



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

“Evaluación del efecto antinociceptivo de la
combinación de glucosamina/condroitina y
glucosamina/glicina”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIADO EN
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGICA

P R E S E N T A:
ANGELES VÁZQUEZ ROCÍO CATALINA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. MYRNA DÉCIGA CAMPOS
ASESORA DE TESIS: M. en F. IDALIA LETICIA FLORES GÓMEZ



MÉXICO D.F. 2010.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Este trabajo se desarrolló bajo la asesoría de la

Dra. Myrna Déciga Campos,

Profesor Titular C de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional.

El presente trabajo fue financiado por la **Secretaría de Investigación y Posgrado del IPN** en el proyecto “*Evaluación farmacológica de sustancias nuevas para el tratamiento del dolor*” clave SIP: **20091164 y 20100483**. Se realizó bajo convenio (IPN-INER) en la Unidad de Farmacología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Dr. Ismael Cosío Villegas”.



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"**

**JEFATURA DE LA CARRERA DE QUÍMICA
FARMACÉUTICO BIOLÓGICA**

ASUNTO: ASIGNACIÓN DE SINODALES

ESTIMADOS MAESTROS:

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

ANGELES VÁZQUEZ ROCÍO CATALINA

para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo.

Les agradeceré se sirvan revisar el trabajo escrito intitulado: **Evaluación del efecto antinociceptivo de la combinación de glucosamina/condroitina y glucosamina/glicina**

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

PRESIDENTE	Q.B.P. ESTELA VALENCIA PLATA
VOCAL*	DRA. MYRNA DÉCIGA CAMPOS
SECRETARIO	M. en F. IDALIA LETICIA FLORES GÓMEZ
SUPLENTE	DRA. MA. TERESA CORONA ORTEGA
SUPLENTE	Q.F.B. MA. DEL ROSARIO BENÍTEZ VELÁZQUEZ

DE ESTAMPADO
ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, D.F. a, 24 de noviembre de 2009.

DRA. MARTHA ASUNCIÓN SÁNCHEZ RODRÍGUEZ
JEFA DE LA CARRERA

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

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por estar siempre conmigo por apoyarme en todas mis decisiones, moralmente y económicamente. Gracias por su confianza y por estar ahí cuando los necesito, muchas gracias por su apoyo y sobre todo por su amor incondicional.

A mis abuelitos, por darme hospedaje durante todo este tiempo en que realice mis estudios. En especial a mi Abuelita, por que le debo mucho de lo que soy ahora.

A Felipe, la persona más especial en mi vida y quien me inspiro para salir adelante, gracias por tu amor y cariño incondicional. Gracias por estar siempre ahí cuando te necesitaba. Te amo osito, siempre te seguiré amando y necesitando.

A la UNAM, por haberme dado la oportunidad de estar aquí, de haberme abierto sus puertas para lograr un sueño muy anhelado.

A la Maestra Idalia, por haberme dado esta oportunidad, y además brindarme su amistad. Gracias por ser más que una maestra.

A la Dra. Myrna, por haberme recibido y darme la oportunidad de lograr este sueño a la realidad, con gratitud y admiración a una mujer honesta, integra y humana que me ha mostrado que el conocimiento es la base de la seguridad. Gracias de todo corazón.

Al M.V.Z. Alberto Pizaña Venegas, por la asistencia técnica prestada en el Bioterio del INER.

A todos y cada uno de mis amigos, que siempre estuvo alguno de ellos en momentos diferentes apoyándome. Gracias por su amistad y su cariño.

DEDICATORIA

A Dios, por haberme puesto en una familia llena de amor, por que siempre me ha mostrado su amor de alguna manera. Gracias Padre Dios por que sin ti no hubiera logrado nada.

A mis padres, con mucho cariño, amor y respeto. Mama a ti por ser la mujer más amorosa del mundo con mi padre y con nosotros, por haberme escuchado y haber sido mi cómplice. A ti Papa por darme siempre ánimos y ser mi amigo, los quiero y amo mucho. Por que con su ejemplo y cariño he salido adelante.

