



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**Análisis De La Interacción Intratecal Y Local Periférica De
Lumiracoxib En El Modelo De Formalina En La Rata**

**PROYECTO DE INVESTIGACION
DE MAESTRIA**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

Presenta:

Nadia Anel Tapia Barrios

Asesores:

Dr. Gilberto Castañeda Hernández
Dr. Mario I. Ortiz Ramírez
M. en FC María Eugenia R. Posada Galarza

Cuautitlán Izcalli, Edo. De México

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Se propone el presente proyecto de investigación de “Análisis de la interacción Intratecal y Local Periférica de Lumiracoxib en el modelo de formalina en la rata” con la asesoría del Dr. Gilberto Castañeda Hernández y el Dr. Mario I. Ortiz Ramírez, para realizarse en el laboratorio 34 de la Sección Externa de Farmacología del Centro de Investigación y Estudios Avanzados, Sede Norte del Instituto Politécnico Nacional, México, D.F. México.

Más que una dedicatoria, es un profundo amor, admiración y agradecimiento a mis padres:

➤ J. Jesús Tapia Barrios

y

➤ Lidia Lorena Barrios Martínez

Simplemente por ser lo que son..... grandiosos

Por haberme enseñado a ser fuerte, a ser perseverante.

Por repetirme todas las mañanas ¡¡¡échale ganas!!!

Por dedicar todas esas horas diariamente para guiarme hacia el éxito y la felicidad.

Por hacerme responsable, valiente.

Por enseñarme a vencer los obstáculos y estar siempre detrás de mí, apoyando, ayudando.

Por todos los consejos sabios que siempre he recibido.

Por todo lo que me han enseñado.

Por hacerme crecer dentro de una familia genial.

Por formarme como una persona de bien

Por darme todas las armas que necesito para trabajar, para triunfar.

Por enseñarme siempre con su ejemplo.

Gracias por su esfuerzo. Gracias por su amor.

Gracias por ser una familia, un EQUIPO.

POR QUE JUNTOS TODA DIFICULTAD ES VENCIDA

Y LO IMPOSIBLE SE VUELVE POSIBLE.

A mis preciosas hermanitas:

➤ **Damara Tapia Barrios**

y

➤ **Kristel Tapia Barrios**

Simplemente por existir,

Por ser unas niñas tan geniales y tan fantásticas,

Por iluminar mi vida.

Gemelitas:

Son parte de mi corazón.

Las amo profundamente.

Y daría la vida por cualquiera de las dos.

Crezcan, tan bonitas como siempre.

A mi mejor amigo, mi compañero y mi complemento

Isaac

Chávez

Por todos los años que me has acompañado

Por que hemos crecido y madurado juntos

Por todo lo que haces por mí

Por el amor que me das

Por que eres parte de mi pasado, de mi presente

Y por el futuro que nos espera

Te amo

INDICE GENERAL

No.	Tema	página
1	Lista de tablas	X
2	Lista de figuras	VII
3	Lista de abreviaturas	VIII
4	Resumen	1
5	Antecedentes	2
6	Introducción	6
7	Justificación	69
8	Hipótesis	69
9	Objetivo	69
10	Objetivos particulares	70
11	Materiales y métodos	71
12	Diseño experimental	76
13	Análisis de datos	84
14	Bibliografía	86

INDICE DESGLOSADO

No.	Tema	página
	Resumen	1
1	Antecedentes	2
1.1	Historia	2
1.2	Teoría del dolor	5
2	Introducción	6
2.1	Dolor	6
2.2	Causas del dolor	6
2.3	Características del dolor	7
2.4	Aspectos benéficos del dolor	9
2.5	¿Por qué estudiar el dolor?	10
2.6	Nocicepción	10
2.7	Clasificación del dolor	11
2.7.1	En base al tiempo de persistencia y a los distintos mecanismos fisiopatológicos que lo originan:	11
a	Dolor transitorio	11
b	Dolor agudo	12
c	Dolor crónico	13
2.7.2	En base a los distintos mecanismos neurofisiológicos que lo originan:	14
a	Dolor nociceptivo	14
i	Dolor somático	14
ii	Dolor visceral	14
b	Dolor neuropático	16

c	Dolor inflamatorio	16
2.8	Neuroanatomía del dolor	18
2.9	Transmisión del dolor	21
2.9.1	Transducción	21
2.9.2	Transmisión	22
2.9.3	Modulación	23
2.9.4	Percepción	24
2.10	Fisiología del dolor	25
2.11	Mediadores químicos que modulan la actividad de los nociceptores	28
2.12	Transmisión del dolor de la médula espinal a centros cerebrales superiores	32
A	Vía neoespinotalámica del dolor rápido	32
B	Vía paleoespinotalámica del dolor lento- crónico	33
A	Vías monosinápticas	34
B	Vías polisinápticas	34
2.13	Mecanismos centrales para la modulación del dolor	35
I	Vías descendentes noradrenérgicas	37
II	Vías descendentes dopaminérgicas	37
III	Vías descendentes serotoninérgicas	37
2.14	Terapéutica del dolor	38
2.15	Tratamiento farmacológico del dolor	39
2.16	Analgésicos	39
2.17	Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES)	40
2.17.1	Clasificación de los aines	41

2.18	Aines inhibidores selectivos de COX-2	50
2.19	Lumiracoxib	50
2.19.1	Indicaciones terapéuticas	50
2.19.2	Posología y método de administración	50
2.19.3	Farmacología	51
2.19.4	Perfil farmacodinámico	53
2.19.5	Perfil farmacocinético	53
2.19.6	Mecanismo de acción	54
2.20	Modelos experimentales para evaluar nocicepción	55
2.20.1	Criterios para la validación de los modelos animales de dolor	55
2.20	Clasificación de los modelos animales de dolor	56
A	Modelos animales para dolor agudo	57
B	Modelos animales para dolor inflamatorio	57
C	Modelos animales para dolor visceral	57
D	Modelos animales para dolor neuropático	57
2.21	Modelo de formalina	58
2.21.1	Historia	58
2.21.2	Solución de formalina	59
2.21.3	Factores que modifican la conducta nociceptiva	59
2.21.4	Medición de la prueba	61
2.21.5	Características de la prueba	62
2.22	Método isoblográfico	64
3	Justificación	69
4	Hipótesis	69

5	Objetivo	69
6	Objetivos particulares	70
7	Materiales y métodos	71
7.1	Población de animales	71
7.2	Vías de administración de Lumiracoxib	71
7.3	Fármacos	71
7.4	Reactivos	72
7.5	Material	72
7.6	Modelo experimental de la administración de formalina para evaluar la respuesta analgésica de Lumiracoxib	73
7.7	Cirugía espinal	74
7.8	Examinación de la posición del catéter	75
8	Diseño experimental	76
8.1	Efecto nociceptivo de la administración de Formalina	76
8.2	Efecto analgésico de la administración local de Lumiracoxib	76
8.3	Efecto analgésico de la administración Intratecal de Lumiracoxib	77
8.4	Efecto analgésico de la combinación local e Intratecal de Lumiracoxib y su análisis isobolográfico	77
9	Análisis de datos	84
10	Bibliografía	86

LISTA DE TABLAS

No.	Nombre de la tabla	Página
Tabla #1	Principales diferencia entre el dolor agudo y crónico	14
Tabla #2	Clasificación de las fibras de las neuronas sensitivas.	20
Tabla # 3	Propiedades de las enzimas Ciclooxygenasas	48
Tabla # 4	Características y propiedades de Lumiracoxib	52
Tabla # 5	Perfil Farmacocinético de Lumiracoxib	54

LISTA DE FIGURAS

No.	Nombre de la tabla	Página
Figura # 1	Fotografía de la planta “Papaver somniferum”	2
Figura # 2	Imágenes representando la presencia de dolor en pacientes	7
Figura # 3	Una venopunción genera dolor transitorio	12
Figura # 4	Una caída, golpe o fractura genera dolor agudo	12
Figura # 5	Dolor crónico	13
Figura # 6	Proceso del dolor nociceptivo	15
Figura # 7	Proceso del dolor inflamatorio	17
Figura # 8	Ubicación esquemática de las fibras primarias aferentes periféricas	18
Figura # 9	Tipos de fibras de conducción	20
Figura #10	Principales procesos involucrados en la percepción del dolor.	25
Figura #11	Esquemmatización del proceso fisiológico y las estructuras involucradas en la percepción del dolor.	27
Figura # 12	Conducción de la información dolorosa desde la médula espinal hacia el cerebro a través de la vía espinotalámica.	36
Figura # 13	Mecanismo general de Nocicepción	43
Figura # 14	Mecanismo general de antinocicepción de los AINES	47
Figura #15	Estructura química del inhibidor selectivo de COX-2 (Lumiracoxib).	52

Figura #16	Gráfica característica de la administración de formalina.	63
Figura #17	Diseño experimental para determinar el efecto analgésico de Lumiracoxib por vía local	79
Figura #18	Diseño experimental para la determinación del efecto analgésico de Lumiracoxib por vía Intratecal.	80
Figura #19	Diseño experimental para la determinación del efecto analgésico de la combinación local e Intratecal de Lumiracoxib	81
Figura #20	Representación de un isoblograma	83

LISTA DE ABREVIATURAS

5HT	5-hidroxitriptamina o serotonina
5HT ₃	Receptores a serotonina
A ₂	Receptores a adenosina
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilsoxazol-4-propiónico
AMPC	Adenosín monofosfato cíclico
ANOVA	Análisis de varianza
ATP	Adenosín Trifosfato
BK	Bradicinina
CI ₅₀	Concentración Inhibitoria 50
Cl	Clearance o Eliminación
CL	Contralateral
C _{max}	Concentración plasmática máxima
COX	Ciclooxigenasa
COX-1	Ciclooxigenasa isoforma 1
COX-2	Ciclooxigenasa isoforma 2
DE	Dosis Efectiva
DE ₃₀	Dosis Efectiva 30
DE ₅₀	Dosis Efectiva 50
Ee	Error estándar de la media
E _{max}	Efecto máximo
GABA	Ácido γ -aminobitérico
GI	Tracto Gastrointestinal

GMPC	Guanosín monofosfato cíclico
H ⁺	protones
IL α	Interleucina 1-alfa
IL β	Interleucina 1-beta
IASP	Asociación Internacional para el estudio del dolor
IB ₄	Nociceptores no peptidérgicos
IL	Ipsilateral
K ⁺ _{ATP}	Canales de potasio sensibles a ATP
LTB ₄	Leucotrieno B ₄
NA	Noradrenalina
NK ₁	Neurocinina 1
NMDA	N-metil- D-aspartato
NPM	Polimodales
OA	Osteoartritis
ON	Óxido NÍTRICO
P ₂ X	Receptor a ATP
Pe	Receptores a prostaglandina E2
PGE2	Prostaglandina E2
PGs	Prostaglandinas
PI2	Prostaglandina I2 (prostaciclina)
PKC	Proteína cinasa C
PRGC	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
s.c	Vía subcutánea
SNC	Sistema Nervioso Central
SON	Sintetasa de ON
SP	Sustancia P

Trk A	Receptores a neurotrofina
TTXr	Canales de sodio resistentes a tetrodotoxina
TXA ₂	Tromboxano A ₂
VD	Volumen de distribución
VEH	vehículo
Vm	Vida media
VR ₁	Receptores Vaniloides
γ	Índice de interacción
μ	Receptores a morfina

RESUMEN

En la actualidad existe una gran diversidad de fármacos para el tratamiento del dolor, incluyendo los de tipo opioide y los fármacos Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). De acuerdo a su acción inhibitoria, los AINEs pueden clasificarse en 2 grupos:

- AINEs inhibidores no selectivos de COX, los cuales no distinguen entre las 2 isoformas de COX.
- AINEs inhibidores selectivos de COX, los cuales pueden inhibir únicamente a la isoforma COX-2.

Se conoce claramente que los AINEs selectivos, presentan menores efectos gastrointestinales y cardiacos, por lo que es preciso centrar toda nuestra atención y realizar más estudios en éste tipo de analgésicos, pues prometen ser el mejor tratamiento en la terapéutica del dolor. Y es por ello que este estudio se realizara para evaluar la magnitud de la interacción de la administración simultánea de Lumiracoxib por vía local (periférica) e Intratecal (Espinal), ya que anticipadamente se sabe que el efecto antinociceptivo y antiinflamatorio de los AINES de debe a su capacidad de desencadenar mecanismos de acción tanto a nivel central como también a nivel periférico.

Se utilizará la prueba de la formalina para evaluar los efectos antinociceptivos de Lumiracoxib administrado individualmente o en vías combinadas en proporciones fijas. Además el análisis isoblográfico se empleará para identificar el tipo de interacción que resulta de la administración simultánea de Lumiracoxib por vía Local e Intratecal.

1. ANTECEDENTES

1.1 HISTORIA

El dolor representa una de las principales preocupaciones del hombre desde el principio de la historia, muestra de esto es que en cualquier civilización podemos encontrar referencias al dolor. El hombre ha luchado contra “el dolor” y “la enfermedad” en todas y cada una de las épocas, para preservar no sólo la vida sino también la salud y aunque los remedios para combatir el dolor han estado presentes casi desde que el hombre existe, poco se sabe de ellos, sin embargo ya en el antiguo Egipto se usaba el opio como se constata en el papiro de Ebers (1550 A. C.), el documento médico más famoso (Litter, 1974).

Inclusive, ya desde el siglo III A. C., en los escritos de Teofrasto, se tienen indicios del amplio uso del extracto de la amapola o adormidera llamada “*Papaver Somniferum*” (Figura #1), el opio, y de sus maravillosos efectos psicológicos y analgésicos.

En el oriente, el opio se utilizaba con mucha frecuencia, por lo que se comercializaba ampliamente y era inclusive recomendado por los médicos árabes, mientras que en Europa, Paracelso (1493–1541) lo puso en boga, a pesar de su alta toxicidad (Ito et al., 2001).



Figura #1 Fotografía de la planta “*Papaver Somniferum*”, de la cual se obtiene el opio como un extracto del líquido grisáceo que fluye de sus cápsulas.

Y en 1803 Sertürner logró aislar eficientemente uno de los más de 20 compuestos contenidos en el opio, al que nombró **morfina**, en referencia a Morfeo el dios griego del sueño (Hardman et al., 2001), siendo el elemento más abundante, sin embargo relativamente pronto se descubrieron otros compuestos alcaloides con acción analgésica tal como la codeína y la papaverina. El uso del opio, pronto se intensificó y poco a poco se convirtió en abuso, contribuyendo además la invención de la aguja hipodérmica, que facilitó su administración parenteral, convirtiéndose su uso en adicción. Hechos desastrosos condujeron a la interminable búsqueda de nuevas sustancias analgésicas potentes pero con restringido potencial adictivo.

Además, por varias décadas, los mecanismos de nocicepción y analgesia han sido estudiados, inclusive en el siglo II D. C. fueron descritos la inflamación, el rubor, calor, dolor y el tumor, por Aulus Celsus (Ito et al., 2001).

Posteriormente se descubrió que algunas plantas, ejercían efectos analgésicos y antiinflamatorios, y se usaron como remedios con fines terapéuticos, transmitiéndose su conocimiento, de cultura en cultura desde hace siglos.

Entre los remedios medicinales más importantes, se encuentra la corteza de sauce, la cual crecía en pantanos y zonas húmedas, y ejercía efectos curativos en la fiebre (Steinmeyer, 2000).

Stone especuló que la corteza de sauce, al tener propiedades curativas, debía contener un ingrediente activo, el glucósido amargo denominado "salicina", que era el responsable de dichos efectos, el

cual fue aislado por Leroux en 1829, quien además demostró sus potentes efectos antipiréticos.

La salicina al ser sometida a una reacción de hidrólisis, generó glucosa, y alcohol salicílico, el cual se encontró que podía ser convertido en ácido salicílico por síntesis química, lo cual fue muy bien utilizado por Felix Hoffman, un químico que preparó ácido acetilsalicílico para la compañía farmacéutica Bayer, siguiendo protocolos olvidados de Gerhardt en 1853 (Goodman, 1996; Velásquez, 2004). El ácido acetilsalicílico demostró ser eficaz contra la fiebre y el dolor en artritis, además de presentar pocos efectos secundarios y un mejor sabor (Velásquez, 2004).

Además Dreser utilizó dicho compuesto en la medicina (en 1899) con el nombre de aspirina, siendo un derivado del término *Spiracea*, que significa sauces, que representa una especie vegetal de la cual alguna vez se preparó el ácido salicílico. Consecutivamente, los salicilatos sintéticos fueron desplazando a los productos naturales (Goodman, 1996).

Hasta el día de hoy, cientos de científicos e investigadores alrededor del mundo, han tratado de combatir el dolor de diversas maneras y aunque al principio se realizó sin ninguna base científica, y en ocasiones únicamente bajo aspectos mágico-religiosos, desde el siglo pasado se han buscado bases bioquímicas y farmacológicas del dolor y la analgesia. Afortunadamente en los últimos veinte años se han logrado grandes avances científicos para la comprensión de la fisiología, fisiopatología y farmacología del dolor (Kelly et al., 2001).

Además, hasta la última década del siglo XX, con la aparición y el auge de la biología molecular se ha facilitado elucidar los mecanismos neuroquímicos del dolor en el ámbito de las prostaglandinas y de los opioides a nivel genético (Ito et al., 2001).

Todo esto unido al progreso farmacológico que ha logrado aportar nuevas sustancias y diferentes presentaciones de las ya conocidas, abre un nuevo horizonte en la lucha frente al dolor.

En la actualidad existe un notable incremento en los conocimientos del tema, y lo más importante es que estos conocimientos están comenzando a proyectarse en forma de beneficios para los pacientes.

1.2 Teoría Del Dolor

La naturaleza y los mecanismos involucrados en la percepción del dolor han estado sometidos a través de los tiempos a muchas controversias, y como resultado surgieron varias teorías tratando de descifrarlos, entre ellas la de “la especificidad” y “la del patrón”, sin embargo hay una que se ha mantenido vigente, pasando la prueba del tiempo y llegando hasta la actualidad, la cual es la teoría de “la puerta de control del dolor”, generada en 1965 por Melzack y Wall (Melzack, 1965; Dickenson, 2002). Originalmente la teoría sugiere que la sustancia gelatinosa que se encuentra en el asta dorsal actúa como un sistema de puerta para el control, la cual modula la transmisión de impulsos nerviosos que van desde las fibras periféricas hasta las células centrales (Melzack, 1965). Esta teoría es una manera breve y elegante de decir que la transmisión del dolor desde los nervios periféricos a través de la médula espinal, esta sujeta a la modulación de neuronas intrínsecas y

controles procedentes del cerebro (Dickenson, 2002). La teoría de Mezlac y Wall condujo a la idea de que el dolor puede ser controlado por modulación, ya sea reduciendo la excitación o incrementando la inhibición (Dickenson, 2002).

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Dolor

El dolor es una sensación bastante subjetiva y difícil de definir, debido a que varía de persona en persona, sin embargo, se puede describir como la percepción de una sensación desagradable o una molestia, que está situada en alguna parte del cuerpo y que se debe principalmente a la existencia de un daño tisular real o potencial.

La International Association for the Study of Pain (IASP) define el dolor como: “Una experiencia sensorial y emocional desagradable asociado con una lesión real o potencial, o que puede describirse en términos de la magnitud del daño (Merskey, 1986)”.

2.2 Causas Del Dolor

El dolor es un mecanismo de defensa cuya principal función es la de salvaguardar la integridad del organismo ante factores que pudieran ser destructivos o inclusive mortales. Sin embargo, se dice que cuando existe un funcionamiento anormal en las estructuras de dicho mecanismo, el dolor sobrepasa su función y se vuelve patológico (Bowman y Rand, 1984). El dolor puede ser simplemente un síntoma o la consecuencia de una lesión, enfermedad o inclusive una cirugía (Figura #2).



Figura #2 Imágenes representando el padecimiento de un dolor que puede ser originado por la dismenorrea primaria en el panel izquierdo y el dolor originado por una cirugía dental en el panel derecho.

2.3 Características Del Dolor

- El Dolor no se puede medir, a menos que sea bajo una experiencia propia, por lo que se dice sólo se puede medir de forma subjetiva más no objetiva.
- La percepción o las experiencias de dolor pueden variar y ser completamente distintas entre las personas de acuerdo al tipo de umbral o a la tolerancia que sea desarrollada en el transcurso de su vida; Estas últimas, son propiedades que se ven reflejadas y directamente afectadas por la forma y la calidad de vida, en base a distintos factores como son:
 - Las causas del dolor

- Bases culturales del individuo
 - Bases sociales del individuo
 - Razones económicas
 - Género
 - Emociones
 - Estado de animo
 - Edad
 - Vivencias
-
- Cabe mencionar que la percepción al dolor puede inclusive tener grandes variaciones en un mismo individuo en circunstancias diferentes, debido a que es una experiencia subjetiva que es generada en el cerebro y a que está claramente asociado a conductas emocionales, perceptivas y de aprendizaje (Basbaumn, 1999).
 - Por lo tanto se puede afirmar que el dolor no es únicamente una experiencia puramente nociceptiva, sino que además está integrada por componentes emocionales y subjetivos, por lo que puede producirse también sin causas somáticas que lo justifiquen.

2.4 Aspectos Benéficos Del Dolor

Es imposible concebir la vida sin la existencia del dolor, y a pesar de que generalmente no lo apreciamos como una sensación benéfica, el dolor tiene varias finalidades de vital importancia:

1. Es un sistema de protección biológica, es decir, es un sistema de defensa, al actuar como una señal de alarma, que informa al organismo de la existencia de algún daño o de algún estímulo nocivo. El dolor hace que el individuo reaccione de forma inmediata y se retire o se aleje del estímulo doloroso (Basbaum, 1999; Guyton y Hall, 1999). De ésta manera podemos decir, que el principal objetivo del dolor es minimizar los daños, las afecciones o las lesiones que pueda sufrir un individuo ante un estímulo nocivo como lo puede ser la flama de una estufa, un objeto punzante, el piquete de un insecto o la mordida de un animal.
2. Además el dolor, tiene un componente localizante y discriminativo, que informa y orienta no solo al paciente sino también al médico para la realización del diagnóstico, tomando en cuenta aspectos del dolor como son: su naturaleza, localización, extensión, duración e intensidad.
3. El dolor es también un promotor de reparación del tejido dañado, mediante la creación de una región localizada de hipersensibilidad, conocida como “dolor inflamatorio” alrededor del sitio dañado, lo que provoca que el sujeto disminuya los movimientos y minimice el contacto con cualquier objeto o superficie, favoreciendo y logrando de esta manera la curación del mismo (Basbaum, 1999).

2.5 ¿Porqué Estudiar El Dolor?

El dolor es una de las mayores, sino es que la principal causa por lo que las personas deciden recurrir a consulta con el médico, y es por ello que es de suma importancia conocer los mecanismos exactos por los cuales es transmitido y percibido el dolor, para así poder desarrollar, probar o mejorar distintos fármacos que puedan disminuirlo o en todo caso llegar a inhibirlo. Además de que a pesar de todas las investigaciones que se han realizado en el campo del dolor y de todos los avances que se han logrado, aun existe una enorme insatisfacción por parte del paciente por el mal manejo del dolor. Y es por ello que se debe tratar de encontrar otras estrategias, para alcanzar mejores resultados terapéuticos.

2.6 Nocicepción

La nocicepción es un término neurofisiológico que se refiere a los mecanismos neurales por los cuales se detectan los estímulos nocivos (Julius y Basbaum, 2001).

