + Rofecoxib	Dolor artrítico	Disfunción inducida por dolor en la rata	Análisis de SIS 12 combinaciones evaluadas: 7 combinaciones con efectos aditivos y 5 combinaciones dieron efectos infra-aditivos	García-Hernández et al., 2007
Tramadol + Metamizol	Dolor artrítico	Disfunción inducida por dolor en la rata	1 combinación evaluada (DE ₄₀), produjo efectos aditivos	Moreno-Rocha et al., 2012
Tramadol + Metamizol	Dolor artrítico	Disfunción inducida por dolor en la rata	Isoblograma 25 combinaciones evaluadas: 3 combinaciones generaron aditividad y 22 combinaciones produjeron potenciación	López-Muñoz et al., 2013
Tramadol + Palmitoiletanolamida	Dolor artrítico	Modelo de la formalina	Isoblograma (CE ₅₀) 5 combinaciones evaluadas con efectos supra-aditivos	Déciga-Campos et al., 2015

Tramadol + Gabapentina	Dolor neuropático	Modelo de constricción del nervio ciático	Isoblograma (DE ₈₀) 3 combinaciones evaluadas: 1 combinación generó potenciación en efectos antialodínicos y anti-hiperalgésicos 2 combinaciones generaron aditividad	Corona- Ramos et al., 2016
---------------------------	----------------------	--	--	----------------------------------

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El dolor es un problema con muchas aristas por tratar dependiendo de la patología que lo origine. Se sabe que el dolor es el motivo más habitual de consulta médica y una de las principales razones de discapacidad laboral (Ruiz-Mejía et al., 2016). Por tal motivo, es de vital importancia contar con tratamientos eficaces para que las personas que lo padecen puedan llevar a cabo su vida lo más normalmente posible. En específico, los pacientes con dolor artrítico, como la artritis reumatoide o la gota, sufren de dolores intensos que repercuten en su desarrollo tanto funcional como social (González-Chica et al., 2018). El médico debe tratar estas enfermedades con fármacos específicos de la patología, pero también se deben mitigar síntomas subyacentes como el dolor.

Los AINEs, que son los medicamentos más prescritos a nivel mundial, (Williams y Buvanendran, 2011), en específico el celecoxib que es selectivo de COX-2, es una herramienta útil para el alivio del dolor inflamatorio ya que presenta alta eficacia antinociceptiva y es accesible para los pacientes por ser de bajo costo, pero se conoce que su uso continuo puede producir efectos adversos no deseables tales como daño gástrico, renal y cardiovascular (Frampton y Keating, 2007). Por su parte, el tramadol es un opioide que se prefiere por su perfil farmacológico especial y por tener menor potencial de abuso, es comúnmente usado para tratar dolor moderado o severo, usándolo en administración conjunta para disminuir sus efectos adversos como son la somnolencia, mareos, náuseas, constipación, etc. (Vazzana et al., 2015).

Existe un antecedente de un estudio en el cual se analizó la combinación 1:1 de tramadol y celecoxib, dando como resultado que producían sinergismo en efectos antialodínicos y anti-hiperalgésicos en un modelo de incisión plantar de dolor postoperatorio en la rata (Merlos et al., 2018). Sin embargo, no se menciona porqué se evaluó dicha proporción o si era la óptima en cuanto a eficacia. Por lo tanto, es importante recordar que las interacciones farmacológicas no deben ser hechas arbitrariamente ya que estas dependen de la proporción de los componentes de la combinación y su asociación puede dar una gama de interacciones de distintos tipos como aditivos, supra-aditivos o infra-aditivos. Se deben detectar aquellas proporciones que generen la máxima eficacia y potenciación y dejar de lado aquellas que produzcan efectos de bajo interés (López-Muñoz, 1994). Dicho lo anterior, se cuenta con nula evidencia científica de las proporciones óptimas o más eficaces para usar en combinación entre estos dos fármacos para tratar el dolor inducido por ácido úrico en estas condiciones específicas. De manera interesante, la combinación de rofecoxib (inhibidor selectivo de COX-2) y tramadol en dolor artrítico generó efectos antinociceptivos infra-aditivos (García-Hernández et al., 2007). Por lo que surge la pregunta ¿todos los inhibidores selectivos de COX-2 al ser combinados con tramadol generarán efectos analgésicos infra-aditivos?

En el presente proyecto se tiene interés por evaluar el efecto antinociceptivo de la combinación de tramadol con celecoxib empleando el modelo de disfunción inducida por dolor en la rata (PIFIR, por sus siglas en inglés) para simular las condiciones de dolor artrítico y posteriormente con ayuda del análisis de SIS determinar las dosis óptimas a combinar de los mismos, así como las interacciones que puedan producir.

6. HIPÓTESIS

- a.** La combinación de celecoxib y tramadol presenta efecto antinociceptivo en dolor tipo artrítico y algunas de sus proporciones generan alta eficacia y potenciación antinociceptiva.
- b.** La combinación no aumenta los efectos adversos de los tratamientos individuales.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antinociceptivo de la asociación del tramadol y celecoxib y determinar las proporciones de combinación más eficaces.

7.2 Objetivos específicos

En ratas Wistar hembra:

- a.** Caracterizar el efecto antinociceptivo de la administración individual de celecoxib y tramadol en dolor artrítico, mediante el modelo experimental de disfunción inducida por dolor en la rata.
- b.** Identificar y analizar las posibles interacciones sinérgicas en los efectos antinociceptivos de tramadol y celecoxib mediante el análisis de SIS en la rata, evaluando su eficacia antinociceptiva de manera aislada o en combinación y con distintas proporciones de dosis.
- c.** Detectar las proporciones de combinación que resulten óptimas en cuanto a su actividad antinociceptiva.
- d.** Determinar si las combinaciones óptimas de celecoxib + tramadol, generan efectos adversos (úlceras gástricas y coordinación motora).
- e.** Evaluar si la combinación de alta eficacia genera tolerancia antinociceptiva y evaluar los efectos adversos de úlceras y coordinación motora tras 12 administraciones repetidas.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Animales

Para realizar la evaluación de la actividad antinociceptiva se utilizaron ratas Wistar hembra proporcionadas por el bioterio del Cinvestav, Sede Sur, con un peso de 180-200 g. Los animales estuvieron bajo ayuno de 12 horas previas a la evaluación con acceso libre de agua. Los animales se alojaron en una habitación con temperatura ($26^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$) y humedad ($23 \pm 3\%$) controladas y con un ciclo de luz-oscuridad de 12:12.

Este proyecto se desarrolló empleando las recomendaciones del Comité de Investigaciones y Ética de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor, así como la Guía de los Estándares Éticos para las Investigaciones del Dolor en Animales (Zimmerman, 1983) y de acuerdo con los requerimientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) del Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) con No. de protocolo 016-22, Lab.7-FJLM, registrado el 1 de julio del 2017.

8.2 Fármacos y reactivos

Los fármacos administrados fueron tramadol (Laboratorio RAAM de Sahuayo S.A. de C.V.) y celecoxib (Laboratorio RAAM de Sahuayo S.A. de C.V.). Para la inducción de la nocicepción a los animales de experimentación se les administró ácido úrico (Sigma-Aldrich Chemical Co) con una concentración de 30% suspendido en aceite mineral en el espacio fémoro-tibio-rotular de la extremidad derecha trasera.

El tramadol fue disuelto en solución salina al 0.9%, el celecoxib fue disuelto con solución salina al 0.9% (75%) y tween al 1% (25%). Por su parte, la indometacina (control positivo para generar úlceras gástricas) fue disuelta con carboximetilcelulosa al 0.5% (CMC). La vía de administración de ambos fármacos para la evaluación del efecto antinociceptivo, tanto individual como en combinación, fue vía oral (volumen de 4 ml/kg), a excepción de la evaluación de tolerancia donde se administraron vía subcutánea (volumen de 2 ml/kg).

8.3 Grupos experimentales para la evaluación de los efectos antinociceptivos

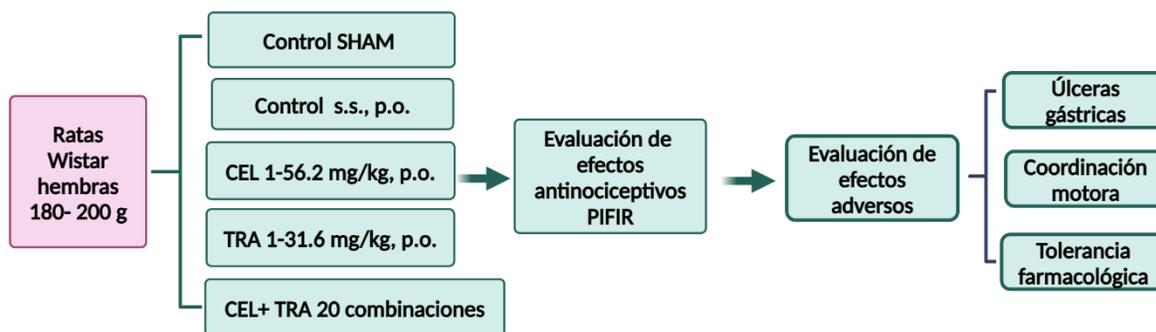


Figura 15. Estrategia experimental empleada en el proyecto.

8.3.1 Tratamientos individuales

Se formaron dos grupos control, el primero denominado “control SHAM” compuesto por 6 animales, a los cuales se les administró intraarticularmente en la rótula de la extremidad derecha trasera, aceite mineral (vehículo). Por otro lado, el segundo grupo control (n=6), se les administró solución salina al 0.9% vía oral.

Se estableció un tercer grupo, donde se evaluó el efecto antinociceptivo de la administración individual de CEL se emplearon dosis de 1, 3.2, 10, 17.8, 31.6 mg/kg y 56.2 mg/kg p.o. (n= 6 por dosis). Se utilizó este rango de dosis basadas en evaluaciones piloto, donde se observó que la dosis más alta empleada es segura y no genera efectos adversos.

Posteriormente, para un cuarto grupo se emplearon las dosis de 1, 3.2, 10, 17.8, 23.7 y 31.6 mg/kg p.o. (n=6 por dosis) para evaluar el efecto antinociceptivo de la administración individual de TRA. Se decidió emplear este rango de dosis porque previamente ha sido determinado en el laboratorio el efecto antinociceptivo de este fármaco, así como, se ha establecido que posterior a la dosis de 31.6 mg/kg los animales comienzan a presentar efectos adversos.

Se determinó emplear para las combinaciones las dosis de 1, 3.2, 10, 17.8 y 31.6 mg/kg p. o. de CEL con las dosis de 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p. o. de TRA, para evaluar un total de 20 combinaciones.

8.3.2 Tratamientos en combinación

Para el grupo cinco, donde se evaluó el efecto antinociceptivo en conjunto de CEL+TRA, se realizaron 20 combinaciones con una n=6 para cada combinación (Tabla 4). Estas combinaciones fueron examinadas con ayuda del análisis de SIS para conocer las combinaciones óptimas de CEL + TRA que generen la más alta eficacia y la más alta potenciación.

Tabla 4. Combinaciones evaluadas de CEL + TRA.

X+Y	Celecoxib (mg/kg, p. o.)				
	1	3.2	10	17.8	31.6
Tramadol (mg/kg, p. o.)					
3.2	1+3.2	3.2+3.2	10+3.2	17.8+3.2	31.6+3.2
10	1+10	3.2+10	10+10	17.8+10	31.6+10
17.8	1+17.8	3.2+17.8	10+17.8	17.8+17.8	31.6+17.8
23.7	1+23.7	3.2+23.7	10+23.7	17.8+23.7	31.6+23.7

8.4 Evaluación del efecto antinociceptivo

8.4.1 Modelo de disfunción inducida por dolor en rata

El modelo experimental de disfunción inducida por dolor en la rata (PIFIR, por sus siglas en inglés) nos ayuda a evaluar de manera objetiva el dolor en un modelo animal, así como reducir las variables que se pueden presentar tales como la manipulación incorrecta de los animales o la subjetividad de los evaluadores (López-Muñoz et al., 1993b).

Primero, los animales fueron anestesiados en una cámara de acrílico con isoflurano. Ahora, para inducir la disfunción por nocicepción, se procedió a administrar intraarticularmente en la rótula de la rodilla de extremidad trasera derecha 50 µL de ácido úrico suspendido en aceite mineral al 30% (vehículo). Los animales fueron dejados en recuperación de la anestesia, para posteriormente colocarles un electrodo en la superficie plantar de cada extremidad trasera, conectado a una computadora. Seguidamente, las ratas fueron puestas en un cilindro giratorio de acero inoxidable de 30 cm de diámetro por 60 cm de longitud, el cual cuenta con seis carriles independientes. Este cilindro está recubierto por una malla de acero inoxidable, que evita que los animales resbalen mientras rota el cilindro. Su velocidad de giro es de 4 RPM. Los registros fueron realizados en periodos de 2 min cada 30 min por 4 horas, donde fue registrado el tiempo de contacto, expresado como porcentaje de índice de funcionalidad (% IF) de ambas extremidades traseras mediante un programa de cómputo diseñado para dicho fin (López-Muñoz et al., 1993b). Se usó la siguiente fórmula para calcular el % IF:

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

8.5 Evaluación de efectos adversos

Como parte fundamental de este proyecto, se decidió evaluar los efectos adversos más comunes de los tratamientos empleados, por lo que se realizó la evaluación de daño gástrico y cambios en la coordinación motora.

8.5.1 Evaluación de daño gástrico

Para hacer esta evaluación, los animales de experimentación fueron puestos en restricción de alimento por 12 h con agua *ad libitum*. Posteriormente, se realizó la primera administración p.o. de los tratamientos conforme a las dosis a evaluar. La siguiente administración se realizó a las 2.5 h después de la primera siguiendo las mismas dosis. A continuación, fueron sacrificados los animales por dislocación cervical. Después, se hizo una incisión horizontal sobre el abdomen de las ratas para la extracción del estómago desde el esófago hasta el duodeno. Una vez extraído el estómago se enjuagaron inmediatamente con solución salina al

0.9% y se adicionó de 1-3 ml de formol al 2% al interior del estómago, posteriormente se colocó por 30 min en un recipiente con 20 ml de formol al 2%. Una vez transcurrido este tiempo, se hizo un corte sagital desde el esfínter pilórico y hasta el esfínter esofágico inferior para vaciar el contenido gástrico enjuagando el interior con solución salina al 0.9%, se expuso el interior del estómago para facilitar la cuantificación de las úlceras gástricas y erosiones presentes como consecuencia de la administración farmacológica. Se estableció el área lesionada multiplicando el número de lesiones por el tamaño de estas en milímetros (mm) (Lee et al., 1971; Déciga-Campos et al., 2003).

Cabe mencionar que el control positivo de este procedimiento fue la indometacina, la cual se administró a una dosis de 20 mg/kg por vía oral. Las úlceras y erosiones que generó este fármaco se tomaron como el 100% para la posterior comparación con nuestros tratamientos de interés. La fórmula empleada fue la siguiente:

$$\% \text{ Lesión gástrica} = \frac{\text{Área de lesiones del tratamiento de interés (mm}^2\text{)}}{\text{Área de lesiones de indometacina (mm}^2\text{)}} \times 100$$

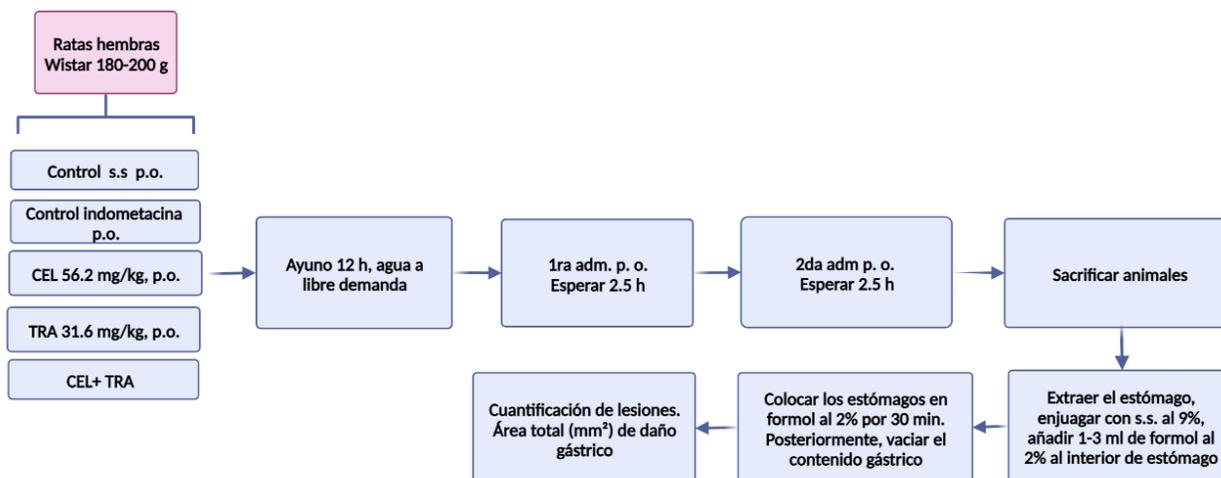


Figura 16. Protocolo empleado para la evaluación de lesiones gástricas (Lee et al., 1971; Déciga-Campos et al., 2003).

8.5.2 Evaluación de la coordinación motora

Este parámetro fue evaluado mediante el equipo llamado Rotarod (Figura 17) (Dunham y Miya, 1957). Al inicio, los animales tuvieron una habituación en el Rotarod, para

posteriormente realizar un entrenamiento, el cual consiste en 2 sesiones de 10 min cada una, con un descanso de 5 min entre cada sesión. Se hizo la primera evaluación al tiempo cero (T_0), después se les administró el tratamiento. Por último, llevó a cabo una segunda evaluación al tiempo 60 (T_{60}) (Figura 18). Se registró el número de caídas que presentó cada animal para obtener el promedio grupal de caídas (López-Rubalcava y Fernández-Guasti, 1994).



Figura 17. Animales de experimentación sobre el equipo Rotarod para la evaluación de cambios en la coordinación motora.

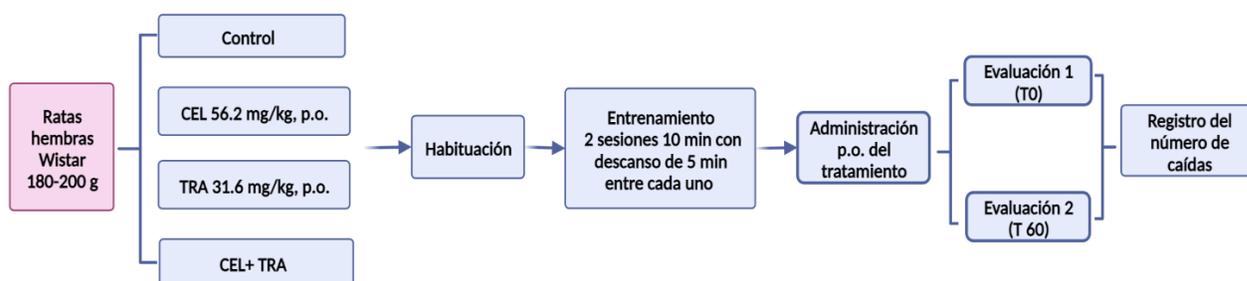


Figura 18. Protocolo para la evaluación de cambios en la coordinación motora (Dunham y Miya, 1957; López-Rubalcava y Fernández-Guasti, 1994).

8.5.3. Evaluación de tolerancia farmacológica mediante un esquema de administraciones repetidas

Como se muestra en la figura 19, se dio la administración subcutánea de las dosis más eficaces de ambos fármacos individualmente (CEL 56.2 mg/kg y TRA 31.6 mg/kg) y en combinación (CEL 17.8 y TRA 23.7 mg/kg) cada 8 horas durante 4 días, resultando en un total de 12 administraciones. El día 5 se evaluó el efecto antinociceptivo de los tratamientos mediante el modelo PIFIR. También, se evaluaron los efectos secundarios (úlceras y coordinación motora) de los tratamientos mencionados anteriormente después del esquema de administraciones repetidas.

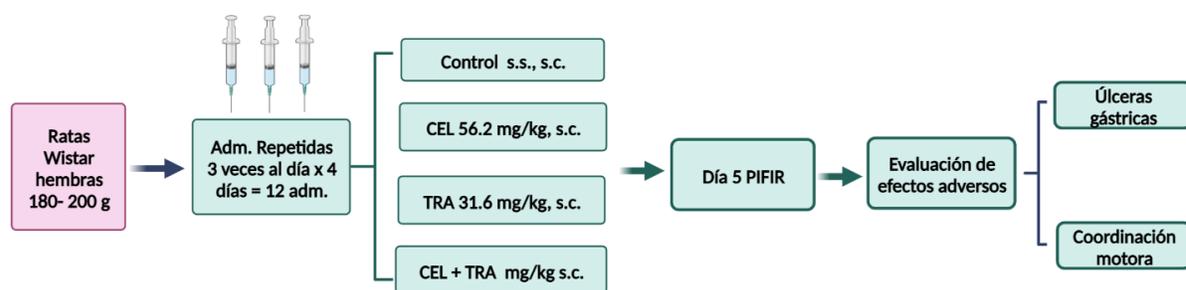


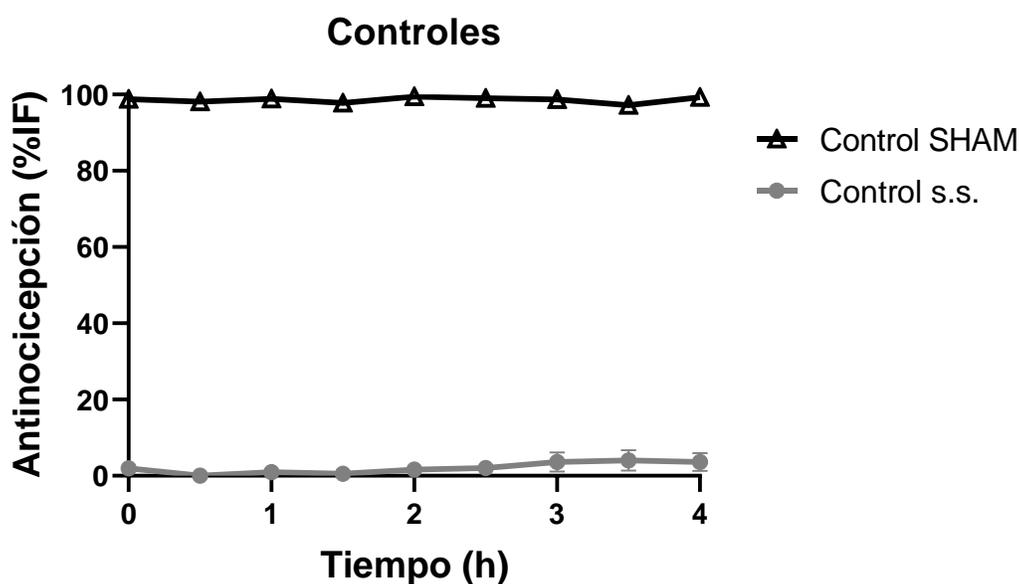
Figura 19. Esquema de administraciones repetidas para la evaluación de tolerancia farmacológica.

