

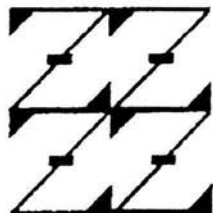


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**“CO-ADMINISTRACIÓN DE
INDOMETACINA Y
CAFEÍNA EN RATAS
MONOARTRÍTICAS”**

**UNAM
FES
ZARAGOZA**



**LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXIÓN**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A :
EDGAR HERNÁNDEZ JUÁREZ**

**DIRECTOR: DRA. Rosa Ventura Martínez
ASESOR: M. En C., Valentín Islas Pérez**

MÉXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"

JEFATURA DE LA CARRERA DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO BIÓLOGO

ASUNTO: ASIGNACION DE SINODALES

ESTIMADOS MAESTROS:

La Dirección de la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", ha nombrado a ustedes como Sinodales del Examen Profesional del (la) señor (ita):

HERNÁNDEZ JUÁREZ EDGAR

para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo.

Les agradeceré se sirvan revisar el trabajo escrito intitulado: "Co-Administración de indometacina y cafeína en ratas monoartríticas"

Y asistir en la fecha que después se les hará saber al Examen de Recepción Profesional.

PRESIDENTE	M. C. RAÚL ZAVALA CHAVERO
VOCAL*	DRA. ROSA VENTURA MARTÍNEZ
SECRETARIO	M. en C. VALENTÍN ISLAS PÉREZ
SUPLENTE	Q.F.I. ESTELA VALENCIA PLATA
SUPLENTE	Q.F.B. ESPERANZA JÍMENEZ CASTAÑEDA

ATENTAMENTE.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

México, D.F. a 06 de Octubre de 1993.

Q.F.B. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ M. LÉNDEZ
JEFE DE LA CARRERA

c.c.p. Departamento de Control de Egresados
c.c.p. Interesado

EL TRABAJO FUE REALIZADO EN EL LABORATORIO DE “DOLOR Y ANALGESIA” DE LA SECCIÓN DE TERAPÉUTICA EXPERIMENTAL DEL DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS DEL IPN.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres

Ya que gracias a ellos he podido dar un paso más en esta gran aventura de vida. Quiero agradecerles infinitamente todo lo que han sacrificado por mi, ustedes han hecho firmes mis propósitos, de luchar hasta el final, son el más grande ejemplo de vida para mi, sólo les dedico mi vida.

A mis hermanas

Ustedes que hoy luchan incesantemente Martha por ti estudié lo que ahora soy, Claudia tu que vives cada día al máximo Y tu Tania la pequeña, pero con más experiencia que yo en esta vida.

A mi futura esposa

Tu, que desde que me conociste has creído en mi, te dedico este trabajo, uno de los éxitos que comparto contigo, gracias por esforzarme a terminarlo, espero compartir mi vida contigo, será otro gran éxito.

A mi demás familia

Les doy gracias por ser la familia que son y porque se que muchos de ustedes me han apoyado en las buenas y en las malas.

A mis amigos

No es necesario nombrarlos, ustedes saben quienes son y porque, gracias por ser parte de mi vida.

A mis asesores

Quiero agradecer al Dr. Francisco J. López Muñoz, ya que por el se hizo posible la realización de este trabajo y principalmente agradezco a la Dra. Rosa Ventura M. por haberme ayudado y por todos los consejos para que este trabajo quedara lo mejor posible. También al profesor M. en C. Valentín Islas Pérez por asesorarme en este trabajo.

A mis sinodales

Por las observaciones profesionales hacia este trabajo.

A mis profesores

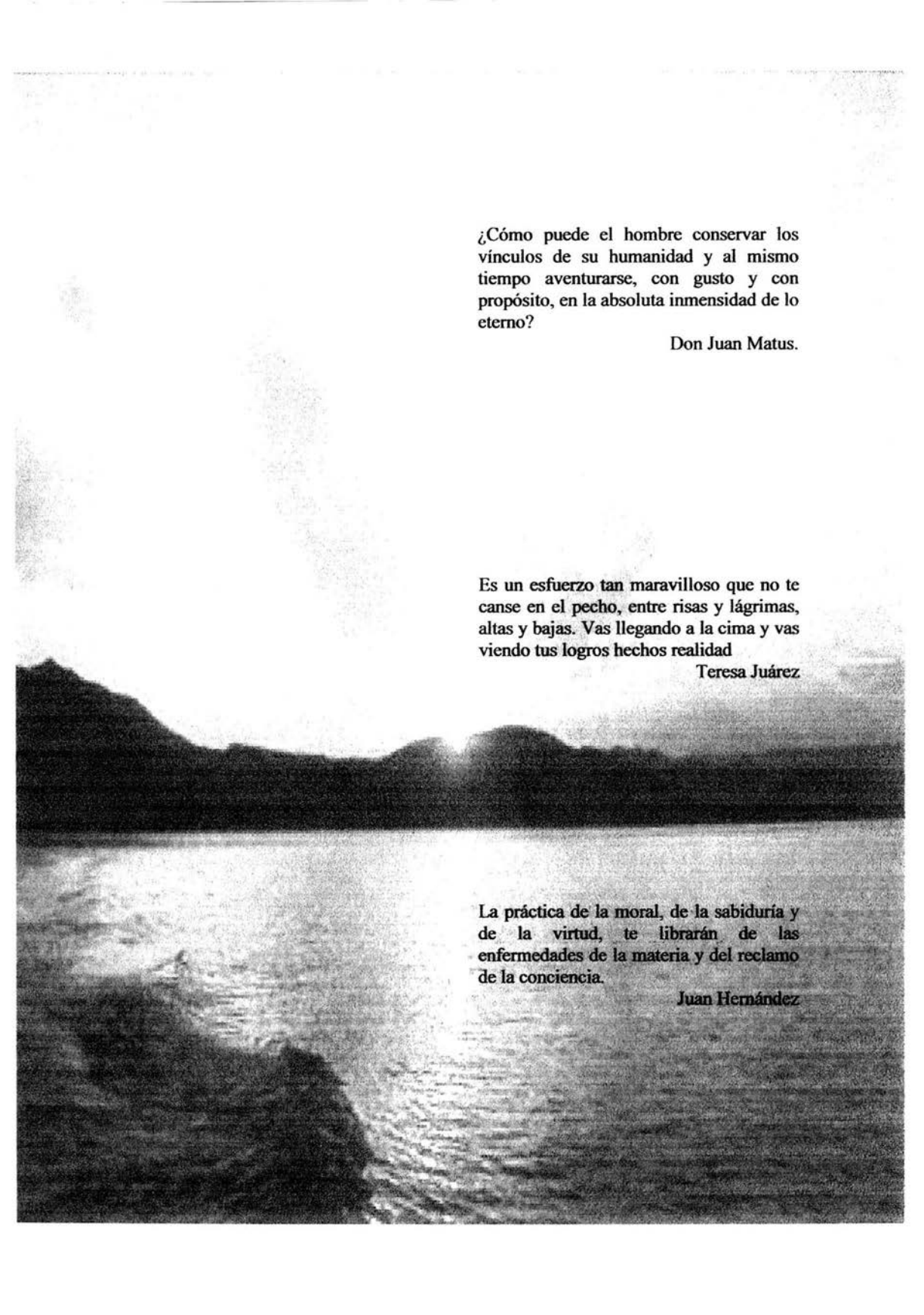
Quiero darles las gracias por haberme enseñado un camino e iluminarlo con su sabiduría.

A mi querida escuela

Un enorme agradecimiento a mi escuela, mi segundo hogar, un lugar que me dio calidez, en donde conocí a mis mejores amigos. Esta escuela que me dio las mejores armas para poderme forjar un mejor destino. Se que a mis maestros y a mi escuela nunca los defraudaré, porque de aquí salgo siendo un hombre.

En memoria

A todos los que aunque ya no están en este mundo compartieron algunas de mis vivencias.



¿Cómo puede el hombre conservar los
vínculos de su humanidad y al mismo
tiempo aventurarse, con gusto y con
propósito, en la absoluta inmensidad de lo
eterno?

Don Juan Matus.

Es un esfuerzo tan maravilloso que no te
cansa en el pecho, entre risas y lágrimas,
altas y bajas. Vas llegando a la cima y vas
viendo tus logros hechos realidad

Teresa Juárez

La práctica de la moral, de la sabiduría y
de la virtud, te librarán de las
enfermedades de la materia y del reclamo
de la conciencia.

Juan Hernández

Tabla de contenido

Índice de Gráficas.....	iii
Índice de Figuras.....	iv
Índice de Tablas.....	iv
Resúmen.....	v
1. Introducción.....	1
2. Marco teórico.....	3
2.1. El Dolor.....	3
2.1.1. Tipos de dolor.....	3
2.1.2. Mecanismo del dolor.....	4
2.2. Inflamación.....	7
2.2.1. Acción de las prostaglandinas en la inflamación.....	7
2.3. Analgésicos y sus generalidades.....	9
2.3.1. Mecanismo de los analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINE's).....	10
2.3.2. Características farmacocinéticas y farmacodinámicas de Indometacina.....	11
2.4. Interacciones en la combinación de analgésicos con adyuvantes analgésicos.....	14
2.4.1. Tipos de interacciones.....	14
2.4.2. La Cafeína como un adyuvante analgésico.....	15
3. Planteamiento del problema.....	18
4. Objetivos.....	20
4.1. Objetivo general.....	20
4.2. Objetivos particulares.....	20
5. Hipótesis.....	21
6. Parte experimental.....	22
6.1. Metodología.....	22

6.1.1. Anestesia.....	22
6.1.2. Inducción del dolor.....	23
6.1.3. Adiestramiento de las ratas.....	24
6.1.4. Evaluación farmacológica.....	24
6.1.5. Análisis estadístico.....	26
7. Resultados.....	28
7.1. Controles del modelo.....	28
7.2. Cursos temporales (CT) y curvas dosis-respuesta (CDR) de Indometacina y Cafeína en administración individual.....	29
7.3. Efectos analgésicos obtenidos con las diferentes combinaciones de indometacina y cafeína.....	33
8. Análisis de resultados.....	45
9. Conclusiones.....	49
10. Referencias.....	50

Índice de Gráficas.

Gráfica	Pag.
1. Cursos temporales de los vehículos utilizados para la administración de los fármacos (controles) en el modelo experimental PIFIR.....	29
2. Cursos Temporales de las diferentes dosis de cafeína (p.o.)	30
3. Cursos Temporales de las diferentes dosis de indometacina (p.o.).....	31
4. Curvas dosis-respuesta de indometacina y cafeína (p.o.).....	32
5. Cursos temporales de las diferentes dosis de indometacina con la dosis de cafeína de 3.2 mg/kg.....	34
6. Cursos temporales de las diferentes dosis de indometacina con 5.6 mg/kg de cafeína.....	35
7. Cursos temporales de las diferentes dosis de indometacina con 10.0 mg/kg.....	36
8. Cursos temporales de las diferentes dosis de indometacina con 17.8 mg/kg de cafeína.....	37
9. Curvas dosis-respuesta de la administración individual de indometacina y cafeína y de sus diferentes combinaciones.....	38
10. CDR de cafeína, indometacina, combinación de indometacina con 3.2 mg/kg de cafeína (Comb1), y combinación de indometacina con 17.8 mg/kg de cafeína (Comb4).....	40
11. Cursos temporales de las dosis individuales y de la combinación que produjo la máxima potenciación en el modelo PIFIR.....	41
12. Cursos temporales de las dosis individuales y de la combinación que produjo el máximo efecto analgésico en el modelo PIFIR	42

Índice de Figuras.

Figura	Pag.
1. Sustancias capaces de estimular a los nociceptores.....	5
2. Transmisión del mensaje de dolor al Sistema Nervioso Central.....	7
3. Procesos que intervienen en el fenómeno inflamatorio.....	9
4. Indometacina.....	13
5. Mecanismo de acción de la Indometacina.....	13
6. Cafeína.....	17
7. Ubicación de la articulación fémur-tibio-rotular, donde se realiza la punción intraarticular.....	24
8. Dispositivo para la evaluación farmacológica.....	26
9. Diagrama de Flujo para el procedimiento experimental.....	28

Índice de Tablas.

Tabla.	Pag.
1. Diferencia del efecto de cada combinación indometacina-cafeína con respecto a sus dosis individuales.....	43

Resumen

El dolor es el síntoma más frecuente por el que el médico es visitado y comienza con la estimulación de uno o más de los numerosos receptores sensitivos especiales, denominados nociceptores, que hay en la piel y en los órganos internos. Estos receptores reciben información sobre el calor intenso, presión extrema, pinchazos o cortes, u otras acciones que puedan provocar daño corporal.

El fármaco que alivia el dolor sin producir pérdida de la conciencia es el *Analgésico*. Los analgésicos forman un gran grupo que abarca desde los derivados del opio, como la morfina o la codeína, hasta los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos como el ácido acetil salicílico, la indometacina, el paracetamol y el ibuprofeno. Los analgésicos opiáceos actúan sobre el sistema nervioso central, y como producen dependencia, deben ser utilizados únicamente en el dolor intenso. Los opiáceos sintéticos como el propoxifeno, la pentazocina o el butorfanol, también crean dependencia. Los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos actúan inhibiendo la síntesis de prostaglandinas (mediadores del dolor y la inflamación) en los tejidos periféricos. El ácido acetil-salicílico es un buen analgésico anti-inflamatorio pero puede irritar la mucosa gástrica, mientras que el paracetamol es analgésico pero tiene un escaso efecto antiinflamatorio. El ibuprofeno también es anti-inflamatorio pero puede irritar la mucosa gástrica, aumentar la tensión arterial y producir lesiones renales a largo plazo.

Estos efectos considerados como secundarios han impulsado las investigaciones sobre procedimientos analgésicos que utilicen combinación de fármacos con diferentes mecanismos de acción, y que reduzcan los efectos

adversos del analgésico, pero se mantenga o aumente en lo posible el efecto analgésico.

La indometacina es un analgésico con una gran potencia anti-inflamatoria, pero su uso no es muy frecuente debido a sus efectos secundarios, principalmente daño a la mucosa gástrica. Sin embargo el surgimiento de adyuvantes analgésicos ha sido muy importante debido a que se ha encontrado que al combinarse con algunos analgésicos se puede aumentar el efecto analgésico con dosis mínimas, reduciendo además los efectos secundarios de dichos analgésicos. Las interacciones entre adyuvantes como es la cafeína con algunos analgésicos ha resultado exitosa, potenciando la respuesta analgésica de dichos fármacos y con dosis pequeñas. Además resulta importante saber que este tipo de investigaciones no resultan tardadas como en el caso en el cual pueda surgir un medicamento nuevo.

En el presente trabajo se evaluó el efecto analgésico producido por 24 combinaciones de *Indometacina* con *Cafeína* en un modelo de dolor artrítico en ratas. Se encontró que la interacción de éstos dos fármacos produjeron 12 combinaciones con efectos de potenciación y 12 combinaciones con efecto de suma. Se evaluó el efecto de los fármacos de manera individual y se encontró que cafeína no desarrollo ningún efecto analgésico, mientras que indometacina tuvo un efecto analgésico moderado dosis-dependiente como se reporta en la literatura. Con este trabajo se pudo aportar una opción más para el tratamiento del dolor y que puede reducir significativamente los problemas secundarios de un analgésico importante pudiendo además ser utilizado de manera crónica si así se requiriera.

1. Introducción

Por muchos años se ha investigado una serie de compuestos químicos que nos ayuden en el tratamiento de diversas enfermedades; sin embargo, frecuentemente se tiene que tratar primero los síntomas de la enfermedad antes que la propia enfermedad. Uno de los síntomas más importantes en diversas patologías, y que además es uno de los mecanismos de alarma más valiosos del organismo, es el dolor.