Por definición, un estímulo que activa las vías sensoriales y da paso a respuestas que pueden ser interpretadas como dolorosas, son considerados como “estímulos nocivos” los cuales incluyen las fuerzas mecánicas, la electricidad, el calor, el frío y los estímulos inflamatorios (Hardy, 1967). Por lo tanto, el término nocicepción hace referencia a la detección de estímulos térmicos, mecánicos, eléctricos y químicos y sus consecuencias inmediatas, que se dan por mecanismos de transducción especializados, los cuales llevan un impulso nervioso a regiones superiores del Sistema Nervioso Central, que están implicados en la percepción de una sensación dolorosa.

Y es por esto que el término nocicepción se debe diferenciar claramente del término dolor, ya que en éste último están involucrados componentes emocionales y de aprendizaje.

2.7 Clasificación Del Dolor

El dolor se puede clasificar de varias formas, tomando en cuenta diferentes aspectos, por lo que en la actualidad, existen múltiples clasificaciones del dolor, en base a la duración, la intensidad, el origen y los mecanismos moleculares involucrados. (Wolf et al., 1998; Loeser y Melzack, 1999; Ito et al., 2001, Riedel y Neeck, 2001).

Sin embargo la clasificación que se presenta a continuación se considera la más sencilla, la más completa y a la vez, la más útil.

2.7.1 En base al tiempo de persistencia y a los distintos mecanismos fisiopatológicos que lo originan:

- a. **Dolor transitorio:** Es producido principalmente por la activación breve de los nociceptores localizados en la piel y otros tejidos. Se caracteriza principalmente por presentarse en situaciones donde no existe daño tisular alguno, como lo es la sensación al someterse a la inyección de algún fármaco (venopunción), o la sensación al recibir un pellizco en alguna parte del cuerpo (Figura #3). Por lo tanto es considerado como un tipo de dolor inducido con fines preventivos de posible daño tisular.

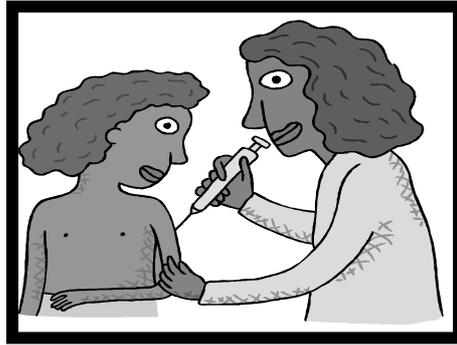


Figura #3 El dolor transitorio se puede presentar al ser sometido a una venopunción.

- b. **Dolor agudo:** Es de aparición inmediata como consecuencia de la estimulación de tipo química, mecánica o térmica de los receptores específicos y la posterior activación del sistema nociceptivo. La causa es generalmente demostrable tal como lo es un daño tisular somático o visceral real (Figura #4). Puede perdurar en un periodo de minutos a unas cuantas horas y se caracteriza por desaparecer junto con la lesión que lo originó, inclusive sin intervención médica alguna, debido a que todos los organismos, por si mismos, tienden a alcanzar un equilibrio homeostático.

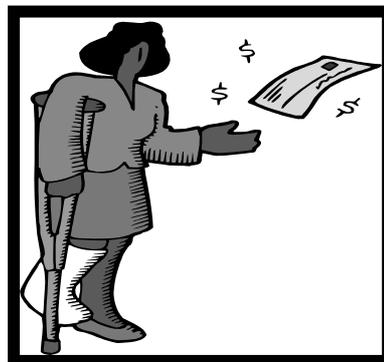


Figura #4 El dolor agudo puede presentarse en situaciones muy comunes como una caída, un golpe o una fractura.

c. **Dolor crónico:** Es producto de un daño tisular, el cual generalmente llega a ser irreversible como resultado de la pérdida de algún tejido o un daño directamente sobre el SNC (Loeser y Melzack, 1999; Ito et al., 2001; Basbaum, 1999). Es un tipo de dolor muy incómodo debido a que puede alcanzar una duración de meses a años (Figura #5). Puede considerarse como síntoma de una enfermedad, siendo en sí mismo una enfermedad. Sólo se alivia en forma transitoria con las terapias indicadas para su tratamiento ya que los mecanismos etiopatológicos que lo provocan no se resuelven fácilmente, debido a que en ésta situación el organismo carece completamente de la capacidad de restaurar la fisiología normal y por lo tanto su homeostasis (Loeser y Melzack, 1999; Jiménez Andrade, 2002). Está generalmente asociado a distintos síntomas psicológicos como son la depresión, la ansiedad y el insomnio.



Figura #5 El dolor crónico es resultado de una enfermedad, sin embargo al estar presente en un tiempo prolongado e incluso indefinido, debe ser tratado como si fuera por sí mismo una enfermedad. Los pacientes que muestran mayor incidencia del dolor crónico son sin duda los ancianos.

Tabla #1 Principales diferencias entre el dolor agudo y crónico

Dolor	Agudo	Crónico
Incidencia	Frecuente	Infrecuente
Finalidad	Útil	Inútil
Duración	menos de un mes	Más de tres meses
Causa	frecuentemente	multifactorial
Comienzo	Definido	Indefinido
Estímulo- Intensidad	Relacionados	No relacionados
Equivalencia	Síntoma	Enfermedad
Estado emocional	Ansiedad	Depresión
Tratamiento	Etiológico	Multidisciplinar

2.7.2 En base a los distintos mecanismos neurofisiológicos que lo originan:

a. Dolor nociceptivo: Se origina por la presencia de un daño somático o visceral (Figura #6).

i. **Dolor somático:** Se debe a una lesión a nivel de la piel, músculos, ligamentos, articulaciones o huesos. Se caracteriza por ser un dolor bien identificado y bien localizado, limitado a la zona dañada.

ii. **Dolor visceral:** Se refiere a una lesión a nivel de órganos internos, aunque cabe mencionar que no todas las vísceras son capaces de percibir el dolor. Por lo tanto es

un tipo de dolor no perfectamente identificado, ni mucho menos bien localizado, el cual no está completamente delimitado y puede extenderse más allá de la región u órgano lesionado. Además es necesario mencionar que para que ocurra el dolor visceral no es estrictamente necesario que se presente un daño tisular, ya que éste puede ser también resultado de dilatación excesiva, por ejemplo la dilatación del colon.

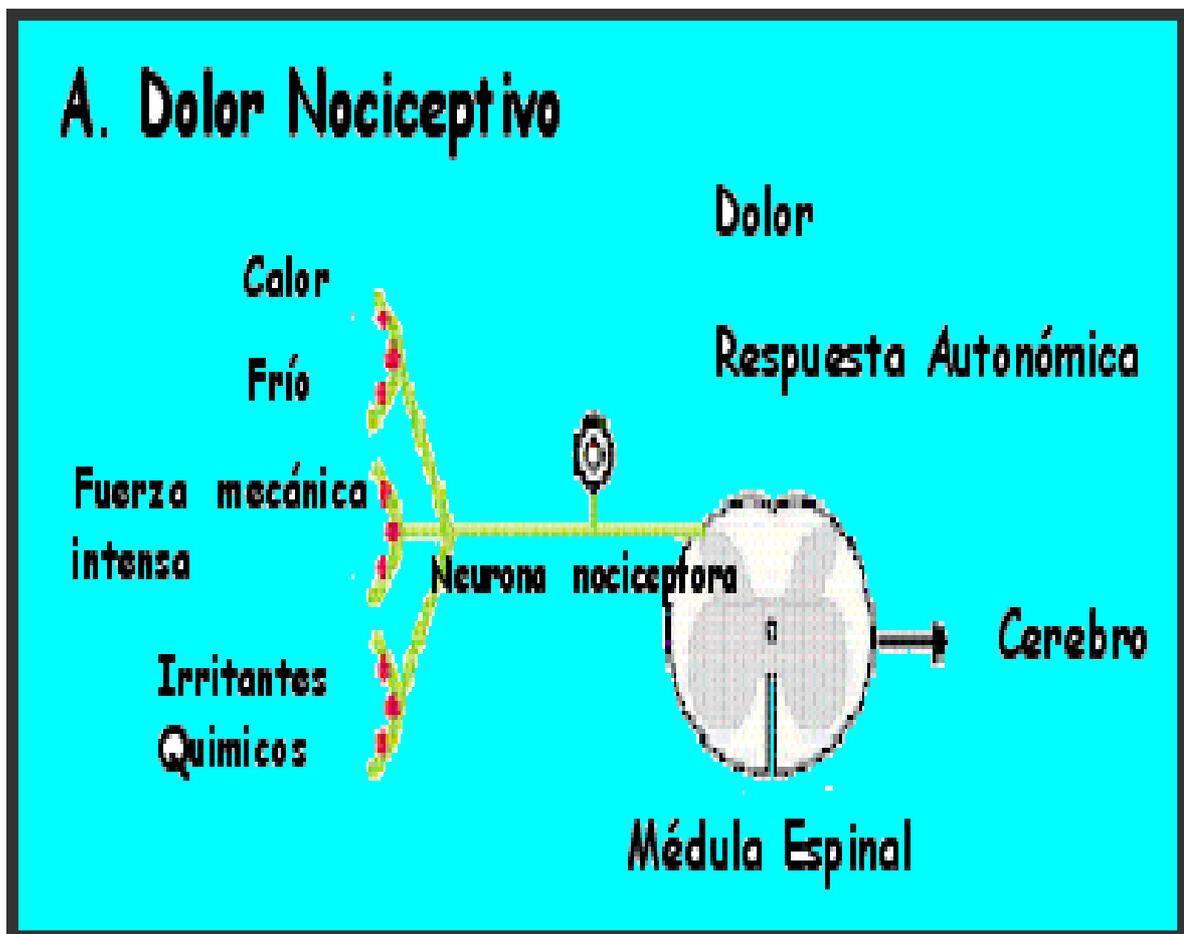


Figura #6 El dolor nociceptivo se presenta ante la activación de los nociceptores mediante un estímulo que puede ser de tipo térmico como lo es el calor o el frío extremo, de tipo mecánico como lo es una fuerza intensa o de tipo químico como lo son algunos tipos de irritantes.

b. Dolor neuropático: Es un tipo de dolor conocido también como patológico, debido a que es la consecuencia de un daño o lesión directamente del Sistema Nervioso Periférico o Central. Además conlleva generalmente una alteración en el comportamiento normal del sistema nociceptivo, por lo que puede llegar a presentarse lo que se conoce como Alodinia, es decir que exista dolor ante un estímulo que anteriormente no generaba dolor. Este tipo de dolor suele presentarse en forma espontánea, persistente y es capaz de causar severa hipersensibilidad a lo que hasta ahora no se le ha encontrado ninguna finalidad benéfica para el individuo (Basbaum, 1999). Es iniciado por una lesión primaria o por disfunción del Sistema Nervioso, posiblemente por disturbios en las células neuronales y no neuronales y provoca cambios inadecuados de adaptación en las neuronas del sistema sensorial.

c. Dolor inflamatorio: El dolor inflamatorio involucra la producción y liberación de un número importante de mediadores químicos (Figura #7), como respuesta a un estímulo nocivo o daño a un tejido. Estos mediadores químicos o neurotransmisores provocan además una serie de eventos importantes que incluyen cambios en:

1. El flujo sanguíneo local (vasodilatación)
2. Incremento en la permeabilidad vascular
3. Activación y migración de células del Sistema Inmunológico, ya que existe infiltración de un número importante de leucocitos y macrófagos. (Dray, 1997).

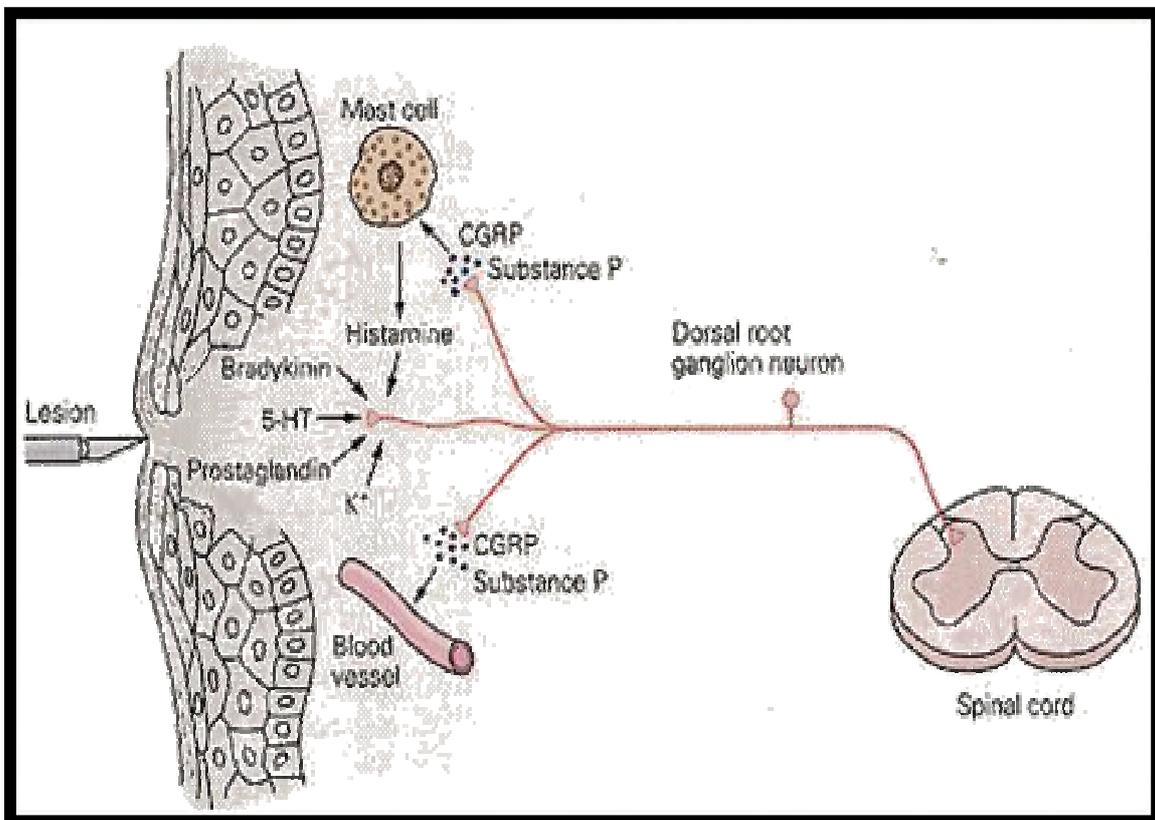


Figura # 7 El dolor inflamatorio es conocido por la síntesis y la rápida liberación de un número importante de mediadores químicos conocidos como “la sopa inflamatoria”, los cuales mediante mecanismos de acción distintos, favorecen la transmisión de la información dolorosa hacia la médula espinal y luego hacia centros superiores del SNC para su rápida percepción.

2.8 Neuroanatomía Del Dolor

Existen varias estructuras involucradas en la percepción del dolor aparte del cerebro y la médula espinal, las cuales son en primer lugar las neuronas sensitivas primarias o terminales aferentes periféricas, las cuales terminan distalmente en receptores conocidos frecuentemente como nociceptores (Sherrington, 1906) (Figura #8) y en segundo lugar las neuronas secundarias o centrales también denominadas “neuronas de relevo”, que se encuentran dentro del asta dorsal de la médula espinal (Basbaum, 1999).

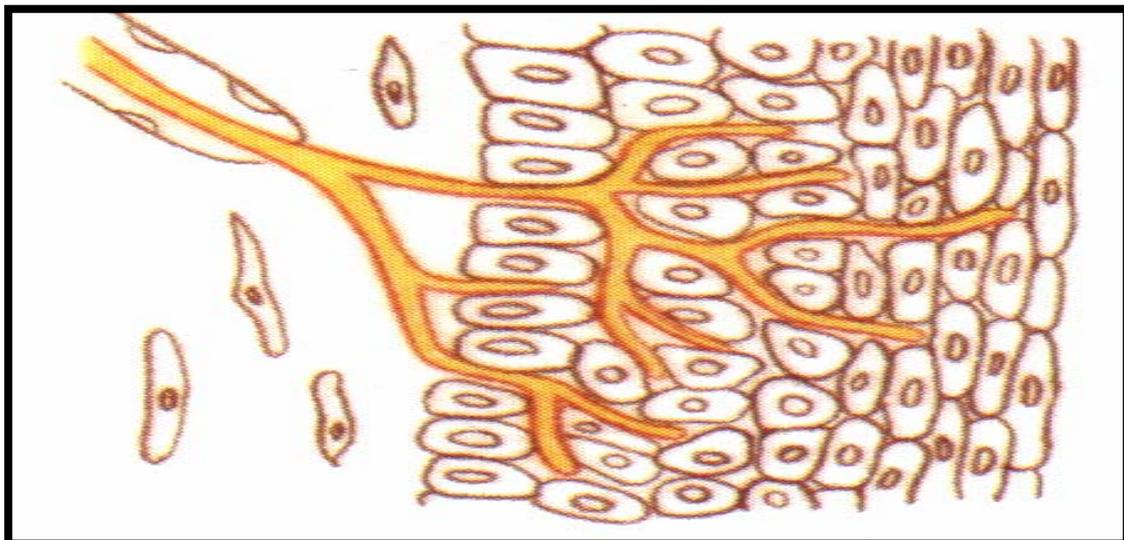


Figura #8 Las fibras primarias aferentes periféricas se encuentran inervando cada rincón de los tejidos de nuestro organismo, y están siempre alerta de los estímulos nocivos que puedan presentarse mediante la activación de sus nociceptores.

Las neuronas sensitivas primarias son receptores terminales sensoriales, los cuales, como su nombre lo dice, participan en la percepción de los diferentes estímulos, incluyendo aquellos que producen dolor. Están presentes en la mayor parte de los tejidos, órganos y sistemas del

organismo tanto de animales como de humanos. Estos, tienen propiedades que los hacen realmente especiales y diferentes entre los distintos tipos de receptores. Entre sus principales cualidades, se encuentra el tener la capacidad de distinguir entre un estímulo no dañino y uno nocivo, es decir, estímulos que sean inocuos y aquellos que son potenciales para causar un daño real al tejido. Esta capacidad se debe principalmente al hecho de que poseen la manera de codificar la intensidad de un estímulo, dentro de un rango que va desde bajas intensidades hasta intensidades nocivas.

Es por ello que las neuronas sensitivas conocidas como **NOCICEPTORES**, los cuales tienen un umbral alto, requieren de estímulos nocivos para activarse y producir dolor (Basbaum, 1999). Además debido a su capacidad de detectar estímulos de tipo químico, físico, eléctrico y mecánico, también se les ha nombrado Polimodales (NPM) (Julius y Basbaum, 2001).

Es importante mencionar que las neuronas contienen a lo largo de su axón, distintos tipos de fibras, las cuales tienen como función principal la conducción de impulsos nerviosos, resultantes de una estimulación en los tejidos de un organismo. La información mecánica inocua es detectada por terminaciones nerviosas especializadas y es transmitida a centros superiores del SNC a través de largas fibras nerviosas aferentes de tipo no mielinizadas denominadas "Fibras de conducción A β " (Figura #9).

Sin embargo, los nociceptores, los cuales como se mencionó anteriormente se encargan únicamente de la detección y transmisión de la información dolorosa o nociva, se clasifican principalmente en dos grupos, en base al tipo de fibra de conducción que poseen.

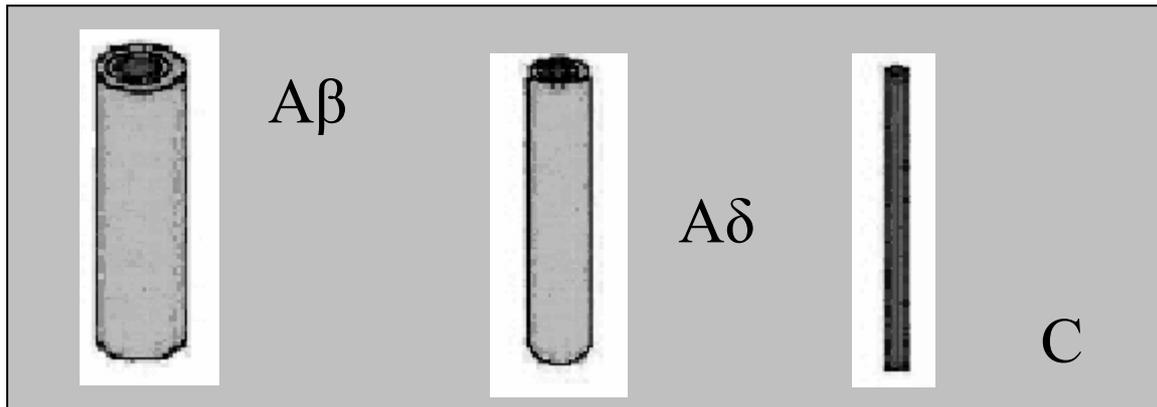


Figura #9 Las neuronas sensoriales poseen 3 tipos de fibras de conducción, las cuales poseen diferentes características, por lo que muestran diferentes propiedades funcionales (Papagayo, 2004). Así, las fibras Aβ se encargan de la conducción de la información proveniente de estímulos inocuos, a diferencia de las fibras Aδ y C, que transmiten información resultante de estímulos nocivos para el individuo.

Tabla #2 Clasificación y características principales de las fibras de conducción de las neuronas sensitivas

Fibras	Diámetro	Mielina	Velocidad de conducción	Localización	Observaciones
Fibras A β	grande	Alta	35-40 m/seg alta	Piel Músculo articulaciones	En condiciones normales no se involucran en el proceso del dolor
Fibras A δ	2-5 μm mediano	Poco	12-30 m/seg media	Piel Músculo articulaciones	
Fibras C	0.4-1.2 μm pequeño	no	0.5-2 m/seg lenta	Piel Músculo articulaciones	Son polimodales

Es importante mencionar que bajo condiciones normales, únicamente las fibras Aδ y C pero no las Aβ participan en la conducción de la información

dolorosa, es decir, que con la única excepción de que se presente una situación patológica, en la cual las fibras A δ y C se encuentren dañadas o incapacitadas para la transmisión de la información nociva, las fibras A β no se involucran.

2.9 Transmisión Del Dolor

Las neuronas sensoriales primarias o nociceptores tienen tres funciones principales en la nocicepción, las cuales son la transducción, la conducción y la transmisión de la información hasta las neuronas centrales (Wolf y Costigan, 1999). Hay cuatro procesos distintos, involucrados en la sensación del dolor (Figura #10):

2.9.1 Transducción:

La nocicepción implica la transducción de señales específicas nocivas y la generación de potenciales de acción por las terminales periféricas o neuronas sensitivas de pequeño diámetro (Stuart, 1999). Todos los sistemas sensoriales deben convertir los estímulos ambientales en señales electroquímicas o potenciales de acción (Julius y Basbaum, 2001). El nociceptor, responde selectivamente a estímulos nocivos y convierte la energía química, mecánica o térmica en impulsos neuronales (potenciales de acción) en el sitio del estímulo, proceso conocido como “transducción”. Las sustancias químicas y enzimas liberadas como resultado de la generación del impulso nervioso o potencial de acción en el tejido dañado, incrementan la transducción del estímulo doloroso (Kelly et al., 2001).