9. RESULTADOS

A continuación, los datos experimentales obtenidos serán representados por medio del porcentaje del índice de funcionalidad (%IF) de la extremidad trasera (derecha) administrada con ácido úrico. En los cursos temporales del efecto antinociceptivo se graficó el %IF versus tiempo, siendo 4 horas el periodo total de evaluación que se determina por medio del área bajo la curva (ABC), recordando que los tratamientos tanto individuales como en combinación fueron administrados en los animales después de que su %IF tuvo un valor menor o igual al 10%, aproximadamente entre las 2-2.5 horas posterior a la administración del ácido úrico al 30%. Posteriormente, la curvas dosis-respuesta (CDR) fueron construidas a partir de los cursos temporales (CT) de cada tratamiento individual.

9.1 Grupos controles del modelo experimental PIFIR

Fue evaluado el efecto que los grupos controles pudieran generar. En los experimentos del grupo control SHAM, se administró intraarticularmente aceite mineral, que es el vehículo del ácido úrico, en la extremidad trasera derecha, se observó que no hubo disminución (en porcentaje) de la funcionalidad durante las 4 horas de experimentación. Por su parte, el siguiente grupo control donde se administró solución salina al 0.9% vía oral, se nota la presencia de la disfunción en la extremidad trasera derecha del animal, la cual no mostró mejoría a través de todo el experimento.



Gráfica 1. Curso temporal del % de índice de funcionalidad del grupo SHAM donde fue administrado aceite mineral (vehículo) en el ligamento rotuliano de la extremidad trasera derecha de la rata y grupo control donde se dio solución salina al 0.9%. Los puntos muestran la media \pm error estándar ($n=6$ /grupo).

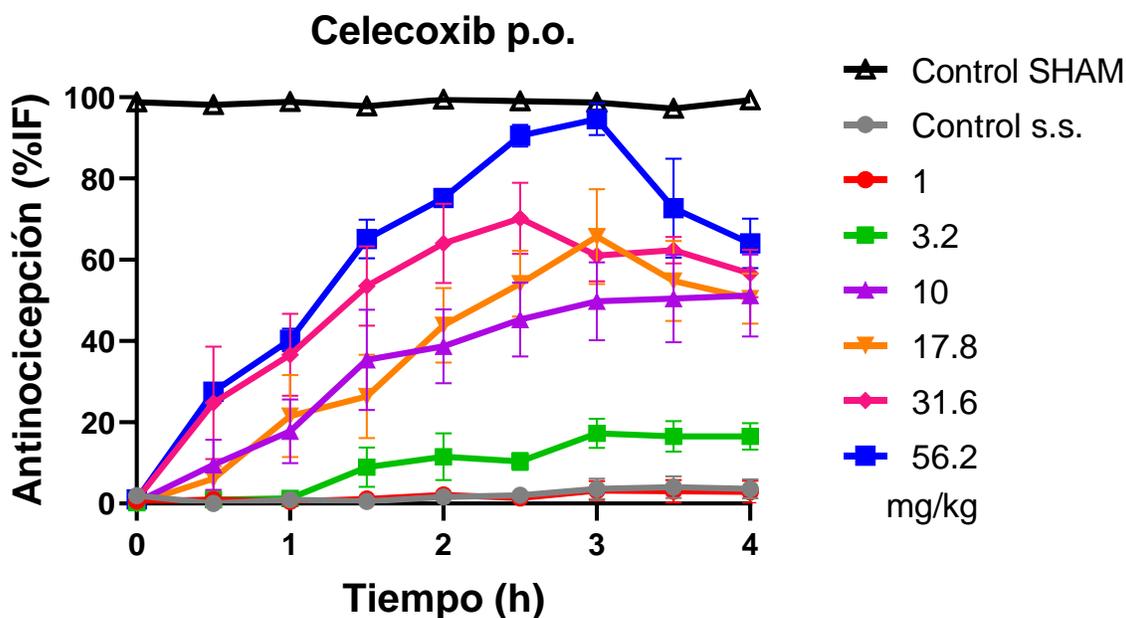
9.2 Efecto antinocectivo de CEL en administración individual p.o. en el modelo de dolor artrítico

9.2.1 Análisis de cursos temporales

Tras la administración oral de CEL se puede observar en la gráfica 2 que las dosis de 10, 17.8, 31.6 y 56.2 mg/kg produjeron un efecto antinocectivo desde los primeros 30 min y este fue creciendo y se mantuvo hasta el final del experimento. Por su parte, en la dosis de

3.2 mg/kg el efecto antinociceptivo se produjo pasada la primera hora después de la administración del tratamiento. En comparación, es notable como la dosis de 1 mg/kg y el grupo control de solución salina al 0.9% dieron un alivio nulo desde el inicio y hasta las 4 h que duró el experimento.

La tabla 5 muestra la latencia al efecto máximo de cada tratamiento, se visualiza que las dosis 1, 3.2, 10, 17.8 y 56.2 mg/kg alcanzaron este parámetro a las 3 h (3.2 ± 2.4 , 17.3 ± 3.6 , 49.8 ± 9.6 , 65.7 ± 11.7 y 94.6 ± 3.9 % respectivamente). De diferente manera, la dosis de 31.6 mg/kg alcanzó la latencia al efecto máximo a las 2.5 h (70.2 ± 8.8 %). Cabe destacar que la dosis de 56.2 mg/kg fue la que generó el efecto global mayor con un ABC total de 258.9 ± 9.5 U²/h. Al realizar el análisis de ANOVA de una vía y posteriormente una prueba de Dunnet, destaca que la dosis de 1 y 3.2 mg/kg en comparación con el control s.s. no muestran significancia estadística. Al contrario, la dosis de 10 mg/kg sí tienen diferencia significativa ($*p < 0.05$). Asimismo, la dosis de 17.8, 31.6 y 56.2 mg/kg ($***p < 0.001$), versus el control de s.s.



Gráfica 2. Cursos temporales del efecto antinociceptivo de las dosis 1, 3.2, 10, 17.8, 31.6 y 56.2 mg/kg con la administración p.o. individual de celecoxib. Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).

Tabla 5. Parámetros de los cursos temporales de la evaluación antinociceptiva de celecoxib p.o. vs control s.s.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Latencia Emáx (h)	Emáx ± E.E. (%)	ABC ± E.E. (U ² /h)
Control	Solución salina 0.9%	-	-	7.8 ± 4.4
	1	3	3.2 ± 2.4	7.1 ± 5.7
Celecoxib	3.2	3	17.3 ± 3.6	37.6 ± 8.2
	10	3	49.8 ± 9.6	136.4 ± 22.6*
	17.8	3	65.7 ± 11.7	148.9 ± 25.6***
	31.6	2.5	70.2 ± 8.8	200.7 ± 22.0***
	56.2	3	94.6 ± 3.9	258.9 ± 9.5***

Prueba de ANOVA de una vía, seguida de una prueba post hoc de Dunnet, * $p < 0.05$ y *** $p < 0.001$ comparado contra el grupo control s.s. 0.9%.

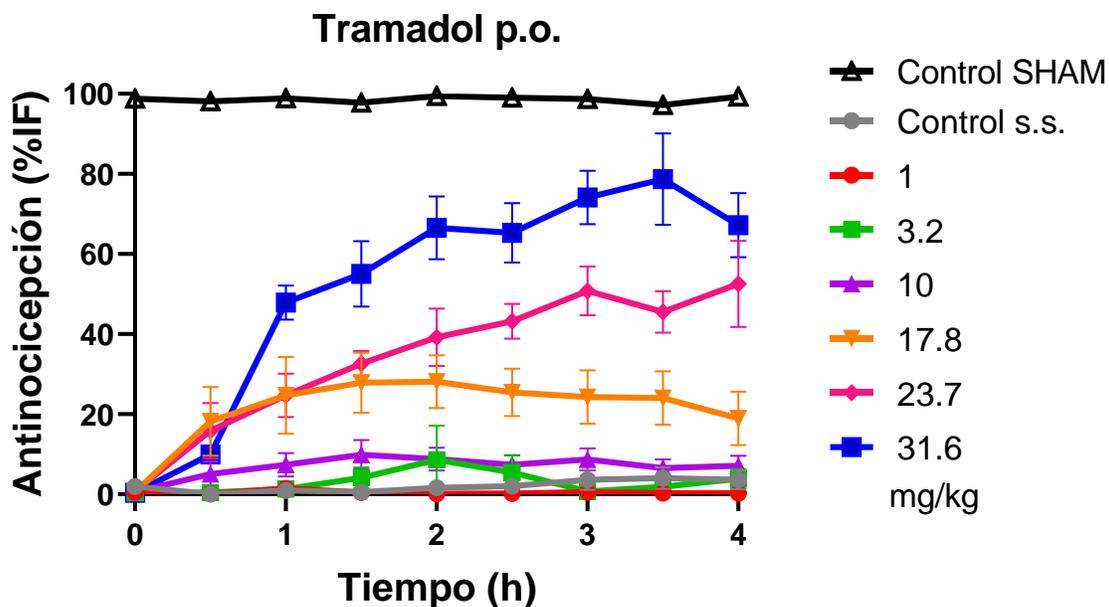
9.3 Efecto antinociceptivo de TRA en administración individual p.o. en el modelo de dolor artrítico

9.3.1 Análisis de cursos temporales

Al analizar el curso temporal de TRA en administración p.o. individual (Gráfica 3) con la prueba estadística de ANOVA de una vía seguida de la prueba de Dunnet (Tabla 6), encontramos que las dosis 1 mg/kg (1.8 ± 1.2 %), la dosis 3.2 mg/kg (12.3 ± 7.9 %) y la dosis de 10 mg/kg (28.7 ± 9.2 %) no presentan efecto antinociceptivo significativo respecto al control s.s. (7.8 ± 4.4 %) durante todo el experimento, o dicho en otras palabras, estas dosis no generan alivio en la disfunción de la extremidad trasera del animal. Por su parte, las dosis de 17.8, 23.7 y 31.6 mg/kg mostraron efecto antinociceptivo moderado a la media hora después de su administración (18.2 ± 8.6 , 15.9 ± 7 y 10 ± 1 %, respectivamente) y este se mantuvo durante la evaluación de 4 h. La dosis de 17.8 mg/kg alcanzó la latencia al efecto máximo a la 1.5 h (28 ± 7.5 %). Mientras que la dosis de 23.7 (50.8 ± 6.1 %) y 31.6 (74.2 ± 6.7 %) mg/kg su latencia al Emáx fue las 3 h.

La dosis de 17.8 mg/kg sí tuvo diferencia significativa versus el control s.s. (* $p < 0.05$), así como las dosis de 23.7 y 31.6 mg/kg (*** $p < 0.001$). La cobertura total de esta última dosis

fue la de mayor efecto con un ABC de $215.7 \pm 19.1 \text{ U}^2/\text{h}$. Dichos datos se recaban en la tabla 6.



Gráfica 3. Cursos temporales del efecto antinociceptivo de las dosis 1, 3.2, 10, 17.8, 23.7 y 31.6 mg/kg con la administración p.o. individual de tramadol. Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).

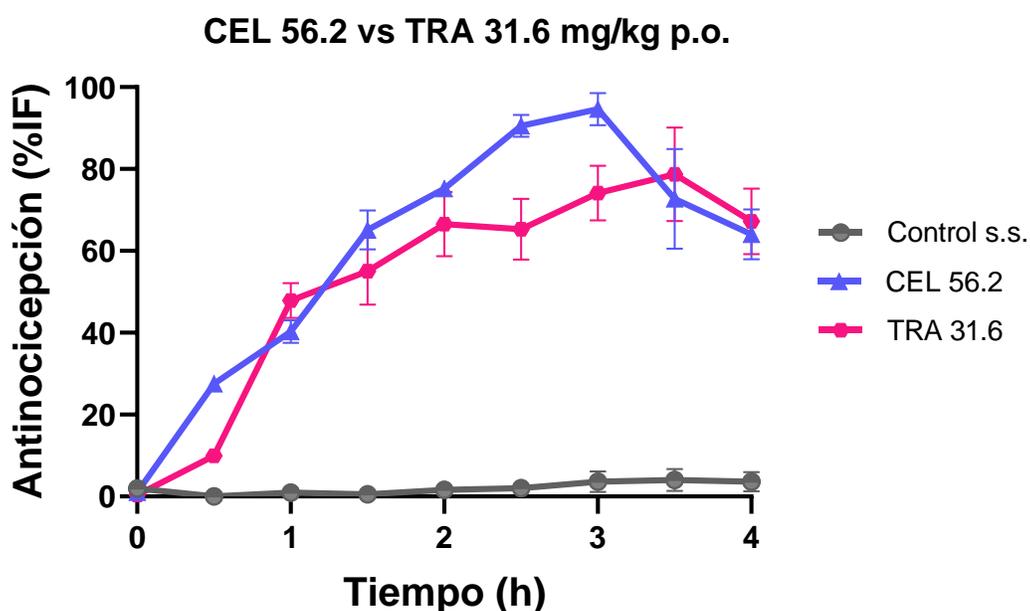
Tabla 6. Parámetros de los cursos temporales de la evaluación antinociceptiva de tramadol p.o. vs control s.s.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Latencia Emáx (h)	Emáx \pm E.E. (%)	ABC \pm E.E. (U^2/h)
Control	Solución salina 0.9%	-	-	7.8 ± 4.4
	1	1	1.4 ± 1.4	1.8 ± 1.2
Tramadol	3.2	2	8.5 ± 8.5	12.3 ± 7.9
	10	1.5	27.9 ± 3.7	28.7 ± 9.2
	17.8	1.5	28 ± 7.5	$91.2 \pm 22.7^*$
	23.7	3	50.8 ± 6.1	$139.2 \pm 10.8^{***}$
	31.6	3	74.2 ± 6.7	$215.7 \pm 19.1^{***}$

Prueba de ANOVA de una vía, seguida de una prueba post hoc de Dunnet, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ y $***p < 0.001$

9.4 Curso temporal del efecto antinociceptivo obtenido con las dosis más eficaces de CEL vs TRA en administración individual p.o.

A manera comparativa, se construyó la gráfica 4, donde se presentan los cursos temporales de las dosis más eficaces de ambos tratamientos individualmente. A simple vista, podemos apreciar como ambos fármacos comienzan a generar efectos antinociceptivos en la primera media hora del experimento. Estos efectos de alivio nociceptivo van creciendo con el tiempo. En consecuencia, la latencia al Em_{ax} de la dosis de 56.2 mg/kg de celecoxib se alcanza a las 3 h ($94.6 \pm 3.9\%$). Siendo igual a la latencia al Em_{ax} de la dosis 31.6 mg/kg de tramadol ($74.2 \pm 6.7\%$).



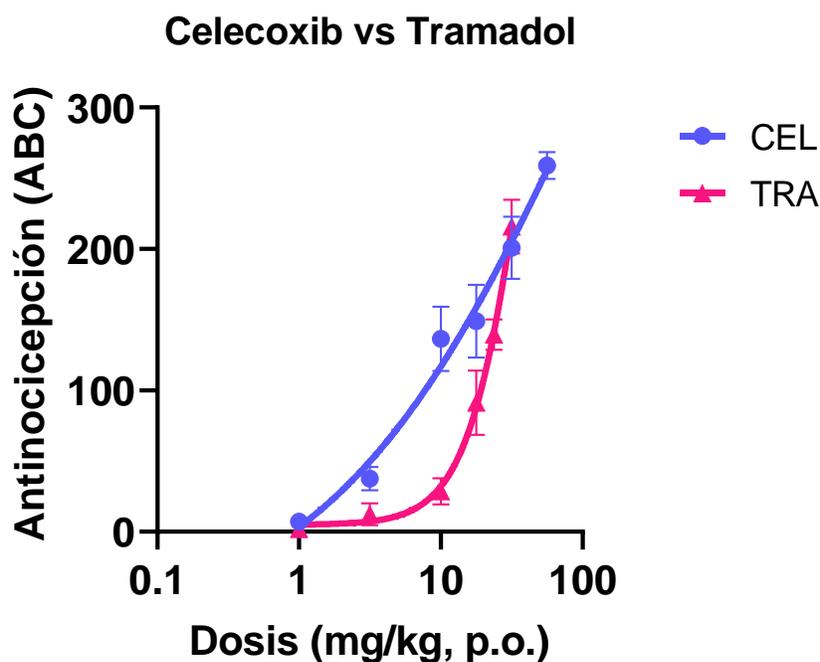
Gráfica 4. Cursos temporales del efecto antinociceptivo de la administración p.o. individual de celecoxib 56.2 mg/kg y tramadol 31.6 mg/kg. Cada punto representa la media \pm error estándar ($n=6$ /grupo).

9.5 Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo dado por CEL vs TRA en administración individual p.o.

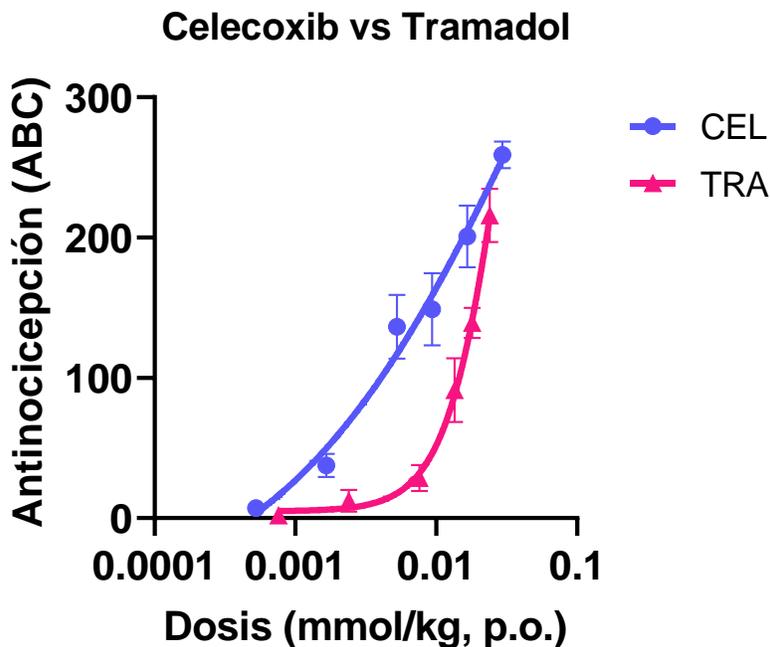
Con base en los cursos temporales del efecto antinociceptivo de los tratamientos individuales evaluados de CEL y TRA se obtuvieron las ABC, las cuales muestran el efecto

antinociceptivo global de cada dosis de ambos fármacos. A partir de esos datos se construyeron las CDR. Como se observa en la gráfica 5, el celecoxib y el tramadol, que se administraron vía oral tienen un efecto dosis dependiente, es decir, conforme se incrementa la dosis, el efecto crece.

En cuanto a la eficacia, se obtuvo con las mayores dosis evaluadas: celecoxib 56.2 mg/kg con cobertura total de ABC de 258.9 ± 9.5 U²/h y la de tramadol 31.6 mg/kg de 215.7 ± 19.1 U²/h. Se les realizó la prueba de t de Student para comprobar cuál tenía eficacia mayor. El resultado arrojó que no hay diferencia significativa, por ende, podemos decir que tales tratamientos a dichas dosis son equi-eficaces. Sin embargo, para el análisis de potencia (Gráfica 6), se realizó una corrección en el eje de las X, ya que dichos fármacos tienen diferentes pesos moleculares (PM CEL = 381.4 g/mol y PM TRA = 263.4 g/mol). Siendo más preciso representar sus dosis en mmol/kg. Al hacer el análisis de regresión lineal para comparar la potencia con las DE₅₀, resultó que la dosis de celecoxib es 0.00689 mmol/kg, comparándola con la dosis de tramadol que fue 0.01120 mmol/kg. Por lo tanto, en dicho punto de comparación el celecoxib es 2 veces más potente que tramadol, en estas condiciones específicas.



Gráfica 5. Curva dosis-respuesta de celecoxib vs tramadol. Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).



Gráfica 6. Curva dosis-respuesta de celecoxib vs tramadol (mmol/kg). Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).

Tabla 7. Parámetros comparativos de celecoxib 56.2 vs tramadol 31.6 mg/kg p.o.

Fármaco	Eficacia (ABC \pm E. E. U ² /h)	DE ₅₀ (mmol/kg)
Celecoxib	258.9 \pm 9.5	0.00689
Tramadol	215.7 \pm 19.1	0.01120

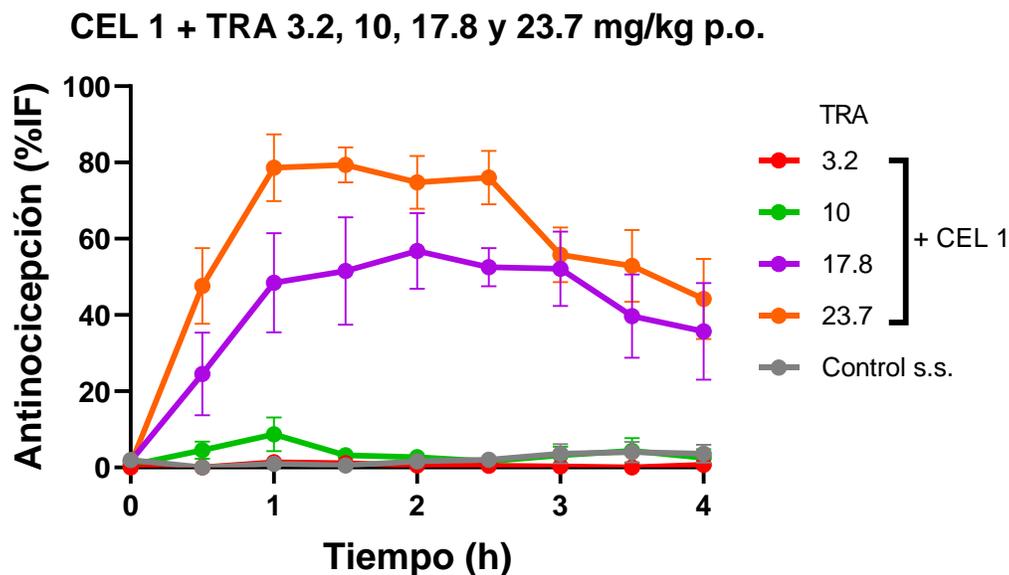
Una vez determinados los efectos antinociceptivos de las distintas dosis de los fármacos CEL y TRA de forma individual (p.o.), se prosiguió a evaluar los efectos analgésicos de las 20 combinaciones CEL + TRA, mediante el modelo PIFIR. A continuación, se muestran los cursos temporales de estas.

9.6 Cursos temporales de las combinaciones celecoxib (CEL) + tramadol (TRA)

9.6.1 Cursos temporales de CEL 1 mg/kg + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.

En la gráfica 7 se muestran las combinaciones de CEL 1 mg/kg con cuatro dosis de TRA (p.o.). La combinación de CEL 1 + TRA 3.2 mg/kg generó un efecto antinociceptivo similar al control s.s. (7.8 ± 4.4 U²/h), con un ABC global de 5.8 ± 4.0 U²/h, es decir, prácticamente nulo. Por su parte, CEL 1 + TRA 10 mg/kg tuvo una latencia al Emáx (8.7 ± 4.4 %) en la primera hora del experimento. Posterior a esta primera hora, el efecto analgésico decayó. Las combinaciones mencionadas anteriormente, no presentaron diferencias estadísticamente significativas cuando se les comparó contra el control s.s.