Es de tal importancia este síntoma, que se llevan a cabo un gran número de investigaciones que pretenden determinar los mecanismos involucrados que lo generan, así, como posibles alternativas terapéuticas para aliviarlo con la mínima generación de efectos adversos.

El dolor es un problema que lleva desde el empleo de sustancias químicas de fácil administración hasta, incluso, procedimientos neuroquirúrgicos muy sofisticados; con el fin de aliviarlo. Así también, los antiguos medicamentos para este fin han sido mejorados o sustituidos, como la morfina. Este compuesto ha sido la base de los más eficaces analgésicos sintetizados, pero producen dependencia y deprimen tanto el centro cerebral de la respiración que a veces lo bloquean.

Afortunadamente, en la mayoría de los casos, el dolor se puede controlar con fármacos que disminuyen su umbral y que no son adictivos como la morfina y sus derivados, estos son los analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AAINE's). Los AAINE's generalmente se utilizan en dolores de leves a moderados, pero hay ocasiones en las cuales el dolor persiste, por lo que es necesario utilizar analgésicos más eficaces como los opioides que se utilizan en

el dolor intenso, a pesar de sus efectos adversos, lo que limita su uso importantemente.

Por lo anterior, se comenzó a experimentar con la combinación de fármacos empleando dosis más pequeñas que las usadas terapéuticamente, con el fin de incrementar sus efectos terapéuticos y disminuir sus efectos adversos. Los efectos producidos por estas asociaciones son conocidas en la farmacología como *sinergismo*.

Ejemplos de combinaciones de analgésicos que surgieron de este tipo de experimentos son el Febrax, que contiene naproxeno con paracetamol y la cafiaspirina que surgió de la combinación del ácido acetilsalicílico y un adyuvante analgésico, como la cafeína. En los últimos años se sigue experimentando con combinaciones de AAINE's como el ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco y otros, con cafeína.

La indometacina es uno de los analgésicos anti-inflamatorios más potentes del tipo de los AAINE's usado actualmente en la clínica, sin embargo, su uso está limitado debido a sus efectos secundarios como daño gastrointestinal y renal, relacionados con la dosis. Por lo que es importante explorar la manera de incrementar su efecto analgésico y reducir sus efectos adversos por disminución de su dosis.

Debido a esto el objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto analgésico de varias combinaciones de indometacina con cafeína en un modelo experimental de dolor artrítico en ratas, el cuál fue desarrollado en México por López-Muñoz y colaboradores. El modelo es llamado "Disfunción Inducida por Dolor en rata" (PIFIR por sus siglas en ingles) y consiste en generar un dolor de tipo artritis gotosa por la administración intra-articular de ácido úrico en ratas. El efecto analgésico producido por la combinación de indometacina-cafeína se comparó con el efecto analgésico de indometacina sola.

2. Marco teórico

2.1.El Dolor

El dolor es definido por la Asociación Internacional Para el Estudio del Dolor como una sensación no placentera y una experiencia emocional asociada con un daño real o potencial al tejido, o descrito en términos de ese daño¹.

En muchos casos los síntomas dolorosos que se generan por una lesión o una enfermedad son muy frecuentes, por lo que el médico está obligado a tratarlos, incluso antes de conocer la patología que los produce. El dolor es producido comúnmente por estímulos que a menor intensidad provocan otro tipo de sensaciones somáticas como calor, frío o contacto mecánico².

2.1.1. Tipos de dolor

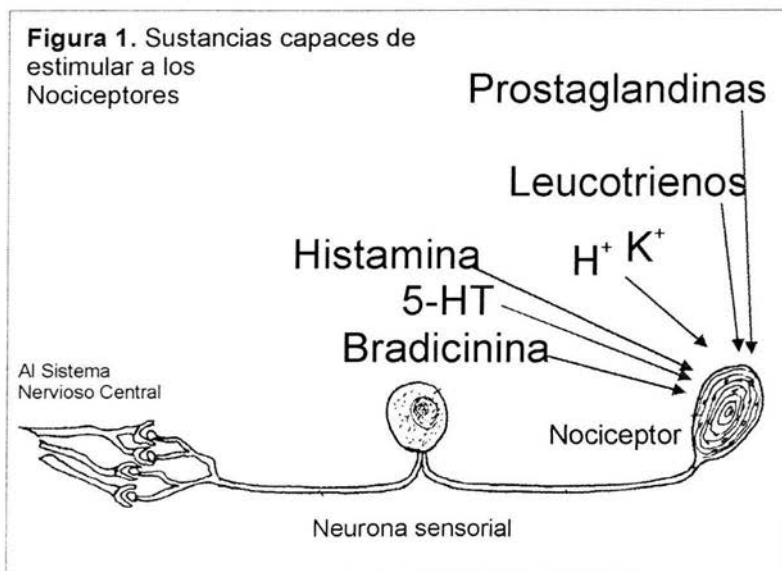
El dolor se clasifica principalmente en dos tipos: rápido y lento. El dolor rápido se conoce como dolor agudo, pulsátil o eléctrico. El dolor lento también tiene nombres alternativos como: crónico, angustiante o intenso³.

En el dolor agudo, el daño suele ser local y este puede ser reparado sin problemas por los mecanismos homeostáticos del organismo. El dolor crónico generalmente es el resultado de sintomatologías mucho más drásticas que con el dolor agudo, en donde el daño puede exceder la capacidad de cicatrización del organismo, por la pérdida de alguna parte del cuerpo, la extensión del trauma o la involucración de daño en el sistema nervioso mismo. Lo que distingue al

dolor agudo del dolor crónico además de la duración del dolor, es la incapacidad del organismo para restablecer sus funciones fisiológicas a los niveles homeostáticos⁴.

2.1.2. Mecanismo del dolor

Los receptores sensoriales para el dolor son terminales nerviosas libres no encapsuladas, que son excitadas por diversos estímulos físicos y químicos que liberan compuestos hiperalgésicos como prostaglandinas, histamina, bradicinina y leucotrienos, los cuales actúan sobre estas terminales nerviosas (figura 1), también conocidas como receptores del dolor o *nociceptores*².



Estos nociceptores se encuentran en todos los tejidos corporales, aunque no todas las terminaciones nerviosas libres transportan la sensación de dolor.

De manera general, los estímulos nociceptivos agudos se transmiten de los nervios periféricos hacia la médula espinal a través de fibras mielinizadas llamadas A δ que miden de 2 a 5 μm de diámetro y conducen la señal a velocidades de 12 a 30 m/seg; y el dolor crónico, es transmitido por fibras C no mielinizadas que miden de 0.4 a 1.2 μm , y que conducen la señal a una velocidad de 0.5 a 2 m/seg³.

Ambos grupos de fibras llegan al asta dorsal de la médula espinal; las fibras A delta terminan principalmente en neuronas de las láminas I y V, mientras que las fibras C llegan en neuronas ubicadas en las láminas I y II. Posteriormente, algunos axones de las neuronas del asta dorsal llegan a la médula espinal y al tallo encefálico; otros entran al sistema anterolateral, incluso al fascículo espinotalámico lateral; unos pocos ascienden en la porción posterolateral de la médula. Algunas de las fibras ascendentes se proyectan a los núcleos sensitivos específicos de relevo del tálamo y desde allí, a la corteza cerebral. Son muchas las fibras activadas por las terminaciones dolorosas en el sistema reticular, las cuales se proyectan hacia la línea media y hacia los núcleos de proyección inespecíficos intralaminares del tálamo y, de ahí, hacia muchas partes diferentes de la corteza; otras se proyectan hacia el tálamo, y algunas terminan en la sustancia gris periacueductal, un área que se sabe tiene participación en la sensación dolorosa, como se esquematiza de manera general en la figura 2. Al ser estimulados los nociceptores por daño al tejido o por la presencia de un material extraño, se induce una respuesta temprana que puede ser contemplada como una reacción de alarma por el organismo⁵.

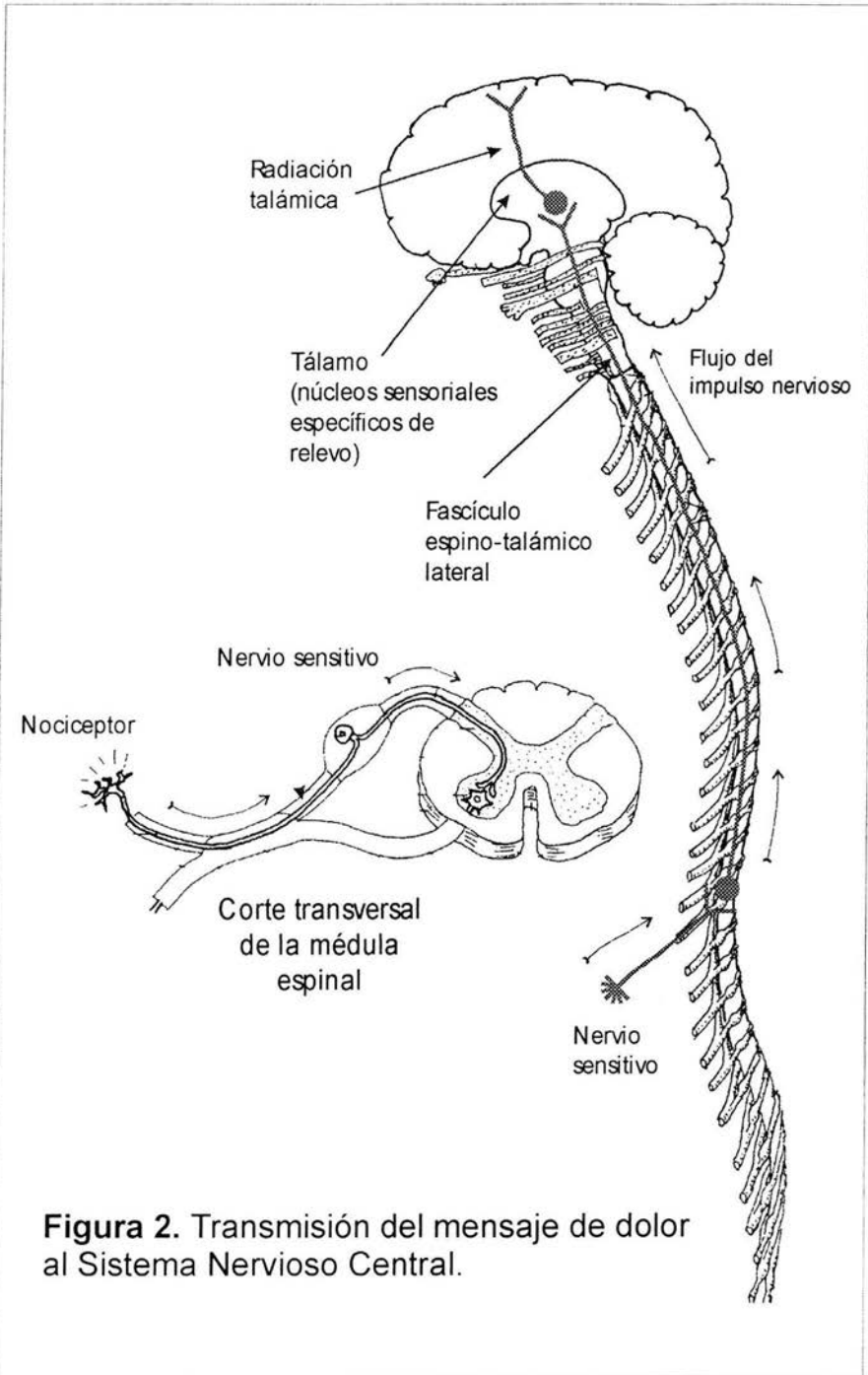


Figura 2. Transmisión del mensaje de dolor al Sistema Nervioso Central.

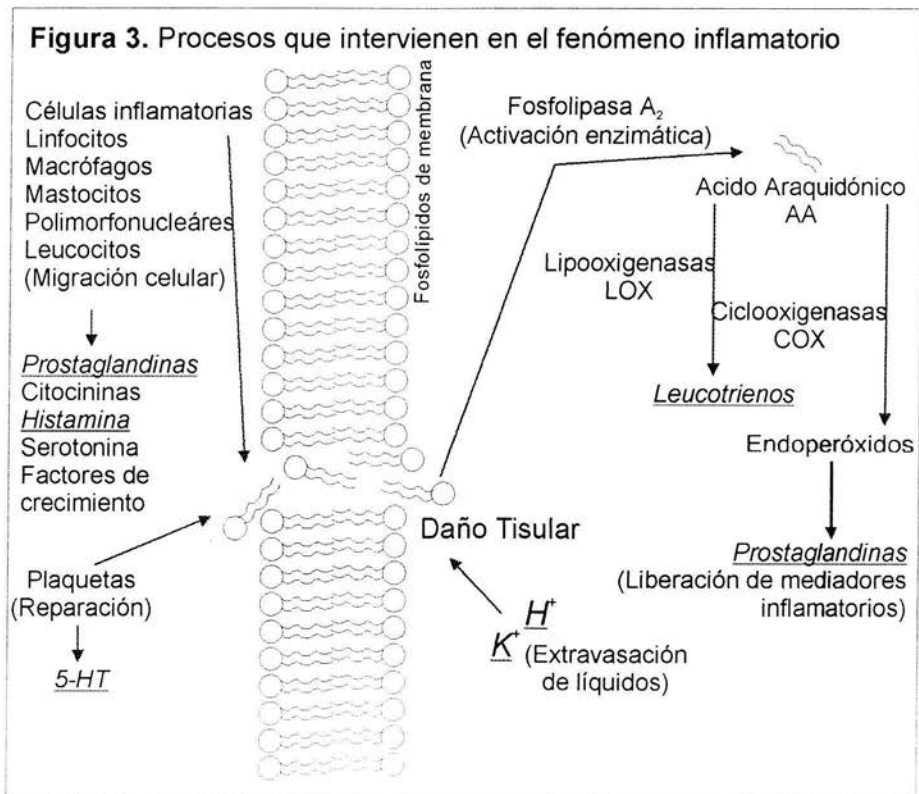
2.2. Inflamación

El proceso inflamatorio es un mecanismo para proteger al organismo contra el ataque de agentes invasores, este implica una serie de eventos que pueden ser producidos por numerosos estímulos (por ejemplo, agentes infecciosos, isquemia, interacciones antígeno-anticuerpo y lesiones térmicas u otras físicas). La respuesta suele estar acompañada por los signos clínicos de eritema, edema, hipersensibilidad (hiperalgesia) y dolor^{6,7}. La respuesta inflamatoria se produce en tres fases características, cada una de las cuales parece estar mediada por mecanismos diferentes: 1) una fase aguda transitoria que se caracteriza por vasodilatación local y aumento de la permeabilidad capilar, 2) una fase subaguda, retardada, cuya característica prominente es la infiltración por leucocitos y fagocitos y 3) una fase crónica proliferativa, en la que se produce degeneración tisular y fibrosis. Durante esta respuesta, los mediadores químicos como la histamina, la bradicinina, los leucotrienos y las prostaglandinas, entre otros, se liberan localmente. Las células fagocíticas migran al área y puede haber ruptura de membranas lisosomales celulares con liberación de enzimas líticas. Todos estos eventos contribuyen a la respuesta inflamatoria⁷.

2.2.1. Acción de las prostaglandinas en la inflamación

Las prostaglandinas son compuestos producidos en los tejidos de manera local. La síntesis se da a partir del ácido araquidónico, un precursor primario que se encuentra presente como un componente de los fosfolípidos de la membrana celular (primariamente en fosfatidil inositol y otros compuestos lipídicos). El ácido araquidónico es liberado de los fosfolípidos por acción de la fosfolipasa A₂ y otras acilhidrolasas.