2.9.2 Transmisión

Una vez generados los potenciales de acción en las terminales aferentes periféricas de las neuronas sensitivas son inmediatamente propagados a través de las fibras A δ y C hacia el asta dorsal de la medula espinal, donde estimulan la liberación de más neurotransmisores rápidos y mediadores químicos que actúan con el mismo objetivo, de llevar la información dolorosa hacia centros cerebrales superiores (Stuart, 1999). Por lo tanto, las neuronas primarias aferentes, hacen sinapsis con neuronas de segundo orden, es decir, con neuronas del asta dorsal de la médula espinal, las cuales transmiten dicha información hasta el tálamo, cruzando previamente por la comisura anterior al lado opuesto de la medula espinal. Además, la liberación de dichos neurotransmisores en las terminales periféricas de las neuronas sensitivas, generan una importante atracción de múltiples células inmunológicas para que acudan al sitio donde ha ocurrido el daño (Papagayo, 2004). Posteriormente, desde el tálamo los impulsos son transmitidos a otros centros del Sistema Nervioso Central y a la corteza sensorial que son las áreas responsables de la sensación de dolor agudo así como emocional, cognoscitivo y de la respuesta autonómica (Kelly et al., 2001; Wolf y Costigan, 1999). La transmisión sináptica por las fibras C es mediada por el glutamato, el cual actúa en los receptores AMPA (ácido (-amino-3-hidroxi-5-metiloxazol-4-propiónico) en las astas dorsales, generando potenciales excitatorios rápidos postsinápticos, seguido de un avance lento al que contribuyen los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) (Wolf y Costigan, 1999).

2.9.3 Modulación

Se entiende por modulación, un proceso en el que la activación de ciertos circuitos neuronales ya sea a nivel espinal o cerebral, promoverá el aumento, la disminución, así como la posible inhibición de las sensaciones dolorosas. Se conoce que las vías eferentes (descendentes) ayudan a modificar la información aferente (ascendentes) nociceptiva. Las vías neuronales eferentes involucradas en la modulación del dolor incluyen: los tractos corticoespinales. La estimulación de las vías eferentes pueden modular la transmisión nociceptiva en la periferia y en la médula espinal por alteración de la liberación de neurotransmisores o por activación de vías inhibitorias supraespinales (Kelly et al., 2001). La serotonina y las endorfinas se han involucrado en las vías inhibitorias del tallo cerebral que modulan el dolor en la medula espinal (Kelly et al., 2001). El GABA (Ácido γ -aminobutírico) y la glicina son neurotransmisores inhibitorios que actúan en el asta dorsal. La sensibilidad de los receptores GABA espinales, pueden variar bajo circunstancias diferentes, sin embargo su activación resulta en una modulación o modificación de la información nociceptiva (Kelly et al., 2001).

Por tanto, se sabe que los principales neurotransmisores implicados en el control del dolor por la activación de vías descendentes son la serotonina (5-HT), la noradrenalina (NA) y los opioides endógenos como las endorfinas y encefalinas.

2.9.4 Percepción

Como se mencionó anteriormente, la información acerca de las experiencias sensoriales nocivas es procesada en la médula espinal y es conducida a centros cerebrales superiores para generar una percepción de dolor clara y concisa (Papagayo, 2004). Desde el tálamo los impulsos se dirigen a otros centros cerebrales además de la corteza cerebral. Estos centros en el SNC y en la corteza cerebral, son los responsables de la percepción del dolor y el componente emocional que acompaña al dolor (Kelly et al., 2001). Posteriormente, la información nociva provista hacia estos centros superiores del cerebro, será utilizada por centros motores de control autonómico y somático para proveer una respuesta apropiada, la cual puede consistir en una acción de huida o de escape con fines protectivos o simplemente puede resultar en un cambio emocional.

La importancia de conocer cada uno de los procesos involucrados en la percepción del dolor, es debido a que cada uno de éstos pasos representa un **blanco potencial** para la terapia analgésica (Kelly et al., 2001).

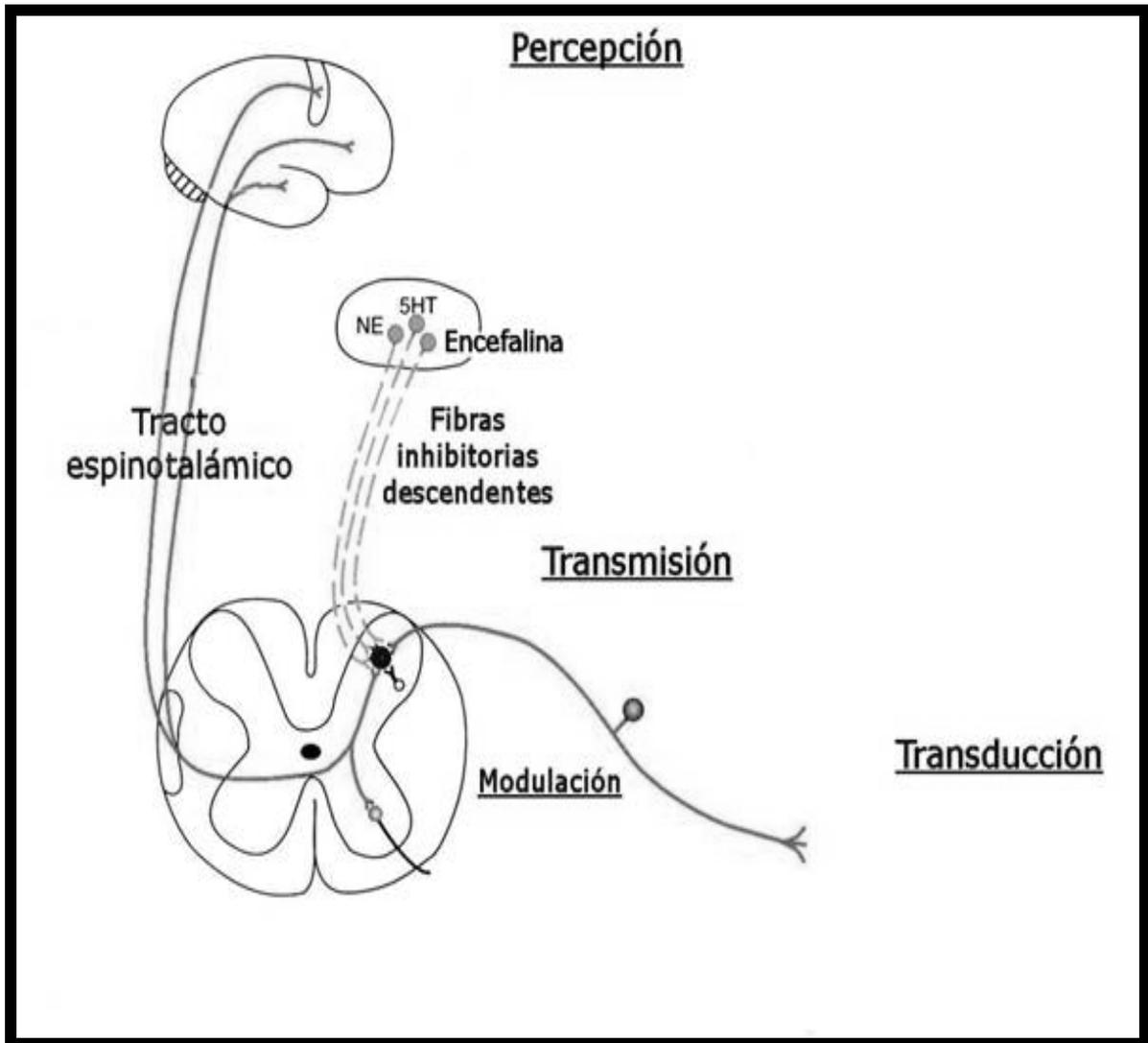


Figura #10 Los principales procesos involucrados en la percepción del dolor son: transducción, transmisión, modulación y percepción.

2.10 Fisiología Del Dolor

Como ya se mencionó anteriormente, una sensación de dolor se origina tras recibir un estímulo periférico como lo es un traumatismo, o alguna quemadura que promueve la inflamación del sitio dañado; es decir, que comienza cuando ocurre una estimulación por medio de diferentes vías ya sea química, mecánica, eléctrica o térmica, hecho por el cual son

liberadas diversas sustancias químicas, tales como la histamina, prostaglandinas y bradicininas.

Estos mediadores químicos actúan como señales o como mensajeros químicos, llevando a cabo un proceso de transducción de señales, promoviendo una estimulación y activación de los receptores primarios al dolor (nociceptores), que están presentes en los diferentes tejidos del organismo.

Los nociceptores se encuentran en distintas cantidades y los hay de diferentes tipos en la mayoría de los órganos y tejidos del organismo, por lo que las sensaciones al dolor se pueden percibir con diferentes intensidades, dependiendo del tejido lesionado.

Una vez activados los receptores primarios o nociceptores, conducen el estímulo nocivo hacia la médula espinal, lugar donde hacen sinapsis con neuronas secundarias que se encuentran situadas en la materia gris; de ésta manera se conectan con la médula espinal a través de distintas fibras nerviosas.

Posteriormente, las proyecciones de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal, hacen sinapsis y transmiten los mensajes dolorosos a otras neuronas, hasta llevar el estímulo a centros más altos, tales como el tálamo y finalmente la corteza cerebral, donde se lleva a cabo el proceso final, es decir en el que dicho potencial de acción se traduce en una sensación dolorosa (Figura #11) (Basbaum, 1999).

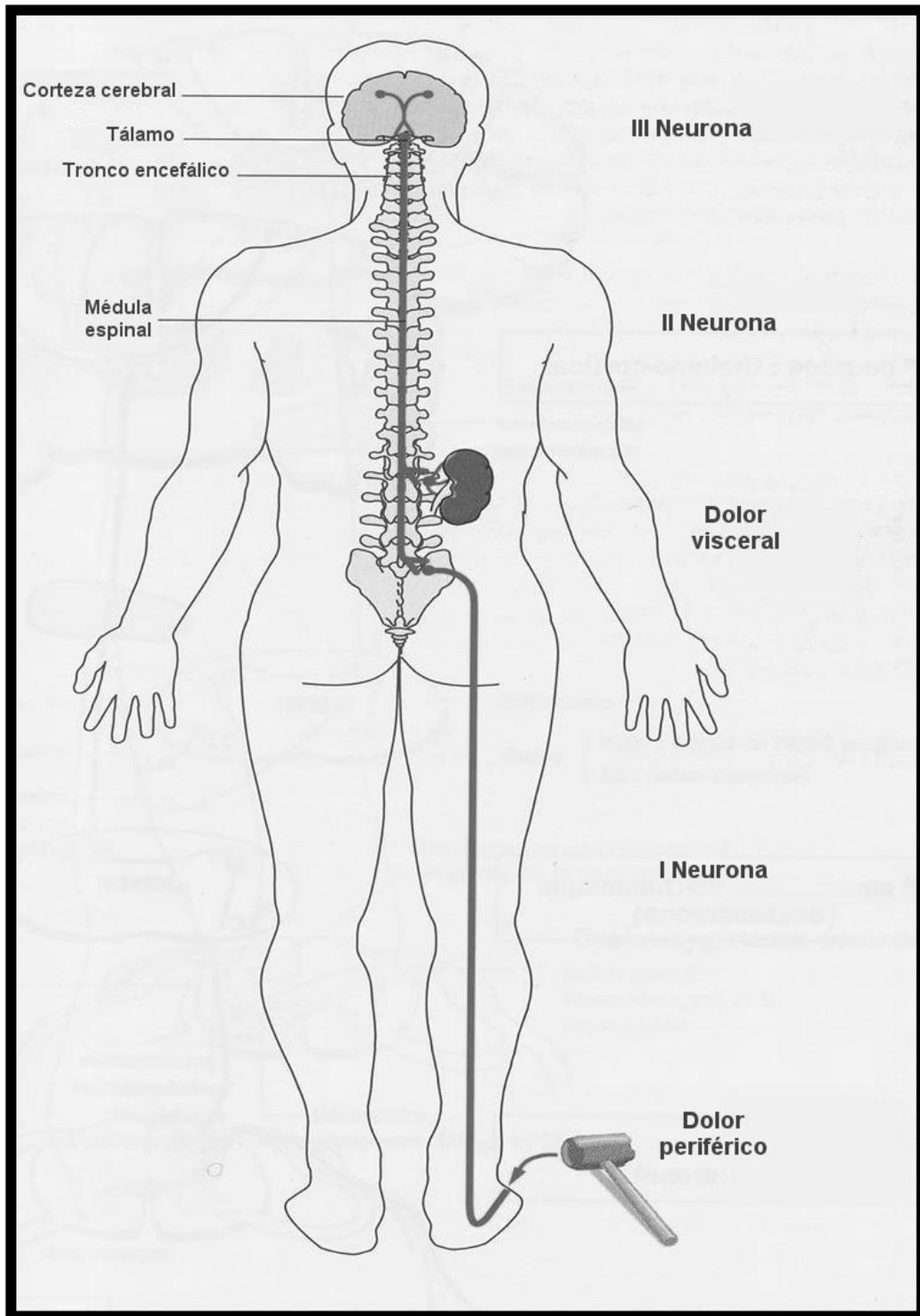


Figura #11 Esquematización del proceso fisiológico que se lleva a cabo en la percepción de una sensación dolorosa, desde un estímulo ya sea a nivel periférico o a nivel visceral, hasta la forma de conducción a través de los diferentes tipos de neuronas (Tipo I, II y III) y la recepción de la información dolorosa en centros cerebrales superiores.

2.11 Mediadores Químicos Que Modulan La Actividad De Los Nociceptores

Como se indicó previamente, ante el daño a un tejido, una gran variedad de sustancias son liberadas, las cuales son mediadores químicos que regulan la actividad de las fibras nerviosas primarias aferentes. Estas sustancias pueden influenciar la excitabilidad del nociceptor por una gran diversidad de posibles mecanismos, además de originar una sensibilización del nociceptor, es decir que son capaces de provocar que exista una mayor posibilidad de disparo de dichas neuronas en respuesta a un estímulo adicional aunque de menor intensidad (Ortiz- Ramírez, 2001). Entre ellas podemos encontrar las siguientes (Zimmerman, 1984; Dray, 1995):

1. Especies reactivas de oxígeno:

- a. **Óxido Nítrico (NO):** Se produce en una variedad de células en tejidos periféricos. A nivel periférico ejerce acciones pronociceptivas. El óxido nítrico que se produce dentro de las neuronas sensoriales, actúa como un segundo mensajero y produce sensibilización de los nociceptores.
- b. **Peróxido de Hidrógeno (H₂O₂)**
- c. **Superóxidos**

2. **Protones (H⁺):** Un pH ácido produce dolor en tejidos normales. La exposición de los nociceptores a pH igual a 6 o menos activa una subpoblación de fibras C y A δ .

3. **Cininas:** Se producen en los leucocitos en respuesta a la exposición de toxinas o mediadores inflamatorios. Incluyen la interleucina 1β , interleucina 1α y la interleucina 8 entre otros.

a. **Bradicinina (BK):** Es un nonapéptido que proviene de la ruptura de las α_2 globulinas por la acción de las kalicreínas titulares y plasmáticas. La BK sensibiliza a los nociceptores para producir hiperalgesia y disminuye los umbrales de nocicepción. Las neuronas sensoriales expresan receptores a BK tipo B1 y B2. Se estima que la activación de los nociceptores inducida por Bradicinina implica la generación de diacilglicerol y la activación de la proteína C (PKC), conduciendo a un incremento de la conductancia de sodio.

b. **Calidita**

4. **Vaniloides:**

a. **Capsaicina:** Es el ingrediente activo de chile.

5. **Prostanoides:**

a. **Prostaglandinas (PGs):** Las PGs son sustancias que se generan a partir del ácido araquidónico por acción de la enzima Ciclooxygenasa (COX). Las prostaglandinas se pueden sintetizar en prácticamente todos los tejidos. Pero en condiciones de inflamación y daño nervioso la síntesis en células inmunes y en terminales simpáticas aumenta significativamente. Las PGs son los agentes prototipo sensibilizantes, debido a que disminuyen el umbral en pruebas conductuales en animales. La prostaglandina E2 (PGE₂) sensibiliza las fibras aferentes de alto umbral tanto

somáticas como viscerales, cuando ésta se administra por vía sistémica. También existe evidencia de que la PGE₂ y la prostaglandina I₂ (PI₂) incrementan la excitabilidad de las neuronas sensoriales por una acción directa (Stuart, 1999)

b. **Leucotrienos:** Se sintetizan a partir del ácido araquidónico por acción de la enzima lipooxigenasa. El principal leucotrieno es el B₄ (LTB₄).

c. **Hidroxiácidos**

6. **Aminoácidos excitatorios:**

a. **Glutamato:** El cual se sintetiza en varias células no neurales, como son los macrófagos, además de las terminales nerviosas de las fibras aferentes primarias. El Glutamato puede causar dolor, en parte por la una potenciación de los procesos inflamatorios mediante la activación de células no neurales y en parte por actuar sobre los nociceptores aferentes primarios, debido a que estas fibras expresan receptores a Glutamato de tipo NMDA, AMPA y de tipo metaboprótico. En procesos inflamatorios los niveles de Glutamato aumentan en el sitio dañado y existe la posibilidad que el Glutamato actúe sobre autoreceptores de las terminales aferentes nerviosas provocando un aumento de la excitabilidad de los nociceptores (Stuart, 1999).

7. **Adenosin trifosfato (ATP):** Las terminales nerviosas sensoriales de una subpoblación de neuronas de diámetro pequeño de los ganglios de la raíz dorsal expresan receptores a ATP (P₂X). El ATP produce dolor y se sugiere que el ATP es una de las señales citosólicas de daño tisular.

8. **Noradrenalina (NA):** Se libera de las terminales nerviosas nociceptivas y actúa en las neuronas simpáticas postganglionares para estimular la producción de prostaglandinas.
9. **Serotonina:** se libera de las plaquetas y en algunos casos de los mastocitos; activa las fibras nerviosas primarias aferentes actuando probablemente sobre receptores tipo 5HT₃.
10. **Histamina:** se libera por la degranulación de los mastocitos.
11. **Adenosina:** Se genera durante un daño tisular y activa directamente las fibras nerviosas aferentes no mielinizadas, produciendo dolor en humanos y nocicepción en animales. Además de esta acción, la activación de receptores a adenosina tipo A₂ produce hiperalgesia (Stuart, 1999)
12. **Factor de crecimiento neural:** Sensibiliza las fibras nerviosas primarias aferentes, además de participar directamente sobre ellas alterando el patrón de expresión de genes que codifican para una gran variedad de péptidos como la bradicinina. Su producción es inducido por la interleucina 1 β (Stuart, 1999).
13. **Sustancias neurogénicas:**
 - a. **Neurocinina**
 - b. **Péptido relacionado con el gen de la calcitonina**
 - c. **Sustancia P**

Los nociceptores no solo liberan neuropéptidos y neurotransmisores desde sus terminales periféricas cuando son activados por estímulos nocivos, sino que ellos a su vez también facilitan la producción y liberación de un mayor número de sustancias químicas en el sitio dañado, a lo que se le conoce

como “la sopa de inflamación”, promoviendo además la liberación de agentes inflamatorios desde células vecinas no neuronales y del tejido vascular, fenómeno al que se le conoce como INFLAMACIÓN NEUROPATICA.

2.12 Transmisión Del Dolor Desde La Médula Espinal A Centros Cerebrales Superiores.

Después de hacer sinapsis las neuronas primarias aferentes con las neuronas secundarias, los axones de éstas últimas se agrupan en tractos localizados en el cordón anterior y anterolateral de la sustancia blanca de la médula espinal. Los axones de éstas neuronas se proyectan a centros superiores del Sistema Nervioso Central (SNC). Cabe mencionar que la neuroanatomía y organización de éstas vías ascendentes es altamente compleja.

Existen dos vías para conducir el dolor desde la médula y el tronco encefálico a centros cerebrales superiores (Guyton y may, 1999):

A. La vía neoespinotalámica del dolor rápido:

Las fibras A δ del dolor rápido transmiten el dolor mecánico y el térmico de tipo agudo y terminan en la lámina 1 (lámina marginalis) de las astas dorsales, allí excitan a neuronas de segundo orden del haz neoespinotalámico. De estas neuronas parten fibras largas que cruzan inmediatamente al lado opuesto de la médula, pasando por las comisuras anteriores y luego ascienden en dirección al encéfalo por las columnas anterolaterales. Algunas fibras del haz neoespinotalámico

acaban en las áreas de la sustancia reticular del tronco encefálico pero la mayoría llegan hasta el tálamo y terminan en el complejo ventrobasal junto con la vía de las columnas dorsales-lemnisco interno que conduce las sensaciones táctiles, además unas pocas fibras terminan en el grupo nuclear posterior al tálamo. Desde esas áreas, los impulsos son transmitidos a otras áreas basales del encéfalo y a la corteza sensorial (Guyton y May, 1999).

B. La vía paleoespinotalámica del dolor lento- crónico:

Termina en una extensa zona del tronco encefálico, y sólo de una décima a una cuarta parte de las fibras llegan hasta el tálamo y las demás terminan en una de las tres áreas siguientes:

- Los núcleos reticulares del bulbo, la protuberancia y el mesencéfalo
- La región del techo del mesencéfalo, en la parte profunda de los tubérculos cuadrigéminos superiores e inferiores o
- En la sustancia gris periacueductal que rodea al acueducto de Silvio.

Sin embargo, Millan en 1999 propuso una clasificación más sencilla de las vías ascendentes (Figura #12) para la conducción del dolor, basada en diferencias anatómicas:

A. **Vías Monosinápticas:** Estas vías proyectan directamente a estructuras superiores cerebrales que incluyen:

- Tracto espinotalámico: sale del cuadrante anterolateral contra- lateral que recoge los estímulos nociceptivos hacia el tálamo.
- Tracto espinomesencefálico: proyectan los mensajes en las estructuras del tronco cerebral (la sustancia gris periacueductal en la región dorso- lateral del puente).
- Tracto espinohipotalámico: lleva la información dolorosa hacia el hipotálamo.
- Tracto espinoreticular: emerge del cuadrante anterolateral contra y homolateral; los mensajes nociceptivos se proyectan sobre la formación del tronco cerebral.

B. **Vías Polisinápticas:** Se caracterizan por tener neuronas de segundo orden, las cuales funcionan como relevos antes de llegar a centros cerebrales superiores. Existen dos vías polisinápticas principales:

- Vías espinocervicales
- Sistema lemniscal

Como se puede apreciar, existe un complejo patrón de innervación ascendente que interactúa directa e indirectamente en el tálamo, cerebro medio, sistema límbico, corteza, formación reticular y muchas otras estructuras cerebrales. Estas regiones supraespinales están extensamente

enlazadas y también interactúan con mecanismos de modulación descendente que corren por las astas dorsales de la médula espinal (Millan, 1999).

2.13 Mecanismos Centrales Para La Modulación Del Dolor

Existe suficiente evidencia de la participación de estructuras cerebrales superiores que modulan el paso de la información nociceptiva a nivel del asta dorsal de la médula espinal. En éste sentido, existe una red neuronal de vías descendentes, también llamadas vías eferentes, que proyectan desde estructuras cerebrales superiores, hasta el asta dorsal de la médula espinal (Figura #12). Dichas vías eferentes pueden suprimir el paso de los mensajes nociceptivos hacia el cerebro, a lo que se le conoce como INHIBICIÓN DESCENDENTE. Pero además pueden potenciar el paso de los mensajes nociceptivos hacia el cerebro, proceso al que se le conoce como FACILITACION DESCENDENTE.