En contraste, las ratas a las que se les administró la combinación CEL 1 + TRA 17.8 mg/kg, mostraron un alivio que fue creciendo desde los 30 min del experimento y se conservó las 4 h con un efecto de ABC total de 168.2 ± 15.0 U²/h. Por último, CEL 1 + TRA 23.7 mg/kg fue la combinación de mayor efecto antinociceptivo con 243.8 ± 12.4 U²/h de ABC. Dichas combinaciones tienen diferencia significativa versus el grupo control s.s. ($***p < 0.001$) (Tabla 8).



Gráfica 7. Cursos temporales del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de las combinaciones celecoxib 1 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg y el control de s.s. Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).

Tabla 8. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de las combinaciones celecoxib 1 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.

Combinaciones		Latencia Emáx (h)	Emáx ± E. E. (%)	ABC ± E. E. (U ² /h)
Celecoxib	Tramadol			
1	3.2	1	1.4 ± 1.3	5.8 ± 4.0
	10	1	8.7 ± 4.4	12.9 ± 5.4
	17.8	2	56.8 ± 9.9	168.2 ± 15.0***
	23.7	1	78.6 ± 8.8	243.8 ± 12.4***

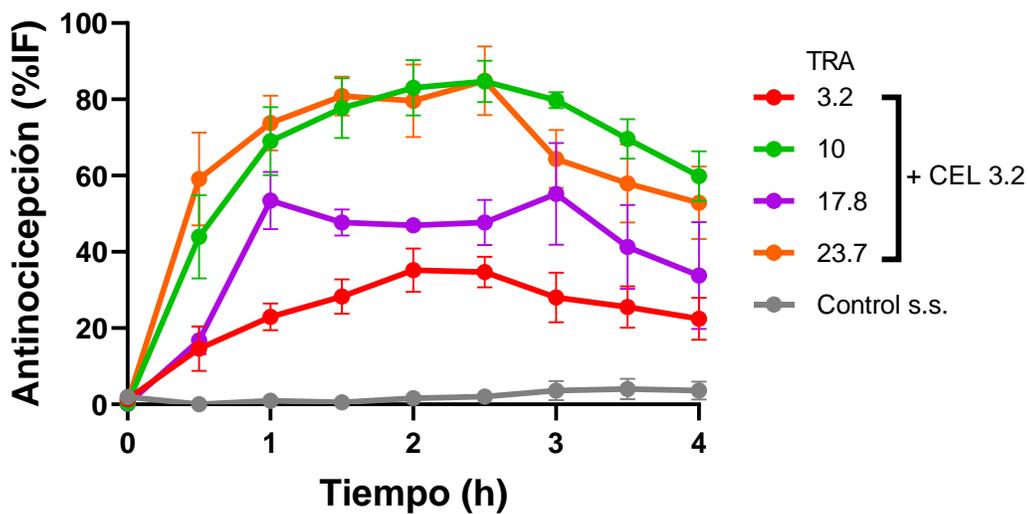
Prueba de ANOVA de una vía, seguida de una prueba post hoc de Dunnet, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$

9.6.2 Cursos temporales de CEL 3.2 mg/kg + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.

En el gráfico 8, se encuentran las combinaciones de CEL 3.2 mg/kg con las dosis correspondientes de TRA administradas vía oral.

La administración conjunta de CEL 3.2 + TRA 3.2 mg/kg resultó en una latencia al Emáx a las 2 h (35.2 ± 5.7 %). Asimismo, para las combinaciones de CEL 3.2 + TRA 10 (83.0 ± 7.3 %) y CEL 3.2 + TRA 23.7 (79.6 ± 9.5 %) mg/kg. Solo la combinación de CEL 3.2 + TRA 17.8 mg/kg generó su latencia al efecto máximo (53.5 ± 7.5 %) en la primera hora. En cuanto al análisis de los efectos globales antinociceptivos de las combinaciones de CEL 3.2 + todas las dosis de TRA, destaca que CEL 3.2 + TRA 3.2 mg/kg no tiene diferencia significativa contra el control s.s. Sin embargo, las demás combinaciones (CEL 3.2 + TRA 10, 17.8 y 23.7 mg/kg) presentan diferencia estadística con una significancia de *** $p < 0.001$ (Tabla 9).

CEL 3.2 + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.



Gráfica 8. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de las combinaciones celecoxib 3.2 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg y el control de s.s. Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).

Tabla 9. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de las combinaciones celecoxib 3.2 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.

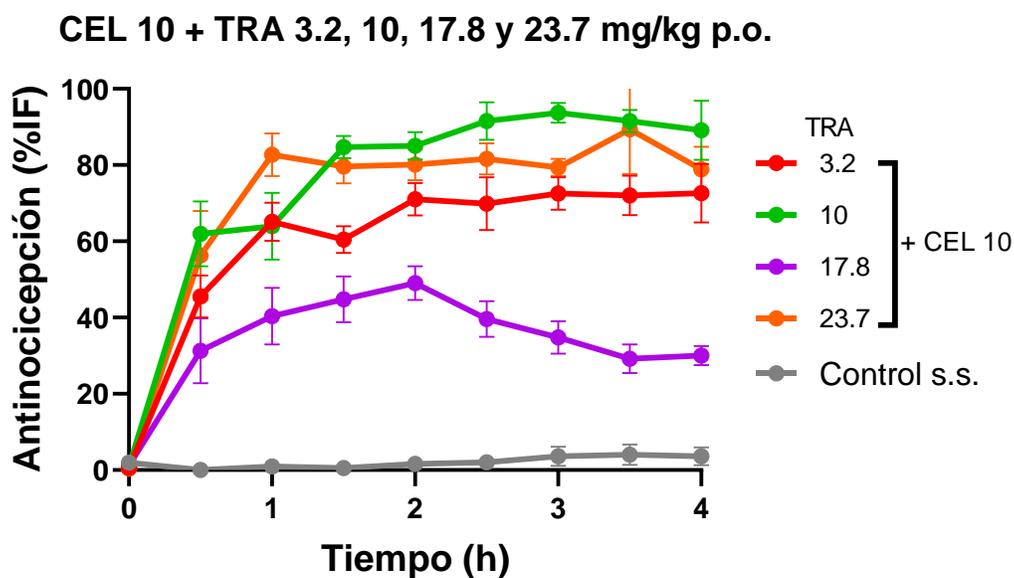
Combinaciones		Latencia Emáx (h)	Emáx \pm E. E. (%)	ABC \pm E. E. (U ² /h)
Dosis (mg/kg)				
Celecoxib	Tramadol			
3.2	3.2	2	35.2 \pm 5.7	109.7 \pm 13.8
	10	2	83.0 \pm 7.3	275.4 \pm 14.8***
	17.8	1	53.5 \pm 7.5	186.6 \pm 27.8
	23.7	2	79.6 \pm 9.5	263.7 \pm 24.5***

Prueba de ANOVA de una vía, seguida de una prueba post hoc de Dunnet, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$.

9.6.3 Cursos temporales de CEL 10 mg/kg + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.

Posteriormente, se evaluaron las combinaciones de CEL 10 mg/kg + cuatro dosis de TRA (3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg). Los parámetros por resaltar de la gráfica 9, se presentan en la Tabla X. Observamos que la latencia al efecto máximo de las combinaciones CEL 10 + TRA 3.2 mg/kg y CEL 10 + TRA 17.8 mg/kg fue a las 2 h, con un porcentaje de índice de funcionalidad de $71.0 \pm 4.3 \%$ y $49.0 \pm 4.1 \%$, respectivamente. Por su parte, la combinación CEL 10 + TRA 10 mg/kg presentó un %IF de $91.5 \pm 4.7 \%$ a las 2.5 h, siendo este la latencia al efecto máximo. Por último, la combinación CEL 10 + TRA 23.7 mg/kg consiguió este parámetro en la primera hora de la evaluación ($82.7 \pm 5.6 \%$). A todo este conjunto de combinaciones se les realizó una prueba de ANOVA de 1 vía, y posteriormente una prueba Dunnet, considerando significancias de $***p < 0.001$, $**p < 0.01$ y $*p < 0.05$.

Los resultados mostraron que CEL 10 + TRA 3.2, 10 y 23.7 mg/kg resultan tener diferencia estadística significativa ($***p < 0.001$). De manera similar, CEL 10 + TRA 17.8 mg/kg con una diferencia estadística de $**p < 0.01$. Todo lo anterior se comparó con el grupo control s.s.



Gráfica 9. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de las combinaciones celecoxib 10 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg y el control de s.s. Cada punto representa la media \pm error estándar ($n=6$ /grupo).

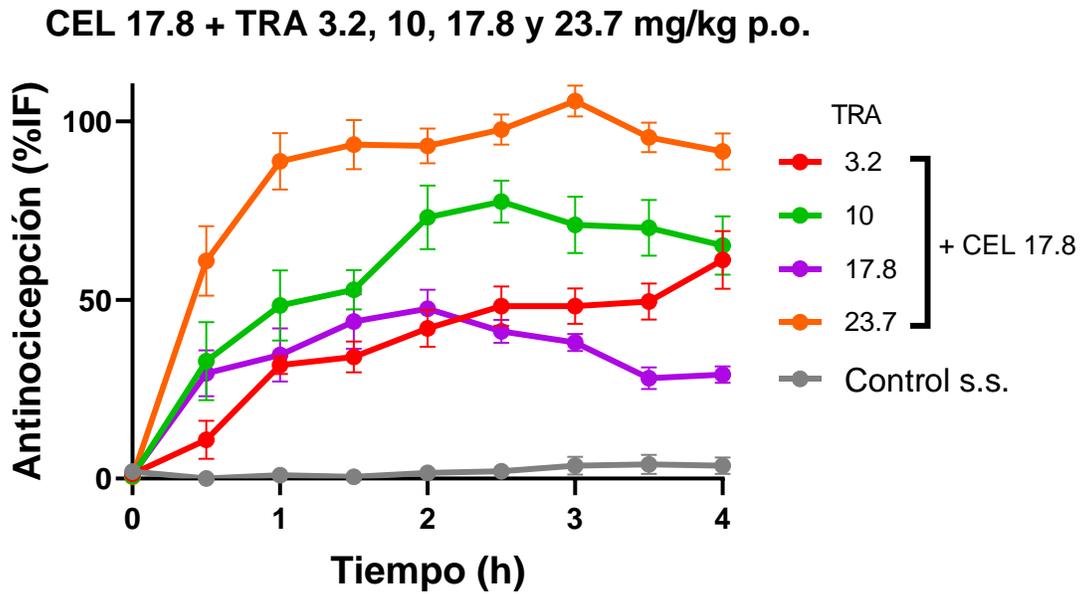
Tabla 10. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de las combinaciones celecoxib 10 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.

Combinaciones		Latencia Emáx (h)	Emáx ± E. E. (%)	ABC ± E. E. (U ² /h)
Dosis (mg/kg)				
Celecoxib	Tramadol			
10	3.2	2	71.0 ± 4.3	245.0 ± 10.5***
	10	2.5	91.5 ± 4.7	299.4 ± 13.7***
	17.8	2	49.0 ± 4.1	143.2 ± 12.3**
	23.7	1	82.7 ± 5.6	294.4 ± 8.4***

Prueba de ANOVA de una vía, seguida de una prueba post hoc de Dunnet, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$

9.6.4 Cursos temporales de CEL 17.8 mg/kg + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.

Al evaluar celecoxib 17.8 mg/kg con las dosis de tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg, se obtuvieron los cursos temporales de la gráfica 10. El Emáx de la combinación CEL 17.8 + TRA 3.2 mg/kg resultó de $48.3 \pm 5.0\%$, el cual se generó a las 2.5 h de la evaluación. No obstante, las combinaciones de CEL 17.8 + TRA 10 mg/kg y CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg generaron su latencia al Emáx 30 min antes que la combinación antes mencionada, es decir, a las 2 h con un Emáx de $73.1 \pm 8.9\%$ y $47.6 \pm 5.3\%$, respectivamente. Por último, CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg alcanzó este parámetro a la 1.5 h ($93.5 \pm 6.9\%$). En la tabla X, resalta que todas las combinaciones evaluadas tienen diferencia significativa vs el grupo control s.s.



Gráfica 10. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de las combinaciones celecoxib 17.8 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg y el control de s.s. Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).

Tabla 11. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de las combinaciones celecoxib 17.8 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.

Combinaciones		Latencia Em _{áx} (h)	Em _{áx} \pm E. E. (%)	ABC \pm E. E. (U ² /h)
Celecoxib	Tramadol			
17.8	3.2	2.5	48.3 \pm 5.0	158.0 \pm 13.3**
	10	2	73.1 \pm 8.9	233.7 \pm 13.0***
	17.8	2	47.6 \pm 5.3	162.5 \pm 26.0*
	23.7	1.5	93.5 \pm 6.9	340.5 \pm 6.1*

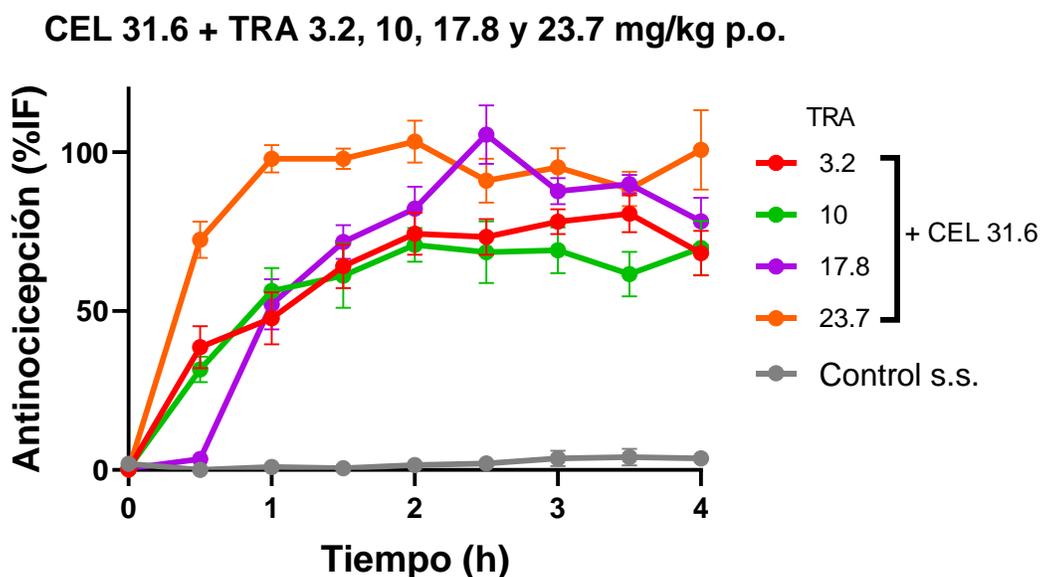
Prueba de ANOVA de una vía, seguida de una prueba post hoc de Dunnet, * $p < 0.05$,

** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$

9.6.5 Cursos temporales de CEL 31.6 mg/kg + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.

Finalmente, se evaluaron los efectos antinociceptivos de la última gama de combinaciones que corresponden a CEL 31.6 + TRA 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg (Gráfica 11). En los cursos temporales podemos visualizar que la latencia al Emáx de las combinaciones CEL 31.6 + TRA 3.2, 10 y 23.7 mg/kg se dio a las 2 horas, no así para la combinación CEL 31.6 + TRA 17.8 mg/kg que fue media hora después (2.5 h). Con respecto al ABC de sus efectos globales, todas las combinaciones generaron buenos efectos antinociceptivos que se mantuvieron durante toda la evaluación como se muestra en la tabla X. La combinación de CEL 31.6 + TRA 3.2 mg/kg tuvo un alivio nociceptivo de 237.3 ± 15.6 U²/h. Para CEL 31.6 + TRA 10 mg/kg fue de 221.3 ± 20.7 U²/h, para CEL 31.6 + TRA 17.8 de 270.75 ± 5.8 U²/h y en última instancia, la combinación de CEL 31.6 + TRA 23.7 mg/kg generó un efecto antinociceptivo global de 348.4 ± 12.1 U²/h.

Se les analizó estadísticamente con ANOVA de 1 vía y la prueba Dunnet, considerando significancias de $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ y $***p < 0.001$. Todas las combinaciones fueron estadísticamente diferentes frente al control s.s. ($***p < 0.001$).



Gráfica 11. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de las combinaciones celecoxib 31.6 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8, y 23.7 mg/kg y el control de s.s. Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).

Tabla 12. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de las combinaciones celecoxib 31.6 mg/kg + tramadol 3.2, 10, 17.8 y 23.7 mg/kg p.o.

Combinaciones		Latencia Emáx (h)	Emáx ± E. E. (%)	ABC ± E.E. (U ² /h)
Celecoxib	Tramadol			
31.6	3.2	2	74.3 ± 6.6	237.3 ± 15.6***
	10	2	70.9 ± 5.3	221.3 ± 20.7***
	17.8	2.5	106.6 ± 9.2	270.75 ± 5.8***
	23.7	2	103.3 ± 6.6	348.4 ± 12.1***

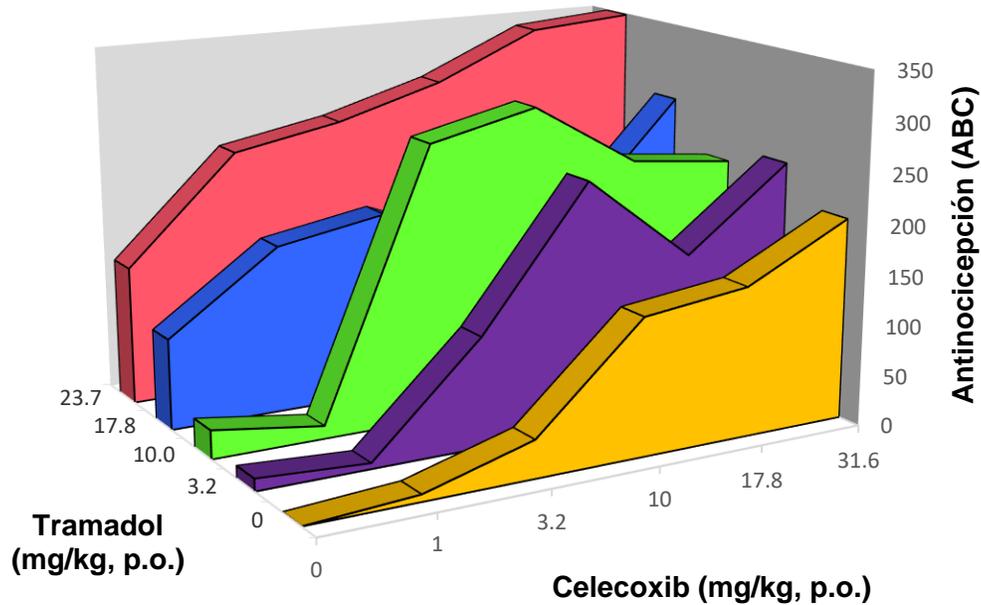
Prueba de ANOVA de una vía, seguida de una prueba post hoc de Dunnet, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$

Ahora bien, después de obtener los cursos temporales de todo el abanico de las 20 combinaciones, se continuó con el análisis para detectar qué tipo de sinergismo (efectos aditivos, efectos supra-aditivos o efectos infra-aditivos) presentan dichas combinaciones.

9.7 Análisis de la superficie de interacción sinérgica del efecto antinociceptivo de CEL + TRA

Para dilucidar los tipos de interacciones que resultan de combinar celecoxib con tramadol en diferentes proporciones se usó el análisis de SIS, en el cual se construyó el gráfico 12 de forma tridimensional. En dicha gráfica, se muestran los tratamientos que se seleccionaron para dar un total de 20 combinaciones. En el eje X, se colocan las dosis de tramadol: 3.2, 10, 17.8 y 23.6 mg/kg p.o., las cuales se combinaron con las dosis de celecoxib: 1, 3.2, 10, 17.8 y 31.6 mg/kg p.o., que se encuentran en el eje Z. Por último, el eje Y corresponde al efecto antinociceptivo representado por unidades de ABC.

Efecto antinociceptivo de celecoxib y tramadol individual y en combinación



Gráfica 12. Gráfica tridimensional del efecto antinociceptivo global obtenido de las combinaciones celecoxib (eje Z) y tramadol (eje X). El porcentaje del efecto antinociceptivo global es representado como ABC de sus correspondientes cursos temporales. Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).

Los efectos globales de CEL y TRA que se obtuvieron experimentalmente están en los extremos de sus respectivos ejes. Por su parte, en la parte central de la gráfica 12 se observan los efectos antinociceptivos globales de las diversas combinaciones.

Posteriormente, se construyó una segunda gráfica tridimensional para interpretar los tipos de interacciones que resultaron de coadministrar los tratamientos (Gráfica 13). En el mencionado gráfico se realiza la siguiente resta:

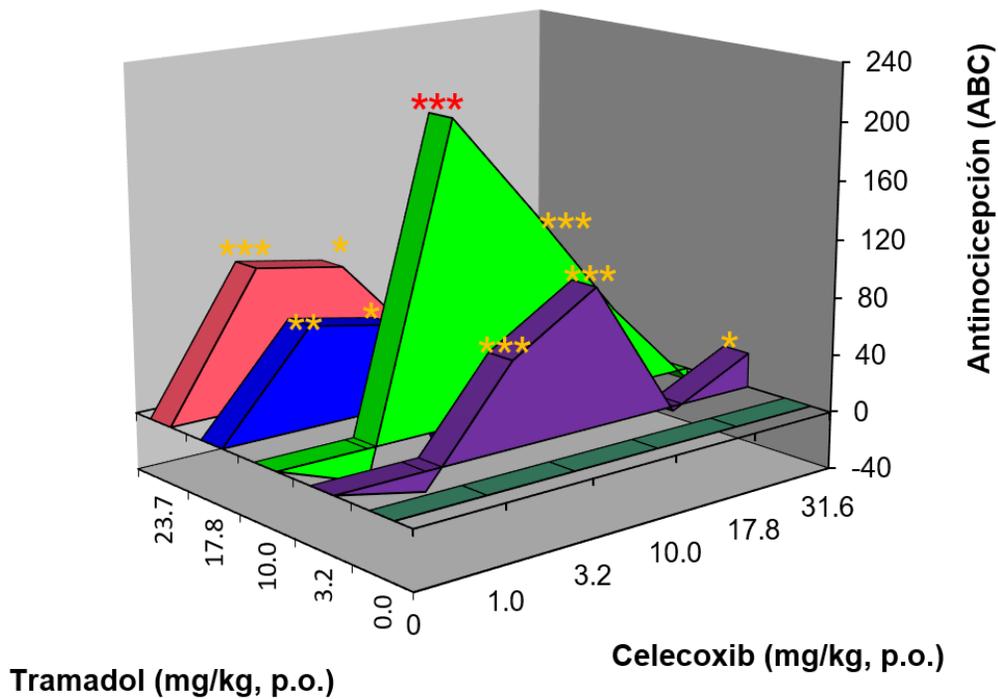
$$SIS = ABC_{\text{experimental}} - ABC_{\text{teórico}}$$

Es importante puntualizar que el ABC teórico es la suma del ABC individual de CEL + ABC individual de TRA.