Las prostaglandinas actúan como mediadores del dolor producidos de manera local en un tejido dañado, facilitando el proceso de inflamación con un consecuente dolor, su acción se da por la activación de receptores membranales causando la activación subsecuente de la adenilciclasa; y el posterior incremento de los niveles de AMPc intracelular. Las prostaglandinas son producidas endógenamente en los tejidos como una acción química local en señal de una respuesta a un tipo de células específicas. Por ejemplo en ciertos músculos lisos, el tromboxano induce contracción. Los procesos descritos anteriormente se describen en la figura 3.



La vía de la síntesis de las prostaglandinas a través del ácido araquidónico, es la vía de la ciclooxigenasa, la cual es una enzima que se encuentra en dos isoformas COX-1 y COX-2.

2.3. Analgésicos y sus generalidades

Para el tratamiento del dolor se utilizan fármacos que se denominan analgésicos, del griego, *an*: sin y *algesia*: dolor. Como se ha dicho anteriormente, existen dos grandes grupos de analgésicos: los analgésicos tipo opioide y los AAINE's (analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos). El tipo de analgésico empleado en cada caso depende del origen, gravedad e intensidad del dolor. Generalmente para dolores de tipo intenso como el proveniente de vísceras, lesiones graves, quemaduras o neoplasias, se emplea la morfina o analgésicos relacionados⁸. Para dolores leves o moderados como el dolor músculo esquelético se utilizan generalmente analgésicos del tipo de los AAINE's⁹.

Los analgésicos de tipo opioide se caracterizan por ser más eficaces que los AAINE's, actuando a nivel del SNC sobre receptores específicos, sin embargo, tienen la desventaja de producir tolerancia y dependencia¹⁰.

Los AAINE's se dividen en varias clases químicas: los salicilatos, las pirazonas, los derivados del p-aminofenol y un grupo más nuevo de compuestos integrados por la indometacina, el ácido mefenámico, el ibuprofén, el naproxen y el tolmetín entre otros.

2.3.1. Mecanismo de los analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINE's)

Los analgésicos del tipo de los AINE's actúan a nivel periférico, aunque se ha visto que algunos de estos también actúan a nivel del SNC. Su mecanismo de acción se da por la capacidad que tienen para inhibir a la ciclooxigenasa (COX), enzima que interviene en la síntesis de las prostaglandinas (sustancia capaz de producir inflamación y dolor). Como se ha dicho anteriormente las prostaglandinas son mediadores químicos que se producen de manera local en un tejido dañado. La inhibición de la COX, con estos analgésicos se demuestra por los efectos periféricos que tienen sobre el dolor^{11,12}. Los efectos de los AINE's son por la inhibición primaria de la síntesis de las prostaglandinas en los centros reguladores en el hipotálamo y en los sitios periféricos. El bloqueo de la síntesis de prostaglandinas previene la sensibilización de los receptores del dolor. La acción de los AINE's se da específicamente en la enzima COX de la cual existen dos isoformas (COX-1 y COX-2). Originalmente se pensó que solo existía una forma de COX expresada constitutivamente, sin embargo, de una clonación realizada de los genes de fibroblastos de ratón 3T3 inducidos por factores de crecimiento se tuvo una secuencia homóloga de COX¹³. Hoy se acepta la existencia de dos isoformas de COX, COX-1 y COX-2, con COX-1 expresada constitutivamente¹⁴ y COX-2 que se dice es inducible, aunque la expresión constitutiva de COX-2 se demostró en folículos en vías de desarrollo^{15,16}. La COX-1 ayuda a la producción de las prostaglandinas que mantienen la homeostasis del organismo, y la COX-2 produce a las prostaglandinas que contribuyen al dolor y la inflamación¹⁷⁻¹⁹.

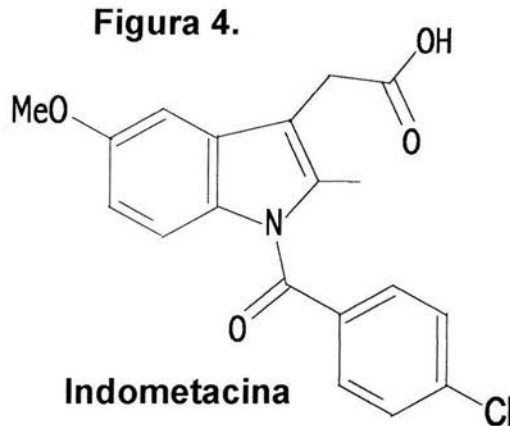
Los AINE's son ampliamente prescritos, su relación dosis respuesta se caracteriza por una dosis mínima efectiva para producir la analgesia. El máximo de eficacia y de efectos adversos de cada AINE es variable con respecto a cada paciente debido a factores como son raza, edad, etc. Los efectos adversos

conciernen a su toxicidad en los sistemas gastrointestinal y renal, de ahí que su uso sea restringido en ocasiones. Sin embargo, los AAINE´s se han considerado exitosamente para ser coadministrados junto con los analgésicos opioides para formar medicamentos más eficaces en el tratamiento de dolores de tipo agudo e incluso crónico de alta intensidad.

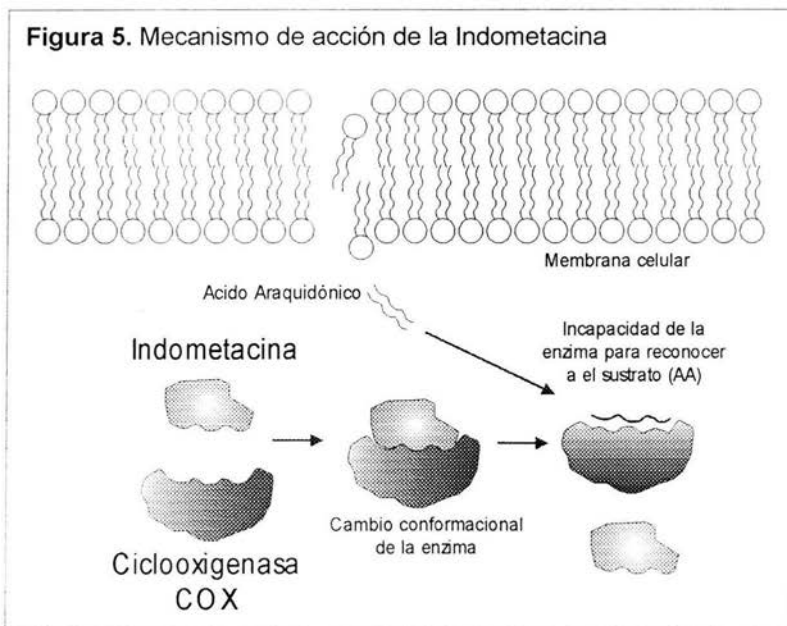
Los AAINE´s son capaces de inhibir a la COX-1 y COX-2 de manera inespecífica²⁰, la diferencia encontrada en las dos COX se dice que es un aminoácido que está presente en el sitio activo de la COX-2 y que no se encuentra en la COX-1^{21,22}. Como consecuencia, la acción de la COX-1 produce las prostaglandinas que estimulan la secreción de la mucosa gástrica, formando una barrera protectora de fluido gástrico y bicarbonato duodenal²³. La inhibición de la COX-2 produce un efecto anti-inflamatorio y analgésico sin tener los efectos adversos gástricos. Debido a esto los efectos adversos más importantes de los AAINE´s se dan sobre la mucosa gástrica.

2.3.2. Características farmacocinéticas y farmacodinámicas de Indometacina

En la clínica, uno de los analgésicos del tipo de los AAINE´s más potentes para inhibir la síntesis de prostaglandinas es la Indometacina. Este fármaco es un derivado metilado del indol y fue el producto de la búsqueda de un fármaco con propiedades anti-inflamatorias, se introdujo en 1963 para el tratamiento de la artritis reumatoide y de trastornos afines. En la figura 4 se presenta la estructura química de la indometacina.



La indometacina es analgésico, antipirético y anti-inflamatorio, y su principal mecanismo de acción es por la inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas mediante la inactivación de la enzima *ciclooxigenasa*, por un cambio conformacional en su estructura, mostrado en la figura 5. Además inhibe inespecíficamente a ambas isoformas de la COX (1 y 2).



La indometacina posee notables propiedades anti-inflamatorias y analgésico-antipiréticas, aliviando el dolor y la hipersensibilidad de las articulaciones²⁴, semejantes a las de los salicilatos. Los efectos anti-inflamatorios de la indometacina son evidentes en los pacientes con artritis reumatoide y de otros tipos, incluso en la gota aguda. Aunque la indometacina es más potente que la aspirina, las dosis toleradas por los pacientes con artritis reumatoide no producen generalmente efectos superiores a los compuestos de la familia de los salicilatos. Al contrario de lo que se creía inicialmente, la indometacina tiene propiedades analgésicas independientes de sus efectos anti-inflamatorios y hay pruebas de efectos centrales y periféricos⁷.

Aunque la indometacina es prescrita con mucha frecuencia, su toxicidad limita a menudo su empleo debido a la alta incidencia y severidad de la asociación de efectos secundarios con la administración a largo plazo. Del 35 al 50% de los pacientes que reciben dosis terapéuticas de indometacina experimenta síntomas indeseables y cerca del 20% debe suspender su uso, por lo que sus efectos adversos se relacionan con la dosis^{25,26}. Sus síntomas y complicaciones consisten en anorexia, náuseas, dolor abdominal, mareos, vértigo, neutropenia, trombocitopenia y severa cefalea en pacientes que toman el fármaco crónicamente. También se han observado úlceras únicas o múltiples de todo el tracto intestinal superior, y en algunas ocasiones se ha producido pancreatitis aguda. Los efectos adversos más importantes de la indometacina son en el tracto digestivo y es debido a que tiene una alta potencia contra la enzima COX-1 que es la que genera las prostaglandinas que ayudan a la protección del tracto gastrointestinal.

La incidencia y gravedad de los efectos adversos con la indometacina constituyen una especial preocupación, pero una forma útil de emplearla consiste en la administración de una sola dosis grande (hasta 100 mg) al dormir.²⁷

2.4. Interacciones en la combinación de analgésicos con adyuvantes analgésicos

El estudio de los efectos adversos de los analgésicos es fundamental para la terapia del dolor porque permiten el uso de dosis más altas y efectivas. Existen numerosas estrategias terapéuticas para cada uno de los fenómenos relacionados con los efectos secundarios de los analgésicos. Algunos pacientes no alcanzan un balance favorable entre la analgesia y efectos secundarios durante el tratamiento con estos medicamentos. Para esos pacientes se emplean estrategias apropiadas como usar fármacos similares o adyuvantes que potencien el efecto del analgésico, reduciendo sus efectos secundarios por la disminución de la dosis administrada.

Dichas interacciones pueden producirse en el mecanismo de acción de los fármacos (interacción farmacodinámica) pudiendo presentarse potenciación o antagonismo; y también, en la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los fármacos (interacción farmacocinética)²⁸. Una forma de evaluación para determinar sinergismos en analgésicos, es con modelos experimentales en animales de diferentes especies, que nos permitan cuantificar conductas dolorosas y actividad analgésica.

2.4.1. Tipos de interacciones

De la interacción de dos fármacos surge generalmente una modificación cuantitativa de una sobre otra²⁹, en el sentido de aumento de la respuesta farmacológica de esta última, lo que se denomina *sinergismo*, o bien de una disminución de la misma, o sea *antagonismo*²⁹.

Los fenómenos de sinergismo y antagonismo son casos particulares de las interacciones medicamentosas³⁰ que se producen cuando la acción de un fármaco es modificada por otro. Existen tres tipos de sinergismo: **sinergismo de potenciación o supraaditivo**, que es cuando dos fármacos son administrados simultáneamente y la respuesta obtenida es mayor que la correspondiente suma de sus acciones individuales³¹; **sinergismo de suma o aditivo**, que es cuando la respuesta farmacológica obtenida por la acción combinada de dos fármacos es igual a la suma de sus efectos individuales³⁰; y **sinergismo infraaditivo o antagonismo**, que es cuando la respuesta farmacológica obtenida por la acción combinada de dos fármacos es igual a un efecto inferior a la suma de sus efectos individuales. Existen casos en que un fármaco inactivo en un sentido es capaz de aumentar la respuesta farmacológica de otro que sí tiene un determinado efecto^{31,32}. Este fenómeno se denomina **supersensibilidad o de facilitación**. Estos fármacos que ayudan a aumentar dicho efecto se denominan adyuvantes.

Los adyuvantes analgésicos son fármacos que tienen una indicación primaria diferente a la de abatir el dolor, pero son analgésicos en ciertas circunstancias. Estos adyuvantes incluyen fármacos de diversas clases como antidepresivos, anticonvulsivantes y anestésicos locales³³.

2.4.2. La Cafeína como un adyuvante analgésico

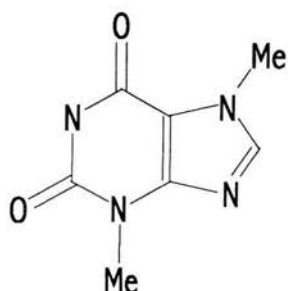
Un ejemplo de adyuvante analgésico eficaz ha sido la cafeína, un constituyente en combinaciones de analgésicos prescritos durante muchos años.

Se ha usado en combinación con AAINE's como un adyuvante analgésico en una variedad de condiciones de dolor. La cafeína sola es usada como un somnolítico, para el tratamiento de la apnea en niños, para hipotensión postprandial, prolongación de ataques en terapias electroconvulsivas (ETC) y para reducir peso en pacientes obesos³⁴.

La cafeína produce acciones antinociceptivas intrínsecas en modelos animales y junto con analgésicos (en algunos casos analgesia intrínseca) en humanos³⁵. Estas propiedades son consideradas en el contexto de las múltiples acciones de adenosina en la transmisión de información sensorial nociva³⁶.

A nivel periférico, adenosina es tanto pronociceptiva como nociceptiva, produciendo tanto efectos antinociceptivos como hiperalgesia (facilitación del dolor). Tales acciones se demuestran en modelos animales^{37,38} y modelos de dolor en humanos³⁹⁻⁴¹.

Figura 6.



Cafeína

La actividad analgésica de la cafeína ha sido considerada como resultado a diversos mecanismos: 1) bloqueo de la acción pronociceptiva periférica de adenosina; 2) activación de la vía noradrenérgica central que constituye un sistema supresor de dolor endógeno; y 3) estimulación del sistema nervioso central con una consecuente modulación de los componentes afectivos del dolor^{35,42-45}. El bloqueo de los receptores de adenosina en la médula espinal puede no relacionarse con la antinocicepción, ya que con la activación de los receptores de adenosina en este sitio se suprime la transmisión del dolor. Entonces el bloqueo de los receptores de adenosina localizados supraespiñalmente, se asocian particularmente con la vía noradrenérgica central, lo que puede implicar en la antinocicepción inducida por la cafeína⁴⁶. Sin embargo, la cafeína sola produce antinocicepción sólo en un modelo de dolor que es el "Tail-flick" y en los demás parece no tener este efecto.

Recientes estudios han encontrado evidencia que apoya la idea de que las combinaciones de analgésicos con cafeína fueron más efectivas que los analgésicos solos⁴⁷. Ejemplos de estudios para sinergismo de potenciación

fueron usando cafeína (65 mg), en presencia de paracetamol (acetaminofén), aspirina (ácido acetilsalicílico)⁴⁸, e ibuprofeno⁴⁹, las cuales aumentan la eficacia de los analgésicos aproximadamente 1.4 veces más que sin la utilización de cafeína⁴⁸. Esta actividad potenciadora de la cafeína para los AAINE's, ha recibido relativamente poca atención hasta ahora.