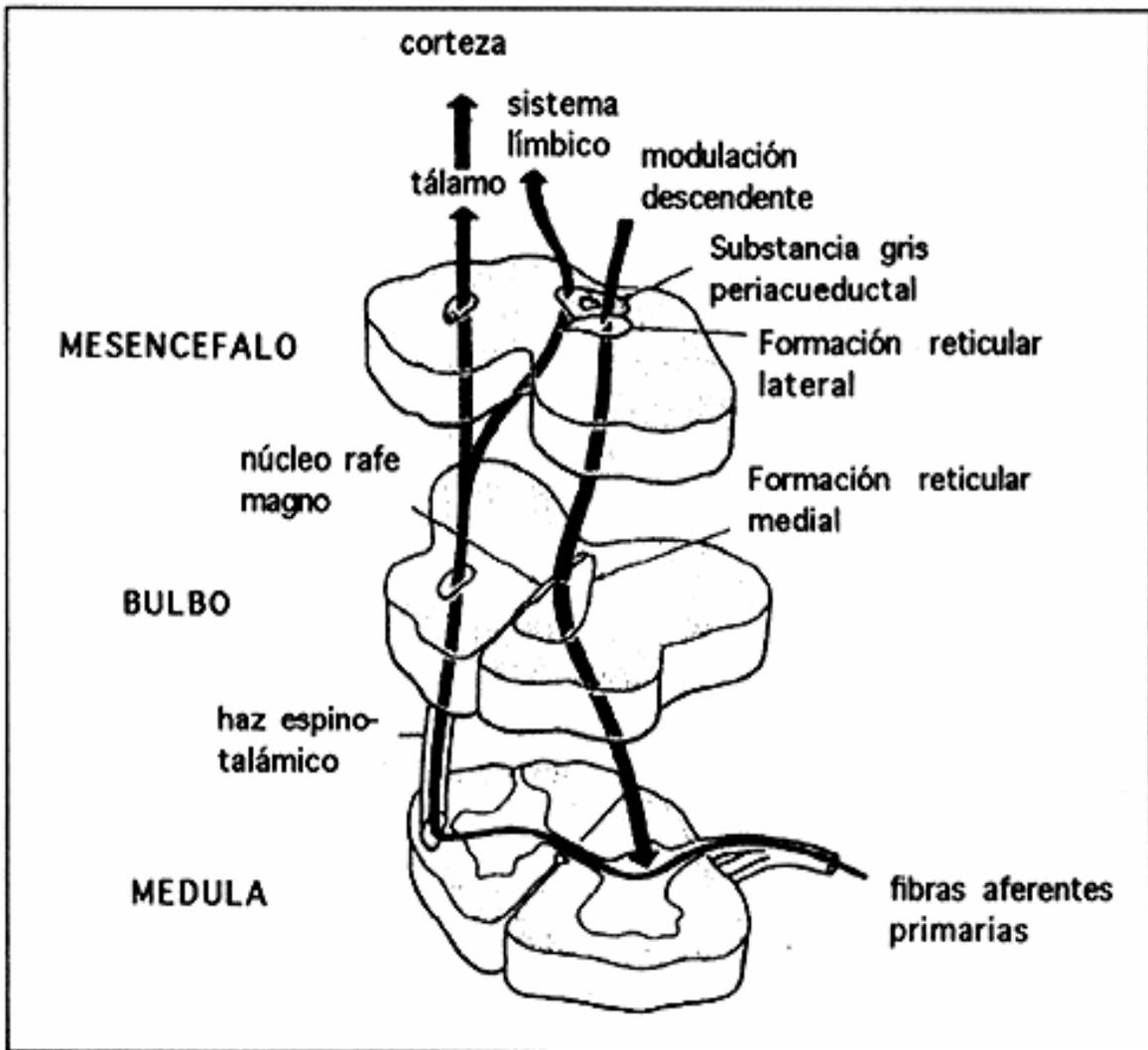


Figura #12 Representación de la conducción de la información dolorosa desde las fibras aferentes primarias por medio de la vía espinotalámica, hacia centros superiores cerebrales tales como la corteza cerebral.

Se sabe que entre las principales estructuras supraespinales implicadas en la inhibición y facilitación descendente se encuentran diferentes núcleos del hipotálamo y el núcleo de rafé entre otros.

Las diferentes vías descendentes accedan a la médula espinal a través de los funículos ventrolaterales y dorsolaterales (Millan, 1999; 2002). Entre las vías descendentes más estudiadas se encuentran las vías noradrenérgicas, serotoninérgicas y dopaminérgicas.

- I. **Vías descendentes noradrenérgicas:** la mayoría de estas proyecciones provienen del locus coeruleus y se dirigen hacia el asta dorsal, jugando un papel muy importante en la modulación de la información nociceptiva, antes de que sea transmitida a centros cerebrales superiores. Las vías noradrenérgicas actúan tanto a nivel postsináptico, suprimiendo la excitación de las neuronas, como a nivel presináptico inhiben la liberación de agentes pronociceptivos (Millan, 2002). Así, la activación de sus receptores α_2 promueven un aumento en la conductancia de K^+ , una disminución en la conductancia de Ca^{2+} y la posterior inhibición de la actividad de la enzima adenilato ciclasa (Millan, 1999, 2002).

- II. **Vías descendentes dopaminérgicas:** las inervaciones dopaminérgicas de la médula espinal se originan principalmente de la sustancia gris compacta y del núcleo paraventricular del hipotálamo. Se ha sugerido que estas vías producen antinocicepción como resultado de la activación de los receptores espinales dopaminérgicos tipo D_2 , los cuales promueven un aumento en la conductancia de K^+ , una disminución en la conductancia de Ca^{2+} y finalmente la inhibición de la actividad de la enzima adenilato ciclasa (Millan, 2002).

- III. **Vías descendentes serotoninérgicas:** Estas inervaciones de la médula espinal se originan predominantemente del núcleo de rafé.

2.14 Terapéutica Del Dolor

La transmisión del dolor puede ser modulada o inhibida primariamente en dos sitios principalmente:

- En receptores localizados en las fibras nociceptivas primarias aferentes o “nociceptores”, alterando la liberación de los transmisores excitatorios liberados por las fibras aferentes. Un ejemplo de esto es el efecto de la codeína y otros opioides aplicados localmente (Jiménez - Andrade, 2002; Stein, 1995). Por otra parte están los AINES como la indometacina, que ejercen su efecto analgésico al bloquear la síntesis de prostaglandinas que sensibilizan a los nociceptores a sustancias como la sustancia P y la bradicinina (Masue et al., 1999).
- En receptores localizados en neuronas secundarias de las astas dorsales de la médula espinal, interfiriendo con el efecto excitatorio de la liberación del transmisor de la terminal aferente (Wilcox y Seybold, 1997). Los agonistas de los receptores α_2 como la clonidina y de los receptores μ como la morfina, producen analgesia por inhibición presináptica de la liberación de neurotransmisores postsinápticamente por hiperpolarización neuronal (Malberg, 1993; Ion et al., 2001).

2.15 Tratamiento Farmacológico Del Dolor

La percepción del dolor es extensa y muy compleja e involucra fundamentalmente eventos biológicos a múltiples niveles del Sistema Nervioso, sin embargo la percepción del dolor puede ser suprimida a varios niveles, como por ejemplo a nivel periférico, en la medula espinal, en el hipotálamo y en la corteza cerebral (López et al., 1993). Debido a esto, el tratamiento farmacológico utilizado para aliviar el dolor se basa principalmente en el uso de fármacos conocidos como: analgésicos.

Sin embargo, también es común el uso de fármacos anticonvulsivantes, antiarrítmicos, anestésicos y antidepresivos tricíclicos para aliviar el dolor (Ashburn y Staasts, 1999).

2.16 Analgésicos

Por definición, un analgésico es una sustancia que a través de su acción sobre el SNC o bien en la periferia, sirve para reducir o inclusive abolir el dolor, pero sin producir inconsciencia (Hardman, et al., 2001). Los fármacos analgésicos se pueden dividir en dos grupos fundamentalmente:

- **Analgésicos narcóticos**, derivados del opio u opioides como son morfina y la codeína entre otros, que se emplean generalmente para el tratamiento del dolor intenso o crónico. Sin embargo, exhiben algunas desventajas importantes en su uso como analgésicos, ya que crean tolerancia y dependencia tanto física como psicológica (Way et al., 2001).

- **Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINES)** como son la Aspirina, Indometacina, Diclofenaco e Ibuprofeno entre otros.

2.17 Fármacos Antiinflamatorios No Esteroideos (AINES)

Los Antiinflamatorios no esteroideos, también frecuentemente nombrados “analgésicos tipo Aspirina”, se encuentran catalogados como un grupo de fármacos entre los medicamentos más frecuentemente consumidos alrededor del mundo (Kuhar y Pasternark, 1984; Ortiz- Ramírez, 2001), ya que están prescritos en el tratamiento del dolor tanto agudo como crónico y de la inflamación (Mysler, 2004).

Son un grupo muy heterogéneo de compuestos ya que casi nunca tienen relación química, a pesar de que casi todos son ácidos orgánicos. Sin embargo comparten algunas actividades terapéuticas y efectos adversos (Hardman et al., 2001).

Se han desarrollado una infinidad de clasificaciones, sin embargo la que se muestra a continuación, es una de las más sencillas pues engloba a todos los integrantes en base a su estructura química.

2.17.1 Clasificación De Los AINES:

- i. **Derivados del ácido salicílico**, como la aspirina
- ii. **Derivados para-aminofenoles**, como el Acetaminofen
- iii. **Indoles y ácidos indonacéticos** como la Indometacina
- iv. **Ácidos heteroarilacéticos**, como el Diclofenaco y Ketorolaco
- v. **Ácidos arilpropiónicos** como el Naproxeno
- vi. **Ácidos antranílicos** como el ácido Mefenámico
- vii. **Ácidos enólicos** como el Meloxicam
- viii. **Alcalonas** como la Nabumetona
- ix. **Derivados pirazolona** como la Dipirona
- x. **Coxibes** como el Celecoxib, Etoricoxib y Lumiracoxib

Los AINES han sido un excelente tratamiento desde 1966 cuando se introdujo la indometacina al mercado (Smyth, 1965) y junto con el Diclofenaco que llegó en los años 70s, probaron ser realmente efectivos en

el tratamiento del dolor agudo incluyendo dolor de cabeza, dolor de muelas, dismenorrea y tendinitis, además de dolor lumbar, osteoartritis y artritis reumatoide que se presenta con graves condiciones inflamatorias y la gota (Mysler, 2004).

Entre los AINES más comúnmente utilizados para el dolor desde leve a moderado, se encuentran el ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, indometacina, sulindaco, piroxicam, meloxicam y nimesilida (Björkman, 1995; Vaile y Davis, 1998).

Tradicionalmente se ha descrito que su acción analgésica, antiinflamatoria y antipirética se debe a la inhibición de las enzimas Ciclooxygenasas (COX-1 y COX-2) en el tejido dañado (Figura #13). Dichas enzimas están involucradas en la conversión de ácido araquidónico en tromboxano A₂ (TXA₂) y prostaglandinas (PGE₁) (Jermany, 2005). Por lo tanto dicha inhibición trae como consecuencia la reducción de la síntesis tanto de prostaglandinas como de tromboxanos (Malmberg y Yaksh, 1992) principalmente en la periferia, aunque también a nivel de la médula espinal, lo que ha sugerido que los AINES tienen un poderoso efecto en el proceso nociceptivo espinal (Pitcher y Henry, 1999; Ito y cols., 2001).

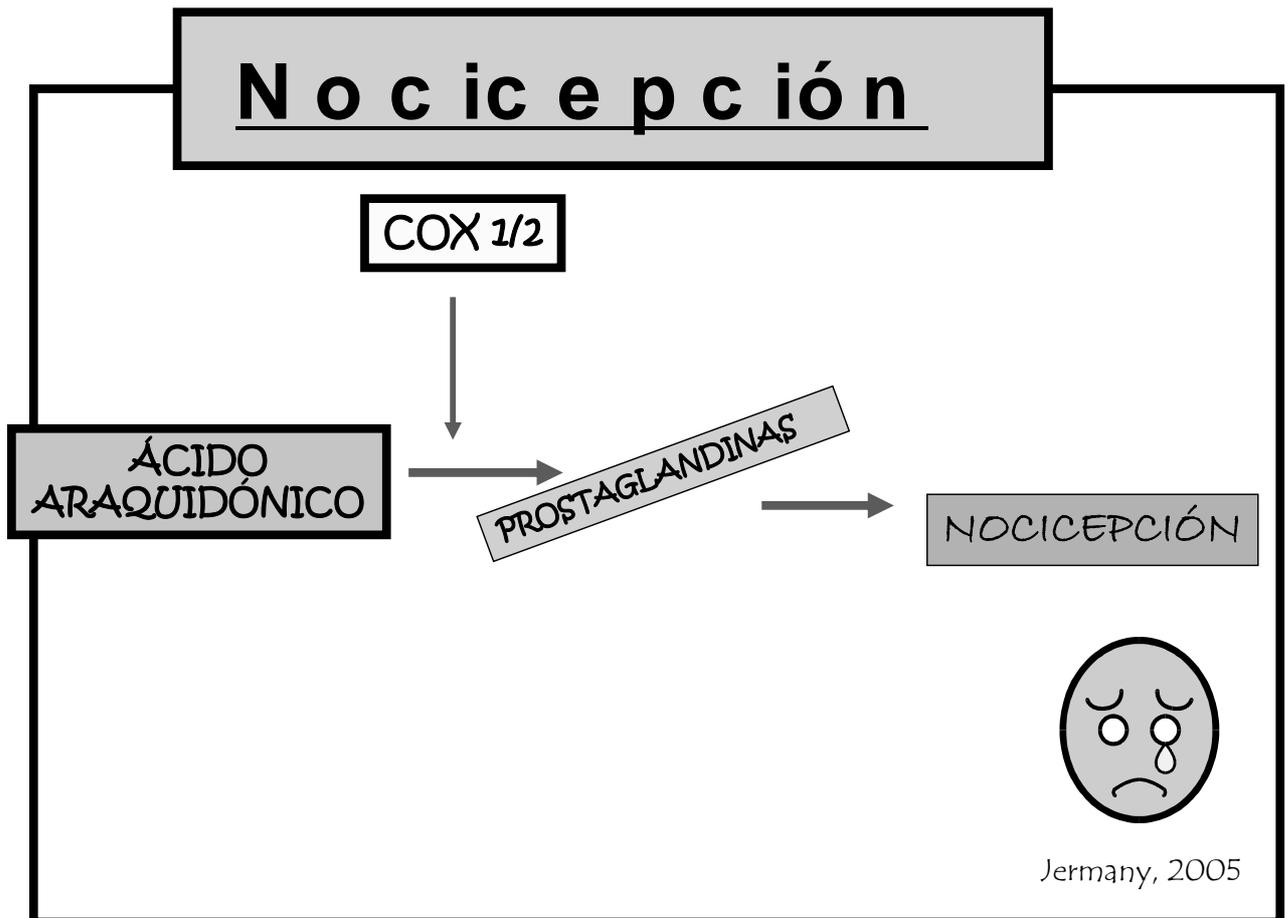


Figura #13 Mecanismo general de nocicepción, en el que tras un estímulo doloroso, el ácido araquidónico liberado de la membrana celular, será convertido a prostaglandinas por medio de las enzimas Ciclooxygenasas 1 y 2, lo que dará lugar a la percepción de una sensación dolorosa.

Sin embargo, se han sugerido algunos mecanismos de acción adicionales que contribuyen en mayor o menor medida al efecto antinociceptivo de los AINES y a continuación se enumeran algunos:

- I. Activación de la transmisión serotoninérgica (Tjølsen et al., 1991; Björkman, 1995; Pelissier et al., 1995, 1996; Miranda et al., 2003; Déciga- Campos y López- Muñoz, 2003, 2004).

- II. Activación de la transmisión adrenérgica (Miranda et al., 2001, 2002; Pinardi et al., 2002, 2003).
- III. Activación de la transmisión opioidérgica (Sacerdote et al., 1985; Tortorici y Vanegas, 1994; Björkman, 1995).
- IV. Inhibición de la liberación de histamina en tejidos de células cebadas (Bevilacqua y Magni, 1993).
- V. Inhibición de la producción de especies reactivas de oxígeno en condorcitos (Zheng et al., 2000).
- VI. Disminución de la unión del glutamato en membranas de la corteza cerebral (Beirith et al., 1998).
- VII. Activación de la vía L- arginina ON- GPPc a nivel espinal y periférico (Lorenzetti y Ferreira, 1985, 1996; Duarte et al., 1990; Ferreira et al., 1991; Duarte et al., 1992; Tonussi y Ferreira, 1994; Granados- Soto et al., 1995; López- Muñoz et al., 1996; Islas- Cadena et al., 1999; Aguirre Bañuelos y Granados- Soto, 2000; Lázaro- Ibáñez et al., 2001)
- VIII. Apertura de canales de potasio a nivel periférico (Lázaro- Ibáñez et al., 2001; Alvez y Duarte, 2002; Ortiz et al., 2001, 2002; Alvez et al., 2004).

Hablando en términos de las prostaglandinas, éstas a su vez, promueven o favorecen la nocicepción, además de que también actúan sensibilizando a los nociceptores a la acción de otras sustancias presentes en situaciones de daño o inflamación de algún tejido tales como la sustancia P, bradicinina y la histamina, que se sabe son liberadas después de recibir un estímulo nocivo (Masue et al., 1999). Sin embargo, recientemente se ha

evidenciado que las prostaglandinas no son sólo son críticas por dicha sensibilización de las terminales periféricas o nociceptores primarios aferentes, sino más allá por el aumento del procesamiento de la información a nivel espinal (Ito et al., 2001; Masue et al., 1999).

Para ser más explícitos, las prostaglandinas pertenecen a la familia de los eicosanoides y son un grupo de ácidos carboxílicos insaturados de 20 carbonos con un anillo ciclopentano, cuyo precursor es el ácido araquidónico, el cual proviene del ácido linoleico de los alimentos o se ingiere como parte de la dieta y se encuentra unido a algunos los fosfolípidos (por medio de enlaces ester) que constituyen a la membrana plasmática, tales como la fosfatidilcolina, fosfatidilserina y fosfatidoletanolamina, (Ito y cols., 2001).

Las prostaglandinas tienen una distribución muy amplia y se han detectado en casi todos los tejidos y líquidos corporales. Estos compuestos son producidos a través de una compleja cascada de reacciones enzimáticas, regulada por dos enzimas principales, la Fosfolipasa A2 (PLA2) y las Ciclooxygenasas (COX-1 y COX-2) (Hamilton et al., 1999). Su biosíntesis es un proceso ampliamente regulado ya que participa en múltiples procesos del organismo tales como la manutención de la homeostasis, por lo que surge en reacción a muy diversos estímulos físicos, químicos y hormonales (Goodman, 1996).

Uno de los efectos más importantes de algunas de las prostaglandinas se encuentra en la fisiología gástrica y renal, ya que en el estómago sirven para conservar la integridad de la mucosa, debido a que inhiben la secreción de ácido y estimulan la secreción de moco, mientras que a nivel renal, son importantes moduladores de la hemodinamia.

En 1971 Vane logró la identificación de la Ciclooxygenasa como un blanco de los AINES lo que facilitó ampliamente el entendimiento del mecanismo involucrado en la antinocicepción (Figura #14) (Vane, 1971). Dos diferentes ciclooxygenasas fueron identificadas en 1991 (Hla T., 1992) con un 60% de homología. COX-1 está constitutivamente expresada en la mayoría de los tejidos a través del cuerpo, incluyendo plaquetas y la mucosa gástrica, mientras que la isoforma COX-2, tiene un patrón restringido de distribución bajo condiciones fisiológicas normales pero es altamente inducible en sitios de inflamación y proliferación celular (Jermamy, 2005).

COX-1 esta involucrada en la producción de prostaglandinas que tienen un rol en la protección gastrointestinal y la producción plaquetaria de tromboxano (Tabla #3).

COX-2 fue identificada como una enzima inducible que cataliza la producción de prostaglandinas involucradas en los procesos inflamatorios.

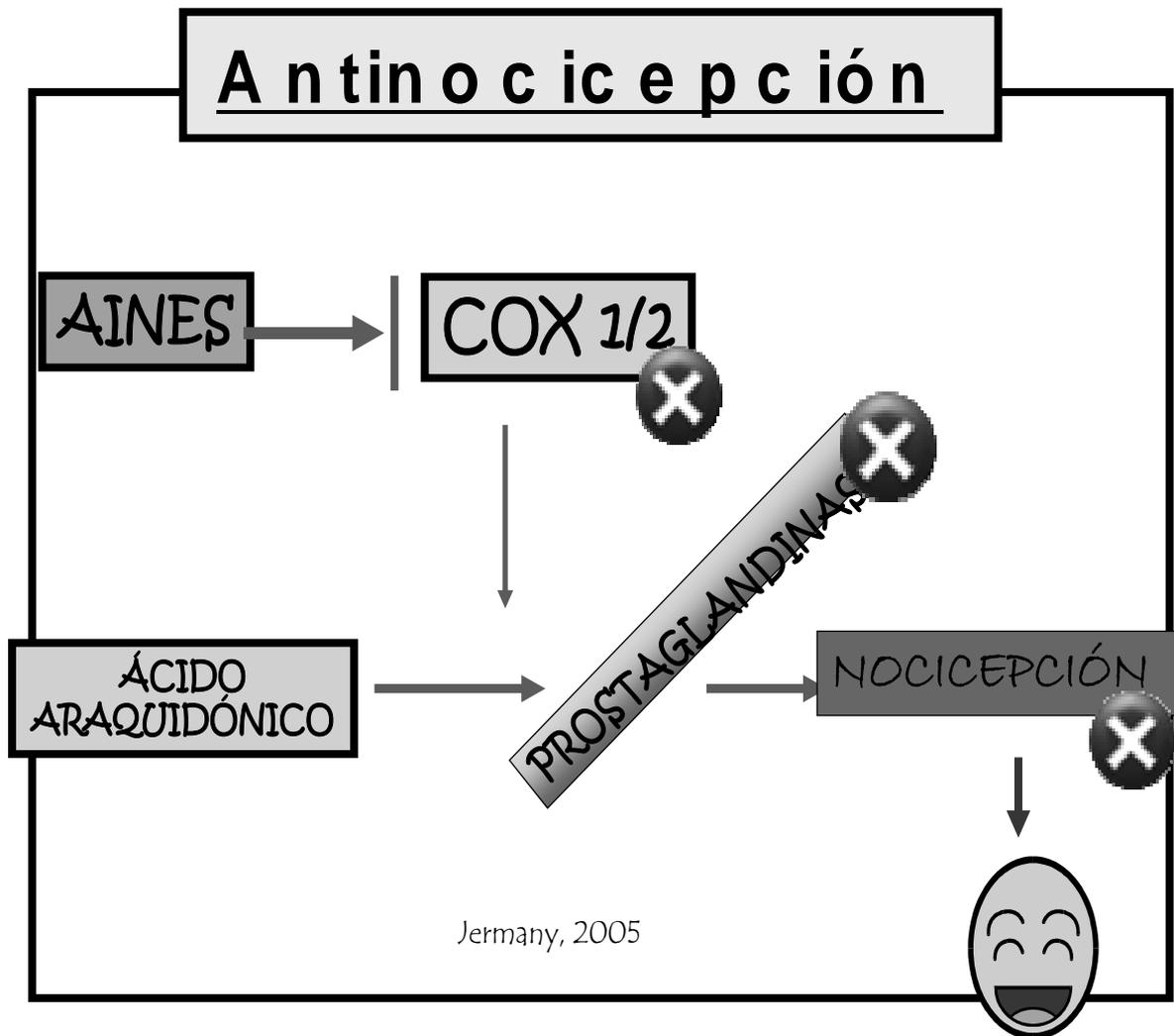


Figura #14 Mecanismo general de antinocicepción de los AINES, en el que ocurre una inhibición de las enzimas Ciclooxygenasas 1 y 2, por lo que el ácido araquidónico liberado tras un estímulo doloroso, no será transformado en prostaglandinas y por lo tanto no habrá nocicepción.