Recordemos que de esta operación pueden resultar tres tipos de interacciones:

- a) Interacción de tipo aditiva o suma, si los valores se encuentran en cero
- b) Interacción de tipo supra-aditiva, si los valores se encuentran por arriba de cero
- c) Interacción de tipo infra-aditiva, si los valores son menores a cero

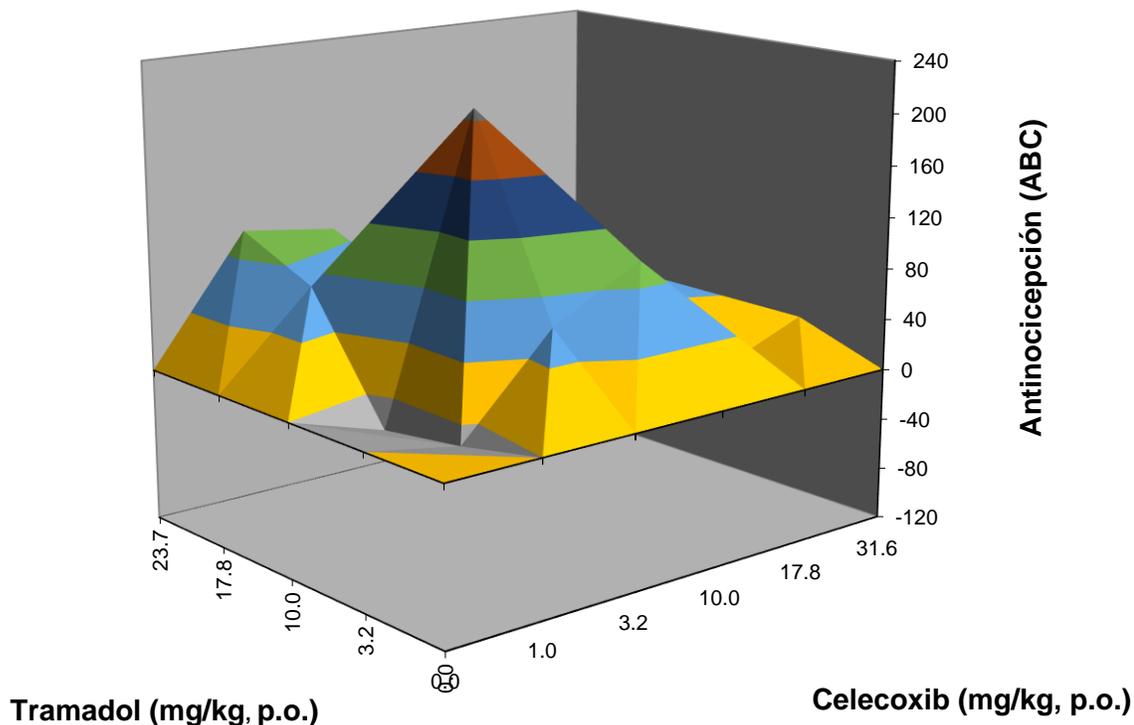
Tipo de sinergismos entre celecoxib + tramadol



Gráfica 13. Tipos de sinergismo que resultan de la diferencia de la resta del efecto antinociceptivo global obtenido experimentalmente menos el efecto teórico esperado.

Finalmente, en la gráfica 14 se muestra la SIS que se produce al unir los puntos de la gráfica 13.

Superficie de interacción sinérgica de celecoxib y tramadol



Gráfica 14. Superficie de interacción sinérgica del efecto antinociceptivo generado de las 20 combinaciones entre celecoxib + tramadol administrados vía oral.

Para una mejor visualización de estos resultados, se construyó la tabla 13, donde para fines ilustrativos se nombra a CEL como fármaco A y a TRA como fármaco B. En la primera y segunda columna, se encuentran las dosis que fueron evaluadas de cada tratamiento. En seguida, se enlistan los efectos de alivio nociceptivo expresados en ABC esperados de la terapia conjunta. Asimismo, en la cuarta columna se presentan los datos experimentales (en unidades de ABC) de las combinaciones. Como se mencionó anteriormente, la columna de SIS resulta de la resta del ABC experimental de la combinación - ABC esperado como suma teórica. Donde posteriormente, se hace la prueba estadística de t de Student, para conocer el tipo de sinergismo resultante. Como se observa en la tabla 13, 7 combinaciones presentaron interacciones aditivas (resaltadas con color morado), 10 combinaciones supra-aditivos (resaltadas en color verde) y 3 tienen sinergismo infra-aditivo (resaltadas con color naranja).

Tabla 13. Unidades de ABC del efecto antinociceptivo de la terapia en conjunto CEL + TRA y tipo de sinergismo.

Fármaco A	Fármaco B	ABC (A+B)	ABC (A+B)	ABC	Tipo de sinergismo
Celecoxib (mg/kg, p.o.)	Tramadol (mg/kg, p.o.)	Esperado	Experimental	SIS	
1	3.2	19.4	5.83	-13.6	Aditivo
1	10	35.8	12.9	-22.9	Infra-aditivo*
1	17.8	98.3	168.2	69.9	Supra-aditivo**
1	23.7	146.3	243.8	97.5	Supra-aditivo***
3.2	3.2	49.9	109.5	59.5	Supra-aditivo***
3.2	10	66.4	275.4	209.0	Supra-aditivo***
3.2	17.8	128.9	186.6	57.7	Supra-aditivo*
3.2	23.7	176.9	263.7	86.8	Supra-aditivo*
10	3.2	148.7	245.0	96.2	Supra-aditivo***
10	10	165.1	299.4	134.3	Supra-aditivo***
10	17.8	227.6	143.2	-84.4	Infra-aditivo*
10	23.7	275.7	294.4	18.77	Aditivo
17.8	3.2	161.2	158.0	-3.2	Aditivo
17.8	10	177.6	233.7	56.1	Supra-aditivo*
17.8	17.8	240.1	162.7	-77.7	Infra-aditivo*
17.8	23.7	288.1	340.5	100.4	Supra-aditivo*
31.6	3.2	213.1	237.3	24.2	Aditivo
31.6	10	229.5	221.3	-8.1	Aditivo
31.6	17.8	291.9	270.7	-21.2	Aditivo
31.6	23.7	340.0	348.4	8.5	Aditivo

Prueba de t de Student, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$

A partir de los resultados que dieron las combinaciones con el análisis de SIS, se seleccionó la combinación que presentó la más alta potenciación siendo esta CEL 3.2 + TRA 10 mg/kg p.o. y la de más alta eficacia CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg p.o. En seguida, se presentan los cursos temporales junto con las gráficas de efectos globales para su comparación.

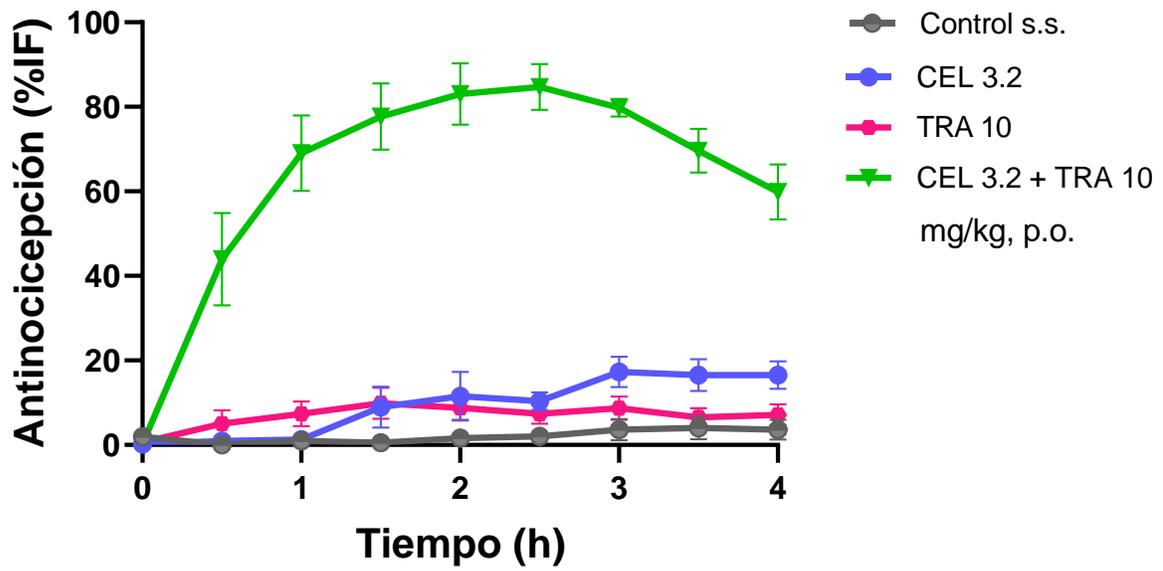
9.7 Análisis y comparación de la combinación CEL + TRA de más alta potenciación vs tratamientos individuales

9.7.1 Cursos temporales y efectos globales de CEL 3.2 + TRA 10 mg/kg vs CEL 3.2 y TRA 10 mg/kg individuales p.o.

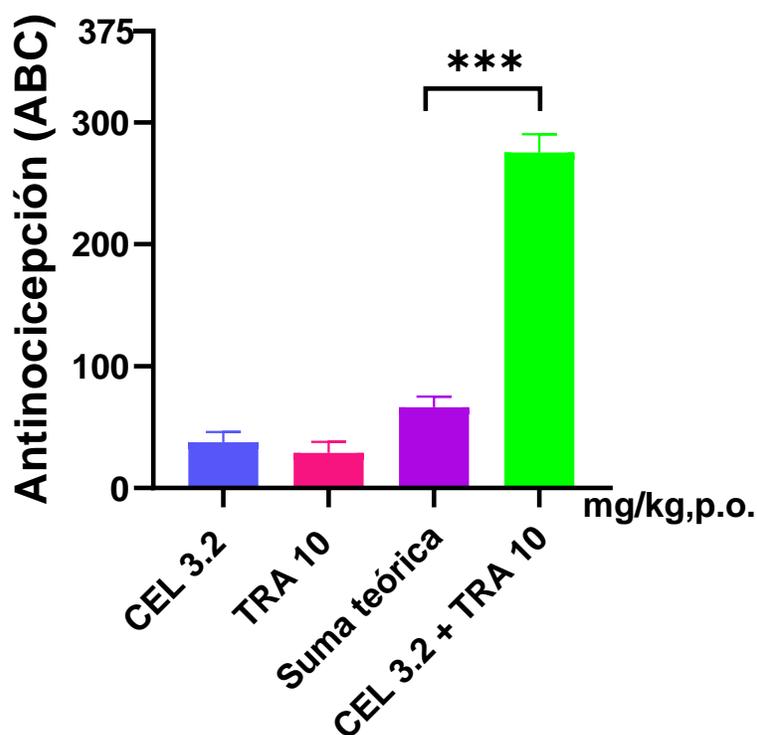
En la gráfica 15 se observan los cursos temporales de los efectos antinociceptivos de la combinación CEL 3.2 + TRA 10 mg/kg. A modo de comparación, también se graficaron las dosis individuales de celecoxib (3.2 mg/kg) y tramadol (10 mg/kg) y el control s.s.

Como se describió anteriormente (Tabla 5), la dosis 3.2 mg/kg de CEL obtuvo una latencia al Emáx a las 3 h (17.3 ± 3.6 %) y un ABC de efecto global de 37.6 ± 8.25 U²/h. A su vez, la dosis 10 mg/kg de TRA su latencia al efecto máximo fue a la 1.5 h (27.9 ± 3.7 %) y se mantuvo similar durante las 4 horas de la evaluación, con un efecto global de 28.7 ± 9.2 U²/h (Tabla 6). Ninguna de las dosis presentó diferencia significativa contra el grupo control. Por su parte, la combinación CEL 3.2 + TRA 10 mg/kg, tiene una latencia al Emáx a las 2 h, con una cobertura total del efecto antinociceptivo de 275.4 ± 14.8 U²/h. A diferencia de los tratamientos individuales, en esta combinación (CEL 3.2 + TRA 10 mg/kg) sí existe diferencia estadística significativa vs el control s.s. ($***p < 0.001$).

Por consiguiente, en la gráfica 16, fueron graficados los efectos globales que se obtuvieron del ABC de los cursos temporales de la gráfica 15. El ABC esperado para esta combinación era de 66.4 U²/h, es decir, la suma teórica que resulta de sumar sus efectos antinociceptivos de los compuestos individuales. Dicho lo anterior, es importante resaltar que el ABC experimental que generó la administración conjunta de CEL 3.2 + TRA 10 mg/kg fue de 275.4 ± 14.8 U²/h. En resumen, dicha combinación produjo una interacción farmacológica de tipo supra-aditiva, ya que se potenció un 314%.



Gráfica 15. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de la combinación celecoxib 3.2 mg/kg + tramadol 10 mg/kg comparado contra los tratamientos individuales y el grupo control de s.s. Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).



Gráfica 16. Efectos antinociceptivos globales (ABC) de las dosis individuales de celecoxib 3.2 mg/kg, tramadol 10 mg/kg y la combinación celecoxib 3.2 mg/kg + tramadol 10 mg/kg. Los datos representan la media \pm error estándar (n=6/grupo). Prueba de t de Student (***) $p < 0.001$ vs suma teórica.

9.8 Análisis y comparación de la combinación CEL + TRA de más alta eficacia vs tratamientos individuales

9.8.1 Cursos temporales y efectos globales de CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg vs CEL 17.8 y TRA 23.7 mg/kg individuales p.o.

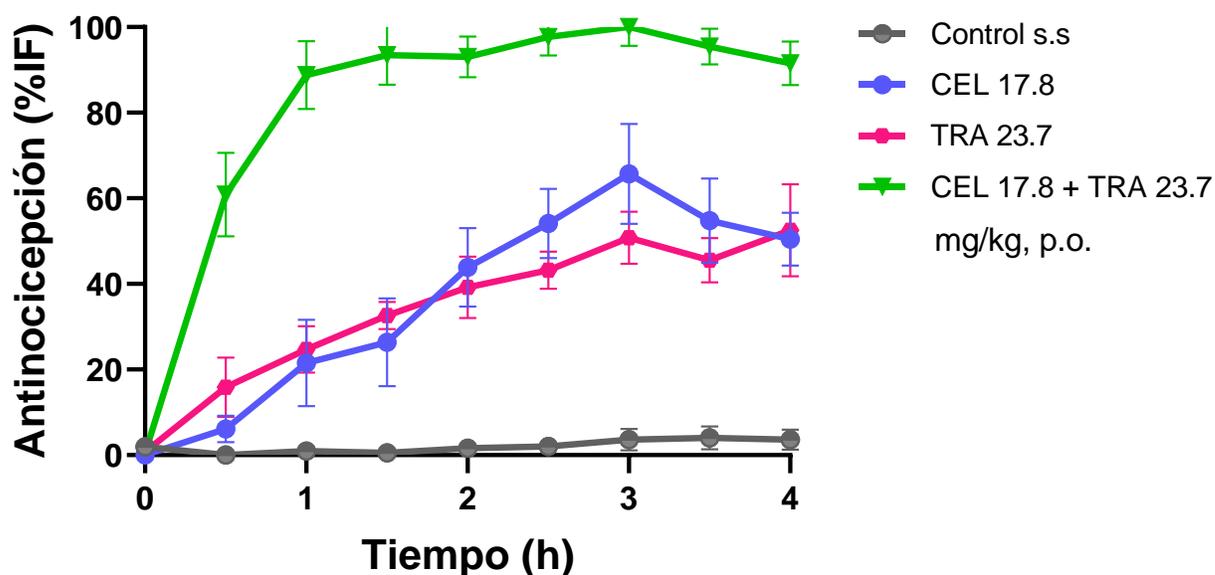
De misma manera, se graficaron los cursos temporales de los efectos antinociceptivos de la combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg, los tratamientos individuales y el grupo control s.s. (Gráfica 17). Para posteriormente, obtener los efectos globales del ABC (Gráfica 18).

La latencia al Emáx de celecoxib 17.8 mg/kg administrado individualmente se dio a las 3 h, al igual que para la dosis de tramadol 23.7 mg/kg ($65.7 \pm 11.7\%$ y $50.8 \pm 6.1\%$, respectivamente). Su cobertura total de ABC fue de $148.9 \pm 25.65 \text{ U}^2\text{h}$ para la dosis 17.8 mg/kg de celecoxib y de $139.2 \pm 10.8 \text{ U}^2\text{h}$ para la dosis de 23.7 mg/kg de tramadol. Destaca

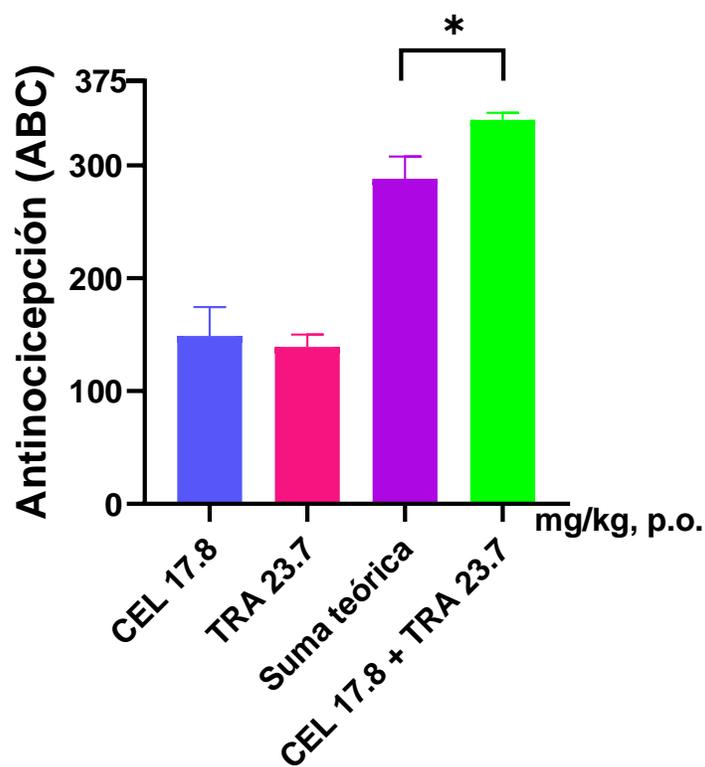
que ambas dosis tuvieron diferencia significativa (** $p < 0.001$) cuando se les comparó contra el control s.s.

Con respecto a la combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg, su latencia al efecto máximo antinociceptivo se generó antes que los tratamientos individuales, a la 1.5 h de la evaluación con un Emáx de $93.5 \pm 6.9\%$. Su ABC esperado era de $288.1 \text{ U}^2/\text{h}$ tomando en cuenta los efectos antinociceptivos de los fármacos individuales. Sin embargo, el ABC experimental que generó esta combinación fue mayor, de $340.5 \pm 6.1 \text{ U}^2/\text{h}$. Se hizo el análisis estadístico correspondiente (t de Student) vs la suma teórica, donde el resultado arrojó ser una interacción farmacológica de potenciación (18%) ($p < 0.05$).

Tomando en cuenta lo anterior, dicha combinación es la de mayor eficacia antinociceptiva. Esto resulta de gran importancia porque quiere decir que al administrar en conjunto estos tratamientos se puede obtener un alivio mayor que lo que generaban de forma individual, en menor tiempo, con menores dosis y posiblemente con menos efectos adversos.



Gráfica 17. Curso temporal del efecto antinociceptivo de la administración p.o. de la combinación celecoxib 17.8 mg/kg + tramadol 23.7 mg/kg comparado contra los tratamientos individuales y el grupo control de s.s. Cada punto representa la media \pm error estándar (n=6/grupo).



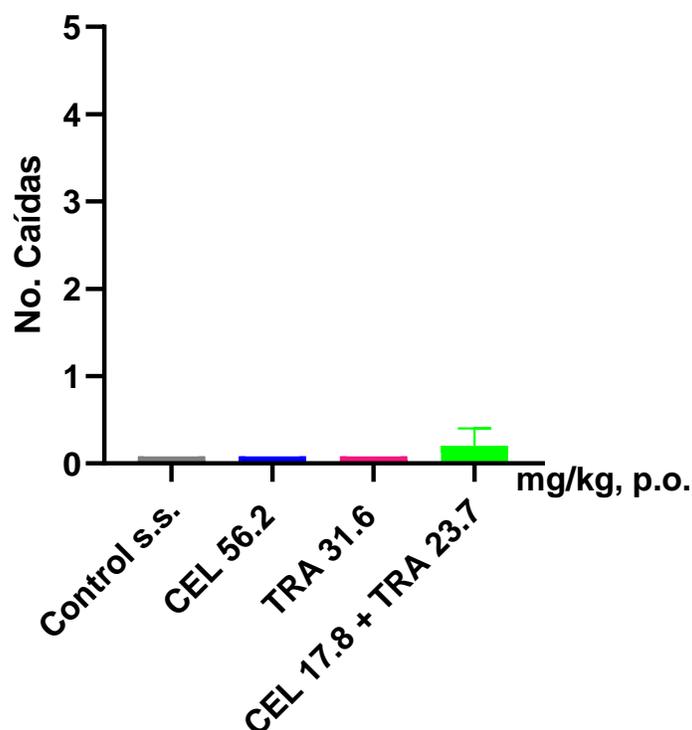
Gráfica 18. Efectos antinociceptivos globales (ABC) de las dosis individuales de celecoxib 17.8 mg/kg, tramadol 23.7 mg/kg y la combinación celecoxib 17.8 mg/kg + tramadol 23.7 mg/kg. Los datos representan la media \pm error estándar (n=6/grupo). Prueba de t de Student ($*p < 0.05$) vs suma teórica.

9.9 Evaluación de efectos adversos de los tratamientos administrados p.o.

9.9.1 Evaluación de la coordinación motora

Los posibles cambios en la coordinación motora se evaluaron mediante la prueba de Rota-Rod. Se midió el registro de caídas de los animales de experimentación tras la administración p.o. individual y en combinación de los tratamientos. Dichos tratamientos evaluados fueron CEL 56.2 mg/kg, TRA 36.1 mg/kg y la combinación de más alta eficacia antinociceptiva CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg. Como se observa en la gráfica 19, la media del número de caídas fue 0 en estas condiciones experimentales. Se realizó la prueba estadística de ANOVA de una vía, seguido de una prueba post hoc de Dunnet, comparando todos los grupos contra el grupo control s.s. Ninguno tuvo diferencia estadística significativa. Posteriormente, se realizó la prueba de t de Student comparando el grupo tramadol 31.6 mg/kg contra la

combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg. Debido a que uno de los efectos adversos más comunes del tramadol son los mareos y la somnolencia. Resultó que no existe diferencia significativa.