Aún falta realizar mas pruebas en modelos de dolor, que proporcionen información acerca de si se presenta o no un sinergismo entre la cafeína y la indometacina. De esta manera este trabajo pretende contribuir en diversificar las opciones existentes en la terapéutica del dolor.

3. Planteamiento del problema

La farmacología moderna no ha resuelto todos los problemas relacionados con el tratamiento de las enfermedades y al resolver algunos ha creado otros. Para algunas enfermedades hay tantos fármacos que los médicos encuentran difícil decidir, sobre una base racional, cual deben de emplear. Otras enfermedades, tienen pocas opciones de medicamentos para su tratamiento, y sin embargo, el médico se enfrenta con el problema de que algunos de estos medicamentos poseen efectos adversos muy importantes en el organismo del paciente.

La investigación sobre la creación de nuevos medicamentos es muy costosa; pero es mucho menos costoso crear una variación ligeramente diferente, y quizá mejor de los medicamentos ya existentes, que emprender la larga y casi siempre desafortunada búsqueda de un nuevo tipo de medicamento.

Ahora bien, uno de esos problemas típicos, existe con los fármacos conocidos como analgésicos, de mayor difusión y a los cuales la medicina recurre comúnmente. De los dos grupos de analgésicos que se conocen, los opioides resultan ser los más eficaces, y sin embargo, su uso se restringe a dolores intensos, debido a que los efectos secundarios que producen son muy severos. En cambio los AINE's, tienen la ventaja de provocar efectos secundarios menos severos, y sin embargo, tienen menor eficacia que los opioides, por lo que se utilizan solo para dolores leves a moderados.

Una de las maneras de aprovechar las ventajas y de reducir las desventajas de estos analgésicos, es utilizando la combinación de uno o varios

de estos en un medicamento, recurso al que actualmente la farmacología recurre para el desarrollo de nuevos medicamentos.

De esta manera, este estudio consiste en probar la combinación de la indometacina (un AINE), con la cafeína (un adyuvante analgésico), utilizando un modelo de dolor denominado "Disfunción inducida por dolor en ratas" ("PIFIR)⁵⁰, para observar si se presenta un efecto analgésico potenciado por el adyuvante disminuyendo los efectos secundarios de la indometacina con dosis menores y con esto proponer una opción terapéutica para el tratamiento del dolor.

La causa principal por la que se estudió la indometacina en combinación con la cafeína, fue la de reducir la dosis terapéutica de la indometacina sola, obteniendo el mismo efecto, lo que en consecuencia puede reducir los efectos secundarios de la indometacina y por lo tanto su utilización sería más frecuente y además se podría utilizar por largo tiempo, tomando en cuenta que las enfermedades como es la artritis reumatoide dura toda la vida y debe utilizarse analgésicos de manera crónica.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto analgésico producido por 24 combinaciones de indometacina con cafeína y determinar el tipo de sinergismo que se genera con cada combinación en un modelo de dolor artrítico en ratas.

4.2. Objetivos particulares

- ☛ Obtener las curvas dosis-respuesta de indometacina y cafeína administrados de manera individual.
 - ☛ Obtener las curvas dosis-respuesta de las 24 combinaciones de indometacina con cafeína.
 - ☛ Determinar con qué combinación de indometacina-cafeína se obtiene el mayor efecto analgésico.
 - ☛ Determinar con que combinación de indometacina-cafeína se obtiene la máxima potenciación analgésica.
 - ☛ Determinar que tipo de sinergismo analgésico existe entre las diferentes combinaciones de indometacina-cafeína.
-

5. Hipótesis

- Se sabe que la cafeína actúa como adyuvante analgésico con sustancias del tipo de los AAINE's, por lo tanto la combinación indometacina-cafeína, producirá potenciación del efecto analgésico generado por la indometacina.
-

6. Parte experimental

Se evaluó la respuesta usando el modelo "PIFIR" en ratas con seis diferentes dosis de indometacina y cuatro de cafeína, de manera individual y de sus combinaciones (24 en total).

En este estudio se utilizaron ratas hembras Wistar de 180-200 g de peso corporal, a las cuales 12 hr. antes del experimento se les retiró el alimento, dejándoles solamente acceso al agua. Todo el protocolo experimental siguió las recomendaciones del Comité de Investigación y Ética de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (CIEAIED) y los Lineamientos y Estándares Éticos para la Investigación del Dolor Experimental en animales.⁵¹ Se mantuvieron a una temperatura constante de 25°C.

6.1. Metodología

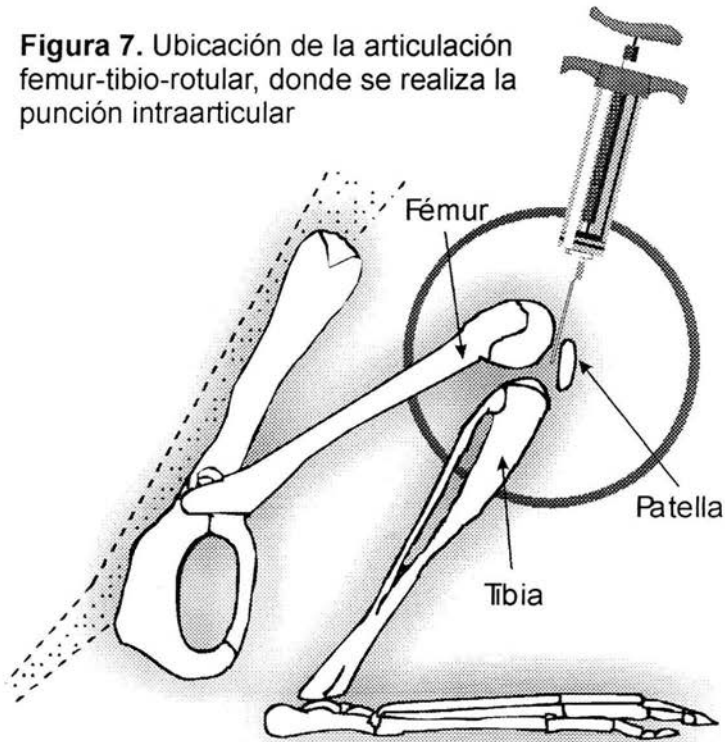
6.1.1. Anestesia

Se utilizaron seis ratas para cada dosis probada, introduciendo a cada una de ellas en un desecador de vidrio saturado con vapores de éter hasta observar que se encontraran anestesiadas, esto se notó cuando la rata ya no pudo sostenerse sobre sus patas, al mover el desecador.

6.1.2. Inducción del dolor

A la rata anestesiada, se le inyectó por vía intraarticular 0.05 ml de una solución de ácido úrico al 30% (se prepara pesando 3 g de ácido úrico, y se suspende en 10 ml de aceite mineral), en la extremidad derecha del miembro trasero, en la articulación fémur-tibio-rotular, tal y como se muestra en la figura 7.

Figura 7. Ubicación de la articulación fémur-tibio-rotular, donde se realiza la punción intraarticular



6.1.3. Adiestramiento de las ratas

En seguida de la punción intraarticular a cada una de las ratas, se les fijó un electrodo en medio de las callosidades plantares de las extremidades traseras con pegamento instantáneo "krazy kola loka[®]" y para inmovilizar el cable, se fijó con cinta adhesiva alrededor del tobillo.

Se permitió que las ratas se recuperaran de la anestesia y se colocaron en un cilindro de acero inoxidable dividido en seis partes, el cual se hizo rotar a 4 rpm, forzándolas a caminar hasta que se habituaran al movimiento.

6.1.4. Evaluación farmacológica

El contacto de los electrodos con el cilindro, se cierra un circuito que lleva una señal a la computadora, la cual permite medir la relación del tiempo de contacto de la pata en la que se le indujo la lesión, con la pata no lesionada, esta variable multiplicada por 100 nos da el índice de funcionalidad (I.F.). Figura 8.

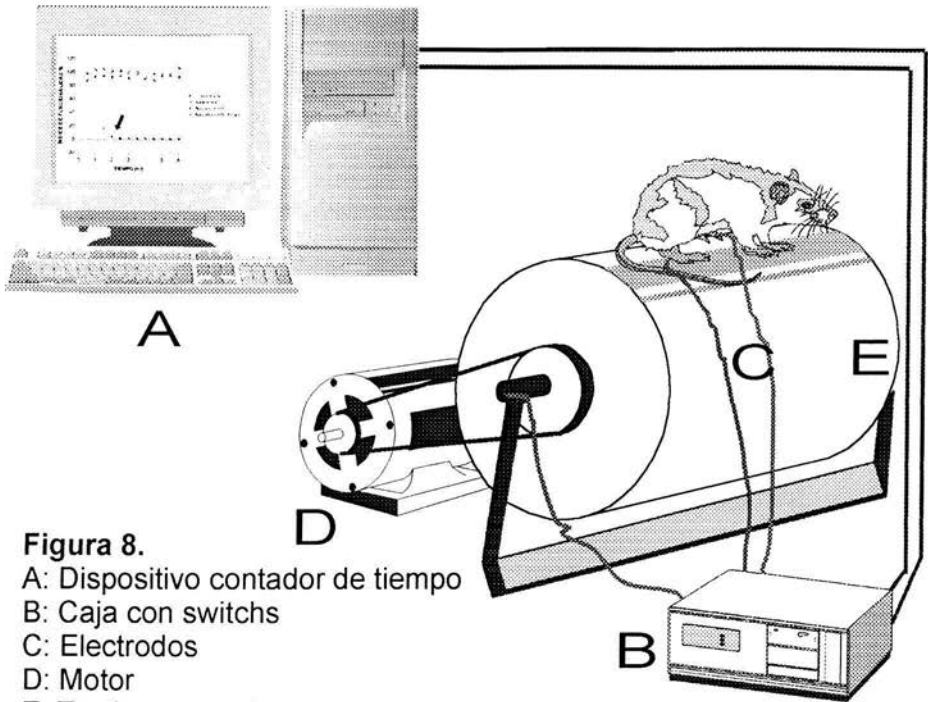


Figura 8.

- A: Dispositivo contador de tiempo
- B: Caja con switches
- C: Electrodo
- D: Motor
- E: Tambor rotatorio.

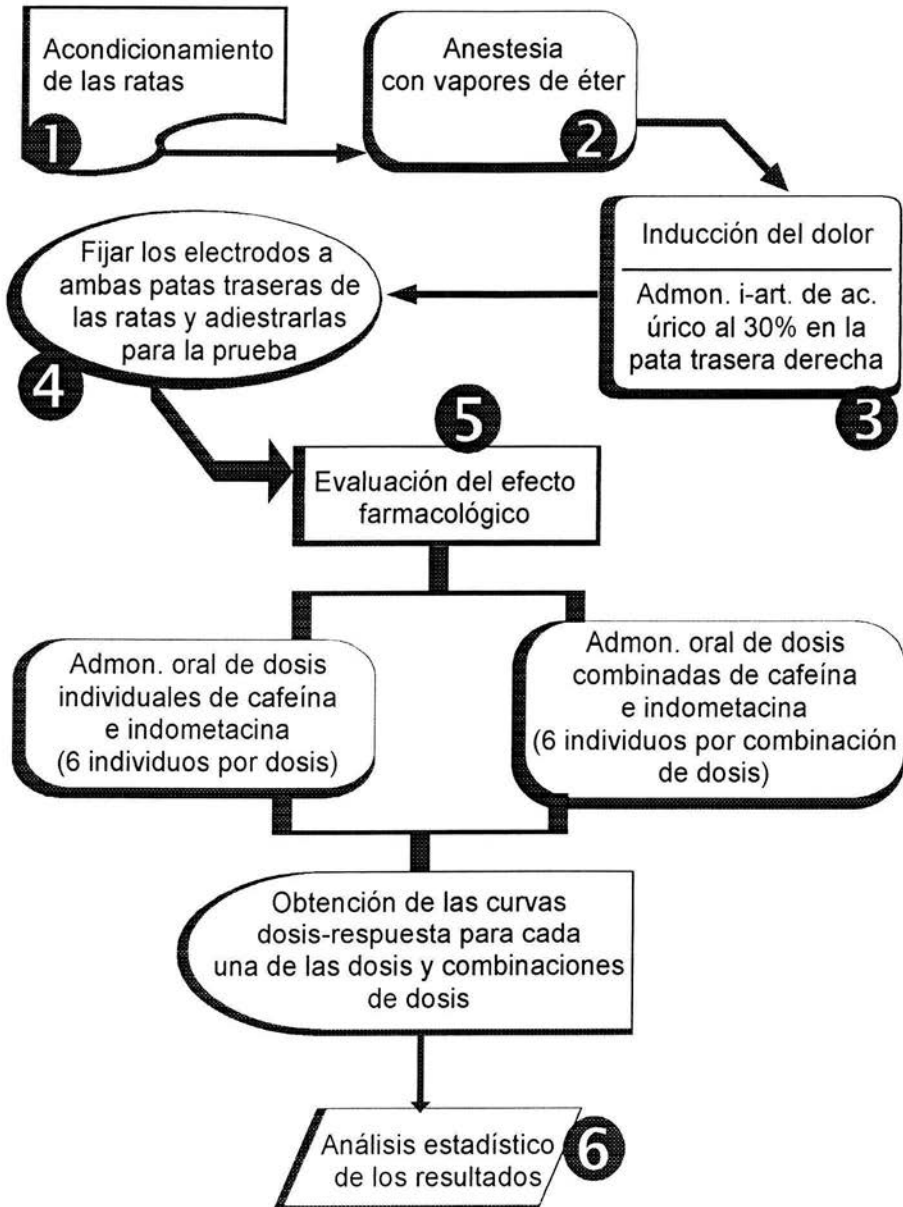
Cuando esta variable fue menor al 10%, significó que la funcionalidad de la pata lesionada es nula o que ya no hizo contacto esta con el cilindro. Es entonces cuando se considera tiempo cero para la evaluación del efecto analgésico de los fármacos a emplear.

Las dosis utilizadas para determinar la curva dosis-respuesta (CDR) de indometacina en administración simple fueron: 1.0, 1.77, 3.16, 5.62, 10.0, y 17.78 mg/Kg y las de cafeína fueron: 3.16, 5.62, 10.0, y 17.78 mg/kg, ambos se administraron por vía oral, en un volumen de administración de 4 ml/kg.

6.1.5. Análisis estadístico

Posteriormente se determinaron las CDR de las combinaciones de todas las dosis (en total 24 combinaciones de indometacina-cafeína). Los experimentos se llevaron a cabo con una n=6 para cada dosis con un diseño estadístico por análisis de varianza de dos vías ($p < 0.001$).

Figura 9. Diagrama de Flujo para el procedimiento experimental



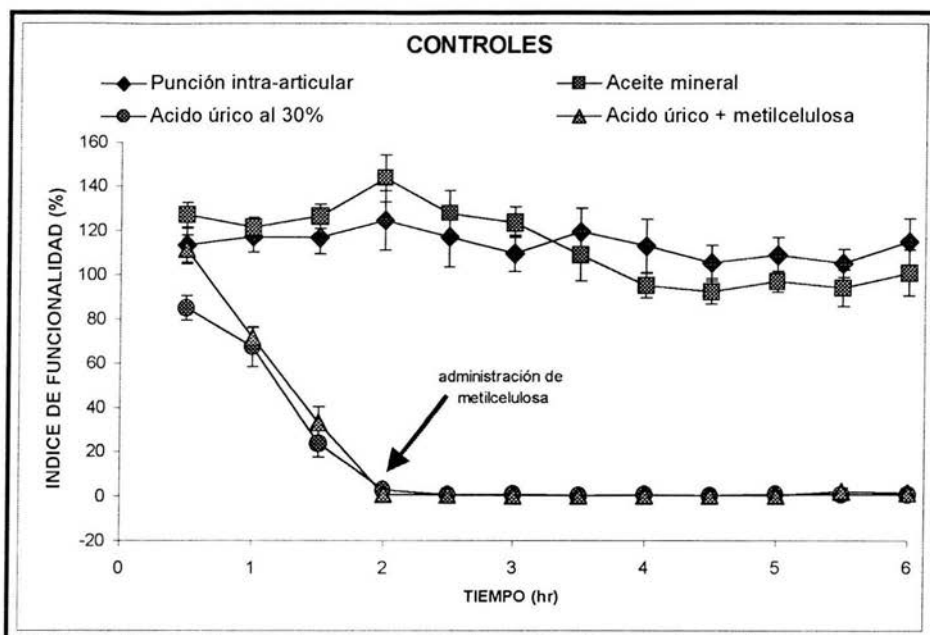
7. Resultados

Se evaluó tanto el efecto analgésico de la indometacina y la cafeína individualmente como en combinación.