Con amor y ternura te dedico este trabajo amor mío. Por haber estado ahí cuando más te necesitaba, fue una bendición estar a tu lado durante la carrera, por fomentar en mi valores como el Respeto, la Comunicación y la Confianza. Fuiste mi inspiración para lograr este sueño. Gracias por todo Felipe, TE AMO.

A mis Abuelitos, por la rigidez de mi educación, por su apoyo económico y por su fortaleza. A ti Abuelita por que siempre estuviste conmigo animándome y regañándome, por que tú fuiste la que siempre creyó en mí. A mi abuelito por que eres el más cuerdo de todos nosotros.

A mis hermanos, con mucho amor y cariño a cada uno de ellos, y en especial a mis tres lindas sobrinas, son una alegría muy grande en mi vida.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE.....	i
ÍNDICE DE DIAGRAMAS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
ABREVIATURAS.....	vi
RESUMEN.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	ix
I. I. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	1
1. DOLOR.....	1
1.1. Definición de dolor.....	1
1.2. Nocicepción.....	3
1.3. Nociceptores.....	4
1.4. Inflamación.....	6
1.4.1. Inflamación aguda.....	7
1.4.1.1. Células que desencadenan las reacciones inflamatorias agudas...	9
1.4.1.2. Cambios vasculares durante la inflamación aguda.....	11
1.4.1.3. Control negativo de la inflamación aguda.....	12
1.4.2. Inflamación crónica.....	13
1.4.3. Fases de la inflamación.....	14
1.4.4. Terapéutica del dolor inflamatorio.....	15
1.5. Artritis Reumatoide.....	17
1.5.1. Diagnóstico.....	18
1.5.2. Etiología.....	19
1.5.3. Tratamiento farmacológico.....	21
1.5.3.1. Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos.....	21
1.5.3.2. Glucocorticoides.....	22
1.5.3.3. Antirreumáticos modificadores de la enfermedad.....	22
1.5.3.4. Alternativas terapéuticas “suplementos alimenticios”.....	23
2. Glucosamina, Condroitina y Glicina.....	24
2.1. Glucosamina.....	24
2.1.1. Farmacodinamia.....	24
2.1.2. Farmacocinética.....	25
2.2. Condroitina.....	28
2.2.1. Farmacodinamia.....	26
2.2.2. Farmacocinética.....	27
2.3. Glicina.....	31
3. Modelos experimentales de la inflamación.....	32
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	33
III. HIPÓTESIS.....	34

IV. OBJETIVOS.....	34
V. METODOLOGÍA.....	35
5.1. Material biológico.....	35
5.2. Fármacos y reactivos.....	35
5.3. Administración de los fármacos.....	35
5.4. Prueba de nocicepción de la formalina.....	35
5.5. Diseño experimental.....	38
5.6. Análisis de datos y estadística.....	39
VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	41
6.1. Nocicepción generada por la administración de formalina (1%) en rata.....	41
6.2. Evaluación del efecto antinociceptivo de la glucosamina en la prueba de la formalina.....	42
6.3. Evaluación de la administración de la condroitina en la prueba de la formalina.....	44
6.4. Coadministración de glucosamina con condroitina en la prueba de formalina en rata.....	46
a) Glucosamina (316 mg/kg, i.p.) y condroitina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	48
b) Glucosamina (562 mg/kg, i.p.) y condroitina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	49
c) Glucosamina (749 mg/kg, i.p.) y condroitina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	50
6.5. Evaluación de la administración de la glicina en la prueba de formalina en rata.....	52
6.6. Coadministración de glucosamina con glicina en la prueba de formalina (1%) en rata.....	54
a) Glucosamina (316 mg/kg, i.p.) y glicina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	54
b) Glucosamina (562 mg/kg, i.p.) y glicina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	55
c) Glucosamina (749 mg/kg, i.p.) y glicina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	56
VII. CONCLUSIONES.....	57
VIII. PERSPECTIVAS.....	57
IX. REFERENCIAS.....	58