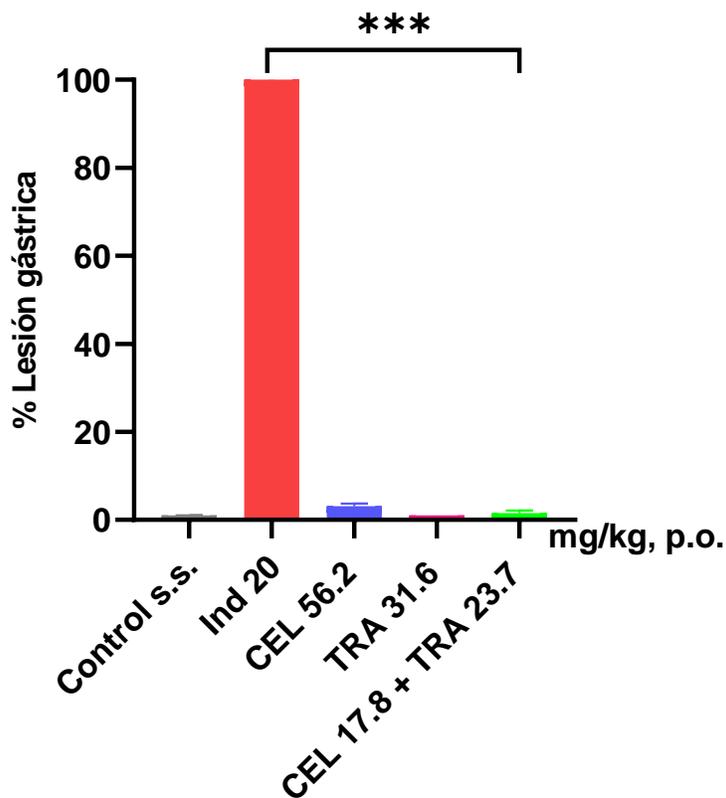
Gráfica 19. Efectos globales del efecto adverso de incoordinación motora mediante la prueba de Rota-Rod. Los datos representan la media \pm error estándar ($n=5$ /grupo). ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Dunnett CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 y CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg vs grupo control s.s. Prueba de t de Student combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg vs TRA 31.6 mg/kg. No hay significancia estadística.

9.9.2 Evaluación de daño gástrico

Se cuantificaron las úlceras y erosiones gástricas de los tratamientos individuales y en combinación dados por vía oral (Gráfica 20). Siendo el grupo control positivo la dosis 20 mg/kg de indometacina, que fue tomado como el que producía el 100% de úlceras y erosiones.

Los tratamientos CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 mg/kg, la combinación de mayor eficacia CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg y el vehículo de s.s. al 0.9% se compararon contra el control positivo

de indometacina 20 mg/kg mediante una prueba de ANOVA de una 1 vía y la prueba post hoc de Dunnet. Todos los grupos resultaron ser significativamente diferentes ($***p<0.001$) vs el grupo de indometacina 20 mg/kg.

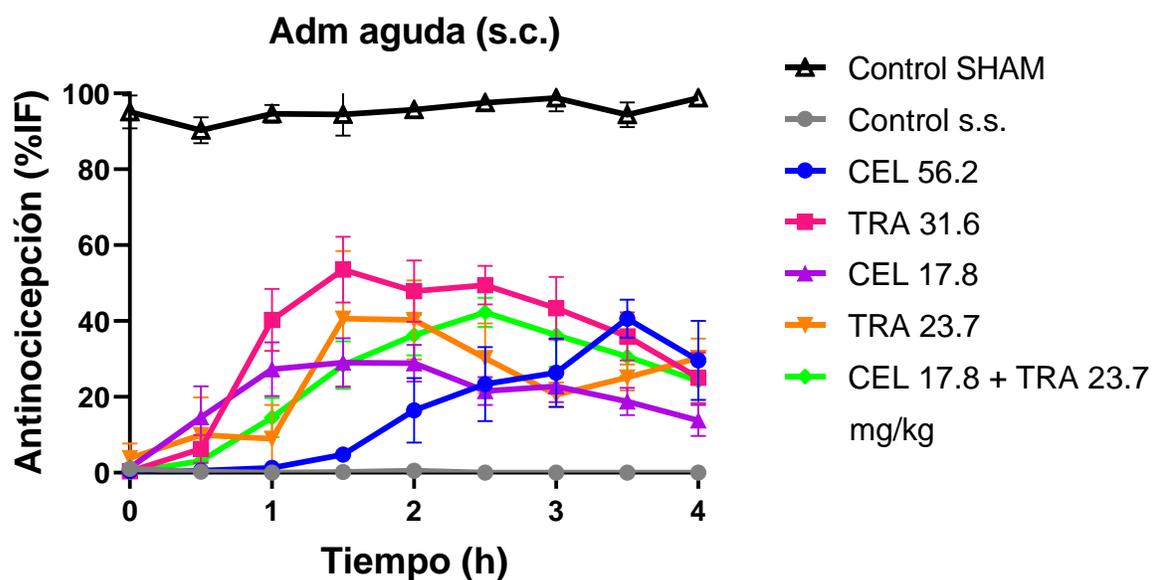


Gráfica 20. Efectos globales del efecto adverso de daño gástrico. Los datos representan la media \pm error estándar ($n=5$ /grupo). Indometacina 20 mg/kg vs CEL 56.2 mg/kg, TRA 36.1 mg/kg y la combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg, ANOVA de una vía seguido de una prueba post hoc de Dunnet, $***p<0.001$.

9.10 Efectos antinociceptivos en administración aguda s.c. en el modelo de dolor artrítico

9.10.1 Efectos antinociceptivos de CEL 56.2 y 17.8 mg/kg, TRA 31.6 y 23.7 mg/kg y la combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg en administración aguda s.c.

Ahora bien, se evaluaron (por administración aguda subcutánea) las dosis más eficaces de los compuestos individuales (CEL 56.2 mg/kg y TRA 31.6 mg/kg), así como la dosis de CEL 17.8 mg/kg, la dosis de 23.7 mg/kg de TRA y la combinación de más alta eficacia CEL 17.8 + TRA 23 mg/kg. Los resultados se muestran en la gráfica 21.



Gráfica 21. Efectos antinociceptivos de CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 mg/kg, CEL 17.8 mg/kg, TRA 23.7 mg/kg, la combinación CEL 17.8 + TRA 23 mg/kg, grupo control s.s. y grupo control SHAM en administración aguda vía subcutánea. Los datos representan la media \pm error estándar (n=6/grupo).

Como se visualiza en la tabla 5, la latencia al efecto máximo de la dosis de celecoxib 56.2 mg/kg se dio a las 3.5 h del experimento ($40.6 \pm 5.0\%$). Por otra parte, la dosis 17.8 mg/kg de este mismo fármaco generó este parámetro a la primera hora de la evaluación ($27.3 \pm 7.1\%$). A diferencia de ambas dosis de tramadol (31.6 y 23.7 mg/kg) que produjeron la latencia al Emáx en 1.5 h ($53.6 \pm 8.7\%$ y $40.6 \pm 17.9\%$, según corresponda). El Emáx de

combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg fue de $42.3 \pm 3.8\%$ a las 2.5 h. La cobertura global de ABC de estos tratamientos evaluados se enlista en la tabla X.

Se procedió a hacer un análisis de ANOVA de 1 vía, seguido de una prueba Dunnet para comparar los tratamientos vs el grupo control s.s. Los resultados arrojaron que la dosis de CEL 56.2 mg/kg no tuvo diferencia significativa contra el control. No obstante, CEL 17.8 mg/kg sí tuvo diferencia estadística diferente al control ($*p < 0.05$), así como las dosis individuales de tramadol 31.6 mg/kg y 23.7 mg/kg con diferencias de $***p < 0.001$ y $**p < 0.01$, respectivamente. Igualmente, la combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg presentó diferencia significativa de $**p < 0.01$ frente al grupo control s.s.

Tabla 14. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de celecoxib 56.2 y 17.8 mg/kg, tramadol 31.6 y 23.7 mg/kg y la combinación celecoxib 17.8 + tramadol 23.7 mg/kg s.c. aguda.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Latencia Emáx (h)	Emáx ± E.E. (%)	ABC ± E.E. (U ² /h)
Control	Solución salina 0.9%	-	-	0.8 ± 0.1
Control	SHAM	-	-	367.9 ± 7.6
Celecoxib	56.2	3.5	40.6 ± 5.0	66.6 ± 14.0
	17.8	1	27.3 ± 7.1	$85.2 \pm 8.7^*$
Tramadol	31.6	1.5	53.6 ± 8.7	$138.40 \pm 15.2^{***}$
	23.7	1.5	40.6 ± 17.9	$108.7 \pm 11.2^{**}$
Combinación CEL + TRA	17.8 + 23.7	2.5	42.3 ± 3.8	$93.1 \pm 12.0^{**}$

Prueba de ANOVA de una vía, seguida de una prueba post hoc de Dunnet, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ y $***p < 0.001$

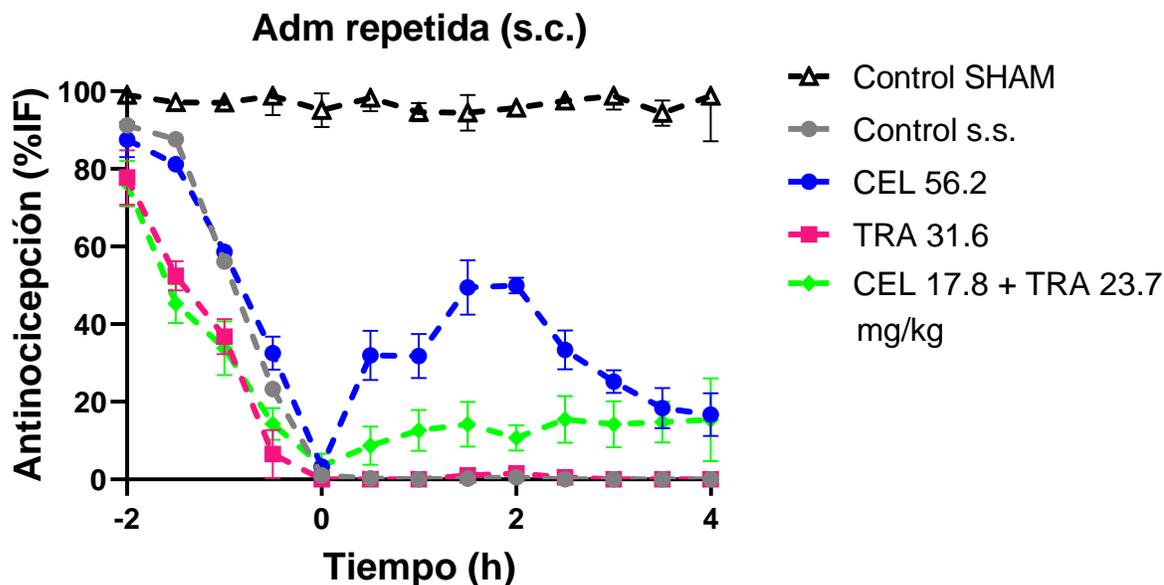
9.10.2 Esquema de administraciones repetidas s.c.

Después, se decidió realizar un esquema de administraciones repetidas (3 veces por día durante 4 días seguidos) por vía subcutánea, con la finalidad de saber si los tratamientos generan tolerancia. Se evaluaron las dosis más eficaces de los compuestos individuales (CEL 56.2 mg/kg y TRA 31.6 mg/kg) y la combinación de más alta eficacia CEL 17.8 + TRA 23 mg/kg. En seguida, se muestran los cursos temporales de dichos resultados.

9.10.2.1 Efectos antinociceptivos de CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 mg/kg y la combinación CEL 17.8 + TRA 23 mg/kg en administración repetida s.c.

Se graficaron los efectos antinociceptivos dados por los tratamientos en administración subcutánea repetida antes mencionados (Gráfica 22). Resulta importante mencionar que se graficó desde las -2 h del experimento hasta las 4 h, con el propósito de ver el comportamiento de los animales después del esquema de administraciones continuas. Se observa como el grupo SHAM no generó la disfunción en la extremidad donde se le administró solo el vehículo (aceite mineral). Por su parte, el control s.s. no presentó efecto antinociceptivo durante toda la evaluación (0.2 ± 0.2 U²/h). Todos los tratamientos tuvieron la latencia de su Emáx en la 1.5 h. La dosis de 56.2 mg/kg de celecoxib generó un Emáx de $49.5 \pm 7.0\%$, la dosis de 31.6 mg/kg de tramadol fue de $1.0 \pm 0.9\%$ y la combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg (que fue la de más alta eficacia en administración oral) obtuvo su Emáx de $14.2 \pm 5.8\%$.

En cuanto a los efectos globales, la dosis de 56.2 mg/kg de celecoxib fue la más alta entre todos los tratamientos, siendo de 125.1 ± 6.4 U²/h. En contraste, la dosis de tramadol 31.6 mg/kg obtuvo un ABC de cobertura total de 1.6 ± 1.0 U²/h, generó casi un nulo efecto de alivio nociceptivo. La combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg tuvo un efecto global de 50.1 ± 15.9 U²/h. No se encontraron diferencias estadísticas significativas cuando se les comparó con el control s.s.



Gráfica 22. Efectos antinociceptivos de CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 mg/kg, la combinación CEL 17.8 + TRA 23 mg/kg, grupo control s.s. y grupo control SHAM en administración repetida vía subcutánea. Los datos representan la media \pm error estándar (n=6/grupo).

Tabla 15. Parámetros de CT de la evaluación antinociceptiva de celecoxib 56.2 y 17.8 mg/kg, tramadol 31.6 y 23.7 mg/kg y la combinación celecoxib 17.8 + tramadol 23.7 mg/kg s.c. repetida.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Latencia Emáx (h)	Emáx \pm E.E. (%)	ABC \pm E.E. (U ² /h)
Control	Solución salina 0.9%	-	-	0.2 \pm 0.2
Control	SHAM	-	-	
Celecoxib	56.2	1.5	49.5 \pm 7.0	125.1 \pm 6.4
Tramadol	31.6	1.5	1.0 \pm 0.9	1.6 \pm 1.0
Combinación CEL + TRA	17.8 + 23.7	1.5	14.2 \pm 5.8	50.1 \pm 15.9

Prueba de ANOVA de una vía, seguida de una prueba post hoc de Dunnet, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$

Dicho lo anterior, se construyó la tabla 16, para hacer más visible la comparación entre las administraciones agudas y las administraciones repetidas (s.c.). Cabe mencionar que celecoxib 56.2 mg/kg aumentó su efecto un 89% cuando se le administró de forma continua 3 veces al día por 4 días. De forma totalmente contraria, el efecto global de la dosis de tramadol 31.6 mg/kg decayó a -98% tras este esquema. Asimismo, la combinación de CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg tuvo un decremento de -46% en los efectos antinociceptivos.

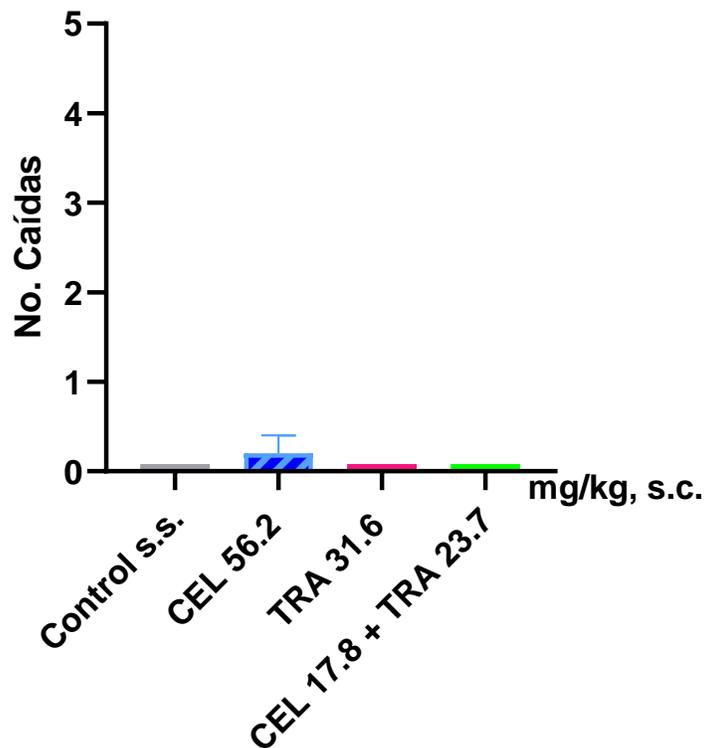
Tabla 16. Comparación de los tratamientos administración aguda s.c. vs administración repetida s.c.

Administración aguda			Administración repetida		
Tratamiento	Dosis (mg/kg, s.c.)	ABC ± E.E. (U ² /h)	Tratamiento	Dosis (mg/kg, s.c.)	ABC ± E.E. (U ² /h)
Celecoxib	56.2	66.6 ± 14.0	Celecoxib	56.2	125.1 ± 6.4
Tramadol	31.6	138.40 ± 15.2	Tramadol	31.6	1.6 ± 1.0
Combinación CEL + TRA	17.8 + 23.7	93.1 ± 12.0	Combinación CEL + TRA	17.8 + 23.7	50.1 ± 15.9

9.10.3 Evaluación de efectos adversos de los tratamientos administrados s.c.

9.10.3.1 Evaluación de la coordinación motora

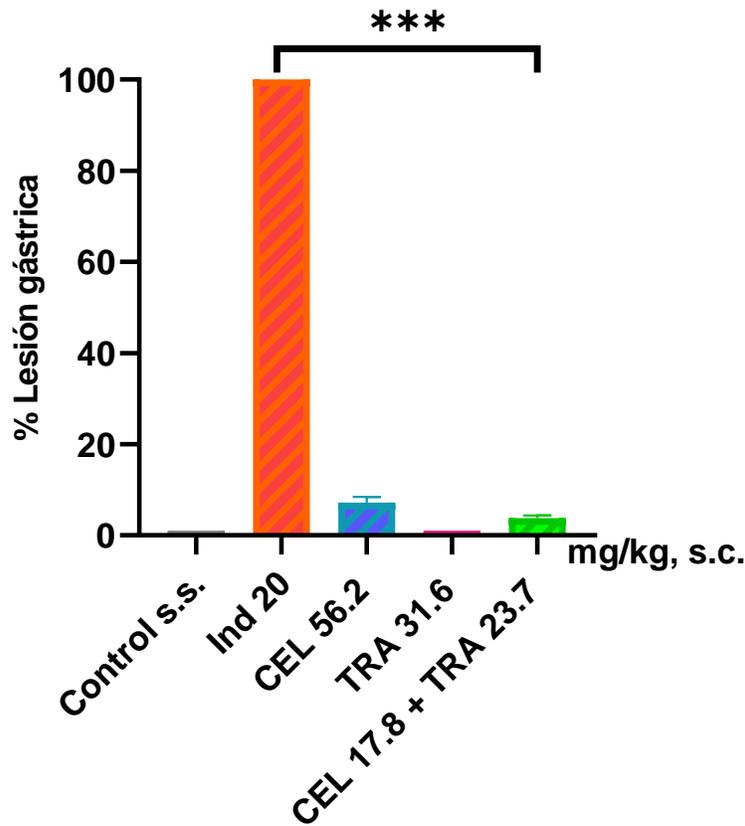
Nuevamente, se evaluó la coordinación motora mediante el Rotarod. Se lleva un conteo del número de caídas que puedan presentar los animales de experimentación tras la administración de los fármacos. Los tratamientos que se evaluaron fueron CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 mg/kg, la combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg y un grupo control de solución salina al 0.9% (Gráfica 23). Los resultados se analizaron mediante un ANOVA de 1 vía y posteriormente una prueba Dunnet (los tratamientos vs grupo control s.s.). Ninguno presentó diferencia estadística significativa.



Gráfica 23. Efectos globales del efecto adverso de incoordinación motora mediante la prueba de Rotarod en administraciones repetidas subcutáneas. Los datos representan la media \pm error estándar (n=5/grupo). ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Dunnet CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 y CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg vs grupo control s.s. No hay significancia estadística.

9.10.3.2 Evaluación de daño gástrico

Se realizó la cuantificación de lesiones gástricas de los mismos tratamientos mencionados anteriormente. Se tomó como grupo control positivo a indometacina 20 mg/kg, representando el 100% de daño gástrico. Los tratamientos CEL 56.2 mg/kg, TRA 31.6 mg/kg, la combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg se compararon vs el control positivo de indometacina 20 mg/kg a través de la prueba de ANOVA de una 1 vía y la prueba post hoc de Dunnet. Todos los grupos son significativamente diferentes (***) $p < 0.001$ vs el grupo de indometacina 20 mg/kg (Gráfica 24).



Gráfica 24. Efectos globales del efecto adverso de daño gástrico en administraciones repetidas subcutáneas. Los datos representan la media \pm error estándar (n=5/grupo). Indometacina 20 mg/kg vs CEL 56.2 mg/kg, TRA 36.1 mg/kg y la combinación CEL 17.8 + TRA 23.7 mg/kg, ANOVA de una vía seguido de una prueba post hoc de Dunnet, *** $p < 0.001$.

10. DISCUSIÓN

Este proyecto se centró en caracterizar el efecto antinociceptivo o efecto terapéutico de un opioide débil (tramadol) con un inhibidor selectivo de COX-2 (celecoxib) tanto de manera individual como en combinación, utilizando el modelo de disfunción inducida por dolor en la rata (PIFIR), el cual busca simular el dolor artrítico tipo gota. En dicho modelo, la disfunción de la extremidad trasera derecha se logra mediante la inyección de ácido úrico (al 30% p/v) en la articulación fémoro-tibio-rotuliana, lo que resulta en una disminución del porcentaje de índice de funcionalidad (%IF), reflejando así la conducta nociceptiva del animal de experimentación (López-Muñoz et al., 1993). Cabe destacar, que la administración

del vehículo (aceite mineral) o la manipulación de los animales no provocan la disfunción en la extremidad tratada. Esto es relevante porque nos permite discernir entre los efectos antinociceptivos producidos por los fármacos frente a procesos de condicionamiento clásico que podrían inducir una respuesta nociceptiva aparente o el aprendizaje de conductas compensatorias (Tamayo-Valenzuela et al., 2004) .

Se ha observado que uno de los principales efectos provocados por la acumulación de ácido úrico en áreas periféricas, como las articulaciones de las extremidades, es la activación de la caspasa 1, la cual es crucial para la conversión de la citocina pro-interleucina (IL-1 β) en su forma activa (Denoble et al., 2011). Los análisis histopatológicos realizados en el modelo PIFIR, han detectado la formación de leucocitos polimorfonucleares que crean masas o filamentos libres dentro de la cavidad articular. Este proceso también induce inflamación en la zona afectada, lo que se traduce a que el animal no use la extremidad lesionada (López-Muñoz et al., 1993). Este modelo preclínico permite evaluar los efectos de diferentes fármacos y entender sus posibles efectos antinociceptivos, interpretando dichos efectos como un aumento del %IF, es decir, una recuperación de la funcionalidad de la extremidad tras la administración de un fármaco analgésico. Asimismo, se ha logrado caracterizar la función de las COX en su papel para promover la producción de mediadores inflamatorios como las PGs (Martínez et al., 2002; Díaz-Reval et al., 2004; López-Muñoz et al., 2004). Por otra parte, se han dilucidado mecanismos de acción en los que intervienen los AINEs para contrarrestar el dolor, como la activación de la vía L-arginina-óxido nítrico-GMPc dada por la indometacina (Ventura-Martínez et al., 2004) o rofecoxib (Déciga-Campos y López-Muñoz, 2004). Adicionalmente, se ha evaluado el efecto antinociceptivo de fármacos opioides y de no opioides (Díaz-Reval et al., 2004; López-Muñoz et al., 1993a; Salazar et al., 1995) administrados en monoterapia o en combinación.