Tabla #3 Propiedades de las enzimas Ciclooxygenasas 1 y 2

COX	Expresión	Localización	Función	Sustrato	Producto	Procesos
COX-1	Constitutiva	°membrana del RE °núcleo	Síntesis de prostaglandinas	Ácido Araquidónico	PGG2 y PGH2	°protección gástrica °agregación plaquetaria
COX-2	Inducible	°membrana nuclear °citoplasma				°inflamación

Sin embargo, se sabe que los AINES están asociados a efectos adversos gastrointestinales tales como la irritación del estómago, dispepsia y úlceras gastroduodenales y a complicaciones más graves tales como la perforación gastrointestinal y hemorragia, además presentan también graves efectos secundarios cardiovasculares como el infarto al miocardio, lo que para los pacientes limita el uso prolongado de algunos AINES (Graham, 2004).

Los AINES convencionales, son efectivos en el tratamiento de la inflamación y el dolor, pero están mayormente asociados a un incrementado riesgo de presentar eventos adversos, principalmente en el tracto gastrointestinal (Williamson- Lyseng, 2004).

Debido a todo esto, se ha podido concluir que “los efectos analgésicos y antiinflamatorios de los AINES se deben principalmente a la inhibición de COX-2 y sus eventos adversos gastrointestinales se deben principalmente a la inhibición de COX-1” (Williamson- Lyseng, 2004).

Por lo tanto, la inhibición selectiva de COX-2 ha dado resultados muy benéficos en la reducción de eventos gastrointestinales adversos, además de conservar la capacidad y el control sobre el dolor y la inflamación (Masferrer, 1994).

2.18 AINES Inhibidores Selectivos De COX-2

El desarrollo de los inhibidores selectivos de COX-2, está considerado como uno de los avances mas importantes en la terapéutica del dolor, debido a que éstos agentes conservan las características analgésicas y antiinflamatorias de los AINES, pero causan menor toxicidad gastrointestinal por conservar los efectos gastroprotectores de la enzima COX-1 (Frölich, 1997; Lipsky et al., 1998; Vane y Warner, 2000; Stichtenoth y Frölich, 2001, 2003). Por lo tanto, los inhibidores selectivos de la COX-2 representan una clase nueva de fármacos antiinflamatorios no esteroideos con potente actividad antiinflamatoria y antihiperalgésica en los modelos animales de dolor (Seibert et al., 1994). Entre los inhibidores selectivos de la COX-2 se encuentran el Celecoxib, Etoricoxib y Valdecoxib, (AINES selectivos de COX-2 de segunda generación) los cuales hasta ahora han sido abundantemente utilizados por demostrar su eficacia en el tratamiento del dolor y la inflamación (Stichtenoth y Frölich, 2001, 2003).

Los inhibidores selectivos de COX-2 han sido destinados no sólo para minimizar los efectos adversos asociados con aquellos AINES no selectivos, sino también a la vez para optimizar la eficacia en la inhibición de COX-2 en el tratamiento de la inflamación y el dolor (Lyseng, 2004).

2.19 Lumiracoxib (Prexige®)

Es un nuevo fármaco analgésico que actúa como un inhibidor selectivo de la enzima COX-2 y que ha probado ser tan efectivo como los AINES convencionales en disminuir el dolor (Graham, 2004).

Aunque es el quinto inhibidor selectivo de COX-2 que sale al mercado, Lumiracoxib tiene una estructura única (Figura #15) que promete presentar un mejor perfil de eventos adversos (Mysler, 2004), además que le confiere excelentes propiedades de ácido débil que le permiten llegar a sitios donde se están llevando a cabo procesos inflamatorios.

2.19.1 Indicaciones terapéuticas

Lumiracoxib está indicado en el alivio del dolor y la inflamación asociados principalmente en desordenes músculo-esqueléticas como la osteoartritis (Ver Tabla #4), debido a que muestra una potente acción antiinflamatoria (Atherton et al., 2004). Pero además es útil en el tratamiento de patologías relacionadas con dolor de corta duración de tipo leve a moderado como son la dismenorrea primaria, cirugías dentales o cirugías ortopédicas.

2.19.2 Posología y método de administración

Lumiracoxib es administrado oralmente y puede ser ingerido con o sin comida. En pacientes con Osteoartritis, se recomienda empezar el tratamiento con una dosis de 100mg una vez por día. Mientras que a los pacientes que no respondan adecuadamente, se les recomienda una dosis

de 200 mg por día, ya sea en una sola administración o dividida en dos por día durante un periodo máximo de un año.

En casos de dolor agudo, la dosis indicada es de 400mg una vez por día. Cabe mencionar que en cirugías dentales, el tratamiento debe durar únicamente 24 hrs, en cirugía ortopédica 5 días y en la dismenorrea primaria sólo 3 días.

Las dosis recomendadas son las mismas tanto para pacientes Asiáticos, Negros y Caucásicos. Además no se requiere un ajuste de la dosis en los casos de insuficiencia hepática o renal.

Finalmente, debido a que no se ha estudiado en niños pequeños, Lumiracoxib está contraindicado en pacientes menores de 18 años.

2.19.3 Farmacología

La estructura molecular de Lumiracoxib es diferente de otros inhibidores selectivos de COX-2, incluyendo Etoricoxib y Celecoxib, ya que no contiene un grupo sulfuro característico de éste tipo de fármacos, sin embargo contiene un grupo ácido carboxílico, que le confiere propiedades polares y ligeramente ácidas, teniendo un pka de 4.7 (Mysler, 2004), y un grupo lipofílico no polar resultando ser una molécula anfifílica.

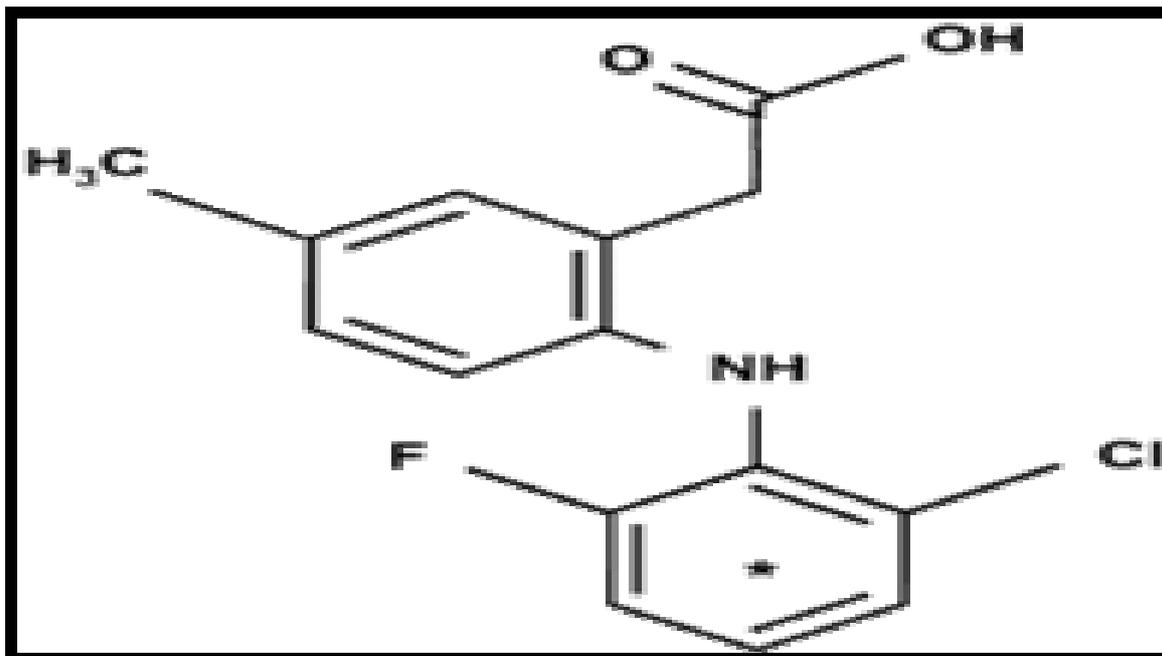


Figura #15 Estructura química del inhibidor selectivo de COX-2 “Lumiracoxib”

Tabla # 4 Características de Lumiracoxib

LUMIRACOXIB	
Indicaciones	Osteoarthritis (OA), artritis reumatoide, Dolor agudo moderado- severo, dismenorrea primaria
Mecanismo de acción	*inhibición selectiva COX-2 *Vía NO-GMPc-Canal de K+
Dosis	*100- 200 mg/día (OA) *400mg/día (dolor agudo)
Vías de Administración	Oral
Frecuencia de Administración	una vez al día

2.19.4 Perfil Farmacodinámico

In vitro, Lumiracoxib ha demostrado inhibir la actividad de COX-2 (CI_{50} 0.1 $\mu\text{mol /L}$) de manera mucho más potente que a COX-1 (CI_{50} 70 $\mu\text{mol /L}$), del mismo modo que *ex vivo*, la selectividad de Lumiracoxib por COX-2 es mayor que para COX-1, siguiendo simples o múltiples dosis orales de 25–800mg del fármaco (Lyseng, 2004). Además en comparación con placebo, Lumiracoxib administrado en dosis mayores de 300 mg dos veces por día durante 9 días, no afectó la agregación plaquetaria en voluntarios sanos (Lyseng, 2004).

2.19.5 Perfil Farmacocinético

Lumiracoxib es rápidamente absorbido a través del tracto Gastrointestinal (GI), con una biodisponibilidad del 74% (Tabla #5). En voluntarios sanos y pacientes con osteoartritis (OA), la concentración máxima plasmática (C_{max}) fue alcanzada en un tiempo de 2 a 3 hrs. Además se une en alta proporción a proteínas plasmáticas (98%). Lumiracoxib presenta un bajo volumen de distribución ($VD= 9\text{L}$) en el estado estable “steady state”, el cual es rápidamente alcanzado, y una Eliminación (Clearance) relativamente bajo de aproximadamente $CL= 8 \text{ L/h}$, sufriendo un moderado metabolismo de primer paso. Previamente a la excreción, Lumiracoxib es extensamente metabolizado principalmente por reacciones de oxidación a través del citocromo P450 2C9, encontrándose un único metabolito activo que es el derivado 4'-hidroxi-5-carboxi. Es excretado en heces y orina principalmente, donde el 96.8 % del total de una dosis de Lumiracoxib es recuperado a las 168 hrs; Por lo que la vida media del

fármaco una dosis única de 100-400mg / día es aproximadamente de 3 a 6 horas (Lyseng, 2004). El perfil farmacocinético de Lumiracoxib parece no estar influenciado por el género, la edad, el peso corporal o disfunción hepática moderada (Kalbag, 2004).

Tabla #5 Perfil Farmacocinético de Lumiracoxib

PERFIL FARMACOCINÉTICO	
T _{max}	2- 3 hrs
Biodisponibilidad oral	74%
Unión a proteínas	98%
Metabolismo	hepático CYP 2C9
T 1/2	3- 6 hrs
Eventos Adversos	*gastrointestinales

2.19.6 Mecanismo De Acción

Se ha encontrado que Lumiracoxib se une e interactúa con la enzima COX-2 por una vía diferente, es decir por un mecanismo diferente a otros inhibidores selectivos de COX-2, ya que el grupo carboxílico de Lumiracoxib, forma un enlace de hidrógeno con un sitio catalítico que es la Tyrosina 385 y con Serina 530 en la enzima COX-2 (Clark et al., 2004).

La realización de algunos estudios en el modelo de la formalina, permitió determinar que el Lumiracoxib activa la vía Oxido Nítrico-GMPc- Canales de K⁺ para producir antinocicepción local e Intratecal (Lozano-Cuenca et al., 2005).

2. 20 Modelos Experimentales Para Evaluar Nocicepción

Debido a que el dolor que se presenta en los humanos está descrito como una sensación ampliamente polimórfica, además de la ausencia de comunicación verbal por parte de los animales, es difícil llevar a cabo una evaluación confiable y cuantificable del dolor en animales. Es por ello que dicha evaluación se lleva a cabo en modelos animales conductuales, ya que es el único indicador de una sensación desagradable, como resultado de la aplicación de un estímulo doloroso (Le Bars et al., 2001). Los modelos experimentales animales de dolor deben estar aceptados por la Asociación Internacional para el Estudio del dolor (IASP) (González, 2000).

2.20.1 Criterios Para La Validación De Los Modelos Animales De Dolor (González– Darder, 2000)

- I. El modelo debe tener utilidad clínica.– debe reproducir situaciones de dolor que se presenten en la clínica o reproducir aspectos concretos de algún tipo de dolor clínico, para que de ésta manera, pueda ser aplicado a la clínica humana.
- II. El modelo debe ser cuantificable.– deben medirse respuestas objetivas del animal sometido a la estimulación dolorosa, para obtener mediciones concretas. Se sabe que los modelos animales de dolor agudo inducen cambios motores reflejos o conductuales muy sencillos como son la retirada de la pata, vocalización, lamida, sacudida de la pata, etc., mientras que los modelos de dolor crónico producen cambios de conducta más profundos como es la

autoagresión, ganancia o pérdida de peso, alteraciones del sueño, actividad sexual y aprendizaje.

- III. El modelo debe ser fácilmente reproducible.– debe permitir la comparación de diversos tratamientos, al repetir las experiencias de diferentes grupos de trabajo o diferentes laboratorios, en diferentes horas y días y sólo de ésta forma se asegurará la confiabilidad de los resultados.
- IV. El modelo debe tener coherencia interna.– debe haber una relación directa entre las respuestas medibles, es decir los cambios conductuales, neuroquímicos, neurofisiológicos y anatomopatológicos.
- V. El modelo debe estar validado.– ya que se debe asegurar su eficacia y su confiabilidad.
- VI. El modelo debe cumplir con requerimientos de tipo ético

Por varias décadas, los mecanismos de nocicepción y analgesia han sido estudiados usando técnicas bioquímicas, farmacológicas, electrofisiológicas y ambientales (Ito, et al., 2001). Actualmente existen diferentes modelos para valorar los diferentes tipos de dolor (Ito, et al., 2001; Yaksh, 1999).

2.20.2 Clasificación De Los Modelos Animales De Dolor

Los modelos experimentales usados para evaluar dolor, se pueden clasificar según las características físicas del estímulo nocivo (Le Bars et al., 2001). Entre los modelos de dolor en roedores que actualmente se conocen se encuentran:

A. Modelos Animales Para Dolor Agudo

a. Modelos nociceptivos térmicos:

1. Prueba de la plancha caliente (Hot-plate)
2. Prueba de latigazo ó sacudida de la cola (Tail-Flick)
3. Tail-Immersion

b. Modelos nociceptivos mecánicos:

1. Prueba de Randal y Sellito

c. Modelos nociceptivos eléctricos:

1. Estimulación eléctrica de la cola

d. Modelos nociceptivos químicos:

1. Prueba de contorsión, contracción o calambres abdominales con ácido acético (Withring).

B. Modelos Animales Para Dolor Inflamatorio

a. Modelos nociceptivos químicos:

1. Prueba de formalina
2. Prueba de inyección de carragenina intraplantar

C. Modelos De Dolor Visceral:

1. Colítis inducida por aceite de mostaza

D. Modelos Animales Para Dolor Neuropático

1. Ligadura del nervio ciático

De los modelos anteriores, sólo nos ocuparemos de la prueba de formalina que será utilizada para los fines de éste proyecto.

2. 21 Modelo De Formalina

La prueba de la formalina es una herramienta útil para estudiar el dolor, ya que se produce una reacción de inflamación neurogénica y de dolor continuo o tónico moderado, que es generado por un daño tisular, además de que es un excelente método para evaluar la acción analgésica de algunos fármacos con propiedades antinociceptivas.

2. 21.1 Historia

El uso de la formalina como agente nociceptivo fue precedido por los trabajos de Lewis y Kellgren en 1939 y el de otros investigadores que inyectaron pequeños volúmenes de solución salina hipertónica en humanos para producir dolor experimental (Tjølsen, et al., 1992). En 1949 Selye y Winter en 1965 usaron la formalina como estímulo en estudios de inflamación periférica en ratas (Tjølsen, et al., 1992). En 1964 O'keefe, Melzack y Melinkoff en 1974 inyectaron subcutáneamente pequeñas cantidades de formalina diluida a gatos como estímulo nociceptivo (Tjølsen, et al., 1992).

Finalmente, el método como tal fue introducido por Dubuison y Dennis en 1977 y se realizaron diferentes implementaciones y modificaciones de la prueba, por lo que actualmente consiste en la inyección de una solución de formalina (formaldehído diluido en Solución Salina Fisiológica) en la pata posterior derecha de la rata, la cual produce una respuesta dolorosa de tipo bifásica (Figura #16) (Dubuison y Dennis, 1977; Tjolsen et al., 1992; Coderre et al., 1993).

2. 21. 2 Solución de Formalina

La formalina es la solución acuosa de formaldehído ($H_2=C=O$) al 37%. Algunos autores presentan la concentración de la formalina como porcentaje del formaldehído, mientras otros dan la concentración como porcentaje de formalina.

Así, 10% de solución de formalina contiene aproximadamente 3.7% de formaldehído (Tjolsen, et al., 1992). La inyección subcutánea de formalina diluida a ratas debe ser en un volumen tal de 30 a 100 μ l (Tjölsen, et al., 1992).

2. 21. 3 Factores Que Modifican La Conducta Nociceptiva:

Una inyección subcutánea de formalina diluida a ratas produce una respuesta reproducible, consistente en que el animal lame y muerde la pata inyectada, sacude la pata afectada, el glúteo y muslo, la cual es una conducta fácilmente identificable y cuantificable (Tjolsen et al., 1992). Sin embargo se han detectado algunos factores que al sufrir variaciones, pueden afectar la reproducibilidad del método, ya que modifican la conducta nociceptiva del animal.

❖ **Estrés:** La exposición de la rata a un ambiente no familiar, las situaciones que causen estrés al animal, incluyendo un nuevo ambiente, o los procedimientos necesarios que son utilizados al momento de realizar la experimentación, son factores que pueden disminuir las respuestas nociceptivas. La disminución de la conducta dolorosa en un ambiente

nuevo, es equivalente a la producida por la administración de 2 mg /kg de sulfato de morfina (Abbott, et al., 1986; Abott, et al., 1995).

❖ **Temperatura:** La temperatura ambiental es importante para determinar la respuesta conductual en la segunda fase de la respuesta nociceptiva. Los animales muestran respuestas considerablemente débiles en habitaciones con temperaturas de 20 a 21° C, esto es menos ostensible a temperaturas que oscilen entre 23– 24° C o 26– 28° C. No hay diferencia en la magnitud de la respuesta a estas temperaturas durante la primera fase. Estos cambios en la respuesta debidos a la temperatura, parecen obedecer a que las reacciones inflamatorias necesarias para la segunda fase, se desarrollan más lentamente y con una extensión menor cuando la temperatura tisular es baja (Tjölse, et al., 1992). En contraste, las temperaturas ambientales elevadas generalmente producen mayor conducta nociceptiva y más edema, incluso en la segunda fase (Abbott, et al., 1995).

❖ **Variabilidad Biológica:** Se ha encontrado variabilidad en cuanto a las especies y a las cepas de ratas usadas para la prueba de formalina, así por ejemplo las ratas de la cepa Long– Evans, responden más vigorosamente a la inyección de formalina y tienen registros más altos de conducta nociceptiva (Tjolsen, et al., 1992; Abbott, et al., 1995).

- ❖ **Sitio de inyección:** Es importante considerar el sitio de inyección de la formalina, ya que las inyecciones en la superficie dorsal de la pata producen menos dolor que las aplicadas en la superficie plantar; así mismo, si la inyección se aplica más profundamente, se produce una fuerte respuesta dolorosa (Abott, et al., 1995).

- ❖ **Edad:** Otro aspecto que debe tomarse en cuenta es la edad de los animales, ya que la respuesta dolorosa disminuye sistemáticamente con la edad, es decir que a mayor edad, se obtiene menor respuesta (Abott, et al., 1995).

2.21.4 Medición De La Prueba

En éste modelo se pueden observar dos tipos de respuestas dolorosas que son fácil y objetivamente cuantificables, las cuales son:

- **Sacudida/ estremecimiento:** el cual puede ser descrito frecuentemente por una rápida vibración ondulante, o por un movimiento breve y repetido que se da a través de la parte posterior de la espalda, o inclusive por un levantamiento de la pata inyectada. Puede ser registrado, usando un contador y cuantificado por el número de sacudidas por periodo de observación.

- **Lamida/ pausa:** se puede cuantificar usando un reloj digital con stop integrado, activándolo en el momento de observar que la rata se lame la pata inyectada y deteniéndolo cuando deje de hacerlo y se

registra por el total de tiempo de lamidas por periodo de observación (Wheeler–Aceto et al., 1990).

2. 21 .5 Características De La Prueba:

Con ésta prueba se obtiene dolor neurogénico, continuo y moderado, muy parecido al dolor que presentan los pacientes en la clínica (Shibata, et al., 1989; Tjolsen, et al., 1992; Poon y Sawynok, 1995). La prueba de la formalina produce un incremento de la conducta dolorosa en ratones y ratas, relacionada con la dosis (Poon y Sawynok, 1995).

De acuerdo a estas reacciones características del dolor, se sabe que la formalina produce una respuesta bifásica (Figura #16), mostrando 2 picos (Shibata, et al., 1989), la cual consiste en:

- **Fase 1:** inicia inmediatamente después de la administración y dura de 3 a 10 minutos. Se presentan conductas de lamido, elevación, sacudida, mordisqueo y protección de la pata inyectada durante alrededor de 5 o 6 minutos. Se dice que resulta de la estimulación química directa de los nociceptores (Tjolsen et al., 1992).
- **Periodo De Reposo O Latencia:** donde los animales no muestran ninguna conducta que pudiera considerarse como nociceptiva, con una duración relativamente corta.

- **Segunda Fase:** que se caracteriza por ser una respuesta prolongada de tipo tónica, en la cuál se alcanza un máximo de sacudidas alrededor del minuto 20 al minuto 50 y que persiste hasta alrededor del minuto 60 (Wheeler–Aceto, et al., 1990). Se propone que ésta fase está mediada por la combinación de una actividad escasa de las fibras aferentes y un incremento de la sensibilidad de las neuronas de la médula espinal (Malmberg y Yaksh, 1993.), además está involucrada en procesos inflamatorios periféricos (Dubuison y Dennis, 1977; Hunskaar y Hole, 1987).