INDICE DE DIAGRAMA

Diagrama

1	Diseño experimental de los fármacos individuales.....	38
---	---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

Pág

1	Procesamiento y modulación de la información nociceptiva.....	3
2	Proceso del dolor inflamatorio.....	15
3	Conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas.....	16
4	Articulación afectadas por la artritis reumatoide.....	18
5	Biosíntesis del óxido nítrico.....	21
6	Estructura química de la Glucosamina.....	24
7	Estructura química de la Condroitina.....	25
8	Efecto de la condroitina y/o sus disacáridos.....	27
9	Estructura química de la glicina.....	28
10	Control glicinérgico del procesamiento del dolor espinal.....	30
11	Localización y funciones de los transportadores de glicina.....	31
12	Ambientación de una rata.....	37
13	Nocicepción teórica generada por la administración de formalina (1%) en rata.....	37

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica		Pág.
1	Nocicepción generada por la administración de formalina (1%) en rata.....	41
2	Modelo del máximo sigmoideo.....	42
3	Evaluación del efecto antinociceptivo de la glucosamina.....	43
4	Evaluación del efecto antinociceptivo de la condroitina.....	45
5	Curso temporal de la condroitina.....	45
6	Coadministración de la glucosamina (316, mg/kg, i.p.) con condroitina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	48
7	Coadministración de la glucosamina (562, mg/kg, i.p.) con condroitina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	49
8	Coadministración de la glucosamina (749, mg/kg, i.p.) con condroitina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	50
9	Evaluación del efecto antinociceptivo de la glicina.....	52
10	Curso temporal de la glicina.....	53
11	Coadministración de la glucosamina (316, mg/kg, i.p.) con condroitina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	54
12	Coadministración de la glucosamina (562, mg/kg, i.p.) con condroitina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	55
13	Coadministración de la glucosamina (749, mg/kg, i.p.) con condroitina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.).....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Clasificación de receptores de acuerdo al estímulo.....	5
2	Compuestos responsables de la respuesta inflamatoria.....	8
3	Modelos farmacológicos para evaluar el dolor.....	32
4	Combinaciones de glucosamina y condroitina.....	39
5	Porcentaje del efecto antinociceptivo de la glucosamina.....	43

ABREVIATURAS

AA	Ácido Araquidónico
AINE's	Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos
ABC	Área bajo la curva
ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
AMPc	Adenosina 3-5monofosfato cíclico
ANOVA	Análisis de varianza
ARAL	Antirreumáticos de acción lenta
ARME	Antirreumáticos modificadores de la enfermedad
CII	Colágeno tipo II
COX	Ciclooxigenasa isoforma
COX1	Ciclooxigenasa isoforma 1
COX2	Ciclooxigenasa isoforma 2
DE ₅₀	Dosis Efectiva 50
e.e.m.	Error estándar medio
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GlyRs	Receptores de glicina
GRD	Ganglio de la raíz dorsal
GMPc	Guanosin monofosfato cíclico
FNT- α	Factor de necrosis tumoral α
FN- $\kappa\beta$	Factor nuclear kapa- β
FLA-2	Fosfolipasa A2
FN-f	Fragmentos de fibronectina
IASP	Asociación internacional para el estudio del dolor
I $\kappa\beta\alpha$	Inhibición del complejo quinasa I $\kappa\beta\alpha$
IFN- γ	Interferón gamma
IL	Interleucina
i.p.	Intraperitoneal
LT	Leucotrienos
ON	Óxido nítrico
PG's	Prostaglandinas
PGG ₂	Prostaglandina G ₂
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
SNC	Sistema Nervioso Central
SON	Sintasa de óxido nítrico
SP	Sustancia P
TGF- β	Factor de crecimiento transformante β
TXA ₂	Tromboxano A ₂
V	Vehículo