La administración de sustancias que dañan el cartílago en las articulaciones de animales de experimentación como ratas, ratones o cobayos imitan los efectos progresivos de las enfermedades articulares como la artritis gotosa y la osteoartritis (Little y Zaki, 2012). Algunos de los modelos preclínicos más comunes para estudiar el dolor en estos padecimientos son la inyección intraarticular de yodoacetato monosódico, carragenina/caolín, adyuvante de Freund y urato de sodio, los cuales se utilizan para inducir

una artropatía inflamatoria aguda (Calvino et al., 1987; Coderre y Wall, 1987; Bove et al., 2003; Hwang et al., 2008). Por su parte, el modelo PIFIR presenta el diferenciador dado por la medición de la variable que no está sujeta a la subjetividad del observador, esto resulta idóneo para valorar la efectividad de los efectos antinociceptivos de los fármacos (López-Muñoz et al., 1993).

Los AINEs representan el primer enfoque terapéutico en el tratamiento de padecimientos como la gota y la osteoartritis (Kean y Buchanan, 2005; Crofford, 2013). La inhibición sobre la síntesis de las COX 1 y 2 los hace ideales para obtener efectos analgésicos y antiinflamatorios (Shrestha et al., 1994). Adicionalmente, se sabe que generan sus efectos terapéuticos mediante la modificación de niveles intracelulares de neuromoduladores (Sostres y Lanás, 2016), que suprimen la producción de citocinas (Funakoshi-Tago et al., 2008), que reducen la expresión de canales sensibles a ácidos (Voilley et al., 2001) y que aumentan los niveles de endocannabinoides (Guindon and Beaulieu, 2006).

Como se sabe, la enzima COX-1 es constitutiva, es decir, que se encuentra en los tejidos en condiciones basales, participa en la síntesis de PGs que mantienen la homeostasis y en la protección de la mucosa gastrointestinal (Lanas et al., 2014). En cambio, COX-2 también interviene en la síntesis de PGs, pero en condiciones de inflamación y/o dolor, por lo que es inducible (Williams y Buvanendran, 2011). Es importante mencionar que los efectos no deseables de los AINEs no selectivos son la producción de úlceras o erosiones en el tracto gastrointestinal (Lanas y Scheiman, 2007).

El celecoxib fue sintetizado para ser un fármaco inhibidor selectivo de COX-2 (McCormack et al., 2011). Existen estudios clínicos, donde se comparó la eficacia de celecoxib versus otros AINEs no selectivos en artritis gotosa, en dichos casos la evidencia sugiere que celecoxib tiene una eficacia comparable a los AINEs tradicionales, pero con menor riesgo de efectos adversos gastrointestinales (Fung y Kirschenbaum, 1999; Bingham, 2002; Terkeltaub, 2003).

En lo que respecta a este proyecto, se analizaron los CT y CDR de la administración individual vía oral del celecoxib y resalta que este fármaco presenta efectos antinociceptivos en el modelo PIFIR y que la dosis más eficaz fue la de 56.2 mg/kg, con un efecto global de 258.9 (U2/h). Cabe destacar que tanto la dosis de tramadol 31.6 mg/kg como la de celecoxib 56.2 mg/kg son equieficaces en estas condiciones específicas.

Pruebas farmacológicas sugieren que el efecto antinociceptivo del celecoxib no se debe únicamente a la inhibición de la COX-2. Hay evidencia de que la acción antinociceptiva de este fármaco fue disminuida por un antagonista de receptores μ -opioides, en un modelo de nocicepción inflamatorio inducido por carragenina en ratas (Rezende et al., 2009). Esta evidencia ha sido respaldada por otros ensayos preclínicos donde se ha observado que celecoxib sirve para disminuir la nocicepción aguda y crónica en animales mediante sistemas opioide y cannabinoide (Correa et al., 2010), lo cual lleva a la teoría de que dicho fármaco también puede activar a los receptores opioides antes mencionados para generar su efecto analgésico. Asimismo, se ha comprobado que la propiedad analgésica del celecoxib puede estar vinculada a receptores cannabinoides ya que una vez que se hace un pretratamiento se incrementa el efecto anti-hiperalgésico de un agonista de receptores cannabinoides, en un modelo de ratas con neuropatía diabética (Bujalska-Zadrozny et al., 2015). Otro estudio sugiere que los efectos de alivio del dolor del celecoxib involucran canales de potasio dependientes de voltaje (K^+v), en específico con la activación de canales K^+v7/M , los cuales suprimen la percepción de nocicepción en animales (Mi et al., 2013).

Este fármaco ha sido evaluado en combinación con otros fármacos y coadyuvantes en modelos preclínicos de nocicepción inflamatoria y neuropática. En un modelo de osteoartritis en ratas, fue administrado celecoxib y rebamipida individual y de forma combinada resultando que la coadministración de dichos fármacos generó en las ratas un umbral de nocicepción mayor a comparación de cuando se les administró individualmente. Adicionalmente, los resultados histológicos de las ratas con osteoartritis que fueron coadministradas con celecoxib y rebamipida tuvieron un daño menor en el cartílago vs la monoterapia (Moon et al., 2013). En otra investigación, se evaluó la combinación celecoxib con vitamina E en dos modelos que incluyen la prueba de la retirada de la cola mediante un estímulo térmico y la prueba de formalina. Se observó que el celecoxib y la vitamina E mostraron efectos antinociceptivos dependientes de la dosis en el modelo de nocicepción inflamatoria (prueba de la formalina) pero no en el modelo de dolor agudo generado por un estímulo térmico (retirada de la cola) (Shamsi Meymandi et al., 2019). También, los datos indicaron que la coadministración de celecoxib con vitamina E genera un incremento significativo en los efectos antinociceptivos que son comparables con la indometacina (Shamsi Meymandi et al., 2019).

Los opioides son la primera línea del manejo del dolor en pacientes con dolor intenso (Karamchandani et al., 2019b). Recordemos que uno de sus mecanismos de acción central implica su afinidad por los receptores opioides (μ , δ , κ) los cuales se sabe que modulan tanto vías ascendentes como vías descendentes del dolor (Jamison y Mao, 2015). Diversos estudios han comprobado que los opioides generan analgesia o efectos antinociceptivos mediante la activación de los receptores opioides presentes en las neuronas aferentes primarias (nociceptores) (Nozaki-Taguchi y Yaksh, 1999). Dicho efecto está mediado por la vía de señalización del óxido nítrico/GMPc (Leáñez et al., 2009), lo que resulta en una hiperpolarización de las neuronas nociceptivas. Sin embargo, se deben seguir pautas de dosificación junto con un monitoreo constante para reducir el riesgo de efectos adversos. Dicho lo anterior, el empleo del tramadol, que es un opioide débil, se prefiere porque su perfil farmacológico de seguridad es mayor versus la morfina, no hay reportes de casos de depresión respiratoria ni adicción cuando se administra individualmente por vía parenteral (Preston et al., 1991).

El tramadol actúa como agonista parcial de los receptores μ y como inhibidor de la recaptura de 5-HT y NA (Vazzana et al., 2015). Consta de dos enantiómeros, el enantiómero “D”, que tiene mayor afinidad por los receptores μ y actúa como inhibidor de la recaptura y liberación de 5-HT y el enantiómero “L”, que inhibe la recaptura de NA. Además, el metabolito activo (M1) de este fármaco, tiene afinidad 200 veces mayor por los receptores opioides frente al fármaco original y en cuanto a su potencia, se sabe que es 6 veces mayor (Vazzana et al., 2015).

Diversos estudios preclínicos han comprobado la eficacia del tramadol para tratar el dolor. Por ejemplo, en un modelo inflamatorio inducido por carragenina en la articulación temporomandibular en las ratas, se evidenció que tramadol producía un efecto antiinflamatorio reduciendo los niveles de TNF- α e IL-1 β cuando se daba como pretratamiento (Lamana et al., 2017). De igual manera, se observó que tramadol disminuía la migración de leucocitos y neutrófilos al sitio de inflamación (Lamana et al., 2017). En otro estudio, donde se indujo la inflamación por adyuvante de Freund, se observó que los efectos antinociceptivos de los agonistas μ y κ fueron antagonizados tras la administración intraplantar de naloxona. Sin embargo, cuando la naloxona fue administrada vía intravenosa

y subcutánea no se presentaba el mismo efecto. Este hallazgo sugiere que los receptores opioides periféricos podrían estar implicados en los efectos antinociceptivos de los agonistas μ y κ (Stein et al., 1988). En el presente estudio empleando el modelo PIFIR, la evaluación tras una administración p.o. aguda de tramadol demostró que genera efectos antinociceptivos que dependen de la dosis administrada. Siendo la dosis más eficaz la de 31.6 mg/kg con una cobertura total de 215.7 (U^2/h) (Tabla 6), sin presentar efectos secundarios graves.

La eficacia antinociceptiva del tramadol observados en el modelo PIFIR puede deberse a la combinación de los efectos centrales como periféricos. Como se mencionó anteriormente, el tramadol posee un mecanismo farmacológico de acción dual. Los mecanismos no opioides del tramadol están asociados con sus propiedades noradrenérgicas, ya que los receptores adrenérgicos alfa (localizados en locus coeruleus) desempeñan un papel en la regulación del dolor y la ansiedad (Berrocoso et al., 2006). Aunado a esto, el tramadol y el sistema serotoninérgico también tienen un papel relevante en la modulación del dolor, ya que induce cambios similares a los de los antidepresivos (Ivanavicius et al., 2007). Estos autores observaron que los antidepresivos tricíclicos, los cuales comparten la misma propiedad de recaptura y liberación de monoaminas como la 5-HT y NA que el tramadol, producen efectos antinociceptivos en modelos animales de nocicepción artrítica. Por su parte, existe evidencia de que la amitriptilina, que es un inhibidor de la recaptura de 5-HT y NA disminuyó la conducta nociceptiva de las ratas, empleando un modelo preclínico de osteoartritis inducida por yodoacetato monosódico en la articulación de los animales.

Como se mencionó previamente, una estrategia para prescribir al tramadol con el objetivo principal de mitigar la aparición de sus efectos no deseables es la coadministración con otros fármacos no opioides. El tramadol ha sido combinado con AINEs como el acetaminofén, empleando el modelo de la carragenina, donde se observaron efectos antinociceptivos supra-aditivos (Shinozaki et al., 2015). También, ha sido coadministrado tramadol con ibuprofeno, en el modelo de la formalina, donde una combinación evaluada (3:1) resultó en efectos aditivos en la fase 1 y 2 (Chavarría-Bolaños et al., 2014). En específico empleando el modelo PIFIR, también existen estudios previos como la combinación de tramadol con ácido acético salicílico donde de las 24 combinaciones evaluadas, 8 resultaron en efectos supra-aditivos y las restantes en efectos aditivos (Salazar et al., 1995), cuando se combinó con ketorolaco 10

combinaciones presentaron efectos supra-aditivos y 14 efectos de tipo suma (López-Muñoz et al., 2004). Con metamizol 3 combinaciones resultaron de tipo aditivas, mientras que 22 se potenciaron (López-Muñoz et al., 2013). De manera interesante, al combinar tramadol con rofecoxib los resultados no fueron ideales, ya que, de las 12 combinaciones evaluadas, 7 presentaron efectos aditivos y 5 combinaciones efectos infra-aditivos (García-Hernández et al., 2007). Esto destaca la importancia de estudiar y conocer la gama amplia de interacciones que pueden resultar de combinar dos fármacos porque las interacciones dependen de las proporciones de los fármacos.

En nuestra investigación se tuvo el interés por evaluar el efecto antinociceptivo de la combinación de tramadol con celecoxib, para dilucidar si la coadministración de ambos fármacos generaba sinergismo de tipo aditivo o supra-aditivo. Existe un estudio previo donde se estudia dicha combinación en una proporción 1:1, los resultados arrojaron que existe sinergismo en efectos antialodínicos y anti-hiperalgésicos en un modelo de incisión plantar (Merlos, 2018). Este análisis nos dio un primer indicio de que al combinar tramadol y celecoxib habría resultados positivos, pero necesitábamos un análisis más extenso para detectar las proporciones óptimas que generen la máxima eficacia antinociceptiva y la más alta potenciación para tratar el dolor artrítico en estas condiciones específicas.

Es importante resaltar que la administración de tratamientos en combinación no se basa en las propiedades individuales de los fármacos, sino en la interacción entre los componentes de la combinación (López-Muñoz, 1994; Chou, 2010). Las células no pueden hacer la distinción entre un tratamiento con un solo fármaco y un tratamiento con dos o más fármacos. De hecho, una combinación con proporciones específicas podría ser percibida por la célula como un agente único con propiedades mecánicas distintas (Chou, 2010).

En este estudio tomamos dos fármacos (celecoxib y tramadol) en diferentes proporciones para generar un total de 20 combinaciones. Los resultados obtenidos de este proyecto sugieren que la asociación de celecoxib con tramadol es de utilidad para el manejo del dolor artrítico. De las 20 combinaciones que fueron evaluadas mediante el análisis de SIS, destaca que 10 combinaciones produjeron efectos antinociceptivos supra-aditivos, 7 combinaciones resultaron aditivas y 3 interacciones de tipo infra-aditivas. Siento esto un claro ejemplo de que cada tratamiento puede ser percibido como un agente único por las células blanco. Las

combinaciones provocaron respuestas biológicas variadas dependiendo la proporción empleada. Nuevamente destaca la importancia de no simplemente investigar si la combinación de dos fármacos produce una interacción sinérgica, sino que es preferible determinar las proporciones óptimas en cuanto a eficacia y utilidad terapéutica.

Con los datos obtenidos se detectó la combinación de más alta eficacia antinociceptiva (celecoxib 17.8 y tramadol 23.7 mg/kg) y la de más alta potenciación (celecoxib 3.2 y tramadol 10 mg/kg) mediante el análisis de SIS. En ambos casos se pudieron reducir las dosis de los tratamientos individuales. Para la combinación de más alta eficacia antinociceptiva, celecoxib 17.8 y tramadol 23.7 mg/kg, la dosis de celecoxib disminuyó 3.2 veces en comparación con la dosis individual más eficaz de celecoxib (56.2 mg/kg) y la dosis de tramadol disminuyó 1.3 veces vs la dosis individual más eficaz de tramadol (31.6 mg/kg). De manera similar, la combinación de alta potenciación antinociceptiva, celecoxib 3.2 y tramadol 10 mg/kg, la dosis de celecoxib se redujo 17.6 veces vs la dosis de celecoxib individual más eficaz (56.2 mg/kg) y la dosis de tramadol se redujo 3.2 veces vs la dosis de tramadol individual más eficaz (31.6 mg/kg). El decremento de las dosis de los fármacos, en específico de los opioides, es de gran relevancia a nivel clínico porque esta reducción podría significar una disminución de los efectos adversos y una mejor adherencia al tratamiento para los pacientes (Tallarida, 2011).

Aunque aún no se ha esclarecido el mecanismo de acción específico de la combinación utilizada en este proyecto, se pueden plantear varias teorías que expliquen los efectos de suma o de potenciación de la combinación de celecoxib y tramadol. Cabe destacar, que el dolor artrítico se produce como resultado de la combinación de mecanismos de sensibilización periférica (provocada por la inflamación en el sitio de la lesión) así como de mecanismos centrales (donde el dolor responde a características neuropáticas cuando la intensidad y duración del estímulo doloroso aumentan). Por lo tanto, para lograr una cobertura analgésica adecuada, se deben considerar la modulación integral de los mecanismos periféricos y centrales. Por ejemplo, las estructuras centrales que responden tanto a los opioides como a los AINEs incluyen la sustancia periacueductal gris (PAG) y el bulbo raquídeo ventromedial rostral (RVM). Esta primera estructura, envía impulsos que proyectan en el núcleo del rafe

magnus y el RVM. Ahí mismo, existen neuronas que proyectan hacia la médula espinal y modulan el dolor de manera descendente (Tortorici et al., 2001; Vanegas et al., 2010).

Por añadidura, existen reportes de que algunos AINEs como el diclofenaco, el ácido acetil salicílico y el metamizol cuando son administrados en la PAG y el RVM reducen las conductas nociceptivas, sugiriendo que no solamente tienen efecto antinociceptivo a nivel periférico, sino que también a nivel central, se cree que este efecto central involucra a las células “on” y “off” del RVM (Björkman et al., 1992; Tortorici y Vanegas, 1994, 1995; Jones, 1996). Además, se ha comprobado que los efectos analgésicos de los AINEs mencionados anteriormente se disminuyen o se revierten posterior a la administración sistémica de naloxona o directamente en el área de la PAG, esto plantea una conexión de los AINEs con el sistema opioide endógeno, el cual está involucrado en el control descendente del dolor (Björkman et al., 1992; Pini et al., 1997; Tortorici et al., 1996).

Otras vías comunes que se han propuesto para explicar el mecanismo sinérgico entre los AINEs y los opioides, que involucran la acción de péptidos opioides endógenos y endocannabinoides. Los opioides activan la PLA2 y aumentan la disponibilidad de ácido eicosatetraenoico a nivel de la PAG, mientras que los AINEs bloquean la COX, impidiendo así la utilización del ácido eicosatetraenoico y aumentando su disponibilidad para otras vías moleculares (Vaughan et al., 1997). Ahora bien, el papel crucial en este proceso lo desempeñan las lipoxigenasas (en específico la 12-lipoxigenasa) que catalizan la oxidación del ácido eicosatetraenoico en hepoxilinas, las cuales reducen la liberación de GABA en las terminales sinápticas de los axones inhibidores de la PAG (Vaughan et al., 1997; Vaughan, 1998). Como se sabe, la inhibición de la COX no es el único mecanismo de acción que ejercen los AINEs, sino que también inhiben a la enzima responsable de metabolizar los endocannabinoides, la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) y la monoacilglicerol lipasa. Esto genera una mayor disponibilidad de anandamida (AEA) y 2-araquidonilglicerol (2-AG) para unirse a los receptores CB1 y CB2, que generan los efectos de analgesia (Fowler et al., 2005; Piomelli, 2003).

Celecoxib es un inhibidor selectivo de COX-2. Se ha demostrado que esta enzima está implicada en la reducción de la descomposición de 2-AG, produciendo efectos antinociceptivos en un modelo artrítico inducido por carragenina (2%) en la articulación de

la rodilla del animal de experimentación (Tellería-Díaz et al., 2010). En otro ensayo de dolor inflamatorio, se comprobó que al inyectar un antagonista del receptor CB1 (AM251) en las áreas de la PAG y RVM se contrarrestaban los efectos antinociceptivos de metamizol, lo que abona a la teoría de que los AINEs pueden actuar sobre el sistema endocannabinoide a nivel central (Tellería-Díaz et al., 2010). En cuanto a nivel periférico, también hay un antecedente de que existe un sistema endocannabinoide en la articulación de la rodilla de la rata, esto se documentó tras la administración local de ACEA (agonista de CB1) que moduló la percepción del dolor en un modelo de dolor artrítico mediante inyección intraarticular de monoyodoacetato de sodio (Schuelert y McDougall, 2008).

Además, no se excluye la posibilidad de que la combinación de celecoxib y tramadol pueda tener interacciones farmacocinéticas y que procesos de liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción podrían estar siendo modificados.

En lo que respecta los efectos adversos, se evaluaron los más comunes de los tratamientos, tanto individuales como en combinación. Como se mencionó anteriormente, el efecto adverso más común de los AINEs es a nivel gastrointestinal, ya que al inhibir la COX-1 (que es una enzima constitutiva) puede repercutir en la mucosa del intestino porque se impide la síntesis de prostaciclina cruciales que inhiben la generación de ácidos estomacales produciendo úlceras o erosiones gastrointestinales (Lanas and Scheiman, 2007). Dicho lo anterior, en la época de los 90's se optó por sintetizar fármacos selectivos de COX-2 con el objetivo de reducir este efecto adverso antes mencionado. A pesar de que el celecoxib es un AINE selectivo de COX-2, es decir, que en teoría no debería de presentar este efecto adverso característico de los AINEs tradicionales, es importante seguir evaluando este parámetro para reforzar su seguridad. En este estudio se demostró que la dosis de celecoxib 56.2 mg/kg, tramadol 31.6 mg/kg individual y la combinación de más alta eficacia celecoxib 17.8 mg/kg con tramadol 23.7 mg/kg no presentaron daño gastrointestinal a comparación de la dosis de indometacina 20 mg/kg que fue tomada como control positivo. Además, sabemos que los efectos adversos de los opioides abarcan desde mareos, somnolencia, vómitos, tolerancia y hasta la depresión respiratoria (Nafziger y Barkin, 2018). Dicho esto, se consideró realizar la prueba de coordinación motora que se realiza en el Rota-Rod. Las dosis de celecoxib 56.2

mg/kg, tramadol 31.6 mg/kg individual y la combinación de más alta eficacia no generaron alteraciones en la coordinación motora.

En lo que respecta a la tolerancia farmacológica de los opioides, es decir, una disminución de los efectos analgésicos después de su uso prolongado (Nestler, 2004), una explicación a dicho fenómeno es la fosforilación de receptores opioides ocasionado por la unión con β -arrestina e internalizando a los receptores opioides, que se traduce en un decremento de los receptores en la membrana (Nestler, 2004). Otro de los mecanismos propuestos es la contra regulación de incrementos continuos de AMPc, provocando que se deba incrementar las dosis para poder mantener inhibido al AMPc (Kieffer y Evans, 2002).

Para evaluar la tolerancia farmacológica en este estudio se realizaron 12 administraciones repetidas. Fueron evaluadas los efectos antinociceptivos, así como los efectos adversos. Nuestros hallazgos fueron que tanto la dosis de celecoxib 56.2 mg/kg, la dosis de tramadol 31.6 mg/kg y la combinación celecoxib 17.8 y tramadol 23.7 mg/kg redujeron de manera significativa sus efectos antinociceptivos cuando se les administró de manera repetida. Estos datos pueden ser comparables con otros estudios, por ejemplo, hay registro de que los efectos antinociceptivos de la administración repetida de metamizol y tramadol disminuyen porque se genera tolerancia farmacológica (Moreno-Rocha et al., 2012). De manera similar, en un estudio se examinó si el celecoxib podía generar tolerancia de una forma parecida al tratamiento prolongado con opioides, los datos encontraron que la administración repetida de celecoxib provocaba tolerancia comparable con la morfina (Rezende et al., 2010). Asimismo, las ratas que desarrollaron tolerancia al celecoxib no presentaron analgesia después de recibir morfina (Rezende et al., 2010). Una hipótesis de porque ocurre esto podría ser que los AINEs participan en los mecanismos de opioides endógenos, y que al ser coadministrados con un opioide se presente tolerancia cruzada (Tortorici y Vanegas, 2000). Por último, encontramos que los efectos adversos de coordinación motora y daño gástrico no aumentan cuando se les administra de forma continua en ningún tratamiento empleado, aquí probablemente las dosis disminuidas jueguen un papel importante en la reducción de efectos adversos.