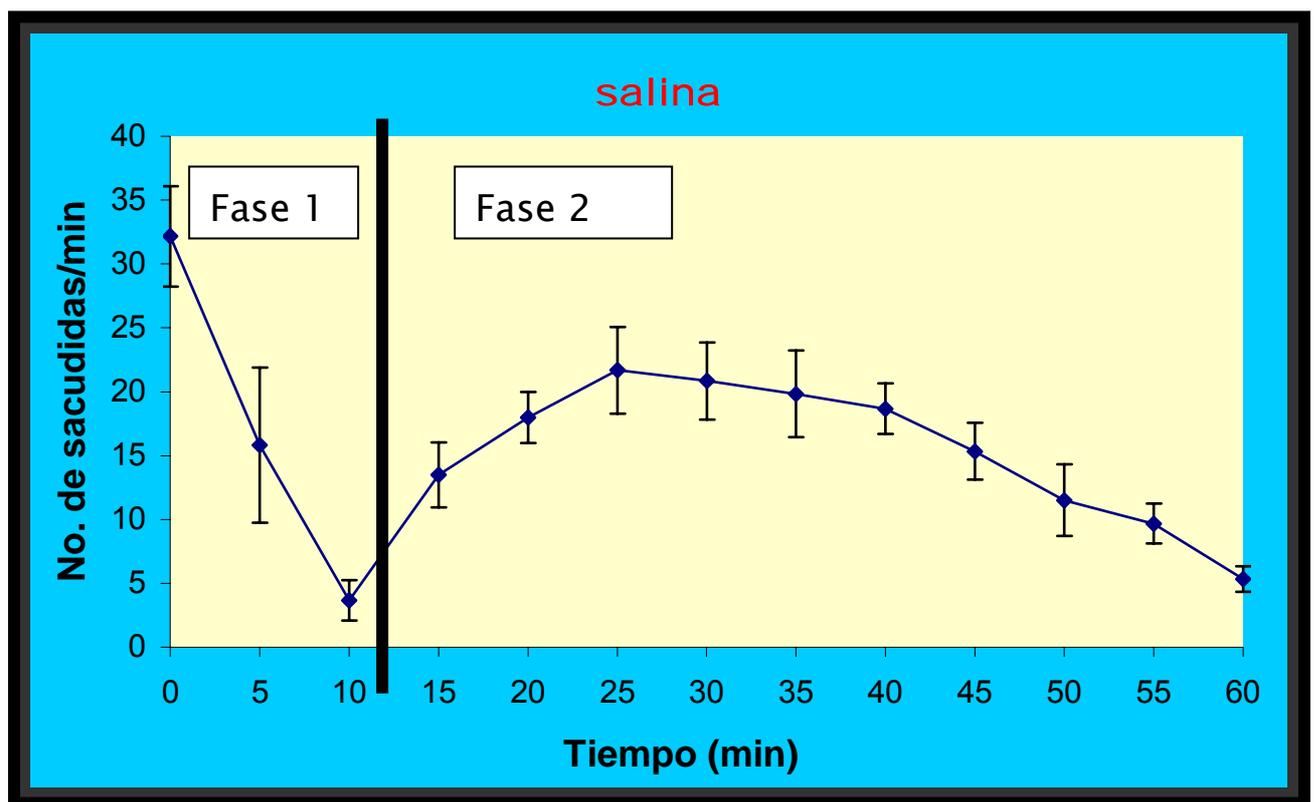


Figura # 16 Representación de una gráfica obtenida de la administración de una solución de formalina al 1% en la zona dorsal de la pata posterior derecha de la rata.

Existen algunas diferencias cualitativas que son claramente perceptibles entre ambas fases:

- **Primera Fase o Fase temprana:** las sacudidas son típicamente más violentas y vigorosas.
- **Segunda fase:** las sacudidas se observan más lentas y más rítmicas.

Además de que la prueba de la formalina produce respuestas nociceptivas cuantificables, también son reproducibles en varias especies y un patrón similar temporal es observado en todas las especies (Wheeler- Aceto y Cowan, 1991). En base a lo anterior, algunos autores han sugerido que esta prueba se acerca mucho más al dolor clínico (Dubuisson y Dennis, 1977; Abbott et al., 1981).

2.22 Método Isobolográfico

Es un método experimental muy útil aunque lamentablemente poco conocido, que fue desarrollado por Ronald Tallarida y sus colaboradores con el propósito de conocer el tipo de interacción que resulta de la administración “simultánea” ya sea de dos fármacos con actividad terapéutica semejante o un fármaco administrado en dos sitios diferentes.

Uno de los motivos, por los que se desarrolló el método Isobolográfico es debido a que como se sabe, en la experiencia clínica, la administración de algunos fármacos, da como resultado un efecto terapéutico, sin embargo junto con el frecuentemente vienen asociados uno o más efectos adversos, es decir, resultados que son indeseables. Se sabe también que en ocasiones

dichos efectos o reacciones adversas, pueden llegar a ser no sólo muy molestas sino que en ocasiones también atraen riesgos para la salud de los pacientes, provocando que habitualmente abandonen o interrumpan el tratamiento. Es por ello, que continuamente se busca la forma de disminuir los efectos adversos de los fármacos, a la vez de conservar o aumentar el efecto terapéutico y una estrategia para lograrlo, es el uso de combinaciones de fármacos con actividad terapéutica semejante.

El uso de más de un fármaco para alcanzar un efecto deseado ha sido una práctica común en pruebas farmacológicas y en la práctica clínica, por ejemplo, el uso de combinaciones de analgésicos es frecuentemente prescrito por los médicos, con el objetivo de aumentar la inhibición del dolor, además de reducir los eventos adversos (Tallarida et al., 1989).

Sin embargo, el uso de dichas combinaciones no es tan sencillo, ya que se han encontrado claras evidencias de que la administración de más de un fármaco puede traer efectos mucho mayores e incluso mucho menores que el efecto aditivo de cada fármaco administrado individualmente. Para que sea más entendible, se tratará de ejemplificar, tomando en consideración dos fármacos, que se asignarán con la letra A y B respectivamente. Si pudiéramos dar un valor al tamaño o la proporción de efecto terapéutico que provocan en un paciente, diríamos por ejemplo que el fármaco A dio un efecto de 5 mientras que el fármaco B causó un efecto de 3, lo cual se debe principalmente a que cada fármaco tiene una potencia relativa.

Entonces si se administraran a un paciente ambos fármacos a la vez, lo más lógico sería esperar que el efecto fuera igual a 10, es decir la sumación de los efectos individuales de cada fármaco (Aditividad), sin embargo, como se mencionó anteriormente, esto casi nunca sucede, pues generalmente el

efecto resultante es menor o mayor a 10; lo cual significa que existen otros mecanismos involucrados aparte de los mecanismos activados con la administración individual de cada fármaco.

Por todo lo anteriormente mencionado, es estrictamente necesario caracterizar el efecto de la combinación en relación al efecto de cada fármaco individualmente. De esta manera, si el efecto resultante de la administración combinada de ambos fármacos es mayor al efecto sumado, entonces se dice que ocurrió una “potenciación”.

La ventaja que se puede obtener de un efecto potenciado sería lograr un efecto terapéutico deseado con la administración de una menor dosis de ambos fármacos además de traducirse en una considerable reducción de las reacciones adversas, obteniendo así un mejor tratamiento farmacológico y terapéutico.

Por otra parte, el método isobolográfico también puede ser de gran utilidad para conocer el tipo de interacción que resulta de la administración de un fármaco por dos vías distintas de forma simultánea, lo que se hace frecuentemente no sólo para obtener un efecto terapéutico mayor o más pronto, sino para conocer otros posibles mecanismos de acción.

De igual forma, el obtener un efecto terapéutico potenciado al administrar un fármaco por dos sitios distintos, se traduce en conseguir algunas ventajas.

Por ejemplo, cuando un paciente sufre de una infección en la piel, el tratamiento recetado por los médicos es un fármaco antibacteriano y frecuentemente para atacar la infección por dos sitios distintos, se recomienda la administración del mismo fármaco tanto por vía local a través

de una crema o un ungüento, como por vía oral a través de una suspensión, jarabe o tabletas, con el propósito de obtener un mejor efecto terapéutico.

Otro ejemplo es cuando un paciente padece de inflamación o un dolor muy intenso en las articulaciones o en algún otro sitio del cuerpo, el tratamiento recetado por los médicos es el uso de algún antiinflamatorio no esteroideo, y usualmente se recomienda su administración tanto por vía oral a través de una tableta o gragea o por vía intramuscular a través de una ampolleta, como su administración por vía local a través de una pomada en el sitio afectado, con el propósito de relevar el dolor de una manera más eficiente o más veloz.

En éste caso se administrará un mismo fármaco (Lumiracoxib) por dos vías de administración diferentes (Vía Local e Intratecal), para conocer el tipo de interacción resultante.

El método es muy sencillo de realizar ya que está basado en la comparación de dosis del fármaco que están determinadas ser igualmente efectivas por ambas vías. Es decir que el primer paso será localizar la dosis del fármaco con la que se obtiene un mismo efecto por ambas vías de administración. Generalmente se elige la dosis que genera la mitad el efecto máximo (E_{max}), a la que se le conoce como la dosis efectiva media DE_{50} .

Cabe mencionar que en éste caso se utilizará la dosis efectiva 30 (DE_{30}), es decir la dosis del fármaco que genera el 30% de efecto, debido a que en investigaciones previas se ha evidenciado que algunos analgésicos incluyendo Lumiracoxib alcanzan poco más del 30% de antinocicepción.

Una vez detectadas las DE_{50} (o la dosis elegida) para cada vía de administración mediante la realización de curvas dosis- efecto, se realizan posteriores análisis experimentales (curvas dosis- efecto) con algunas

combinaciones específicas del fármaco por ambas vías de administración, de las cuales se obtiene un dato importante conocido como la Dosis Efectiva Experimental. Finalmente la Dosis Efectiva Experimental se compara con una Dosis Efectiva Teórica o Aditiva, que se calcula sumando ambas dosis efectivas 50 por cada vía.

También se recurre al uso de un gráfico llamado ISOBOLOGRAMA con el que se facilita la interpretación de la interacción resultante. Es un gráfico en el que se relacionan las dosis efectivas medias de una vía de administración en un eje con las dosis efectivas medias de la otra vía de administración en el otro eje.

Como se mencionó anteriormente el uso de una combinación de dos fármacos, A y B, que tengan efectos similares o la administración de un fármaco por dos vías distintas puede producir un efecto sinérgico o antagónico, en donde el grado de incremento o reducción del efecto se puede medir a través del “coeficiente de interacción” (γ), el cual es un valor numérico que indica el cambio de potencia de la combinación (fármaco-fármaco ó sitio- sitio).

Cabe mencionar que ya existe una hoja de cálculo de Excel desarrollado por Jiménez en el 2002, que facilita la realización del método Isobolográfico, en el cual basta con sustituir los valores indicados para obtener un resultado confiable.

3. JUSTIFICACIÓN

En repetidas ocasiones se ha afirmado que el efecto antinociceptivo de los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos se debe al bloqueo tanto local como central de las enzimas ciclooxigenasas, es decir, que en el efecto de los AINES existe una interacción central y local, sin embargo en el caso del Analgésico Lumiracoxib no existe evidencia por lo que se debe determinar el tipo de interacción que resulta de la administración combinada de Lumiracoxib por vía local e intratecal en el modelo de la formalina en rata.

4. HIPÓTESIS

La Administración simultánea del analgésico Lumiracoxib, por vía local e Intratecal producirá una potenciación en su efecto antinociceptivo.

5. OBJETIVO

Determinar, mediante un análisis isobolográfico, el tipo de interacción que resulta, al administrarse simultáneamente Lumiracoxib por vía local e Intratecal, en el modelo de formalina en la rata.

6. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Estandarización del Modelo de la Formalina en Rata.
2. Determinar el efecto analgésico de la administración local de Lumiracoxib en el modelo de la formalina en la rata.
3. Determinar el efecto analgésico de la administración Intratecal de Lumiracoxib en el efecto nociceptivo producido por la formalina en la rata.
4. Determinar el efecto analgésico que resulta de la administración combinada de Lumiracoxib por local e intratecal en el efecto nociceptivo producido por la formalina.
5. Determinar el tipo de interacción existente como resultando de la administración simultánea de Lumiracoxib por vía local e Intratecal por medio de un análisis Isobolográfico.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Población de Animales:

Se utilizarán ratas adultas Wistar hembras, de 6 a 8 semanas de edad, con un peso de 180 - 200 g. Serán mantenidas en cajas con alimento y agua *ad libitum* hasta el momento de ser sometidas a la experimentación. Serán mantenidos en un ciclo de luz - oscuridad de 12 x 12 horas. Los animales serán proporcionados por el bioterio del CINVESTAV. Todos los experimentos se llevarán a cabo siguiendo los lineamientos de ética que marcan los estándares éticos de investigación para experimentos de dolor en animales. Además éste estudio se someterá a la aprobación por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

7.2 Vías de administración de Lumiracoxib:

- local
- Intratecal

7.3 Fármacos:

- Lumiracoxib será donado por Novartis Farmacéutica, México, D. F.
- La formalina (formaldehído diluido) se comprarán a Sigma Chemical S.A.

7.4 Reactivos:

- La formalina será disuelta en solución salina al 0.9 % para su administración local a una concentración del 1%.
- Lumiracoxib será disuelto en una solución de dimetilsulfóxido (DMSO) al 20% para la administración local y al 100% para administración intratecal.
- Ketamina /Xilazina
- Benzal

7.5 Material

- Cilindros transparentes de acrílico de 20 cm de diámetro por 40 cm de altura.
- Dos espejos de 40 x 40 cm para cada cilindro.
- Cronómetro
- Termómetro
- Calentadores
- Jeringas y agujas de insulina
- Estuche de disección
- Gasas
- Algodón
- Hilo para suturar
- Cánula
- Catéter

7.6 Modelo Experimental De La Administración De Formalina Para Evaluar La Respuesta Analgésica De Lumiracoxib

Se utilizará el modelo de formalina en la rata, para la medición del efecto antinociceptivo de Lumiracoxib. El modelo de la formalina consiste en la administración subcutánea de formalina en la zona dorsal de la pata posterior derecha de la rata y la observación inmediata del cambio en su comportamiento al sentir el estímulo, el cual consiste en presentar sacudidas de la pata (Dubuisson y Denis, 1977). Las ratas serán colocadas en cámaras de observación Plexiglas, que consisten en cilindros transparentes de acrílico de 20 cm de diámetro x 40cm de altura. Además se colocarán 2 espejos de 40 x 40 cm, en la parte posterior de los cilindros, de tal forma que se tenga un ángulo de 90° entre los espejos, con el objeto de facilitar la observación y el análisis del comportamiento de los animales de experimentación. Al inicio del experimento, las ratas serán colocadas en los cilindros de observación, por un periodo de 30 minutos para que se tranquilicen y se adecuen al ambiente. Una vez transcurrido este tiempo de ambientación, las ratas serán tomadas para la administración de formalina (solución de formaldehído al 1%) en un volumen de 50 μ l, en la región dorsal de la pata trasera derecha. Inmediatamente después de la administración de formalina, la rata se colocará de nuevo en el cilindro correspondiente y se observará el cambio en su comportamiento. Cabe mencionar que el comportamiento representativo de la administración de formalina consiste principalmente en la observación de sacudidas y/o de la contracción y levantamiento de la pata administrada.

Para fines prácticos, en éste proyecto, se eligió la cuantificación de las sacudidas de la pata inyectada durante 1 minuto cada 5 minutos hasta los 60 minutos cumplidos después de la inyección de formalina (Wheeler- Aceto y Cowan, 1991), los cuales son suficientes para analizar el comportamiento bifásico que presenta la formalina, para la medición del efecto antinociceptivo de Lumiracoxib. El comportamiento bifásico de la formalina consiste en una fase inicial aguda que va del minuto 0 al 10, seguido por una fase de baja respuesta nociceptiva y posteriormente de una fase de respuestas tónicas prolongadas y persistentes que va del minuto 15 al minuto 60.

7.7 Cirugía Espinal

Para la medición del efecto antinociceptivo de Lumiracoxib por vía Intratecal en el modelo de nocicepción de la formalina, las ratas serán sometidas a una cirugía de tipo espinal. La cirugía intratecal consiste en colocar un catéter en el espacio subaracnoideo intratecal, que facilitará la administración de Lumiracoxib (Yaksh y Rudy 1976). Las ratas serán anestesiadas con una mezcla de ketamina /xilazina (45-12 mg/kg, vía i.p.). Posteriormente se realizará un corte de tipo longitudinal a escasos milímetros de la columna vertebral lumbar. Se localizarán las vértebras y se insertará cuidadosa y delicadamente una cánula guía a través de la dura madre en la región lumbar, con la punta colocada entre la vértebra L5 y L6. Es importante mencionar que, como una reacción refleja a la manipulación de la médula espinal, la rata presentará un reflejo saltatorio, lo que se considera como una indicación de que la perforación de la dura madre ha sido correctamente realizada y localizada. Se insertará cuidadosamente un

catéter, empujándolo a través de la cánula guía aproximadamente por unos 7 centímetros de la médula espinal. Posteriormente la herida será suturada y las ratas se colocarán individualmente en jaulas para su recuperación. La fase de recuperación, consistirá en un periodo mínimo de 5 días antes de realizar la experimentación. Serán incluidas en la experimentación, únicamente las ratas que no muestren algún signo de daño motor; mientras que las que lleguen a padecerlos, serán inmediatamente descartadas del proyecto y serán sacrificadas en una cámara de CO₂.

7.8. Examinación de la posición del catéter

Al final de la experimentación, se examinará la correcta posición del catéter, por medio de la administración intratecal de 10µl de una solución de lidocaína al 2%, seguido por 10µl de solución salina. Se observará una parálisis de la rata alrededor de los 15 minutos después de la administración del anestésico, y la obtención de esta respuesta será considerada como una indicación de la correcta posición del catéter.

8. DISEÑO EXPERIMENTAL

8.1 Efecto Nociceptivo De La Administración De Formalina

Se realizará la curva dosis- respuesta a la administración de 50 μ l de una solución de formalina al 1% en la zona dorsal de la pata posterior de un grupo de ratas (n = 6).

8.2 Efecto Analgésico De La Administración Local De Lumiracoxib

Las ratas (n =6) recibirán una inyección subcutánea de 50 μ l en la zona dorsal de la pata posterior ya sea de vehículo (20% DMSO) (curva control) o de dosis crecientes (30, 100 y 300 μ g en 50 μ l 20% DMSO) de Lumiracoxib, 20 minutos antes de la administración de 50 μ l de formalina al 1% de forma ipsilateral.

Una vez administrada la solución de formalina, inmediatamente se contarán las sacudidas de la pata administrada, por periodos de observación de 1 minuto cada 5 minutos, hasta llegar al minuto 60. Se obtendrán las curvas dosis- efecto correspondientes y se calculará la DE₃₀ para el tratamiento de Lumiracoxib por vía local.

Observar la figura # 17 del diseño experimental planteado para determinar el efecto analgésico de Lumiracoxib por vía local.

8.3 Efecto Analgésico De La Administración Intratecal De Lumiracoxib

Las ratas ($n = 6$) recibirán una inyección Intratecal de $10\mu\text{l}$ de vehículo (100% DMSO) (que será tomada con la curva control) o de dosis crecientes (30, 100 y $300\mu\text{g}$ en $10\mu\text{l}$ DMSO) de Lumiracoxib, 10 minutos antes de la administración de $50\mu\text{l}$ formalina al 1% en la pata.

Una vez administrada la solución de formalina, inmediatamente se contarán las sacudidas de la pata administrada, por periodos de observación de 1 minuto cada 5 minutos, hasta llegar al minuto 60.

Se obtendrán las curvas dosis- efecto correspondientes y se calculará la DE_{30} para el tratamiento de Lumiracoxib por vía Intratecal.

Observar la figura #18 del diseño experimental planteado en la determinación del efecto analgésico de Lumiracoxib por vía Intratecal.

8.4 Efecto Analgésico De La Combinación Local E Intratecal De Lumiracoxib Y Su Análisis Isobolográfico

Tomando en cuenta los valores de DE_{30} obtenidos del tratamiento con Lumiracoxib administrado por vía local y por vía Intratecal, se realizarán curvas dosis - respuesta con las siguientes combinaciones del fármaco:

- a. DE₃₀ Lumiracoxib local + DE₃₀ Lumiracoxib intratecal
- b. DE₃₀ Lumiracoxib local + DE₃₀ Lumiracoxib intratecal /2
- c. DE₃₀ Lumiracoxib local + DE₃₀ Lumiracoxib intratecal /4
- d. DE₃₀ Lumiracoxib local + DE₃₀ Lumiracoxib intratecal /8
- e. DE₃₀ Lumiracoxib local + DE₃₀ Lumiracoxib intratecal /16

De ésta manera las ratas (n =6) recibirán la combinación de dos inyecciones de Lumiracoxib:

1. Una inyección subcutánea de 50µl en la zona dorsal de la pata posterior derecha ya sea de vehículo (20% DMSO) o de la DE₃₀ calculada de Lumiracoxib por vía local, 20 minutos antes de la administración de 50µl formalina al 1% de forma ipsilateral.
2. Una inyección espinal de 10µl de vehículo (100% DMSO) o de la DE₃₀ calculada de Lumiracoxib por vía Intratecal, 10 minutos antes de la administración de 50µl de formalina al 1%.

Una vez administrada la solución de formalina, inmediatamente se contarán las sacudidas de la pata administrada, por periodos de observación de 1 minuto cada 5 minutos, hasta llegar al minuto 60.

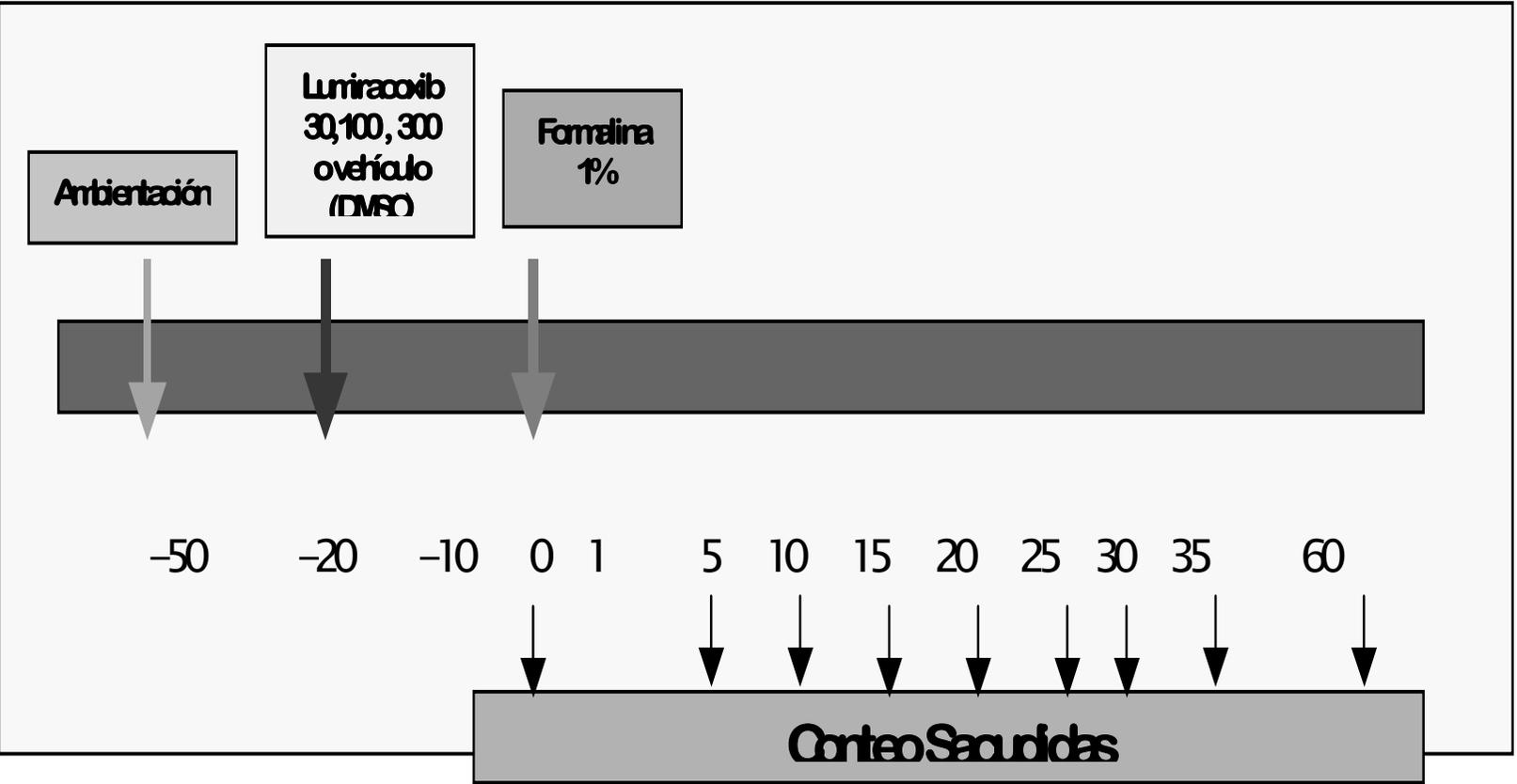


Figura # 17 Diseño experimental para determinar el efecto analgésico de Lumiracoxib por vía local.