7.1. Controles del modelo

Se realizaron los siguientes experimentos previos: 1) controles para evaluar el efecto de la punción intra-articular, 2) el efecto del aceite mineral usado como vehículo para la administración del ácido úrico, 3) el efecto del ácido úrico en la disfunción de la rata y 4) el efecto del ácido úrico más el vehículo usado (metilcelulosa, p.o.) para la administración del analgésico y el adyuvante.

La gráfica 1 nos muestra los resultados obtenidos de los controles realizados en los cuales en el eje de las abscisas se gráfica el índice de funcionalidad porcentual y en el eje de las ordenadas se presenta el tiempo en horas a partir del cual se realizó la aplicación de cada uno de los controles, observando que la punción intra-articular y la administración del aceite mineral no afectaron el índice de funcionalidad de la pata, manteniéndose constante cerca del 100%. Con respecto a la administración del ácido úrico, éste produjo una disminución del índice de funcionalidad llegando prácticamente a cero, dos horas después de su administración. Se probó la metilcelulosa administrándola dos horas después de haber administrado ácido úrico, determinando que no hubo un efecto de esta sobre el índice de funcionalidad. Lo que nos asegura que la metilcelulosa no produce efecto analgésico y las administraciones posteriores, si se presenta algún efecto se va a deber al fármaco mismo y no al vehículo.

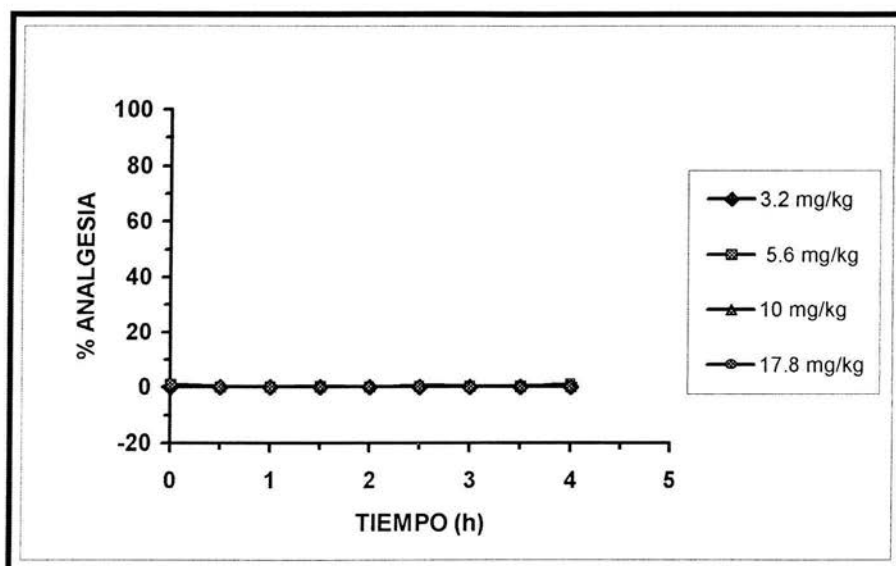


Gráfica 1. Cursos temporales de los vehículos utilizados para la administración de los fármacos (controles) en el modelo experimental PIFIR. La flecha indica el momento en el que se administró la metilcelulosa.

7.2. Cursos temporales (CT) y curvas dosis- respuesta (CDR) de Indometacina y Cafeína en administración individual

En la gráfica 2 se muestran los cursos temporales de cafeína administrados por vía oral. En el eje de las abscisas, se presenta el índice de funcionalidad porcentual o efecto analgésico, y en el eje de las ordenadas el tiempo en horas, en el cual sólo se toma a partir del tiempo cero, tiempo en el cual las ratas han dejado de pisar con la pata afectada por la administración intra-articular de ácido úrico al 30%. Por lo tanto el tiempo cero es el momento en el cual se administraron los fármacos para su evaluación.

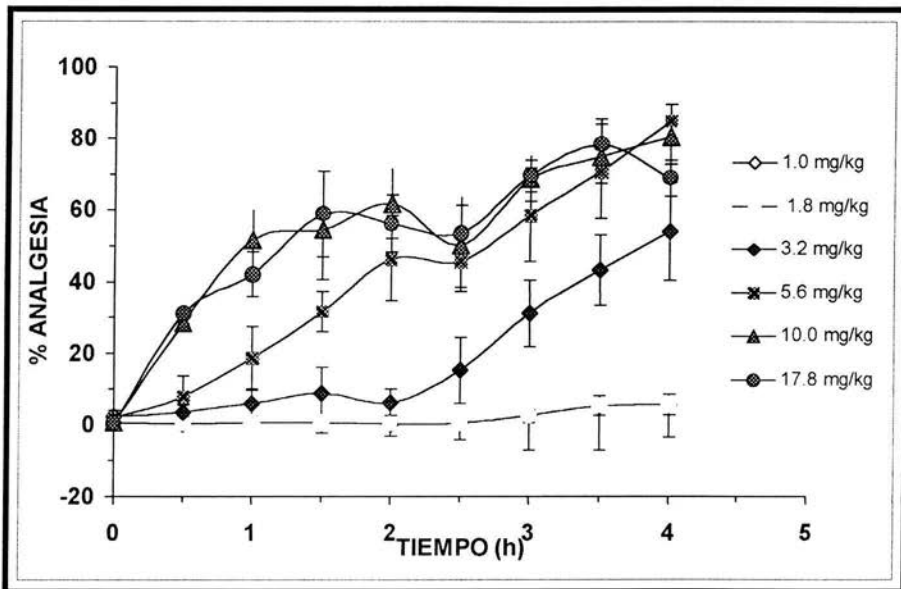
Las dosis utilizadas de cafeína fueron 3.2, 5.6, 10.0 y 17.8 mg/kg. Como se muestra en la gráfica 2, ninguna de las dosis empleadas de cafeína produjo un efecto analgésico. Ya que los índices de funcionalidad de las ratas tratadas con cafeína permanecen en cero durante las cuatro horas que dura el experimento. La cuál nos indica que en este modelo la cafeína no produce un efecto analgésico.



Gráfica 2. Cursos Temporales de las diferentes dosis de cafeína (p.o.) en el modelo PIFIR.

En la gráfica 3 se presentan los cursos temporales de indometacina en administración individual, en los cuales se observa el efecto analgésico en las dosis de 1.0, 1.8, 3.2, 5.6, 10.0 y 17.8 mg/kg de peso. Las dos primeras dosis (1.0, 1.8 mg/kg) no producen efectos analgésicos. Las siguientes cuatro dosis (3.2, 5.6, 10.0 y 17.8 mg/kg) si generaron efectos analgésicos dosis-dependientes. El efecto máximo que se obtuvo de estos cursos temporales fue del $84.8\% \pm 4.77$ de analgesia con la dosis de 5.6 mg/kg cuatro horas después de su administración. Cabe hacer notar que aún cuando ya se habían

establecido las cuatro horas que dura el experimento algunas de las dosis tenían respuesta ascendente; sin embargo se estableció este tiempo como límite de la prueba, debido a que las ratas tienen la facultad de sintetizar una enzima capaz de metabolizar al ácido úrico aproximadamente ocho horas después de que se encuentra este en el organismo, disminuyendo su concentración e interfiriendo con el efecto de los fármacos.

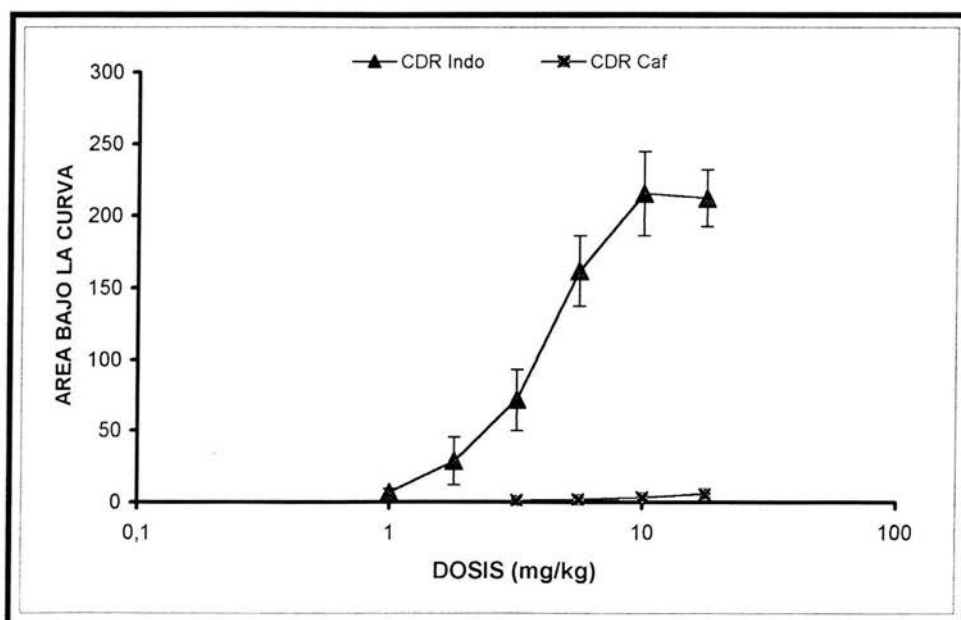


Gráfica 3. Cursos Temporales de las diferentes dosis de indometacina (p.o.) en el modelo PIFIR.

Para la obtención de las CDR's de cada fármaco, se tomó el valor del área bajo la curva de los cursos temporales de cada dosis, esto representa el efecto analgésico global durante el período de observación, por lo que se incluye desde la respuesta mínima hasta la respuesta máxima a través de las cuatro horas que dura el experimento. El área bajo la curva (ABC) relacionada a cada CT fue obtenida por la regla trapezoidal⁵⁴.

En la gráfica 4 se presentan las CDR de indometacina y de cafeína. En el eje de las abscisas se presenta el ABC o efecto analgésico global obtenido por cada dosis empleada por los fármacos y en el eje de las ordenadas se presentan las dosis (mg/kg) empleadas por los fármacos en escala logarítmica.

La CDR para indometacina obtenida a partir de los cursos temporales nos indican que el máximo efecto analgésico global obtenido fue de 215.56 ± 29.29 unidades de área, obtenido con la dosis de 10.0 mg/kg. En cuanto a la CDR para cafeína se observa que esta no produce ningún efecto analgésico en este modelo de dolor, teniendo un máximo efecto analgésico global de 1.59 ± 0.52 unidades de área, prácticamente de cero.



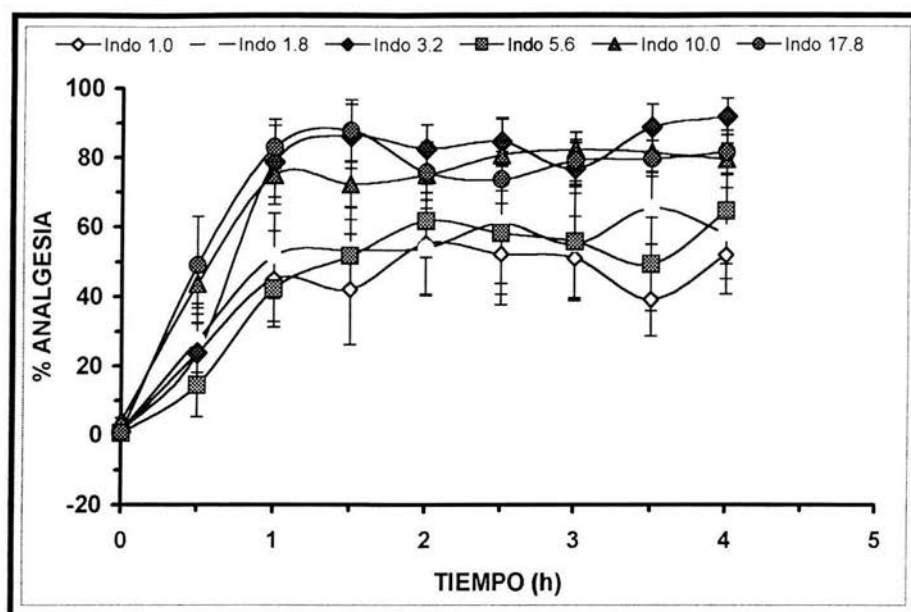
Gráfica 4. Curvas dosis-respuesta de indometacina y cafeína (p.o.) en el modelo PIFIR, utilizando una $n=6$ para cada dosis de indometacina y cafeína.

7.3. Efectos analgésicos obtenidos con las diferentes combinaciones de indometacina y cafeína.

Se realizaron las combinaciones de las diferentes dosis de indometacina (1.0, 1.8, 3.2, 5.6, 10.0 y 17.8 mg/kg) con cafeína (3.2, 5.6, 10.0 y 17.8 mg/kg) resultando 24 combinaciones en total, las cuales se presentan en los cursos temporales. En cada una de las siguientes figuras se presentan los cursos temporales de las diferentes dosis de indometacina con una dosis fija para cafeína.

En la gráfica 5 se presentan los cursos temporales de la primera combinación realizada, que se denominó Comb1, siendo las diferentes dosis de indometacina en combinación con la dosis de 3.2 mg/kg de cafeína.

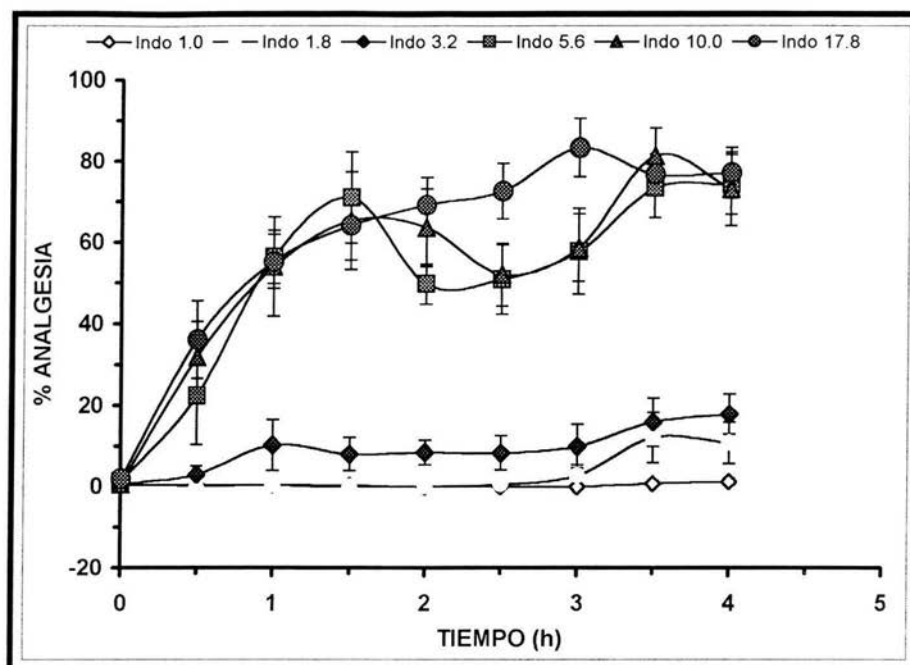
Los resultados nos indican que el efecto máximo para esta serie de combinaciones, fue la obtenida con la combinación de 3.2 mg/kg de indometacina con 3.2 mg/kg de cafeína: en la cual se obtuvo el $91.67\% \pm 5.36$ de analgesia cuatro horas después de su administración. En general se muestra que la combinación produce un efecto analgésico más rápido que la indometacina en administración simple y esta permanece durante mayor tiempo que la indometacina. Además se debe resaltar que la combinación de las dosis más bajas de indometacina (1.0 y 1.8) con 3.2 mg/kg de cafeína, tuvieron un efecto analgésico de más del 40% una hora después de su administración manteniéndose constante, lo cuál no ocurrió con la indometacina administrada individualmente en donde no hubo un efecto analgésico con esas dosis.