11. CONCLUSIONES

- La administración aguda vía oral individual de celecoxib y tramadol presenta efecto antinociceptivo de tipo dosis dependiente en el modelo de disfunción inducida por dolor en la rata.
- La administración aguda vía oral en conjunto de celecoxib y tramadol genera interacciones mayoritariamente de tipo supra-aditivas, así como también interacciones de adición e interacciones infra-aditivas en un modelo de dolor artrítico tipo gota en la rata.
- La combinación que generó el mayor grado de eficacia es celecoxib 17.8 mg/kg con tramadol 23.7 mg/kg (la dosis de celecoxib se redujo 3.2 veces vs celecoxib 56.2 mg/kg, mientras que la dosis de tramadol se redujo 1.3 veces vs tramadol 31.6 mg/kg).
- La combinación con el mayor grado de potenciación es celecoxib 3.2 mg/kg con tramadol 10 mg/kg (la dosis de celecoxib se redujo 17.6 veces vs celecoxib 56.2 mg/kg y la dosis de tramadol se redujo 3.2 veces vs tramadol 31.6 mg/kg).
- La detección de las combinaciones óptimas en cuanto a eficacia antinociceptiva nos da la posibilidad de reducir las dosis de la monoterapia y mitigar o retrasar los efectos no deseables de los fármacos empleados como cambios en la coordinación motora y daño gástrico.
- La administración repetida combinada de celecoxib y tramadol vía subcutánea puede inducir tolerancia farmacológica en estas condiciones específicas. Sin embargo, la administración repetida de los fármacos no aumenta sus efectos adversos.

12. PERSPECTIVAS

- Determinar si existen diferencias con las combinaciones óptimas detectadas en ratas Wistar macho.
- Comparar si en ratas Wistar macho se presenta igual o no la tolerancia farmacológica con las combinaciones óptimas de celecoxib y tramadol.
- Evaluar si se genera tolerancia con la combinación de alta eficacia antinociceptiva por vía oral.
- Hacer uso de antagonistas de endocannabinoides o péptidos endógenos para dilucidar el mecanismo de acción que genera sinergismo entre AINEs y opioides.

- Evaluar la combinación de mayor eficacia antinociceptiva de celecoxib y tramadol en otro tipo de modelos preclínicos de dolor.

13. REFERENCIAS

005. Gota, enfermedad crónica que afecta a tres por ciento de los mexicanos | Secretaría de Salud | Gobierno | gob.mx [WWW Document], n.d. URL <https://www.gob.mx/salud/prensa/005-gota-enfermedad-cronica-que-afecta-a-tres-por-ciento-de-los-mexicanos> (accessed 8.13.23).
- Abhishek, A., Roddy, E., Doherty, M., 2017. Gout - a guide for the general and acute physicians. *Clin Med (Lond)* 17, 54–59. <https://doi.org/10.7861/CLINMEDICINE.17-1-54>
- Almeida, T.F., Roizenblatt, S., Tufik, S., 2004a. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res* 1000, 40–56. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2003.10.073>
- Almeida, T.F., Roizenblatt, S., Tufik, S., 2004b. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res* 1000, 40–56. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2003.10.073>
- 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 Morb Mortal Wkly Rep* 66, 246–253. <https://doi.org/10.15585/MMWR.MM6609E1>
- Basbaum, A.I., Bautista, D.M., Scherrer, G., Julius, D., 2009. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. *Cell* 139, 267. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2009.09.028>
- Berrocoso, E., Micó, J.A., Ugedo, L., 2006. In vivo effect of tramadol on locus coeruleus neurons is mediated by alpha2-adrenoceptors and modulated by serotonin. *Neuropharmacology* 51, 146–153. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2006.03.013>
- Bindu, S., Mazumder, S., Bandyopadhyay, U., 2020. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochem Pharmacol* 180. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2020.114147>

- Bingham, C.O., 2002. Development and clinical application of COX-2-selective inhibitors for the treatment of osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Cleve Clin J Med* 69 Suppl 1. https://doi.org/10.3949/CCJM.69.SUPPL_1.S15
- 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 Res* 590, 66–73. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91082-P](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91082-P)
- Bombardier, C., Laine, L., Reicin, A., Shapiro, D., Burgos-Vargas, R., Davis, B., Day, R., Ferraz, M.B., Hawkey, C.J., Hochberg, M.C., Kvien, T.K., Schnitzer, T.J., 2000. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *N Engl J Med* 343, 1520–1528. <https://doi.org/10.1056/NEJM200011233432103>
- Bournia, V.K., Kitas, G., Protogerou, A.D., Sfikakis, P.P., 2017. Impact of non-steroidal anti-inflammatory drugs on cardiovascular risk: Is it the same in osteoarthritis and rheumatoid arthritis? *Mod Rheumatol* 27, 559–569. <https://doi.org/10.1080/14397595.2016.1232332>
- Bove, S.E., Calcaterra, S.L., Brooker, R.M., Huber, C.M., Guzman, R.E., Juneau, P.L., Schrier, D.J., Kilgore, K.S., 2003. Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 11, 821–830. [https://doi.org/10.1016/S1063-4584\(03\)00163-8](https://doi.org/10.1016/S1063-4584(03)00163-8)
- Brodin, E., Ernberg, M., Olgart, L., 2016. Neurobiology: General considerations - from acute to chronic pain. *Den norske tannlegeforenings Tidende* 126. <https://doi.org/10.56373/2016-1-6>
- Bujalska-Zadrozny, M., De Cordé, A., Pawlik, K., 2015. Influence of nitric oxide synthase or cyclooxygenase inhibitors on cannabinoids activity in streptozotocin-induced neuropathy. *Pharmacol Rep* 67, 209–216. <https://doi.org/10.1016/J.PHAREP.2014.08.023>

- 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, 11–29. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(87\)90032-5](https://doi.org/10.1016/0166-4328(87)90032-5)
- Capone, M.L., Tacconelli, S., Di Francesco, L., Sacchetti, A., Sciulli, M.G., Patrignani, P., 2007. Pharmacodynamic of cyclooxygenase inhibitors in humans. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 82, 85–94. <https://doi.org/10.1016/J.PROSTAGLANDINS.2006.05.019>
- Chavarria-Bolaños, D., Perez-Urizar, J., Grandfils, C., Pozos-Guillén, A., 2014. Peripheral synergism between tramadol and ibuprofen in the formalin test. *Drug Dev Res* 75, 224–230. <https://doi.org/10.1002/DDR.21175>
- Chen, Y., Chan, S.Y., Ho, P.C., 2002. Isobolographic analysis of the analgesic interactions between ketamine and tramadol. *J Pharm Pharmacol* 54, 623–631. <https://doi.org/10.1211/0022357021778934>
- Chhana, A., Lee, G., Dalbeth, N., 2015. Factors influencing the crystallization of monosodium urate: a systematic literature review. *BMC Musculoskelet Disord* 16. <https://doi.org/10.1186/S12891-015-0762-4>
- Choi, I.A., Baek, H.J., Cho, C.S., Lee, Y.A., Chung, W.T., Park, Y.E., Lee, Y.J., Park, Y.B., Lee, J., Lee, S.S., Yoo, W.H., Song, J.S., Kang, S.W., Kim, H.A., Song, Y.W., 2014. Comparison of the efficacy and safety profiles of a pelubiprofen versus celecoxib in patients with rheumatoid arthritis: a 6-week, multicenter, randomized, double-blind, phase III, non-inferiority clinical trial. *BMC Musculoskelet Disord* 15. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-15-375>
- Chou, T.C., 2010. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method. *Cancer Res* 70, 440–446. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1947>
- Chou, T.C., 2006. Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies. *Pharmacol Rev* 58, 621–681. <https://doi.org/10.1124/PR.58.3.10>

- Clemett, D., Goa, K.L., 2000. Celecoxib: a review of its use in osteoarthritis, rheumatoid arthritis and acute pain. *Drugs* 59, 957–980. <https://doi.org/10.2165/00003495-200059040-00017>
- 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, 379–393. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(87\)90072-8](https://doi.org/10.1016/0304-3959(87)90072-8)
- Corder, G., Castro, D.C., Bruchas, M.R., Scherrer, G., 2018. Endogenous and Exogenous Opioids in Pain. *Annu Rev Neurosci* 41, 453–473. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-NEURO-080317-061522>
- Corona-Ramos, J.N., De la O-Arciniega, M., Déciga-Campos, M., Medina-López, J.R., Domínguez-Ramírez, A.M., Jaramillo-Morales, O.A., Espinosa-Juárez, J.V., López-Muñoz, F.J., 2016. The Antinociceptive Effects of Tramadol and/or Gabapentin on Rat Neuropathic Pain Induced by a Chronic Constriction Injury. *Drug Dev Res* 77, 217–226. <https://doi.org/10.1002/DDR.21313>
- Correa, J.D., Paiva-Lima, P., Rezende, R.M., Dos Reis, W.G.P., Ferreira-Alves, D.L., Bakhle, Y.S., Francischi, J.N., 2010. Peripheral μ -, κ - and δ -opioid receptors mediate the hypoalgesic effect of celecoxib in a rat model of thermal hyperalgesia. *Life Sci* 86, 951–956. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2010.04.012>
- Crofford, L.J., 2013. Use of NSAIDs in treating patients with arthritis. *Arthritis Res Ther* 15 Suppl 3. <https://doi.org/10.1186/AR4174>
- Crofford, L.J., 2002. Specific cyclooxygenase-2 inhibitors: what have we learned since they came into widespread clinical use? *Curr Opin Rheumatol* 14, 225–230. <https://doi.org/10.1097/00002281-200205000-00005>
- da Costa, B.R., Reichenbach, S., Keller, N., Nartey, L., Wandel, S., Jüni, P., Trelle, S., 2017. Effectiveness of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of pain in knee and hip osteoarthritis: a network meta-analysis. *Lancet* 390, e21–e33. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31744-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31744-0)

- Davies, N.M., McLachlan, A.J., Day, R.O., Williams, K.M., 2000. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of celecoxib. A selective cyclo-oxygenase-2 inhibitor. *Clin Pharmacokinet* 38, 225–242. <https://doi.org/10.2165/00003088-200038030-00003/METRICS>
- Déciga-Campos, M., Cortés, A., Pellicer, F., Díaz-Reval, I., González-Trujano, M.E., 2014. Isobolographic analysis of the antinociceptive interaction between ursolic acid and diclofenac or tramadol in mice. *Planta Med* 80, 139–145. <https://doi.org/10.1055/S-0033-1360220>
- Déciga-Campos, M., Guevara López, U., Díaz Reval, M.I., 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. *Eur J Pharmacol* 460, 99–107. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(02\)02920-5](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(02)02920-5)
- Déciga-Campos, M., López-Muñoz, F.J., 2004. Participation of the L-arginine-nitric oxide-cyclic GMP-ATP-sensitive K⁺ channel cascade in the antinociceptive effect of rofecoxib. *Eur J Pharmacol* 484, 193–199. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2003.11.021>
- Denoble, A.E., Huffman, K.M., Stabler, T. V., Kelly, S.J., Hershfield, M.S., McDaniel, G.E., Coleman, R.E., Kraus, V.B., 2011. Uric acid is a danger signal of increasing risk for osteoarthritis through inflammasome activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 2088–2093. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1012743108>
- Desai, J., Steiger, S., Anders, H.J., 2017. Molecular Pathophysiology of Gout. *Trends Mol Med* 23, 756–768. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2017.06.005>
- Díaz-Reval, M.I., Carrillo-Munguía, N., Martínez-Casas, M., González-Trujano, M.E., 2010. Tramadol and caffeine produce synergistic interactions on antinociception measured in a formalin model. *Pharmacol Biochem Behav* 97, 357–362. <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2010.09.004>
- Díaz-Reval, M.I., Ventura-Martínez, R., Déciga-Campos, M., Terrón, J.A., Cabré, F., López-Muñoz, F.J., 2004. Evidence for a central mechanism of action of S-(+)-ketoprofen. *Eur J Pharmacol* 483, 241–248. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2003.10.036>

- Dinakar, P., Stillman, A.M., 2016. Pathogenesis of Pain. *Semin Pediatr Neurol* 23, 201–208. <https://doi.org/10.1016/J.SPEN.2016.10.003>
- Doubell, T.P., Mannion, R.J., Woolf, C.J., 1999. The dorsal Horn: state-dependent sensory processing, plasticity and the generation of pain. *Textbook of pain* 165–182.
- Du, X.N., Zhang, X., Qi, J.L., An, H.L., Li, J.W., Wan, Y.M., Fu, Y., Gao, H.X., Gao, Z.B., Zhan, Y., Zhang, H.L., 2011. Characteristics and molecular basis of celecoxib modulation on Kv7 potassium channels. *Br J Pharmacol* 164, 1722–1737. <https://doi.org/10.1111/J.1476-5381.2011.01483.X>
- Dubin, A.E., Patapoutian, A., 2010. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest* 120, 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. *J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc (Baltim)* 46, 208–209. <https://doi.org/10.1002/JPS.3030460322>
- 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. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 926, 9–15. <https://doi.org/10.1016/J.JCHROMB.2013.02.019>
- Essex, M.N., Behar, R., O’Connell, M.A., Brown, P.B., 2014. Efficacy and tolerability of celecoxib and naproxen versus placebo in Hispanic patients with knee osteoarthritis. *Int J Gen Med* 7, 227–235. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S61297>
- Finnerup, N.B., Attal, N., Haroutounian, S., McNicol, E., Baron, R., Dworkin, R.H., Gilron, I., Haanpää, M., Hansson, P., Jensen, T.S., Kamerman, P.R., Lund, K., Moore, A., Raja, S.N., Rice, A.S.C., Rowbotham, M., Sena, E., Siddall, P., Smith, B.H., Wallace, M., 2015. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 14, 162–173. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70251-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70251-0)

- Fitzcharles, M.A., Cohen, S.P., Clauw, D.J., Littlejohn, G., Usui, C., Häuser, W., 2021. Nociceptive pain: towards an understanding of prevalent pain conditions. *Lancet* 397, 2098–2110. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00392-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00392-5)
- FitzGerald, G.A., 2004. Prostaglandins: Modulators of inflammation and cardiovascular risk. *Journal of Clinical Rheumatology* 10. <https://doi.org/10.1097/01.RHU.0000130685.73681.8B>
- Fowler, C.J., Holt, S., Nilsson, O., Jonsson, K.O., Tiger, G., Jacobsson, S.O.P., 2005. The endocannabinoid signaling system: Pharmacological and therapeutic aspects. *Pharmacol Biochem Behav* 81, 248–262. <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2005.01.023>
- Frampton, J.E., Keating, G.M., 2007. Celecoxib: a review of its use in the management of arthritis and acute pain. *Drugs* 67, 2433–2472. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767160-00008>
- Funakoshi-Tago, M., Shimizu, T., Tago, K., Nakamura, M., Itoh, H., Sonoda, Y., Kasahara, T., 2008. Celecoxib potently inhibits TNF α -induced nuclear translocation and activation of NF- κ B. *Biochem Pharmacol* 76, 662–671. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2008.06.015>
- Fung, H.B., Kirschenbaum, H.L., 1999. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors for the treatment of arthritis. *Clin Ther* 21, 1131–1157. [https://doi.org/10.1016/S0149-2918\(00\)80018-1](https://doi.org/10.1016/S0149-2918(00)80018-1)
- 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. *Pharmacol Biochem Behav* 87, 331–340. <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2007.05.007>
- Goicoechea, C., Martín, M.I., 2006. Mecanismos periféricos y centrales del dolor. *Reumatol Clin* 2, S5–S9. [https://doi.org/10.1016/S1699-258X\(06\)73075-3](https://doi.org/10.1016/S1699-258X(06)73075-3)
- Gong, L., Thorn, C.F., Bertagnolli, M.M., Grosser, T., Altman, R.B., Klein, T.E., 2012. Celecoxib pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics* 22, 310–318. <https://doi.org/10.1097/FPC.0B013E32834F94CB>

- González-Chica, D.A., Vanlint, S., Hoon, E., Stocks, N., 2018. Epidemiology of arthritis, chronic back pain, gout, osteoporosis, spondyloarthropathies and rheumatoid arthritis among 1.5 million patients in Australian general practice: NPS MedicineWise MedicineInsight dataset. *BMC Musculoskelet Disord* 19. <https://doi.org/10.1186/S12891-018-1941-X>
- Gordo, A.C., Walker, C., Armada, B., Zhou, D., 2017. Efficacy of celecoxib versus ibuprofen for the treatment of patients with osteoarthritis of the knee: A randomized double-blind, non-inferiority trial. *J Int Med Res* 45, 59–74. <https://doi.org/10.1177/0300060516673707>
- Gota | Temas de salud | NIAMS [WWW Document], n.d. URL <https://www.niams.nih.gov/es/informacion-de-salud/gota/basics/symptoms-causes> (accessed 8.13.23).
- Guindon, J., Beaulieu, P., 2006. Antihyperalgesic effects of local injections of anandamide, ibuprofen, rofecoxib and their combinations in a model of neuropathic pain. *Neuropharmacology* 50, 814–823. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2005.12.002>
- 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. *J Am Coll Surg* 228, 769-775.e1. <https://doi.org/10.1016/J.JAMCOLLSURG.2019.01.020>
- Hassamal, S., Miotto, K., Dale, W., Danovitch, I., 2018. Tramadol: Understanding the Risk of Serotonin Syndrome and Seizures. *Am J Med* 131, 1382.e1-1382.e6. <https://doi.org/10.1016/J.AMJMED.2018.04.025>
- Hersh, E. V., Dionne, R.A., 2017. Nonopioid Analgesics. *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry: Seventh Edition* 257–275. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39307-2.00017-5>
- Huang, R.Y., Pei, L., Liu, Q., Chen, S., Dou, H., Shu, G., Yuan, Z.X., Lin, J., Peng, G., Zhang, W., Fu, H., 2019. Isobologram Analysis: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research. *Front Pharmacol* 10. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2019.01222>

- Hudspith, M.J., 2019. Anatomy, physiology and pharmacology of pain. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine* 20, 419–425. <https://doi.org/10.1016/J.MPAIC.2019.05.008>
- Hudspith, M.J., 2016. Anatomy, physiology and pharmacology of pain. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine* 17, 425–430. <https://doi.org/10.1016/J.MPAIC.2016.06.003>
- 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. *J Microbiol Biotechnol* 18, 1641–1647.
- Ivanavicius, S.P., Ball, A.D., Heapy, C.G., Westwood, F.R., Murray, F., Read, S.J., 2007. Structural pathology in a rodent model of osteoarthritis is associated with neuropathic pain: Increased expression of ATF-3 and pharmacological characterisation. *Pain* 128, 272–282. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2006.12.022>
- James, M.J., Cleland, L.G., 2006a. Cyclooxygenase-2 inhibitors: what went wrong? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 9, 89–94. <https://doi.org/10.1097/01.MCO.0000214565.67439.83>
- James, M.J., Cleland, L.G., 2006b. Cyclooxygenase-2 inhibitors: what went wrong? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 9, 89–94. <https://doi.org/10.1097/01.MCO.0000214565.67439.83>
- Jamison, R.N., Mao, J., 2015. Opioid Analgesics. *Mayo Clin Proc* 90, 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. *Pharmacol Biochem Behav* 95, 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. *Eur J Pharmacol* 318, 37–40. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(96\)00909-0](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(96)00909-0)
- Joshi, C., Ambi, U., Mirji, P., 2012. Can we use Tramadol as an anti-shivering agent? *Indian J Anaesth* 56, 91. <https://doi.org/10.4103/0019-5049.93359>

- Juárez-Rojop, I.E., Morales-Hernández, P.E., Tovilla-Zárate, C.A., Bermúdez-Ocaña, D.Y., Torres-Lopez, J.E., Ble-Castillo, J.L., Díaz-Zagoya, J.C., Granados-Soto, V., 2015. Celecoxib reduces hyperalgesia and tactile allodynia in diabetic rats. *Pharmacol Rep* 67, 545–552. <https://doi.org/10.1016/J.PHAREP.2014.12.006>
- Julius, D., Basbaum, A.I., 2001. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 2001 413:6852 413, 203–210. <https://doi.org/10.1038/35093019>
- Jüni, P., Rutjes, A.W.S., Dieppe, P.A., 2002. Are selective COX 2 inhibitors superior to traditional non steroidal anti-inflammatory drugs? *BMJ* 324, 1287–1288. <https://doi.org/10.1136/BMJ.324.7349.1287>
- Kalso, E., Edwards, J.E., Moore, R.A., McQuay, H.J., 2004. Opioids in chronic non-cancer pain: systematic review of efficacy and safety. *Pain* 112, 372–380. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2004.09.019>
- Karamchandani, K., Klick, J.C., Linskey Dougherty, M., Bonavia, A., Allen, S.R., Carr, Z.J., 2019a. Pain management in trauma patients affected by the opioid epidemic: A narrative review. *J Trauma Acute Care Surg* 87, 430–439. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000002292>
- Karamchandani, K., Klick, J.C., Linskey Dougherty, M., Bonavia, A., Allen, S.R., Carr, Z.J., 2019b. Pain management in trauma patients affected by the opioid epidemic: A narrative review. *J Trauma Acute Care Surg* 87, 430–439. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000002292>
- Kean, W.F., Buchanan, W.W., 2005. The use of NSAIDs in rheumatic disorders 2005: A global perspective. *Inflammopharmacology* 13, 343–370. <https://doi.org/10.1163/156856005774415565>
- Khademi, H., Kamangar, F., Brennan, P., Malekzadeh, R., 2016. Opioid Therapy and its Side Effects: A Review. *Arch Iran Med* 19, 870–876. <https://doi.org/0161912/aim.0010>
- Kidd, B.L., Langford, R.M., Wodehouse, T., 2007. Current approaches in the treatment of arthritic pain. *Arthritis Res Ther* 9, 1–7. <https://doi.org/10.1186/AR2147/FIGURES/5>

- Kieffer, B.L., Evans, C.J., 2002. Opioid Tolerance--In Search of the Holy Grail. *Cell* 108, 587–590. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00666-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00666-9)
- Klotz, U., 2003. Tramadol--the impact of its pharmacokinetic and pharmacodynamic properties on the clinical management of pain. *Arzneimittelforschung* 53, 681–687. <https://doi.org/10.1055/S-0031-1299812>
- Kosek, E., Altawil, R., Kadetoff, D., Finn, A., Westman, M., Le Maître, E., Andersson, M., Jensen-Urstad, M., Lampa, J., 2015. Evidence of different mediators of central inflammation in dysfunctional and inflammatory pain--interleukin-8 in fibromyalgia and interleukin-1 β in rheumatoid arthritis. *J Neuroimmunol* 280, 49–55. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2015.02.002>
- Kosek, E., Cohen, M., Baron, R., Gebhart, G.F., Mico, J.A., Rice, A.S.C., Rief, W., Sluka, A.K., 2016. Do we need a third mechanistic descriptor for chronic pain states? *Pain* 157, 1382–1386. <https://doi.org/10.1097/J.PAIN.0000000000000507>
- 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. *Eur J Pharmacol* 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. Danger-signale, autoinflammation und darüber hinaus. *Z Rheumatol* 67, 151–156. <https://doi.org/10.1007/S00393-007-0254-5/METRICS>
- Lanas, A., Benito, P., Alonso, J., Hernández-Cruz, B., Barón-Esquivias, G., Perez-Aísa, Á., Calvet, X., García-Llorente, J.F., Gobbo, M., Gonzalez-Juanatey, J.R., 2014. Recomendaciones para una prescripción segura de antiinflamatorios no esteroideos: documento de consenso elaborado por expertos nominados por 3 sociedades científicas (SER-SEC-AEG). *Reumatol Clin* 10, 68–84. <https://doi.org/10.1016/J.REUMA.2013.10.004>
- Lanas, A., Scheiman, J., 2007. Low-dose aspirin and upper gastrointestinal damage: epidemiology, prevention and treatment. *Curr Med Res Opin* 23, 163–173. <https://doi.org/10.1185/030079907X162656>