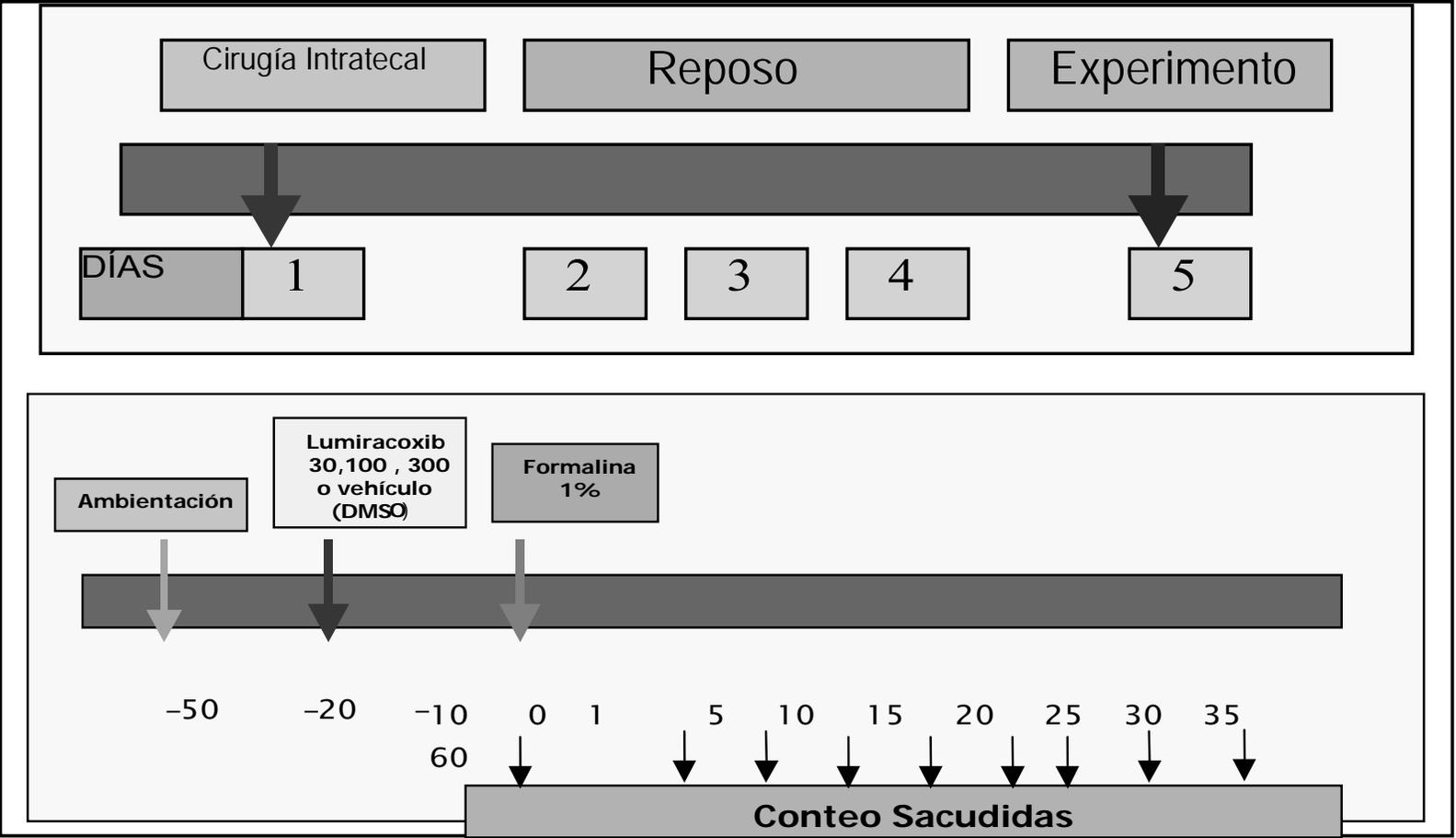


Figura # 18 Diseño experimental para la determinación del efecto analgésico de Lumiracoxib por vía Intratecal

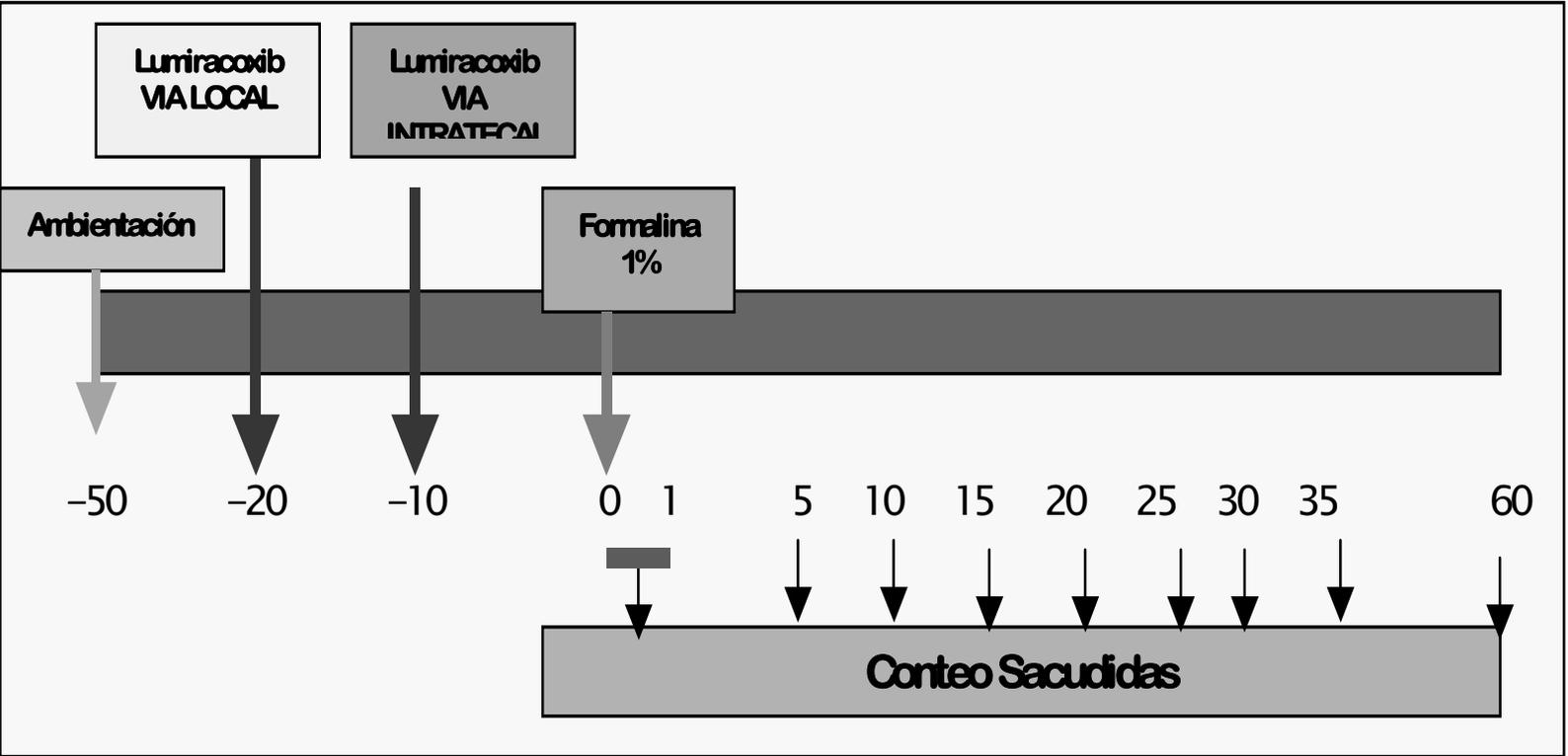


Figura # 19 Diseño experimental para determinar el efecto analgésico de la administración simultánea de Lumiracoxib por vía local e Intratecal

Observar la figura #19 del diseño experimental planteado para la determinación del efecto analgésico de Lumiracoxib administrado simultáneamente por vía local e Intratecal.

De las curvas dosis- respuesta de estas combinaciones, se obtendrá una DE_{30} que será considerada como la DE_{30} experimental.

Por otro lado, por medio de la suma de las DE_{30} de Lumiracoxib de cada una de las vías de administración individuales Lumiracoxib se obtendrá la DE_{30} teórica o aditiva, las cuales se compararán mediante dos formas:

- La primera será gráficamente, utilizando una curva conocida como Isoblograma, la cual resulta de graficar las DE_{30} tanto experimental como teórica de cada vía de administración en forma individual en coordenadas rectangulares (x,y) respectivamente. Posteriormente los puntos correspondientes a cada DE_{30} de las vías de administración se unen trazando una línea recta, la cual se conoce con el nombre de Isobola o línea de Aditividad (Figura #20).

La línea de Aditividad representa gráficamente la teórica, lo que nos permite compararla con la DE_{30} experimental. De ésta manera si la DE_{30} experimental cae por arriba de la línea, se dice que existe una interacción de tipo Antagónica; si cae por debajo de la línea se trata de una potenciación, mientras que si cae sobre la línea, se dice que existe una sumación del efecto.

En segunda se tomará en cuenta el INDICE DE INTERACCION, el cual nos da idea de la magnitud de la interacción que existe entre ambas vías de administración. El Índice de Interacción se representa por la letra griega γ ,

que es una fracción de la DE30 teórica y se calcula mediante la siguiente

formula: $\gamma = DE_{30} \text{ experimental} / DE_{30} \text{ teórica}$

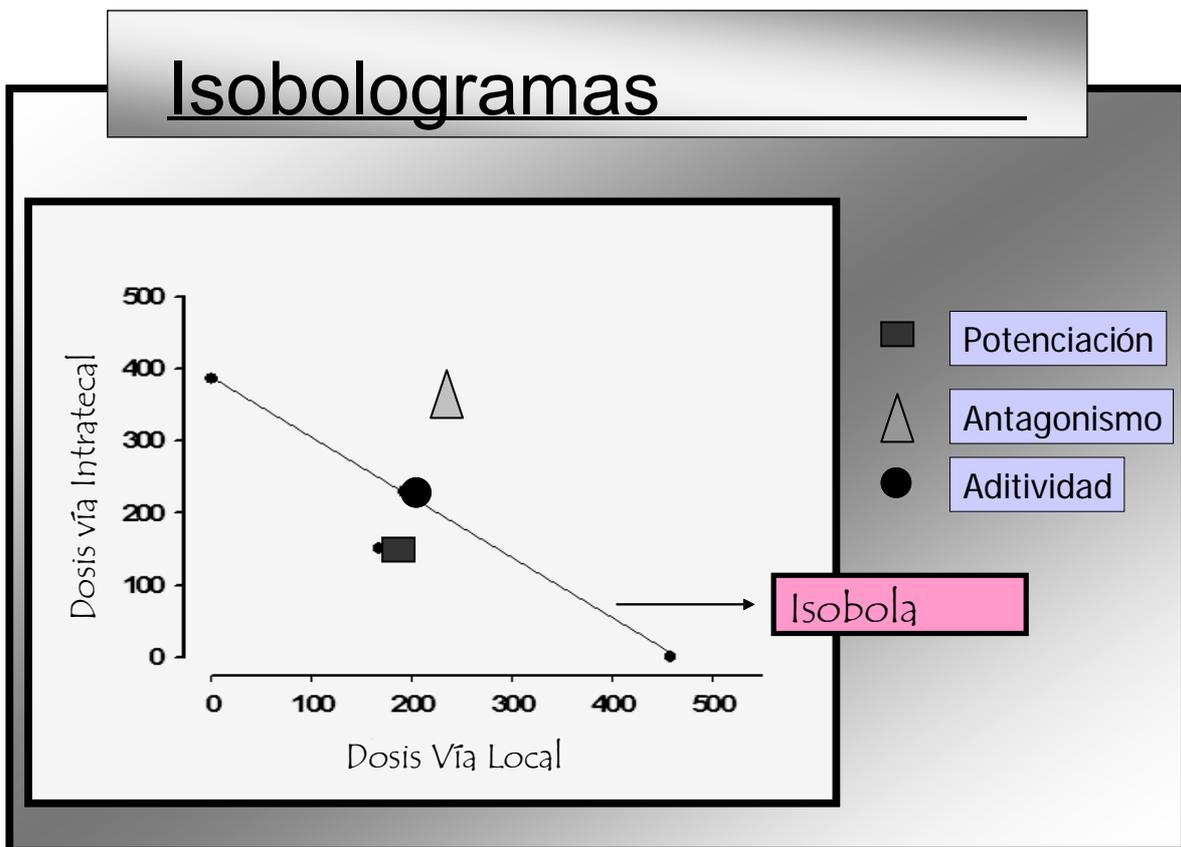


Figura #20 Representación de un isoblograma

- Si el índice de interacción es igual o cercano a 0 se dice que la interacción resultante es de tipo Aditiva.
- Si el índice de interacción es mayor a 1 se dice que la interacción resultante es de tipo Antagónica.
- Si el índice de interacción es menor a 1 se dice que la interacción resultante es de tipo potenciada.

9. ANÁLISIS DE DATOS

Todos los experimentos se realizarán en grupos de ratas con una $n = 6$. Se realizarán curvas dosis- respuesta del promedio del número de sacudidas por minuto de la administración de formalina al 1% junto con la administración de vehículo o dosis crecientes de lumiracoxib, de forma individual y de las combinaciones lumiracoxib por ambas vías (local e intratecal). Cabe especificar que sólo se tomarán en cuenta el número de sacudidas totales registrados durante la fase 2 (15-60 minutos). El número de sacudidas se convertirá al porcentaje de efecto antinociceptivo utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{Antinocicepción} = \frac{\text{Suma de sacudidas sin fármaco} - \text{Suma de sacudidas con fármaco}}{\text{Suma de sacudidas sin fármaco}} \times 100 =$$

Se construirán curvas dosis- efecto antinociceptivo y mediante una regresión lineal se obtendrán los valores de las DE_{30} de Lumiracoxib administrado de manera individual. Para caracterizar el efecto de la combinación de lumiracoxib en relación al efecto de cada vía de administración de manera individual, se utilizará un método que permite evaluar el tipo de interacción que puede existir, llamado Análisis Isobolográfico (Malmberg and Yaksh, 1993). Para lo cual se administrarán dosis equiefectivas por cada vía de administración de manera simultánea y se obtendrán las respectivas curvas dosis - efecto, de la cual se calculará el valor de la DE_{30} de la mezcla (experimental). Se calculará la DE_{30} teórica de acuerdo al método reportado por Tallarida (2000). Se realizará una prueba t- Student para determinar si

existe diferencia significativa entre ellas y se definirá el tipo de interacción que existe entre ambas vías de administración de lumiracoxib. Se utilizará una hoja de Excel para el análisis (Jiménez Andrade; 2002).

Se usará un análisis de varianza (ANOVA), seguido de una prueba de Tukey's para comparar las diferencias entre los diferentes tratamientos. Se considerará una diferencia estadísticamente significativa con una $p < 0.05$.

10. BIBLIOGRAFIA

1. **Abbott FV.**, Franklin KB., Ludwick RJ., Melzack R. Aparent lack of tolerance in the formalin test suggest different mechanisms for morphine analgesia in different types of pain. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 1981;15 (4): 637-640.
2. **Abbott FV.**, Franklin KB., Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. Pain. 1995; 60: 91-102.
3. **Abott FV.**, Franklin KB., Conell B. The stress of a novel environment reduces formalin pain: possible role of serotonin. European Journal of Pharmacology. 1986; 126 (1-2): 141-144.
4. **Aguirre- Bañuelos P., Granados - Soto V.** Evidence for a peripheral mechanism of action for the potentiation of the antinociceptivo effect of morphine by dipyrrone. Journal of Pharmacol and Toxicological Methods. 1999; 42: 79-85.
5. **Aley KO.**, Mc Carter G., Levine JD. Nitric oxide signaling in pain an nociceptor sensitization in the rat. The Journal of Neuroscience. 1998; 18 (17): 7008-7014.
6. **Alves D.**, Duarte. Involvement of ATP- sensitive effect induced by dipyrrone. Eur J Pharmacol. 2002; 444 (1-2):47-52.
7. **Ashburn MA.**, Staats. Management of chronic pain. Lancet. 1999; 353 (9167): 1865-9.
8. **Atherton, C., Jones, J., McKaig, B., bebb, J., Cunliffe, R., Burdsall, J., Brough, J., Stevenson, D., Bonner, J., Rordorf, C., Scott, G., Branson, J.,**

Hawkey, C.J. Pharmacology and gastrointestinal safety of lumiracoxib, a novel cyclooxygenase-2 selective inhibitor: an integrated study. Clin. Gastroenterol. Hepatol. 2004; 2,113-120.

9. **Baamonde A.**, Alvarez- VegaM., Hidalgo A., Menéndez L. Effects of intraplantar morphine in the mouse test. Jpn J Pharmacol. 2000; 83: 154-156.

10. **Barkin R.** Acetaminophen, Aspirin or Ibuprofen in combination analgesic products. American Journal of Therapeutics 8, 433-442; 2001

11. **Basbaum Al.** Spinal mechanisms of acute and persistent pain. Reg.Anesth Pain Med. 1999; 24:59-67.

12. **Beirith A.**, Santos AR., et al. Spinal and supraespal antinociceptivo action of dipyron in formalin, capsaicin and glutamate test. Study of the mechanism of action. Eur J Pharmacol. 1998; 345 (3):233-245.

13. **Bevilacqua M.**, Magni E. Recent contributions to knowledge of the mechanism of action of nimesulide. Drugs. 1993;46 1:40-7

14. **Bjorkman DJ.** Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced gastrointestinal injury. Am J Med. 1996; 101 (supl 1A): 25S- 32S.

15. **Bowman WC.**, Rand MJ., Drogas empleadas para el dolor. En: Farmacología bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas. Segunda edición. México. Nueva editorial Interamericana (1984). p.p. 16.1-16.36

16. **Campbell WB.**, Halushka PV. Autacoides derivados de lípidos. En: Hardman JG., Limbird LE., Molinoff PB., Ruddon RW., Goodman Gilman A. (Editores). Goodman & Gilman. Las bases Farmacológicas de la terapéutica. Novena edición. México. Mc Graw-Hill Interamericana. pp 643-660.

17. **Chapman V.** and **Dickenson A.** The spinal and peripheral roles of bradykinin and prostaglandins in nociceptive processing in the rat. European Journal of Pharmacology 219:427–433; 1992
18. **Christie MJ.,** **Vaughan CW.,** **Ingram SL.** Opioids, NSAIDs and 5-lipoxygenase inhibitors act synergistically in brain via arachidonic acid metabolism. Inflammation Research. 1999; 48: 1–4.
19. **Clark K.** **Kulathila, R.** **Koehn, J.** **Rieffel, S.** **Strauss, A.** **Hu, S.** **Kalfoglou, M.** **Szeto, D.** **Lasala, D.** **Sabio, M.** **Wang, X** and **Marshall.** Crystal structure of the lumiracoxib: cyclooxygenase–2 complex. American Chemical Society Book of Abstracts. 2004; 22–26 August, Philadelphia, U.S.A. (Abstract 178).
20. **Coderre J.,** **Terrence** and **Melzack R.** The role of NMDA receptor-operated calcium channels in persistent nociception after formalin-induced tissue injury. The Journal of neuroscience. 1992; 12(9)3671–3675.
21. **Coderre TJ.** **Fundytus ME.,** **McKeena JE.,** **Dalal S.,** **Melzack R.** The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioral pain rating. Pain. 1993; 54:43–50.
22. **Dahl JB.,** **Kehlet.** Non-steroidal anti-inflammatory drugs: rationale for use in severe postoperative pain. British Journal of Anaesthesia. 1991; 66 (6) 703–712.
23. **Dickenson AH.** Gate control theory of pain stands the test time. British Journal of Anaesthesia. 2002; 88 (6): 755–757.
24. **Doak G.,** **Sawynok J.** Complex role of peripheral adenosine in the genesis of the response to subcutaneous formalin in the rat. European Journal of Pharmacology. 281: 311–318; 1995
25. **Dray A.** Inflammatory mediators of pain. Br J Anaesth. 1995; 75(2): 125–31.

26. **Dray A.** Inflammatory mediators of pain. British J. Anaesthesia. 1995; 75: 125-131.
27. **Dray A.** Pharmacology of peripheral afferent terminals. En: Yaksh TL., y cols. Anesthesia: Biologic Foundations. Philadelphia: Lippincott- Raven Publischer. 1977 p.p. 543-556.
28. **Dray A., Nagy F.** Possible branching of myelinated fibers in the dorsal root of the rat. Brain Res. 1995; 703 (1-2): 223-6
29. **Duarte IDG., Ferreira SH.** The molecular mechanism of central analgesia induced by morphine or carbachol and the L-arginine - nitric oxide- cGMP pathway. European Journal of Pharmacology. 1992; 221:171-174.
30. **Dubuisson, D., y Dennis, SG.** The formalin test: a cuantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats an cats. Pain 1977; 4: 161-174.
31. **Esser Ronald, Carol Berry, Zhengming Du, Janet Dawson, et al;** Preclinical pharmacology of lumiracoxib: a novel selective inhibitor of cyclooxygenase-2; British Journal of Pharmacology (2005) 144: 538-550.
32. **Euchenhofer C.** Differential effect of selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor NS 398 and diclofecan on formalin- induced nociception in the rat. Neuroscience Letters 248 pp. 25- 28; 1998.
33. **Ferreira, SH.** Prostaglandins, aspirin- like drugs and analgesia. Nat. New. Biol. 1972; 240: 200-203.
34. **Fletcher D., Benoist JM., Gautron M., Guilbaud G.** Isobolographic analysis of interactions between intravenous morphine, propacetamol and diclofenac in carrageenin- injected rats. Anesthesiology. 1997; 87(2):317-326.