Gráfica 5. Cursos temporales de las diferentes dosis de indometacina en administración simultánea con la dosis de cafeína de 3.2 mg/kg, en el modelo PIFIR. (Comb1)

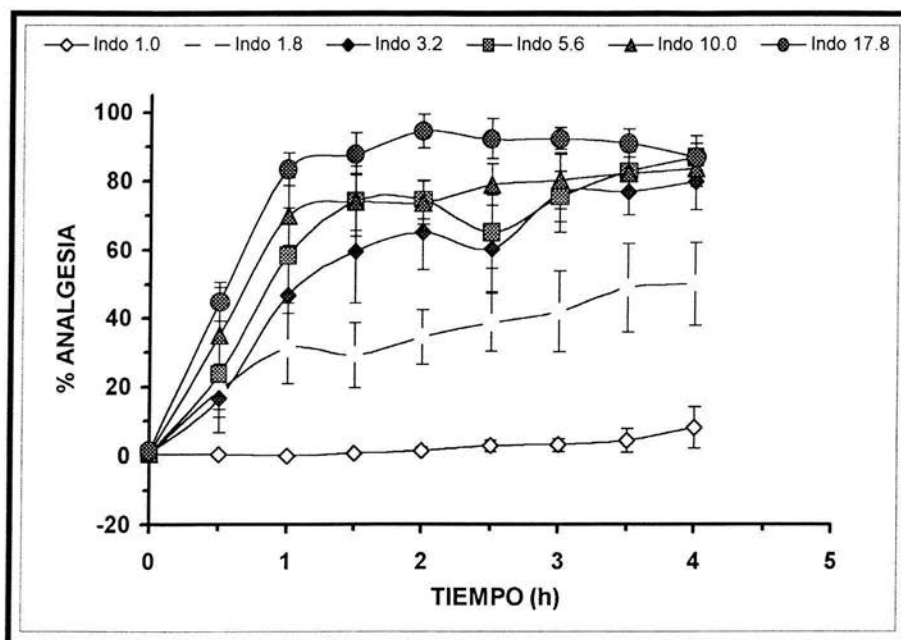
En la gráfica 6 se presenta los cursos temporales de la segunda combinación realizada (Comb2), de las diferentes dosis de indometacina con 5.6 mg/kg de cafeína cada una.

Los resultados obtenidos de estas combinaciones nos indican que el efecto máximo de analgesia, para esta serie de cursos temporales fue la combinación de las dosis de 17.8 mg/kg de indometacina con 5.6 mg/kg de cafeína con $83.22\% \pm 7.15$ de analgesia tres horas después de su administración. A diferencia de las primeras combinaciones de indometacina con cafeína 3.2 mg/kg, en donde como ya se comentó, la cafeína incrementó el efecto de la indometacina; en esta figura se muestra que sólo las 3 últimas dosis de indometacina con cafeína de 5.6 mg/kg aumentaron el efecto analgésico y las tres primeras dosis de indometacina con cafeína prácticamente no produjeron efecto analgésico.



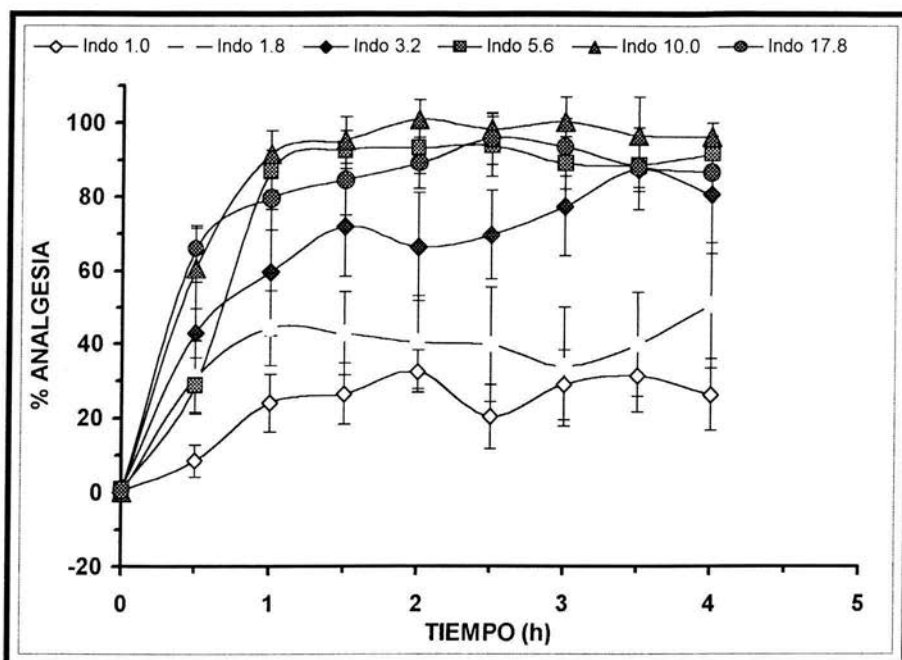
Gráfica 6. Cursos temporales de las diferentes dosis de indometacina en administración simultánea con 5.6 mg/kg de cafeína en el modelo PIFIR. (Comb2).

En la gráfica 7 se presentan los cursos temporales de la tercera combinación realizada (Comb3), de las diferentes dosis de indometacina con 10.0 mg/kg de cafeína, en donde las dosis de 3.2, 5.6, 10.0 y 17.8 tuvieron un efecto analgésico por arriba del 60% una hora y media después de su administración, la dosis de 1.8 mg/kg de indometacina tuvo un efecto analgésico por debajo de 40% durante todo el experimento y la dosis de 1.0 mg/kg no tuvo efecto. El curso temporal en el que se obtuvo el máximo efecto analgésico fue con la combinación de 17.8 mg/kg de indometacina con 10.0 mg/kg de cafeína con un $94.39\% \pm 4.99$ dos horas después de la administración.



Gráfica 7. Cursos temporales de las diferentes dosis de indometacina en administración simultánea con 10.0 mg/kg de cafeína en el modelo PIFIR. (Comb3).

En la gráfica 8 se presentan los cursos temporales de las diferentes dosis de indometacina con 17.8 mg/kg de cafeína siendo esta la dosis más alta (Comb4), en la que se obtuvo un máximo efecto analgésico con la combinación de 10.0 mg/kg de indometacina con 17.8 mg/kg de cafeína, en la que se llegó a un $100.89\% \pm 5.45$ dos horas después de la administración.



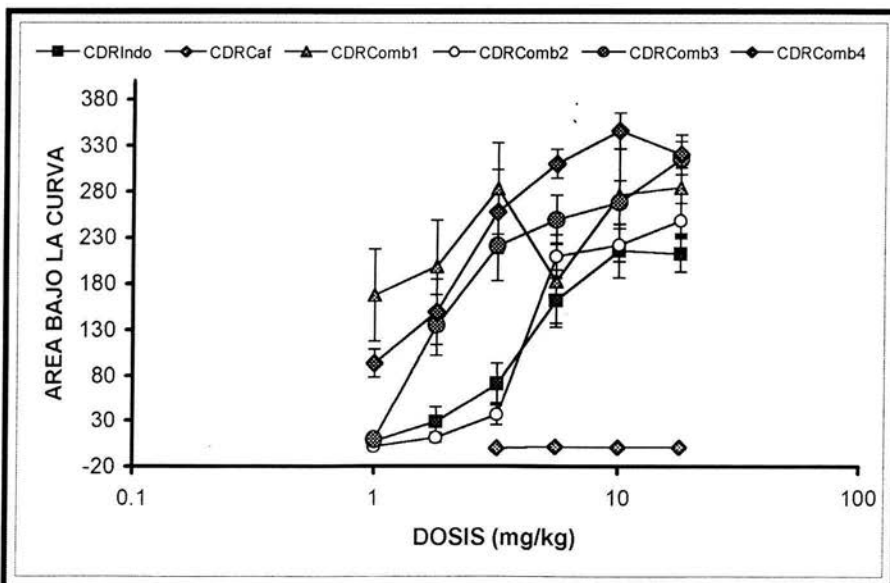
Gráfica 8. Cursos temporales de las diferentes dosis de indometacina en administración simultánea con 17.8 mg/kg de cafeína en el modelo PIFIR. (Comb4).

En la gráfica 9 se presentan las curvas dosis-respuesta de la administración individual de indometacina, de cafeína y de las combinaciones de indometacina con las diferentes dosis de cafeína.

En la CDR de indometacina, el mayor efecto analgésico como ABC que se obtuvo fue de 215.56 ± 29.29 unidades de área con la dosis de 10.0 mg/kg. En la CDR de cafeína se puede observar que no tuvo ningún efecto analgésico.

Las CDR de las combinaciones, muestran un incremento en el efecto analgésico de manera global. En la CDR presentada como Comb1, que es la combinación de las diferentes dosis de indometacina con 3.2 mg/kg de cafeína, se tuvo un efecto analgésico global de hasta 284.2 ± 22.4 unidades de área con la dosis de 17.8 mg/kg de indometacina y 3.2 mg/kg de cafeína. En la CDR

presentada en la gráfica como Comb2, la combinación de las diferentes dosis de indometacina con 5.6 mg/kg de cafeína, se tuvo un efecto analgésico global de hasta 248.24 ± 19 unidades de área con la dosis de 17.8 mg/kg de indometacina y 5.6 mg/kg de cafeína. En la CDR presentada como Comb3, la combinación de las diferentes dosis de indometacina con 10.0 mg/kg de cafeína, se tuvo un efecto global de hasta 315.26 ± 9.11 unidades de área y que se presentó con la dosis de 17.8 mg/kg de indometacina con 10.0 mg/kg de cafeína. En la última CDR representada como Comb4 y siendo la combinación de las diferentes dosis de indometacina con 17.8 mg/kg de cafeína, se tuvo un efecto analgésico global de hasta 346.01 ± 21.52 unidades de área, con la dosis de 10.0 mg/kg de indometacina.

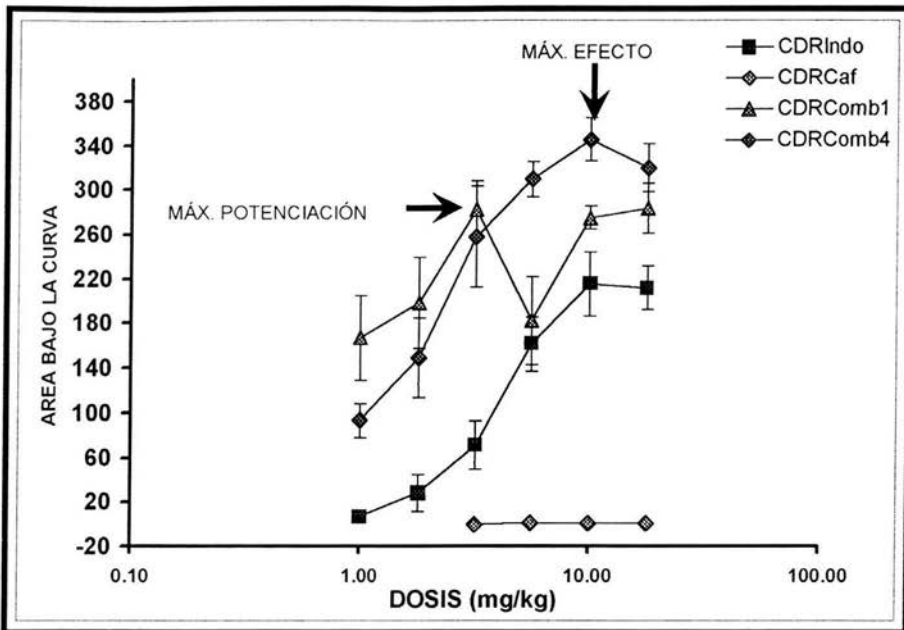


Gráfica 9. Serie de CDR de la administración individual de indometacina y cafeína y de sus diferentes combinaciones, en donde CDRComb1 (diferentes dosis de indometacina + 3.2 mg/kg cafeína); CDRComb2 (indometacina + 5.6 mg/kg cafeína); CDRComb3 (indometacina + 10.0 mg/kg cafeína); y CDRComb4 (indometacina + 17.8 mg/kg cafeína). CDRIndo y CDRCaf son las curvas dosis-respuesta de indometacina y cafeína individual respectivamente.

En la gráfica 10 se presentan las CDR de las dosis individuales de indometacina, cafeína y de las CDR donde se obtuvo la máximo efecto global y la máxima potenciación de todas las combinaciones realizadas.

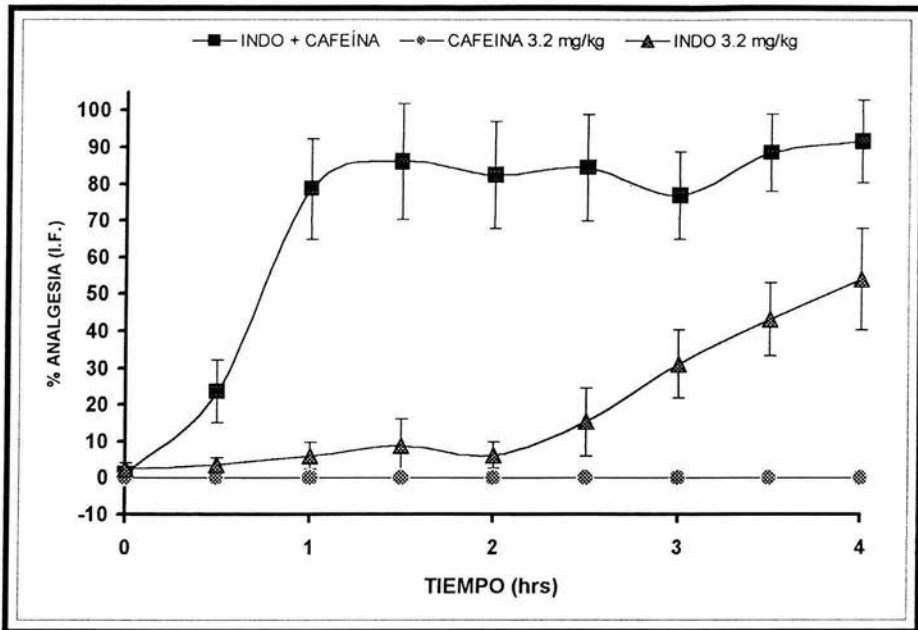
La combinación con la que se obtuvo la máxima eficacia global, fue de 10.0 mg/kg de indometacina con 17.8 mg/kg de cafeína (346.01 ± 19.52 unidades de área), y el efecto individual obtenido de los fármacos fue: para cafeína de 1.09 ± 0.29 unidades de área y para indometacina de 215.56 ± 29.29 unidades de área.