- Langeveld, W.T., Veldhuizen, E.J.A., Burt, S.A., 2014. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. *Crit Rev Microbiol* 40, 76–94. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763219>
- 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. *Eur J Pharmacol* 602, 41–49. <https://doi.org/10.1016/J.EJPBAR.2008.11.019>
- Lee, Y.H., Mollison, K., Cheng, W., 1971. The effects of anti-ulcer agents on indomethacin-induced gastric ulceration in the rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther*.
- Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E.P., Ambriz-Perez, D.L., Basilio Heredia, J., 2016. Flavonoids as Cytokine Modulators: A Possible Therapy for Inflammation-Related Diseases. *Int J Mol Sci* 17. <https://doi.org/10.3390/IJMS17060921>
- 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. *Int J Mol Sci* 24. <https://doi.org/10.3390/IJMS24087042>
- Little, C.B., Zaki, S., 2012. What constitutes an “animal model of osteoarthritis”--the need for consensus? *Osteoarthritis Cartilage* 20, 261–267. <https://doi.org/10.1016/J.JOCA.2012.01.017>
- Loewen, P.S., 2002. Review of the selective COX-2 inhibitors celecoxib and rofecoxib: focus on clinical aspects. *CJEM* 4, 268–275. <https://doi.org/10.1017/S1481803500007508>
- López-Muñoz, F.J., 1994. Surface of synergistic interaction between dipyrrone and morphine in the PIFIR model. *Drug Dev Res* 33, 26–32. <https://doi.org/10.1002/DDR.430330105>
- López-Muñoz, F.J., Castañeda-Hernández, G., Villalón, C.M., Terrón, J.A., Salazar, L.A., 1993a. Analgesic effects of combinations containing opioid drugs with either aspirin or acetaminophen in the rat. *Drug Dev Res* 29, 299–304. <https://doi.org/10.1002/DDR.430290408>

- 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. *Eur J Pharmacol* 484, 157–165. <https://doi.org/10.1016/J.EJP HAR.2003.11.005>
- López-Muñoz, F.J., Moreno-Rocha, L.A., Bravo, G., Guevara-López, U., Domínguez-Ramírez, A.M., Déciga-Campos, M., 2013. Enhancement of antinociception but not constipation by combinations containing tramadol and metamizole in arthritic rats. *Arch Med Res* 44, 495–503. <https://doi.org/10.1016/J.ARCMED.2013.09.004>
- López-Muñoz, F.J., Salazar, L.A., Castañeda-Hernández, G., Villarreal, J.E., 1993b. A new model to assess analgesic activity: Pain-induced functional impairment in the rat (PIFIR). *Drug Dev Res* 28, 169–175. <https://doi.org/10.1002/DDR.430280207>
- Lopez-Rubalcava, C., Fernandez-Guasti, A., 1994. Noradrenaline-serotonin interactions in the anxiolytic effects of 5-HT(1A) agonists. *Behavioural pharmacology* 5, 42–51. <https://doi.org/10.1097/00008877-199402000-00005>
- Mario Campero, S., 2014. Could pain be objective? *Revista Medica Clinica Las Condes* 25, 602–609. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(14\)70080-X](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(14)70080-X)
- Marnett, L.J., DuBois, R.N., 2002. COX-2: a target for colon cancer prevention. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 42, 55–80. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHARMTOX.42.082301.164620>
- Martinez, R.V., Reval, M.I.D., Campos, M.D., Terrón, J.A., Ramírez, A.M.D., López-Muñoz, F.J., 2002. Involvement of peripheral cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in inflammatory pain. *J Pharm Pharmacol* 54, 405–412. <https://doi.org/10.1211/0022357021778475>
- Martinon, F., Pétrilli, V., Mayor, A., Tardivel, A., Tschopp, J., 2006. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 440, 237–241. <https://doi.org/10.1038/NATURE04516>
- McCormack, P.L., Lanás, A., McKenna, F., Patrignani, P., Simon, L.S., 2011. Celecoxib: a review of its use for symptomatic relief in the treatment of osteoarthritis, rheumatoid

arthritis and ankylosing spondylitis. *Drugs* 71, 2457–2489.
<https://doi.org/10.2165/11208240-000000000-00000>

McKenzie, F.R., Milligan, G., 1990. Delta-opioid-receptor-mediated inhibition of adenylate cyclase is transduced specifically by the guanine-nucleotide-binding protein Gi2. *Biochem J* 267, 391–398. <https://doi.org/10.1042/BJ2670391>

Merlos, M., Portillo-Salido, E., Brenchat, A., Aubel, B., Buxens, J., Fisas, A., Codony, X., Romero, L., Zamanillo, D., Vela, J.M., 2018. Administration of a co-crystal of tramadol and celecoxib in a 1:1 molecular ratio produces synergistic antinociceptive effects in a postoperative pain model in rats. *Eur J Pharmacol* 833, 370–378. <https://doi.org/10.1016/J.EJPBAR.2018.06.022>

Mesa-Vanegas, A.M., 2017. Una visión histórica en el desarrollo de fármacos a partir de productos naturales. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 48, 16–27.

Mi, Y., Zhang, X., Zhang, F., Qi, J., Gao, H., Huang, D., Li, L., Zhang, H., Du, X., 2013. The role of potassium channel activation in celecoxib-induced analgesic action. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0054797>

Millan, M.J., 1999. The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* 57, 1–164. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(98\)00048-3](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(98)00048-3)

Miranda, H.F., Noriega, V., Zepeda, R.J., Sierralta, F., Prieto, J.C., 2012. Synergism between fentanyl and tramadol in tonic inflammatory pain: the orofacial formalin test. *Inflammation* 35, 1132–1137. <https://doi.org/10.1007/S10753-011-9420-7>

Mitchell, J.A., Akarasereenont, P., Thiemermann, C., Flower, R.J., Vane, J.R., 1993. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 11693–11697. <https://doi.org/10.1073/PNAS.90.24.11693>

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: Cloning, functional expression and localization. *FEBS Lett* 341, 33–38. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(94\)80235-1](https://doi.org/10.1016/0014-5793(94)80235-1)

- Moon, S.J., Park, J.S., Jeong, J.H., Yang, E.J., Park, M.K., Kim, E.K., Park, S.H., Kim, H.Y., Cho, M. La, Min, J.K., 2013. Augmented chondroprotective effect of coadministration of celecoxib and rebamipide in the monosodium iodoacetate rat model of osteoarthritis. *Arch Pharm Res* 36, 116–124. <https://doi.org/10.1007/S12272-013-0010-0/METRICS>
- 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. *Pharmacol Biochem Behav* 103, 1–5. <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2012.07.011>
- Muir, W.W., Woolf, C.J., 2001. Mechanisms of pain and their therapeutic implications. *J Am Vet Med Assoc* 219, 1346–1356. <https://doi.org/10.2460/JAVMA.2001.219.1346>
- 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., Linkermann, A., Anders, H.J., 2016. Cytotoxicity of crystals involves RIPK3-MLKL-mediated necroptosis. *Nat Commun* 7. <https://doi.org/10.1038/NCOMMS10274>
- Murphy, A.E., Minhas, D., Clauw, D.J., Lee, Y.C., 2023a. Identifying and Managing Nociceptive Pain in Individuals With Rheumatic Diseases: A Narrative Review. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 75, 2215–2222. <https://doi.org/10.1002/ACR.25104>
- Murphy, A.E., Minhas, D., Clauw, D.J., Lee, Y.C., 2023b. Identifying and Managing Nociceptive Pain in Individuals With Rheumatic Diseases: A Narrative Review. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 75, 2215–2222. <https://doi.org/10.1002/ACR.25104>
- Murphy, A.E., Minhas, D., Clauw, D.J., Lee, Y.C., 2023c. Identifying and Managing Nociceptive Pain in Individuals With Rheumatic Diseases: A Narrative Review. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 75, 2215–2222. <https://doi.org/10.1002/ACR.25104/ABSTRACT>
- Myrna, D.C., Moncerrat, R.M.P., Javier, L.M.F., 2015. Synergistic antinociceptive interaction between palmitoylethanolamide and tramadol in the mouse formalin test. *Eur J Pharmacol* 765, 68–74. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2015.08.025>

- Nafziger, A.N., Barkin, R.L., 2018. Opioid Therapy in Acute and Chronic Pain. *J Clin Pharmacol* 58, 1111–1122. <https://doi.org/10.1002/JCPH.1276>
- Nestler, E.J., 2004. Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology* 47, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.06.031>
- Nicholas, M., Vlaeyen, J.W.S., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Benoliel, R., Cohen, M., Evers, S., Giamberardino, M.A., Goebel, A., Korwisi, B., Perrot, S., Svensson, P., Wang, S.J., Treede, R.D., 2019. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain. *Pain* 160, 28–37. <https://doi.org/10.1097/J.PAIN.0000000000001390>
- Nozaki-Taguchi, N., Yaksh, T.L., 1999. Characterization of the antihyperalgesic action of a novel peripheral mu-opioid receptor agonist--loperamide. *Anesthesiology* 90, 225–234. <https://doi.org/10.1097/00000542-199901000-00029>
- O'Connor, A.B., Dworkin, R.H., 2009. Treatment of neuropathic pain: an overview of recent guidelines. *Am J Med* 122. <https://doi.org/10.1016/J.AMJMED.2009.04.007>
- 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 Rheum* 36, 1274–1285. <https://doi.org/10.1002/ART.1780360912>
- Paulson, S.K., Hribar, J.D., Liu, N.W.K., Hajdu, E., Bible, R.H., Piergies, A., Karim, A., 2000. Metabolism and Excretion of [14C]Celecoxib in Healthy Male Volunteers. *Drug Metabolism and Disposition* 28.
- Pedrero-Pérez, E.J., Morales-Alonso, S., Álvarez-Crespo, B., Benítez-Robredo, M.T., 2021. Opiate drug use in the city of Madrid: Associated health and sociodemographic factors. *Adicciones* 33, 235–244. <https://doi.org/10.20882/ADICCIONES.1335>
- Peláez-Ballestas, I., Sanin, L.H., Moreno-Montoya, J., Alvarez-Nemegyei, J., Burgos-Vargas, R., Garza-Elizondo, M., Rodríguez-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. *J Rheumatol Suppl* 86, 3–6. <https://doi.org/10.3899/JRHEUM.100951>
- Pertovaara, A., Almeida, A., 2006. Chapter 13 Descending inhibitory systems. *Handb Clin Neurol* 81, 179–192. [https://doi.org/10.1016/S0072-9752\(06\)80017-5](https://doi.org/10.1016/S0072-9752(06)80017-5)
- Pini, L.A., Vitale, G., Sancirini, M., 1997. Serotonin and opiate involvement in the antinociceptive effect of acetylsalicylic acid. *Pharmacology* 54, 84–91. <https://doi.org/10.1159/000139473>
- Piomelli, D., 2003. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci* 4, 873–884. <https://doi.org/10.1038/NRN1247>
- Polston, G.R., Wallace, M.S., 2016. Analgesic Agents in Rheumatic Disease. Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology: Volumes 1-2, Tenth Edition 1, 1075–1095. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-31696-5.00067-X>
- Preston, K.L., Jasinski, D.R., Testa, M., 1991. Abuse potential and pharmacological comparison of tramadol and morphine. *Drug Alcohol Depend* 27, 7–17. [https://doi.org/10.1016/0376-8716\(91\)90081-9](https://doi.org/10.1016/0376-8716(91)90081-9)
- Puebla Díaz, F., 2005. Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S.: Dolor iatrogénico. *Oncología (Barcelona)* 28, 33–37.
- Ragab, G., Elshahaly, M., Bardin, T., 2017. Gout: An old disease in new perspective - A review. *J Adv Res* 8, 495–511. <https://doi.org/10.1016/J.JARE.2017.04.008>
- Raiger, L.K., Naithani, U., Bhatia, S., Chauhan, S.S., 2012. Seizures after intravenous tramadol given as premedication. *Indian J Anaesth* 56, 55–57. <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. *Pain* 161, 1976–1982. <https://doi.org/10.1097/J.PAIN.0000000000001939>

- Rezende, R.M., Paiva-Lima, P., Dos Reis, W.G.P., Mesquita Camêlo, V., Bakhle, Y.S., Francischi, J.N. de, 2010. Celecoxib induces tolerance in a model of peripheral inflammatory pain in rats. *Neuropharmacology* 59, 551–557. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2010.07.022>
- Rezende, R.M., Reis, W.G.P. dos, Duarte, I.D.G., Lima, P.P., Bakhle, Y.S., Francischi, J.N. de, 2009. The analgesic actions of centrally administered celecoxib are mediated by endogenous opioids. *Pain* 142, 94–100. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2008.12.005>
- Rodieux, F., Vutskits, L., Posfay-Barbe, K.M., Habre, W., Piguet, V., Desmeules, J.A., Samer, C.F., 2018. When the safe alternative is not that safe: Tramadol prescribing in children. *Front Pharmacol* 9. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2018.00148>
- Romera, E., Perena, MJ, Perena, MF, Rodrigo, M., 2000. Neurofisiología del dolor. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 11–17.
- Ruiz Mejía, C., María, A., Pérez, P., Urrego Vásquez, A., Daniel, ;, González, G., 2016. Adherencia al tratamiento en artritis reumatoide: condición indispensable para el control de la enfermedad Adherence to treatment in rheumatoid arthritis: an essential condition for disease control. *Revista Cubana de Medicina General Integral* 32.
- Salazar, L.A., Martínez, R.V., López-Muñoz, F.J., 1995. Synergistic antinociceptive interaction between aspirin and tramadol, the atypical opioid analgesic, in the rat. *Drug Dev Res* 36, 119–124. <https://doi.org/10.1002/DDR.430360304>
- 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 Rheum* 46, 1643–1650. <https://doi.org/10.1002/ART.10326>
- Schuelert, N., McDougall, J.J., 2008. Cannabinoid-mediated antinociception is enhanced in rat osteoarthritic knees. *Arthritis Rheum* 58, 145–153. <https://doi.org/10.1002/ART.23156>
- Schug, S.A., 2007. The role of tramadol in current treatment strategies for musculoskeletal pain. *Ther Clin Risk Manag* 3, 717.

- Schwab, J.M., Schluesener, H.J., Meyermann, R., Serhan, C.N., 2003. COX-3 the enzyme and the concept: Steps towards highly specialized pathways and precision therapeutics? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 69, 339–343. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2003.07.003>
- Scott, L.J., Perry, C.M., 2000. Tramadol: a review of its use in perioperative pain. *Drugs* 60, 139–176. <https://doi.org/10.2165/00003495-200060010-00008>
- Scott, P., Ma, H., Viriyakosol, S., Terkeltaub, R., Liu-Bryan, R., 2006. Engagement of CD14 mediates the inflammatory potential of monosodium urate crystals. *J Immunol* 177, 6370–6378. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.177.9.6370>
- Shamsi Meymandi, M., Sepehri, G., Izadi, G., Zamiri, Z., 2019. Evidence for antinociceptive effects of combined administration of vitamin E and celecoxib in tail-flick and formalin test in male rats. *Pharmacological Reports* 71, 457–464. <https://doi.org/10.1016/J.PHAREP.2019.02.005/METRICS>
- Shinozaki, T., Yamada, T., Nonaka, T., Yamamoto, T., 2015. Acetaminophen and non-steroidal anti-inflammatory drugs interact with morphine and tramadol analgesia for the treatment of neuropathic pain in rats. *J Anesth* 29, 386–395. <https://doi.org/10.1007/S00540-014-1953-0>
- Shrestha, M., Chiu, M.J., Martin, R.L., Cush, J.J., Waincott, M.S., 1994. Treatment of acute gouty arthritis with intramuscular ketorolac tromethamine. *Am J Emerg Med* 12, 454–455. [https://doi.org/10.1016/0735-6757\(94\)90061-2](https://doi.org/10.1016/0735-6757(94)90061-2)
- Silverstein, F.E., Faich, G., Goldstein, J.L., Simon, L.S., Pincus, T., Whelton, A., Makuch, R., Eisen, G., Agrawal, N.M., Stenson, W.F., Burr, A.M., Zhao, W.W., Kent, J.D., Lefkowitz, J.B., Verburg, K.M., Geis, G.S., 2000. Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: A randomized controlled trial. *Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study. JAMA* 284, 1247–1255. <https://doi.org/10.1001/JAMA.284.10.1247>

- Simmons, D.L., Botting, R.M., Hla, T., 2004. Cyclooxygenase Isozymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition. *Pharmacol Rev* 56, 387–437. <https://doi.org/10.1124/PR.56.3.3>
- Simon, L.S., Weaver, A.L., Graham, D.Y., Kavitz, A.J., Lipsky, P.E., Hubbard, R.C., Isakson, P.C., Verburg, K.M., Yu, S.S., Zhao, W.W., Geis, G.S., 1999. Anti-inflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. *JAMA* 282, 1921–1928. <https://doi.org/10.1001/JAMA.282.20.1921>
- Simon, S., Lanza, F., Lipsky, P., Hubbard, R., Talwalker, S., Schwartz, B., Isakson, P., Geis, G., 1998. Preliminary study of the safety and efficacy of SC-58635, a novel cyclooxygenase 2 inhibitor: efficacy and safety in two placebo-controlled trials in osteoarthritis and rheumatoid arthritis, and studies of gastrointestinal and platelet effects. *Arthritis Rheum* 1591–1602.
- Sostres, C., Lanás, Á., 2016. Prescripción apropiada, adherencia y seguridad de los antiinflamatorios no esteroideos. *Med Clin (Barc)* 146, 267–272. <https://doi.org/10.1016/J.MEDCLI.2015.09.022>
- 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. *Eur J Pharmacol* 155, 255–264. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(88\)90511-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(88)90511-0)
- Tacconelli, S., Capone, M.L., Sciulli, M.G., Ricciotti, E., Patrignani, P., 2002. The Biochemical Selectivity of Novel COX-2 Inhibitors in Whole Blood Assays of COX-isozyme Activity. *Curr Med Res Opin* 18, 503–511. <https://doi.org/10.1185/030079902125001335>
- Tallarida, R.J., 2011. Quantitative Methods for Assessing Drug Synergism. *Genes Cancer* 2, 1003–1008. https://doi.org/10.1177/1947601912440575/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1947601912440575-FIG4.JPEG

- Tamayo-Valenzuela, A.C., Javier López-Muñoz, F., Guevara-López, U., Lara-Solares, A., Anestesiólogo Algólogo adscrito, M., 2004. Evaluación del modelo PIFIR en dolor neuropático. Comparación de tres esquemas antinociceptivos en ratas. *Revista Mexicana de Anestesiología* 27, 10–15.
- Tao, H., Mo, Y., Liu, W., Wang, H., 2023. A review on gout: Looking back and looking ahead. *Int Immunopharmacol* 117. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2023.109977>
- 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, 26–35. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2009.08.013>
- Terkeltaub, R.A., 2003. Clinical practice. Gout. *N Engl J Med* 349, 1647–1655. <https://doi.org/10.1056/NEJMCP030733>
- Tindall, E.A., Sharp, J.T., Burr, A., Katz, T.K., Wallemark, C.B., Verburg, K., Lefkowitz, J.B., 2002. A 12-month, multicenter, prospective, open-label trial of radiographic analysis of disease progression in osteoarthritis of the knee or hip in patients receiving celecoxib. *Clin Ther* 24, 2051–2063. [https://doi.org/10.1016/S0149-2918\(02\)80096-0](https://doi.org/10.1016/S0149-2918(02)80096-0)
- 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, 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., 2000. Opioid tolerance induced by metamizol (dipyrone) microinjections into the periaqueductal grey of rats. *Eur J Neurosci* 12, 4074–4080. <https://doi.org/10.1046/J.1460-9568.2000.00295.X>
- 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. *Eur J Neurosci* 7, 1857–1865. <https://doi.org/10.1111/J.1460-9568.1995.TB00706.X>

- Tortorici, V., Vanegas, H., 1994. Putative role of medullary off- and on-cells in the antinociception produced by dipyrene (metamizol) administered systemically or microinjected into PAG. *Pain* 57, 197–205. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90224-0](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90224-0)
- Tortorici, V., Vásquez, E., Vanegas, H., 1996. Naloxone partial reversal of the antinociception produced by dipyrene microinjected into the periaqueductal gray of rats. Possible involvement of medullary off- and on-cells. *Brain Res* 725, 106–110. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00196-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00196-5)
- Vane, J.R., 1971. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 231, 232–235. <https://doi.org/10.1038/NEWBIO231232A0>
- Vanegas, H., Vazquez, E., Tortorici, V., 2010. NSAIDs, Opioids, Cannabinoids and the Control of Pain by the Central Nervous System. *Pharmaceuticals (Basel)* 3, 1335–1347. <https://doi.org/10.3390/PH3051335>
- Vargas-Schaffer, G., 2010. Is the WHO analgesic ladder still valid?: Twenty-four years of experience. *Canadian Family Physician* 56, 514.
- Vaughan, C.W., 1998. Enhancement of opioid inhibition of GABAergic synaptic transmission by cyclo-oxygenase inhibitors in rat periaqueductal grey neurones. *Br J Pharmacol* 123, 1479–1481. <https://doi.org/10.1038/SJ.BJP.0701818>
- Vaughan, C.W., Ingram, S.L., Connor, M.A., Christie, M.J., 1997. How opioids inhibit GABA-mediated neurotransmission. *Nature* 390, 611–614. <https://doi.org/10.1038/37610>
- 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. *Biomed Pharmacother* 70, 234–238. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2015.01.022>
- Ventura-Martínez, R., Déciga-Campos, M., Díaz-Reval, M.I., González-Trujano, M.E., López-Muñoz, F.J., 2004. Peripheral involvement of the nitric oxide-cGMP pathway in

- the indomethacin-induced antinociception in rat. *Eur J Pharmacol* 503, 43–48. <https://doi.org/10.1016/J.EJP HAR.2004.09.018>
- Voilley, N., De Weille, J., Mamet, J., Lazdunski, M., 2001. Nonsteroid Anti-Inflammatory Drugs Inhibit Both the Activity and the Inflammation-Induced Expression of Acid-Sensing Ion Channels in Nociceptors.
- Williams, B.S., Buvanendran, A., 2011. Nonopioid analgesics: NSAIDs, COX-2 inhibitors, and acetaminophen. *Essentials of Pain Medicine* 130–139. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-2242-0.00026-2>
- Willis, W.D., Coggeshall, R.E., 2004. Sensory Mechanisms of the Spinal Cord. *Sensory Mechanisms of the Spinal Cord*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0037-7>
- Woolf, C.J., 2010. What is this thing called pain? *Journal of Clinical Investigation* 120, 3742–3744. <https://doi.org/10.1172/JCI45178>
- Woolf, C.J., 2004. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Ann Intern Med* 140, 441–451. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-140-8-200404200-00010>
- Woolf, C.J., Salter, M.W., 2000. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science* 288, 1765–1768. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.288.5472.1765>
- 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 Res Ther* 18. <https://doi.org/10.1186/S13075-016-1012-3>
- 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)