35. Fox A Medhurst, S., Courade, J.P., Glatt, M., Dawson, J., Urban, L., Bevan, S., Gonzalez, I. Anti-hyperalgesic activity of the COX-2 inhibitor lumiracoxib in a model of bone cancer pain in the rat. Pain, 2004;107, 33-40.
36. Frolich JC. Special therapeutic processes from the viewpoint of clinical pharmacology. Z Arztl Fortbild Qualit
37. Fu K., Ligt A. and Maixner W. Relationship between Nociceptor activity, peripheral edema, spinal microglial activation and long-term hiperalgesia induced by formalin. Neuroscience Vol. 101, No. 4 pp. 1127-1135; 2000
38. García F. L., Martínez L. M., González O. Inflamación y dolor: cambios en el sistema nervioso periférico y central. Artículo Estudiantil. Medunab Vol. 4 Num. 10; 2001
39. Goldstein A., Aronow L., Kalman SM. Metabolismo de los fármacos. En: Farmacología. Primera edición. México. Editorial Limusa, S.A. pp. 1978;267-358.
40. Gomezese Ribero O., González Olaya H. Dolor: una mirada introductoria. MEDUNAB. Vol. 4 Num. 10; 2001
41. González- Darder J.M. Modelos animales de dolor y aspectos éticos de la experimentación animal. Rev. Soc. Esp. Dolor. 2000; 7: 313-318.
42. Goodman & Gilman, Alfred. “Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, McGraw-Hill-Interamericana, Novena Edición, Impreso en México, 1996, p.p. 661-690.
43. Graham Scott, Linda Yin, Ching-Ming, Slavica Milosavljev, Aziz Laurent and Christiane Rordorf. Lumiracoxib: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile When Coadministered with Fluconazole in Healthy Subjects, Drug Interactions. Journal of Clinical Pharmacology, 2004; 44: 193-199.

44. **Granados Soto V.**, Flores Murrieta FJ., Castañeda Hernández G., Hong E., López Muñoz FJ. Evidence against the participation of mu and kappa opioid receptors in the analgesic activity of ketorolac in rats. J Pharm Pharmacol. 1995; 47(6): 514-7.
45. **Granados Soto**, Flores Murrieta, Castañeda Hernández, López Muñoz. Evidence for the involvement of nitric oxide in the antinociceptive effect of ketorolac. Eur J Pharmacol. 1995; 277 (2-3):281-4.
46. **Guy E.** and **Abbott F.** The behavioral response to formalin in preweanling rats. Pain 81-90; 1992
47. **Guyton AC.**, Hall JE. Sensaciones somáticas II: dolor, cefalea y sensaciones de temperatura. En: Tratado de fisiología médica, Novena edición. México. Mc Graw Hill Interamericana. 1999; p.p. 661-674
48. **Hamilton L.**, et al., Synergy between cyclo-oxygenase-2 induction and arachidonic acid supply in vivo: consequences for nonsteroidal antiinflammatory drug efficacy. The FASEB Journal. 1999; Vol. 13.
49. **Hardman AE.** Physical activity and health: current issues and research needs. Int J Epidemiol. 2001; (5):1193-7
50. **Henry LJ.**, Yashpal K., Pitcher GM., Coderre TJ. Physiological evidence that the "interphase" in the formalin test is due to active inhibition. Pain. 1999; 82:57-63.
51. **Hla T**, Neilson K. Human cyclooxygenase-2 cDNA. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 7384-8.
52. **Hong and Abbott.** Behavioral effects of intraplantar injection of inflammatory mediators in the rat. Neuroscience 1994;Vol. 63 No. 3 pp 827-836

53. **Hong Y.**, Abbott F. Peripheral opioide modulation of pain and inflammation in the formalin test. European Journal of Pharmacology. 1995; 277: 21–28;
54. **Hunskaar, S.**, y Hole, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non inflammatory pain. Pain 1987; 30: 103–114.
55. **Hurley RW.**, Hammond DL. The analgesic effects of supraespal and opioid receptor agonists are potentiated during persistent inflammation. The Journal of Neuroscience. 2000; 20 (3): 1249–59.
56. **IASP Pain terms: a current list with definitions and notes on usage.** Pain 1986; Suplemento 3: S2165–S221
57. **Insel PA (1996)**Analgésicos – Antipiréticos yAntiinflamatorios y fármacos antigotosos En: Hardman JG., Limbird LE., Molinoff PB., Ruddon RW., Goodman Gilman A. (Editores) Goodman and Gilman. Las bases Farmacológicas de la terapéutica. Novena Edición. México. Mc Graw Hill. Teramericana. Pp 661–705
58. **Islas– Cadena M.**, Aguirre Bañuelos, Granados Soto. Evidence for the participation of the nitric oxide cyclic GMP pathway in the antinociceptive effect of nimesulide. J Pharmacol toxicol methods. 1999; 42 (2): 87–92.
59. **Ito S.**, Okuda–Ashitaka E., Minami T. Central and peripheral roles of prostaglandins pain and their interactions with novel neuropeptides nociception and nocistatin. Neuroscience Research 2000; 41 (4299–332).
60. **Jermamy J.**, Branson J., et al. Lumiracoxib does not affect the ex vivo Antiplatelet Aggregation Activity of Low-Dose Aspirin in Healthy Subjects. Journal of Clinical Pharmacology, 2005; 45:1172–1178.
61. **Jiménez Andrade JM**, Tesis para obtener grado de Maestro en Ciencias en la Especialidad de Farmacología, Director de Tesis: Castañeda Hernández

Gilberto y Pérez Urizar José; Caracterización cuantitativa de la Interacción Sinérgica entre codeína y Diclofenaco en la rata. Tesis. Cinvestav, 2002; pp 1-101.

62. Jiménez Andrade JM., Ortiz MI., Pérez- Urizar J., Aguirre- Bañuelos P., Granado- Soto V., Castañeda- Hernández G. Synergistic effects between codeine and diclofenac alter local, spinal and systemic administration. 2003; 76: 463-471.

63. Jourdan D., Alloui A., Exchalié A. Pharmacological validation of an automated method of pain scoring in the formalin test in rats. J. Pharmacol Toxicol. 1999; 42: 163-170.

64. Julius D., Basbaum AI, Molecular mechanism of nociception. Nature. 2001; 413 (6852): 203-210

65. Kalbag J, Yeh C-M, Milosavljev S, et al. No influence of moderate hepatic impairment on the pharmacokinetics of lumiracoxib, an oral COX-2 selective inhibitor. Pharmacol Res. 2004 Aug; 50 (2):181-6.

66. Kelly DJ., Ahmad M., Brull SJ. Preemptive analgesia: physiological pathways and pharmacological modalities. Can J. Anesth. 2001; 48 (10) pp. 1000-1010

67. Koupman J. William, Eicosanoids by Charles N. Serhan in Arthritis and Allied Conditions 14th edition Vol. 1. Ed. Lippincott; 2004.

68. Lázaro- Ibañez, GG., Tórrés- López, JE., y Granados- Soto. Furter evidence for the participation of the nitric oxide- cyclic GMP pathway in the antinociceptive action of ketorolac. Eur. J. Pharmacol. 2001.

69. Le Bars D., Gozariu M., Cadden SW. Animal models of nociception. Pharmacological Reviews. 2001; 53 (4):597-652.

70. Lee JB., Katayama S. Inflamación y fármacos antiinflamatorios no esteroides. En: Farmacología. Argentina. Médica Panamericana S.A. 1993; pp 393-423.
71. Lipsky LP., Abramson SB., Crofford L., Dubois RN., Simon LS., Van de Putte LB. The clasification of cyclooxygenase inhibitors. J. Rheumatol. 1998 ; 25(12) :2298-303.
72. Litter M. La Farmacología. En: Farmacología general. Argentina. “El Ateneo”. 1974; pp. 1-15
73. Loeser JD y Melzack R. Pain: an overview. Lancet. 1999; 353 (9164): 1607-1609.
74. López- Muñoz FJ., Castañeda- Hernández G., Torres- López JE., Picazo YF., Flores- Murrieta FJ., Granado - Soto V. Differences in the mechanism of antinociceptive action of non- steroidal anti-inflammatory drugs in the rat. 1996; 2:189-190.
75. López- Muñoz FJ., Castañeda- Hernández G., Villalón CM., Terrón JA., Salazar LA. Analgesic effects of combinations containing opioid drugs with either aspirin or acetaminophen in the rat. Drug Development Research. 1993; 29: 299-304.
76. Lorenzetti BB y Ferreira SH. Activation of the arginine- nitric oxide pathway in primary sensory neurons contribuyes to dipyron- induced spinal and peripheral analgesia. Imflamm. Res. 1996; 45: 308-311.
77. Lorenzo P., Moreno A., Lizasoain I., Moro MA. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. Editorial Médica Panamericana. 17^a edición. Buenos Aires. 2004

78. **Lozano** –Cuenca Jair, Castañeda– Hernández Gilberto and Granados–Soto Vinicio; Peripheral and spinal mechanisms of antinociceptive action of lumiracoxib; European Journal of Pharmacology 2005; 513:81– 91.
79. **Luján M.** et al., Farmacología de los COXIB. Especificidad vs selectividad. Revista médica del Hospital General de México. Vol. 64, Supl 1 Jul–Sep, pp 513–515; 2001
80. **Lund A.**, Tjolsen A., Hole K. Antinociceptive effect of intrathecally-administered desipramine and zimeclidine in rats. Neuropharmacology. 1990; 29(9):819–23.
81. **Lyseng– Williamson A.** Katherine and Curran P. Monique; Lumiracoxib; Adis Drug Profile. 2004; 64 (19):2237–2246.
82. **Machelska H.**, Stein C. Immune mechanisms in pain control. Anesth. Analg. 2002; 95: 1002–1008.
83. **Malberg AB.**, Yaksh TL. The effect of morphine on formalin-evoked behaviour and spinal release of excitatory aminoacids and prostaglandin E₂ using microdialysis in conscious rats. British Journal of Pharmacology. 1995; 114:1069–1075.
84. **Malmberg B Annika**, Yaksh L.; Pharmacology of the Spinal Action of Ketorolac, Morphine, ST-91, U50488H, and L-PIA on the Formalin Test and an Isobolographic Analysis of the NSAID interaction; Anesthesiology 1993; 9:270–281.
85. **Malmberg B.**, Annika and Yaksh T. Antinociceptive actions of Spinal nonsteroidal Anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1992; Vol. 263 No.

86. **Malmberg.**, Annika and Yaksh L. Spinal nitric oxide synthesis inhibition blocks NMDA- induced thermal hyperalgesia and produces antinociception in the formalin test in rats. Pain 1993; 54: 291–300
87. **Masferrer** JL, Zweifel BS, Manning PT et al. Selective inhibition of inducible cyclooxygenase-2 in vivo is anti-inflammatory and nonulcerogenic. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 3228–32.
88. **Masue** T., Dohi S., Asano T., Shimonaka H. Spinal antinociceptive effect of epidural nonsteroidal antiinflammatory drugs on nitric oxide - induced hyperalgesia in rats. Anesthesiology. 1999; 91 (1): 198–206
89. **Mc Call** D., Tanner K., Levine J. Formalin induces biphasic activity in C-fibers in the rat. Neuroscience Letters. 208: 45–48; 1996.
90. **Melzack** R., Wall DW. Pain mechanism: a new theory. Science. 1965; 150 (3699): 971–979.
91. **Merskey** H., Albe- Fessard DG., Bonica JJ., Carmon A., Dubner R., Kerr FWL., Linblom U., Mumford JM., Nathan PW., Noordenbos W. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Pain. 1979; 6: 249–252.
92. **Merskey**, H. Prepared by the IASP subcommittee on taxonomy. Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Pain 1986: 3 (suppl.):S1–S7.
93. **Millan** MJ. The induction of pain: an integrative review. Progress in Neurobiology. 1999; 57: 1–164.
94. **Milligan** D. Erin, Justin L. Hinde, Kristin K. Mehmert, Steven F. Maier, Linda R. Watkins; A method for increasing the viability of the external portion of lumbar catheters placed in the spinal subarachnoid space of rats; Journal of Neuroscience Methods 90 (1999) 81–86.

95. **Miranda H.**, Sierralta F. An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception. Anesth. Analg; 93:430-5; 2001.
96. **Mysler E.**; Lumiracoxib (Prexige ®): anew selective cox-2 inhibitor; Blackwell Publishing Ltd Int J Clin Pract, June. 2004; 58,6:606-611.
97. **Omote K.**, Kawamata T., Kawamata M., Namiki A. Formalin-induced release of excitatory amino acids in the skin of the rat hindpaw. Brain research. 787: 161-164;1998
98. **Ortiz et al.**, Antistreptolysin o titer profile in acute rheumatic fever diagnosis. J Pediatr (Rioj). 2001; 77(2): 105-11.
99. **Ortiz-Ramírez M.**, Castañaeda- Hernández G. y Granados- Soto V. Papel de los Canales de Potasio en el Efecto Antinociceptivo de Analgésicos- Antiinflamatorios No Esteroideos en el Modelo de la Formalina en rata. Cinvestav, 2001
100. **Ossipov M.**, Harris S., Lloyd P., Messineo E. An isobolographic analysis of the antinociceptivo effect of systemically and intrathecally administered combinations of clonidine and opiates. The journal of Pharmacology and experimental therapeutics. Vol 255 No. 3; 1990
101. **Pinardi G.**, Sierralta F., Miranda HF. Adrenergic mechanism in antinociceptive effects of non steroidal anti- inflammatory drugs in acute termal nociception in mice. Inflamm Res. 2002; 51 (5): 219-22.
102. **Poon A.**, Sawynok J. Antinociception by adenosine analogs and an adenosine kinase inhibitor: dependence on formalin concentration. European Journal of Pharmacology. 1995; 286: 177-184.
103. **Pozos- Guillén Amaury de Jesús,** Aguirre-Bañuelos Patricia, Arellano- Guerrero, Hoyo-Vadillo Carlos and Pérez- Urizar José; Evidence of Self-

Synergism in the Antinociceptive Effect of Tramadol in Rats; Proc-West. Pharmacol. Soc. 47:117–119 (2004).

104. **Raffa** B Robert, Dennis J. Stone JR., and Tallarida J. Ronald; Discovery of “Self –Synergistic” Spinal/Supraespal Antinociception Produced by Acetaminophen (Paracetamol); The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 295:291,2000.

105. **Riedel** W., Neeck G. Nociception, pain and antinociception: current concepts. Zeitschrift für rheumatologie. 2001; 60 (6): 404–415.

106. **Romera** E., Perena M. J., Perena M. F. y Rodrigo M. Neurofisiología del dolor. Rev. Soc. Esp. Dolor 7: Supl. II pp. 11–17; 2000

107. **Rosland** JH., Tjolsen A., Maehle B., Hole K. The formalin test in mice: effect of formalin concentration. Pain. 1990; 42(2):235–42.

108. **Sacerdote** P., Monza G., Mantenganza P., Panerai AE. Diclofenac and pirprofen modif. Pituitary and hypothalamic beta-endorphin concentration. Pharmacological Research Communications. 1985; 17 (8): 676–684.

109. **Sawynok** J. and Liu Jun Xue. The Formalin Test: Characteristics and Usefulness of the Model. Reviews in Analgesis. Vol. 7 pp. 145–163; 2004

110. **Scott** Graham, et al., Lumiracoxib: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile whwn coadministered with Fluconazole in healthy subjects. J. Clin. Pharmacol. 44:193–199; 2004

111. **Seibert**, K., Zhang, Y., Leahy, K., Hauser, S. Masferrer, J. Perkins, W., Lee, L., Isakson, P. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 1994;91,12013–12017

112. **Sherrington**, C.S. The integrative action of the nervous system (Yale University Press, New Haven 1906; 2nd ed. 1947; Yale paperbound, 1981.

113. **Shibata** Manabu, Tsuyako Ohkubo, Hiroshi Takahashi and Reiko Inoki; Modified formalin test: characteristic biphasic pain response; Pain, 1989; 38 347–352

114. **Smith WL.**, DeWitt DL., Garavito RM. Cyclooxygenases: structural, cellular and molecular biology. Annu Rev Biochem 2000; 69: 145–182.

115. **Smyth Cj.** Indomethacin in rheumatoid arthritis. A comparative objective evaluation with adrenocorticosteroids. Arthritis Rheum 1965; 8(5: 921–42).

116. **Soldato P.** Sorrentino R. Pinto A. NO- Aspirins: a class of new antiinflammatory and antithrombotic agents. Pain. Current Awareness Tips Vol. 20; 1999

117. **Stein C.** The control of pain in peripheral tissue by opioid. The New Englan Journal of Medicine. 1995; 332 (25): 1685–90.

118. **Steinmeyer J.** Pharmacological basis for the therapy of pain and inflammation with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Arthritis Research. 2000; 2: 379–385.

119. **Stichtenoth DO.**, Frolich JC. The second generation of COX-2 inhibitors: what advantages do the newest offer?. Drugs. 2003;63 (1):33–45.

120. **Stichtenoth DO.**, Frolich JC. Therapy with preferential and specific COX-2 inhibitors. Internist 2001; 42(3):421–6.

121. **Stichtenoth DO.**, Kreutzer FJ., Gutzki FM., Tsikas D., Nowak V., Frolich JC. Effects of intravenous oxygen on prostacyclin and thromboxane formation in patients with peripheral occlusive arterial disease prostaglandins. Leukot Essent Fatty Acids. 2001;65 (4):211–4.

122. **Stuart B.** Nociceptive peripheral neurons: Cellular properties. En: Wall PD and Melzack R. Textbook of Pain. Edinburg. Churchill Livingstone. 1999; p.p. 59–84

123. Tallarida J.; Drug Synergism: Its Detection and Applications; The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics; 298:865–872, 2001.
124. Tallarida R. Statistical Analysis of drug combinations for synergism. Pain 19: 93–97; 1992
125. Tallarida R., Porreca F., Cowan A., Statistical Analysis of drug–drug and site–site interactions with isobolograms. Life Sciences. 1989; Vol. 45 pp 947–961
126. Tallarida R., Raffa R., Testing for synergism over a range of fixed ratio drug combinations: replacing the isobologram. Life Sciences. 1996; Vol. 58 No. 2 pp 23– 28.
127. Tallarida R.J., Stone Dennis J. and Raffa Robert B. Efficient Designs for Studying Synergistic Drug Combinations, Pharmacology letters, Life Sciences, 1997; Vol. 61 no. 26 pp 417–425.
128. Tallarida R.J. Drug synergism and dose–effect data analysis. New York. Chapman and Hall/CRC 2000; pp. 1–72
129. Tallarida, Ronald J., Dennis J. Stone Jr. and Robert B. Raffa. Efficient designs for studying synergistic drug combinations. Life sc. 1997; 61(26): PL 417–425.
130. Tegeder I., Niederberger E., et al., Effects of selective COX–1 and 2 inhibition on formalin– evoked nociceptive behavior and prostaglandin E2 release in the spinal cord. Journal of Neurochemistry. 79, 777–786; 2001.
131. Tjolsen A., Berge OG., Hole K. Lesions of bulbo–spinal serotonergic or noradrenergic pathways reduce nociception as measured by the formalin test. Acta PhysiolScand. 1991;142 (2):229–36.

132. **Tjolsen A.**, Lund A., Hole K. Antinociceptive effect of paracetamol in rats is partly dependent on spinal serotonergic systems. Eur J Pharmacol. 1991 Feb 7;193(2):193–201.
133. **Tjolsen A.**, Rosland JH., Berge OG., Hole K. The increasing-temperature hot-plate test: an improved test of nociception in mice and rats. J Pharmacol Methods. 1991;25(3):241–50.
134. **Tjolsen, A.**, Berge, DG., Hunskaar, S., Rosland, JH., Hole, K. The formalin test: an evaluation of the method. Pain. 1992; 51: 5–17.
135. **Tonusi CR.**, Ferreira SH. Mechanism of diclofenac analgesia: direct blockade of inflammatory sensitization. European Journal of Pharmacology. 1994; 251: 173–179.
136. **Tortorici V.**, Vanegas H. Putative role of medullar off and cells in the antinociception produced by dipyrone (metamizol) administered systemically or microinjected into PAG. Pain. 1994; 57 (2): 197–205.
137. **Tracey K.** The inflammatory reflex, insight: review articles. Nature Vol. 420; 2002
138. **Vane JR.** Botting RM. Therapeutic roles of selectives COX-2 inhibitors. Cambrige: William Harvey, 2001.
139. **Vane JR.** Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin -like drugs. Nat New boil 1971; 231: 232–5
140. **Vane JR.** Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin- like drugs. Nat New Biol. 1971; 21: 232–235.
141. **Vane JR.**, Warner TD. Nomenclature for COX-2 inhibitors. Lancet. 2000; 21:356 (9239): 1373–4.
142. **Velázquez;** Farmacología básica y clínica. 17^a edicion. Buenos Aires; Madrid: Médica Panamericana. 2004.

143. **Wang H.** Nie H., et al. Peripheral Nitric Oxide contributes to both formalin and NMDA-induced activation of nociceptors : An immunocytochemical study in rats. Journal of Neuroscience research. 57:824–829;1999
144. **Wheeler- Aceto** Helen and Alan Cowan; Standardization of the rat paw formalin test for the evaluation of analgesics; Pharmacology. 1991; 104: 35–44.
145. **Wheeler- Aceto** Helen, Porreca Frank and Cowan Alan; The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. Pain, 40 1990; 229–238.
146. **Wiertelak E.**, Furness L., et al., Subcutaneous formalin produces centrifugal hyperalgesia at a non-injected site via the NMDA- nitric oxide cascade. Brain Research 649: 19–26; 1994
147. **Wilcox GL.**, Seybold V. Pharmacology of spinal afferent processing. En: Yash TL., Lynch C., Azpol WM., Maze M., Biebuyk JF., Anesthesia: Biologic Foundations. Philadelphia. Lippincott- Raven Publishers. pp. 557–576
148. **Willis WD.** The pain system. The neural basis of nociceptive transmission in the mammalian nervous system. Ed. Karger. New York. 1985.
149. **Woolf CJ.**, Bennett GJ., Doherty M., Dubner R., Kidd B., Koltzenburg M., Lipton R., Loeser JD., Payne R., Torebjork E. Towards a mechanism- based classification of pain?. Pain 1998; 77 (3):227–9.
150. **Woolf CJ.**, Coostigan M. Transcriptional and posttranslational plasticity and the generation of inflammatory pain. Proc Natl Acad Sci USA. 1999; 96: 7723–7730.
151. **Woolf J. C.** Pain: Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management. Annals of Internal medicine. 2004;140: 441–45.

152.Xue Jun L., White T. and Sawynok J. Involvement of primary sensory afferents, postganglionic sympathetic nerves and mast cells in the formalin-evoked peripheral release of adenosine. European Journal of Pharmacology 429:147-155; 2001.

153.Yaksh TL. Spinal systems and pain processing: development of novel analgesic drugs with mechanistically defined models. Trends in Pharmacological Sciences. 1999; 20: 329-337.

154.Yaksh TL., Jeseell TM., Gamse R., Mudge AW., Leeman SE. Intrathecal morphine inhibits substance P release from mammalian spinal cord in vivo. Nature. 1980; 286 (5769): 155-7

155.Yaksh TL., Rudy TA. Analgesia mediated by a direct spinal action of narcotics. Science. 1976; 192 (4246): 1357-8.

156.Yoon M., Yoo K., Jeong C., Synergistic Effects between Intrathecal Clonidine and neostigmine in the formalin test. Journal Korean Med. Sci. 16: 498-504; 2001

157.Zimmermann M. Basic concepts of pain and pain therapy. Arzneim-Forsch/ Drug Res. 1984; 34: 1053-1059.

158.Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations on experimental pain in conscious animals. Pain 1983; 16: 109-110.