La combinación que produjo el más alto grado de potenciación fue la combinación de 3.2 mg/kg de indometacina con 3.2 mg/kg de cafeína; el efecto analgésico global alcanzado con esta combinación fue de 283.47 ± 25.28 unidades de área, en comparación con el efecto analgésico global alcanzado por las dosis individuales de esta combinación, que fue de 71.36 ± 21.68 unidades de área, y 0.08 ± 0.05 unidades de área respectivamente, prácticamente este valor es cero, por lo que al restar los valores obtenidos de las dosis individuales con el valor obtenido con la combinación resultó ser de 212.1 unidades de área, que es una diferencia grandemente positiva presentado en la gráfica como Comb1.



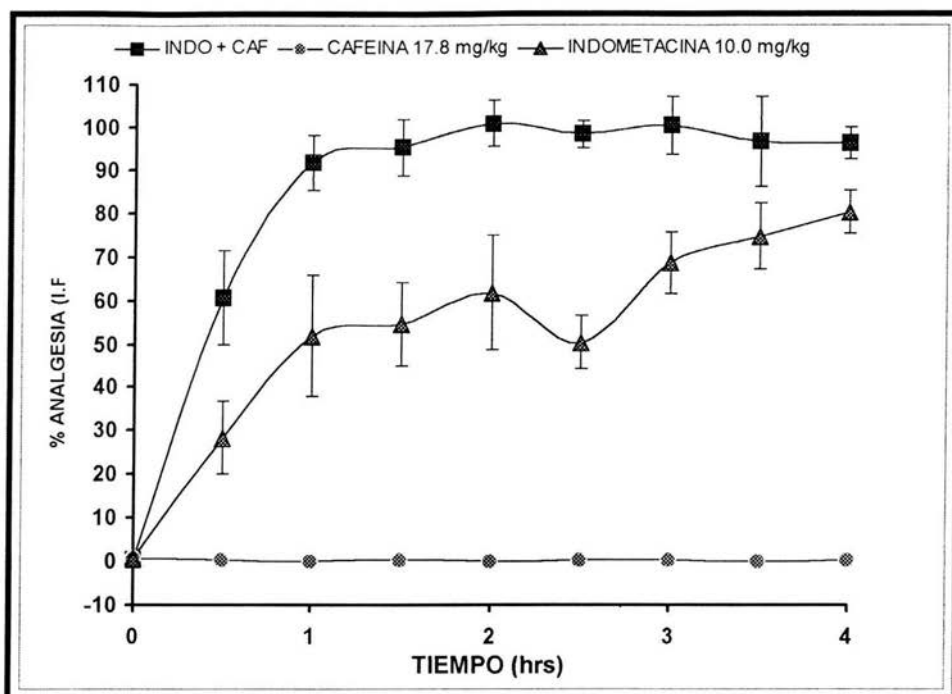
Gráfica 10. CDR de cafeína, indometacina, Comb1 (diferentes dosis de indometacina con 3.2 mg/kg de cafeína) y Comb4 (diferentes dosis de indometacina con 17.8 mg/kg de cafeína). En las flechas se muestra la máxima potenciación (3.2mg/kg indometacina + 3.2 mg/kg de cafeína en la CDR Comb1) y el máximo efecto analgésico global (10.0 mg/kg indometacina + 17.8 mg/kg cafeína en la CDR Comb4).

En la gráfica 11 se muestran los cursos temporales de la combinación que tuvo el máximo grado de potenciación de todas las combinaciones evaluadas y la cual se compara con los cursos temporales de los componentes individuales. La mayor analgesia que produjo indometacina en la dosis de 3.2 mg/kg fue de $54.1\% \pm 13.7$, cuatro horas después de su administración. Cafeína produjo un efecto de $0.11\% \pm 0.11$ prácticamente cero y la combinación produjo el $91.67\% \pm 5.36$ de analgesia cuatro horas después de su administración, tomando en cuenta que dicha combinación produjo una analgesia de cerca del 80% una hora después de su administración y éste efecto permaneció durante las siguientes tres horas que duró el experimento. Es evidente que la combinación es mucho más adecuada que la indometacina sola.



Gráfica 11. Cursos temporales de las dosis individuales y de la combinación que produjo la máxima potenciación de todas las combinaciones evaluadas en el modelo PIFIR. Indo + Cafeína (3.2 mg/kg + 3.2 mg/kg respectivamente), Cafeína (3.2 mg/kg) e Indo (3.2 mg/kg).

En la gráfica 12 se muestran los cursos temporales de las dosis individuales y de la combinación (indometacina 10.0 mg/kg con cafeína 17.8 mg/kg) que produjo el máximo efecto analgésico de todas las combinaciones. El mayor efecto de analgesia que produjo indometacina en la dosis de 10.0 mg/kg fue de $80.45\% \pm 4.95$, cuatro horas después de su administración. La cafeína prácticamente no tuvo efecto analgésico y el mayor efecto analgésico de la combinación produjo el $100.89\% \pm 5.45$, dos horas después de su administración y permaneció arriba del 90% después de una hora de su administración, manteniéndose así durante las tres horas restantes que duró el experimento.



Gráfica 12. Cursos temporales de las dosis individuales y de la combinación que produjo el máximo efecto analgésico de todas las combinaciones evaluadas en el modelo PIFIR. Indo + Caf (10.0 mg/kg + 17.8 mg/kg respectivamente), Cafeína (17.8 mg/kg) e Indometacina (10.0 mg/kg).

En la gráfica 11 y 12 se presentaron las combinaciones que tuvieron los más altos grados de potenciación, aunque hubo 12 combinaciones más que produjeron potenciación en menor grado; y no se tuvo efecto antagónico en ninguna de las combinaciones probadas.

Para determinar el tipo de sinergismo en cada combinación empleada, se calculó la diferencia entre el valor del efecto analgésico global de la combinación de indometacina con cafeína, expresado como el área bajo la curva (ABC) y la suma del valor del efecto analgésico global (ABC) de las respectivas dosis de indometacina y cafeína; aunque sólo tuvo que tomarse en cuenta el resultado

obtenido de la CDR de indometacina, ya que como se dijo antes la cafeína no tuvo ningún efecto analgésico.

Si el resultado obtenido fue una diferencia positiva significativa, aplicando análisis de varianza de dos vías con un nivel de confianza del 99.99% ($p < 0.001$), la combinación produjo un efecto de sinergismo de potenciación, y si el resultado fue una diferencia significativamente negativa, la combinación produjo un efecto de sinergismo antagónico, pero si la diferencia no es significativa incluyendo cero, entonces la combinación produjo un sinergismo de suma. De esta manera resultó que doce combinaciones tuvieron un efecto de suma y las otras doce produjeron diferentes grados de potenciación.

INDOMETACINA mg/kg	CAFEINA mg/kg			
	3.2	5.6	10.0	17.8
1.0	160.6	-5.2	2.3	86.7
1.7	162.0	-17.6	106.4	120.8
3.2	212.1	-34.0	140.2	187.1
5.6	21.1	47.8	87.3	148.3
10.0	60.1	3.26	52.5	130.4
17.8	71.9	35.96	102.9	107.8

Tabla 1. Diferencia del efecto de cada combinación de indometacina-cafeína con respecto a sus dosis individuales (ABC indometacina + cafeína – ABC indometacina + ABC cafeína)

En la tabla 1 se presenta la diferencia del efecto que hubo en cada combinación con respecto a sus dosis individuales, en donde solo se tuvo que restar el valor de indometacina ya que cafeína no obtuvo respuesta, lo que nos indica de que combinaciones produjeron efectos mayores. Cabe hacer notar que las tres primeras dosis de indometacina combinadas con 3.2 mg/kg de cafeína produjeron las mayores potenciaciones.

8. Análisis de resultados

La cafeína ha sido extensamente utilizada como un adyuvante analgésico⁵⁵, ya que algunos autores han proporcionado evidencias de que es capaz de potenciar los efectos analgésicos de algunos AAINE's, por lo que diversas formulaciones que contienen combinaciones de cafeína con AAINE's han sido grandemente comercializadas⁵⁶⁻⁶⁸, tal es el caso de la Cafiaspirina (aspirina+cafeína) y el Saridon (paracetamol+cafeína)⁶⁹. Por otro lado, la indometacina es un analgésico del grupo de los AAINE's ampliamente utilizado como analgésico y antiinflamatorio, el cual posee una potencia mayor a la de la aspirina, paracetamol y dipirona, y una eficacia similar a la del etoricoxib, un inhibidor selectivo de la COX-2, en un estudio clínico realizado en pacientes con dolor de tipo artritis gotoso⁷⁰. Sin embargo, en años recientes, su uso clínico ha sido sustituido por el de otros AAINE's como el diclofenaco y el ketorolaco, debido a que éstos producen menos efectos adversos de tipo gastrointestinal que la indometacina.

La limitante principal para el uso de diversos analgésicos como el diclofenaco y el ketorolaco es principalmente la parte económica, ya que éstos tienen un mayor costo que la indometacina, y no se diga de los analgésicos selectivos para la COX-2 de reciente introducción llamados Coxib's, que incrementan mucho más su costo, y algunas veces no reflejan una clara ventaja terapéutica para los pacientes en comparación con los AAINE's tradicionales.

Debido a esto surge la importancia de buscar alternativas terapéuticas en las que se optimice el uso de los AAINE's tradicionales con la menor generación de efectos adversos, y como ya se mencionó, una alternativa puede ser la combinación de AAINE's con cafeína, por lo que se decidió determinar que tipo

de interacción analgésica se da entre cafeína e indometacina en un modelo de dolor artrítico.

La cafeína fue incapaz de producir efectos antinociceptivos en el modelo PIFIR, en donde se genera un dolor de tipo artritis gotoso. Sin embargo, existen reportes de que en algunos modelos animales de dolor, tales como el hot-plate o la prueba de Randall-Sellito, la cafeína es capaz de producir un significativo efecto antinociceptivo, pero se requiere de dosis más altas a las necesarias para potenciar el efecto de los AAINE's⁷¹.

En este estudio se evidenció que la cafeína produce potenciación del efecto analgésico de la indometacina en el 50 % de las combinaciones estudiadas, mientras que el otro 50% produce un efecto similar al de la indometacina administrada individualmente. Además, las combinaciones de las dosis más bajas de indometacina (1.0, 1.8 y 3.2 mg/kg) con una dosis baja de cafeína (3.2 mg/kg) fueron de las que produjeron las más altas potenciaciones. Esto tiene la ventaja de disminuir importantemente las dosis de indometacina y producir un efecto analgésico similar al obtenido con una dosis mayor de indometacina administrada individualmente, y por lo tanto, disminuir importantemente los efectos adversos de ésta⁷².

La combinación de 3.2 mg/kg de indometacina con 3.2 mg/kg de cafeína produce un efecto analgésico mayor al obtenido con la dosis más alta de indometacina administrada individualmente, lo cual disminuye la dosis en más de cinco veces su dosis individual y seguramente la aparición de efectos adversos. Además, se ha encontrado que la cafeína puede inhibir el desarrollo de daño gástrico asociado al uso de AAINE's⁷³, teniendo así una doble ventaja el uso de esta combinación, ya que por un lado la cafeína potencia el efecto de la indometacina y por el otro puede inhibir el daño gástrico producido por el analgésico. Por lo tanto, los pacientes que tengan que utilizar analgésicos de

manera crónica podrían encontrar una alternativa muy importante con esta combinación.

En este trabajo no se estudió el mecanismo de la potenciación analgésica de la cafeína sobre la indometacina, sin embargo, diversos investigadores han propuesto la participación de varios mecanismos que pueden explicar en general el efecto de los AAINE's con la cafeína y éstos incluyen factores farmacocinéticos y farmacodinámicos.

Respecto a los factores farmacocinéticos, existen evidencias que demuestran que la cafeína incrementa las concentraciones plasmáticas de aspirina en pacientes⁷⁴, lo que sugirió que cafeína puede incrementar la biodisponibilidad de los AAINE's por incrementar su absorción o impedir su eliminación³⁵, debido a que la cafeína modifica la actividad gástrica, así como el flujo sanguíneo gástrico y hepático⁷⁵. Sin embargo, los estudios en animales no concuerdan con lo anterior, ya que la cafeína incrementa el efecto antinociceptivo de varios AAINE's sin modificar sus propiedades farmacocinéticas^{64,65,76-78}, por lo que se cree que la potenciación que se produce con cafeína y otros AAINE's no se debe a una interacción farmacocinética.

Con respecto a los factores farmacodinámicos se sabe que la cafeína es un antagonista de los receptores a adenosina A₁ y A₂⁷⁹, hay evidencia de que adenosina toma parte en la iniciación o amplificación de la respuesta nociceptiva en la periferia, mientras que a nivel espinal y supraespinal inhibe los impulsos nociceptivos⁸⁰. Se cree que la cafeína incrementa la antinocicepción producida por los AAINE's al bloquear las acciones pronociceptivas de adenosina, ya que la cafeína y la teofilina son capaces de bloquear la antinocicepción producida por la administración local o espinal de agonistas al receptor a adenosina⁸¹.

Además, la nocicepción se puede explicar por un desbalance de los niveles de AMP_c y GMP_c, ya que las prostaglandinas y otros mediadores

hiperalgésicos producen un incremento en los niveles intracelulares de AMP_c, lo cual está relacionado con la nocicepción; y, por otra parte, la administración de análogos de GMP_c revierten esta nocicepción⁸². Debido a este mecanismo se sugiere que el efecto periférico de cafeína involucra un incremento local de GMP_c, ya que es un inhibidor no específico de las fosfodiesterasas de GMP_c, participando en la potenciación de la antinocicepción inducida por los AAINE's⁸³. También se ha propuesto que la cafeína inhibe la síntesis de la enzima **ciclo-oxigenasa-2**⁸⁴; aunado a la acción comprobada del analgésico anti-inflamatorio no esteroideo, de inhibir también la síntesis de la **ciclo-oxigenasa-2**.

Por otro lado, se ha demostrado que diversos AAINE's activan otros mecanismos de acción además de la inhibición de las COX's, tales como vías adrenérgicas, serotoninérgicas, de opioides endógenos y la vía del ON-GMP_c, lo cual podría explicar en parte su importante analgésico^{82,83}.

Para elucidar los mecanismos involucrados en la potenciación del efecto analgésico de la indometacina con cafeína es importante realizar estudios tanto farmacocinéticos como farmacodinámicos, sin embargo, a nivel clínico los hallazgos de este estudio son muy importantes debido a que ofrecen una alternativa terapéutica para los pacientes con dolores de tipo agudo o crónico, que seguramente será más económica y estará al alcance de pacientes de diferente estrato social.

9. Conclusión

Los resultados obtenidos con cafeína e indometacina administrados individualmente, fueron confirmados encontrando que la cafeína no tiene acción analgésica y que indometacina tiene efecto analgésico moderado como se muestra en la literatura para el efecto de los analgésicos del grupo de los AINE's.

De las diferentes combinaciones que se realizaron en el experimento, se pudo comprobar que la cafeína sí funciona como adyuvante analgésico con indometacina en combinaciones específicas para producir potenciación.

En este estudio se ha podido establecer que con determinadas combinaciones de cafeína el efecto analgésico de la indometacina incrementa. Por lo tanto, al reducir la dosis de indometacina se evitan sus efectos secundarios, y finalmente esta combinación podría emplearse más frecuentemente para auxiliar en el tratamiento del síntoma doloroso de muchos padecimientos.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

10. Referencias

1. Loeser, DJ. y Melzack, R. The Pain Series. *The Lancet*, 1999; **353**: 1607-1609.
 2. Bowman, WC. y Rand, MJ. Farmacología: bases bioquímicas y patológicas, aplicaciones clínicas. 2ª ed. Nueva Edit. Interamericana. México, 1984: 6.14.
 3. Arthur C, Guyton MD. Fisiología y Fisiopatología. 5ª. ed., Edit. Interamericana, McGraw-Hill. México. 1992: 376-381.
 4. Melzack R. Pain and stress: a new perspective. In Gatchel RJ, Turk DC, eds. Psychological factors in pain. New York: Guilford Press, 1998.
 5. Deleuran BW. Cytokines in rheumatoid arthritis. Localization in arthritic joint tissue regulation in vitro. *Scand J. Rheumatol.* 1996 (Supl 104): 1.
 6. Kantor TG, Physiology and Treatment of Pain and Inflammation. *Am. J. Medicine.* 1986, **80** (3): 3-9.
 7. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica, 8ª ed., Edit. Médica Panamericana, Buenos Aires. 1991: 696-713.
 8. Lim RK. Pain mechanisms. *Anesthesiology.* 1967; **28**: 106.
 9. Ferreira SH, Lorenzetti BB y Correa FMA. Central and peripheral antialgesic action of aspirin-like drugs. *Eur. J. Pharmacol.* 1978; **53**: 39.
 10. Katzung B. Farmacología básica y clínica. 2ª ed., Edit. El Manual Moderno, 1986: 349-361.
 11. Ferreira SH. Prostaglandins, aspirin-like drugs and analgesia. *Nature (New Biol.)*. 1972; **240**: 200-203.
 12. Moncada S, Ferreira SH, Vane JR. Inhibition of prostaglandin biosynthesis as the mechanism of analgesia of aspirin-like drugs in the dog Knee joint. *Eur. J. Pharmacol.* 1975; **31**: 250-260.
-

13. Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC. T1510, a phorbol ester tumor promoter inducible mRNA from swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J. Biol. Chem.* 1991; **266**: 12866-12872.
 14. Smith WL, DeWitt DL. Prostaglandin Endoperoxide H Synthases-1 and -2. *Adv. Immunol.* 1996; **62**: 167-215.
 15. Sirois J, Richards JS. Purification and characterization of a novel, distinct isoform of prostaglandin endoperoxide synthase induced by human chorionic gonadotropin in granulosa cells of rat preovulatory follicles. *J Biol. Chem.* 1992; **267**: 6382-6388.
 16. Sirois J. Induction of prostaglandin endoperoxide synthase -2 by human chorionic gonadotropin in bovine preovulatory follicles in vivo. *Endocrinology.* 1994; **135**: 841-848.
 17. Vane JR y Botting RM. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflammation Research.* 1998; **47** (suppl. 2): S78-S87.
 18. McCormack K. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and spinal nociceptive processing. *Pain.* 1994; **59**: 9-43.
 19. Carlton SM, Coggeshall RE. Nociceptive integration: does it have a peripheral component?. *Pain forum.* 1998; **7**: 71-78.
 20. Meade EA, Smith WL, DeWitt DL. Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Biol. Chem.* 1993; **268**: 6610-6614.
 21. Kurumbail RG, Stevens AM, Gierse JK. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase -2 by anti-inflammatory agents. *Nature.* 1996; **384**: 644-648.
 22. Gierse JK, McDonald JJ, Hauser SD. A single amino acid difference between cyclooxygenase -1 (COX-1) and -2 (COX-2) reverses the
-

-
- selectivity of COX-2 specific inhibitors. *J Biol. Chem.* 1996; **271**: 15810-15814.
23. Whittle BJR, Vane JR. Prostanoids as regulators of gastrointestinal function. In: Johnston LR, editor. *Physiology of the gastrointestinal Tract*, vol. 1 2nd ed. New York: Raven Press. 1987: 143-180.
 24. Rainsford KO. (ed.) *Inflammation mechanisms and actions of traditional. Drugs. Vol, I, Anti-inflammatory and anti-rheumatic drugs.* Boca raton FL, 1985a.
 25. Lippincott JB. *Pharmacology.* 1992.
 26. Hart FD and Huskisson EC. Non-steroidal anti-inflammatory drugs. Current status and rational therapeutic use. *Drugs*, 1984, **27**: 232-255.
 27. Symposium (various authors). *Anti-rheumatic drugs* (Huskisson EC, ed.) Praeger Publishers, New York. 1983a.
 28. Grollman A, and Grollman EF. *Pharmacology and Therapeutics.* 7^a ed. Lea & Febiger. Philadelphia. 1970.
 29. Sollmann TA. *Manual of Pharmacology.* 8th Ed. WB Saunders Co. Philadelphia. 1957.
 30. Laurence DR, Bennett PN. *Clinical Pharmacology.* 5th Ed. Churchill Livingstone. London. 1980.
 31. Litter M. *Farmacología experimental y clínica.* 7^a ed. Edit. El Ateneo. Argentina. 1986: 60-67.
 32. Grollman A, Grollman EF. *Pharmacology and Therapeutics.* 7th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 1970.
 33. Portenoy RK. Adjuvant analgesics in pain management. In: Doyle D, *medicine.* New York: Oxford University Press, 1998: 361-390.
 34. Sawynok J. *Pharmacological Rationale for the Clinical Use of Caffeine.* *Drugs.* 1995; **49** (1): 37-50.
 35. Sawynok J, Yaksh TL. Caffeine as an analgesic adjuvant: a review of pharmacology and mechanisms of action. *Pharmacol Rev.* 1993; **45**: 43-85.
-

-
36. Sawynok J. Adenosine and pain. In: Phillis JW, editor. Adenosine and adenine nucleotides as regulators of cellular function. Boca Raton: CRC Press, 1991: 391-412.
 37. Taiwo YO, Levine JD. Direct cutaneous hyperalgesia induced by adenosine. *Neuroscience*. 1990; **38**: 756-762.
 38. Karlsten R, Gordh T, Post C. Local antinociceptive and hyperalgesic effects in the formalin test after peripheral administration of adenosine analogues in mice. *Pharmacol Toxicol*. 1992; **70**: 434-438.
 39. Bleehen T, Keele CA. Observations on the algogenic actions of adenosine compounds on the human blister base preparation. *Pain*. 1977; **3**: 367-377.
 40. Sylvén C, Beerman B, Jonzon B. Angina pectoris-like pain provoked by intravenous adenosine in healthy volunteers. *J Biol Chem*. 1986; **293**: 227-230.
 41. Crea F, Pupita G, Galassi AR. Role of adenosine in patogénesis of anginal pain. *Circulation*. 1990; **81**: 164-172.
 42. Post C. Antinociceptive effects in mice after intrathecal injection of 5-N-ethylcarboxamide adenosine. *Neurosci Lett*. 1984; **51**: 325-330.
 43. DeLander GE, Hopkins CJ. Spinal adenosine modulates descending antinociceptive pathways stimulated by morphine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1986; **239**: 88-93.
 44. Karlsten R, Gordh T, Hartvig P. Effects of intrathecal injection of the adenosine receptor agonists R-phenylisopropyl-adenosine and N-ethylcarboxamide-adenosine on nociception and motor function in the rat. *Anesth Analg*. 1990; **71**: 60-64.
 45. Doi T, Kazuna S, Maki Y. Spinal antinociceptive effects of adenosine compounds in mice. *Eur J Pharmacol*. 1987; **127**: 227-231.
-

46. Sawynok J, Reid AR, Doak GJ. Caffeine analgesia in the rat hot plate and formalin test and locomotor stimulation: involvement of noradrenergic mechanisms. 1995.
 47. Over-the counter drugs: establishment of a monograph for OTC internal analgesic, antipyretic and antirheumatic products. Washington: US Government Printing Office, Federal Register. 1977; **42**: 35439-87.
 48. Forbes JA, Jones KF, Kehm CJ. Evaluation of aspirin, caffeine, and their combination in postoperative oral surgery. *Pharmacotherapy*. 1990; **10**: 387-93.
 49. Forbes JA, Beaver WT, Jones KF. Effects of caffeine on ibuprofen analgesia in postoperative oral surgery pain. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1991; **49**: 674-84.
 50. López-Muñoz FJ, Salazar LA, Castañeda-Hernández G, Villareal JE. A new model to assess analgesic activity: "Pain-induced functional impairment in the rat (PIFIR)". *Drug. Dev. Res.* 1993-A; **28**: 169-75.
 51. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*. 1983; **16**: 109-10.
 52. Faires JS, McCarty DJ. Acute arthritis in man and dog after antrasynovial injection of sodium urate crystals. *Lancet*. 1962; **2**: 39-48.
 53. Flores AM. Caracterización de un modelo para la evaluación de analgesia en ratas. Medición de reversión de limitación funcional producida por administración intraarticular de ácido úrico. Tesis presentada para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo. E.N.E.P. "Zaragoza" UNAM. 1982.
 54. Rowland M, Tozer TN. Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, 2nd., Lea and Febiger, Philadelphia. 1989: 255-275, 459-463.
 55. Zhang WY, Po AL. Do codeine and caffeine the analgesic effect of aspirin? –A systematic overview. *J. Clin. Pharm. Ther.* 1997; **2**: 79-97.
-

-
56. McQuay HJ, Carroll D, Guest P. A multiple dose comparison of combinations of ibuprofen and codeine and paracetamol, codeine and caffeine after third molar surgery. *Med. Lett. Drugs Ther.* 1970; **2**: 5-6.
 57. Squires DJ, Masson EL. A double-blind comparison of ibuprofen, ASA-codeine-caffeine compound and placebo in the treatment of dental surgery pain. *J. Int. Med. Res.* 1981; **4**: 257-260.
 58. Morley PA, Brogden RN, Carmine AA. Zomepirac: a review of its pharmacological properties and analgesic efficacy. *Drugs.* 1982; **4**: 250-275.
 59. White P, Strunin L. Post-anaesthetic dental extraction analgesia: a comparison of paracetamol, codeine, ceffeine (Solpadeine) and diflunisal (Dolobid). *Br. J. Oral Surg.* 1982; **4**: 275-280.
 60. Laska EM, Sunshine A, Zigelboim I. Effect of caffeine on acetaminophen analgesia. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1983; **4**: 498-509.
 61. Forbes JA, Jones KF, Smith WK, Gongloff CM. Analgesic effect of an aspirin-codeine-butalbital-caffeine combination and an acetaminophen-codeine combination in postoperative oral surgery pain. *Pharmacotherapy.* 1986; **5**: 240-247.
 62. Forbes JA, Deaber WT, Jones KF. Effect of caffeine on ibuprofen analgesia in postoperative oral surgery pain. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1991; **6**: 674-684.
 63. Gayawali K, Pandhi P, Sharma PL. Determination of the optimal analgesia-potentiating dose of caffeine an a study of its effect on the pharmacokinetics of aspirin in mice. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.* 1991; **8**:529-533.
 64. Granados-Soto V, López-Muñoz FJ, Castaneda-Hernández G. Characterization of the analgesic effect of paracetamol and caffeine combinations in the pain-induced functional impairment model in the rat. *J. Pharm. Pharmacol.* 1993; **7**: 627-631.
-

-
65. Castaneda-Hernández G, Castillo-Méndez MS, López-Muñoz FJ. Potentiation by caffeine of the analgesic effect of aspirin in the pain-induced functional impairment model in the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1994; **10**: 1127-1131.
 66. Kraetsch HG, Hummel T, Lotsch J. Analgesic effects of propyphenazone in comparison to it's combination with caffeine. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1996; **5**: 377-382.
 67. Diamond S, Balm TK, Freitag FG. Ibuprofen plus caffeine in the treatment of tension-type headache. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2000; **3**: 312-319.
 68. Díaz-Reval MI, Ventura-Martínez R, Hernández-Delgadillo GP. Effect of caffeine on antinociceptive action of ketoprofen in rats. *Arch. Med. Res.* 2001; **1**: 13-20.
 69. Kiersch TA, Minic MR. The onset of action and the analgesic efficacy of Saridon (a propyphenazone/paracetamol/caffeine combination) in comparison with paracetamol, ibuprofen, aspirin and placebo (pooled statistical analysis). *Curr Med Res Opin.* 2002; **18**(1): 18-25.
 70. Schumacher HR Jr, Boice JA, Daikh DI, Mukhopadhyay S, Malmstrom K, Ng J, Tate GA, Molina J. Randomised double blind trial of etocoxib and indometacin in treatment of acute gouty arthritis. *BMJ.* 2002; **324**(7352): 1488-92.
 71. Malec D, Michalska E. The effect of methylxanthines on morphine analgesia in mice and rats. *Pol J Pharmacol Pharm.* 1988; **40**: 223-232.
 72. Beaver WT. Combination analgesics. *Am. J. Med.* 1984; **3A**: 38-53.
 73. Koyama R, Kataoka H, Tanaka Y, Nakatsugi S, Furukawa M. Effect of caffeine on ibuprofen-induced gastric mucosal damage in rats. *J Pharm Pharmacol.* 1999; **51**: 817-824.
 74. Thithapandha A. Effect of caffeine on the bioavailability and pharmacokinetics of aspirin. *J Med Assoc Thai.* 1989; **72**: 562-566.
-

-
75. Onrot J, Shaheen O, Biaggione I, Goldberg MR, Feely J, Wilkinson GR, Hollister S, Robertson D. Reduction of liver plasma flow by caffeine and theophylline. *Clin Pharmacol Ther.* 1986; **40**: 506-510.
 76. Aguirre-Bañuelos P, Castañeda-Hernández G, López Muñoz FJ, Granados-Soto V. Effect of coadministration of caffeine and either adenosine agonista or cyclic nucleotides on ketorolac analgesia. *Eur J Pharmacol.* 1999; **377**: 175-182.
 77. Flores-Acevedo DM, Flores-Murrieta FJ, Castañeda-Hernández G, López-Muñoz FJ. Potentiation of the analgesic effect of tolmetin, a potent non-steroidal anti-inflammatory drug by caffeine in the rat. *Pharm Sci.* 1995; **1**: 441-444.
 78. Engelhardt G, Mauz AB, Pairet M. Role of caffeine in combined analgesic drugs from the point of view of experimental pharmacology. *Arzneimittelforschung.* 1997; **47**: 917-927.
 79. Daly JW. Mechanism of action of caffeine. In S. Garattinni (Ed.), *Caffeine: Coffee and health.* 1993; New York; pp: 97-150.
 80. Sawynok J, Reid AR. Neurotoxin-induced lesions to central serotonergic, noradrenergic and dopaminergic systems modify caffeine-induced antinociception in the formalin test and locomotor stimulation in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996; **27**: 646-653.
 81. Poon A, Sawynok J. Antinociception by adenosine analogs and inhibitors of adenosine metabolism in an inflammatory thermal hyperalgesia model in the rat. *Pain.* 1998; **74**: 235-245.
 82. Cunha FQ, Teixeira MM, Ferreira SH. Pharmacological modulation of secondary mediator systems-cyclic AMP and cyclic GMP-on inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol.* 1999; **127**(3): 671-678.
 83. Choi OH, Shamim MT, Pedgett WL, Daly JW. Caffeine and theophylline analogues: correlation of behavioral effects with activity as adenosine receptor antagonists and as phosphodiesterase inhibitors. *Life Sci.* 1988; **43**: 387-397.
-

84. Zhang WY. A benefit-risk assessment of caffeine as analgesic adjuvant. *Drug Saf.* 2001; **15**: 1127-42.
 85. Guring H, Hamza M, Sergejeva M, Ates M, Kotalla CE, Ledent C, Brune K. A role for endocannabinoids in indomethacin-induced spinal antinociception. *Eur J Pharmacol.* 2002; **454(2-3)**: 153-163.
-