RESUMEN

La artritis reumatoide es una enfermedad inmunitaria que causa efectos sistémicos significativos, acompañados de deformidad articular reduciendo la movilidad y la calidad de vida. El empleo de fármacos tradicionales generan más efectos adversos que beneficios para los pacientes. El propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto antinociceptivo que presenta la combinación de glucosamina con condroitina y glucosamina con glicina. Se utilizó glucosamina debido a que es un precursor de los proteoglicanos y glucosaminoglucanos. La condroitina se seleccionó debido a que forma parte del cartílago, y la glicina es un neurotransmisor inhibitorio. Se utilizaron ratas macho *Wistar* (180-220 g) a la que se les indujo nocicepción mediante la administración de formalina (1%) en la parte dorsal de la pata derecha. La administración de formalina (1%) produce sacudidas en la pata administrada, las cuales se registraron cada 5 min durante 1 min por 1 hora, se representaron por el área bajo la curva (ABC), la disminución del número de sacudidas se consideró como antinocicepción. Se realizó la curva dosis respuesta de la administración individual de glucosamina (100-749 mg/kg, i.p.), de condroitina (100-1000 mg/kg, i.p.) y de glicina (100-1000 mg/kg, i.p.). En el presente estudio se determinó que la glucosamina (316, 562 y 749 mg/kg, i.p.) presentó un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis en la prueba de la formalina $DE_{50} = 332.88$ mg/kg, i.p. La coadministración de glucosamina/condroitina y glucosamina/glicina no modificaron el efecto antinociceptivo de la administración individual de glucosamina, por lo cual, bajo las condiciones de este estudio, la condroitina y la glicina no tienen efecto antinociceptivo en la prueba de la formalina (1%) en rata.

INTRODUCCIÓN

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (*International Association for the Study of Pain*) define el dolor como “una experiencia sensorial y emocional desagradable vinculada con daños reales o potenciales a los tejidos, o descrita en términos de dichos daños” (IASP, 1986).

La inflamación es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas. Los aspectos que se destacan en el proceso inflamatorio son: a) la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor, b) la respuesta inflamatoria es inmediata, e inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica y c) el foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos. Las alteraciones vasculares van a permitir, la llegada desde la sangre de moléculas inmunes (Gallin, 1989; Male, 1991 y Roit, 1992). La artritis reumatoide es una enfermedad inmunitaria, acompañada de deformidad articular, reduciendo la movilidad y la calidad de vida de los pacientes. Debido a que los AINE's tienen más efectos adversos que benéficos, las personas han buscado alternativas para estos tratamientos, como los suplementos alimenticios.

La prueba de la formalina es un modelo de dolor en animales que se induce por daño a un tejido. La prueba consiste en administrar en una pata del animal formalina al 1% y la observación del comportamiento posterior a la administración. Se sabe que la administración subcutánea de la formalina en una pata trasera de la rata provoca un comportamiento nociceptivo caracterizado por una breve fase inicial (Fase I) seguida por una fase prolongada (Fase II); cada una de ellas consiste en elevar, lamer, sacudir e incluso morder la pata que ha sido administrada (Pitcher y Henry, 2002). La primera fase (dolor agudo) comienza inmediatamente después de la administración intraplantar de formalina y dura aproximadamente 5 minutos, y la segunda fase, se inicia 15-20 minutos después de la administración de la formalina y tiene una duración de 20-40 minutos. Esta última fase llamada también tónico o fase crónica depende de la inflamación local y/o de los cambios producidos en el SNC (Soares y col., 2006).

I. FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1. Dolor

John Bonica, es considerado como “el padre del tratamiento del dolor” debido a que fue el fundador de la primera clínica de dolor en la Universidad de Washington (*University of Washington en Seattle*). Gracias a su esfuerzo se construyó también la Asociación Americana de Dolor (*American Pain Society*) y la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (*Internacional Association for the Study of Pain; IASP*), que hoy día siguen activas y continúan dirigiendo la investigación sobre el dolor y su tratamiento (Prithvi, 2002).

El dolor es definido como “*una experiencia sensorial y emocional desagradable vinculada con daños reales o potenciales a los tejidos, o descrita en términos de dichos daños*” (IASP, 1986). En el caso de los animales Zimmerman (1986), interpretó la definición de dolor de acuerdo a la IASP como “Experiencia sensorial aversiva causada por un daño actual o potencial que genera una reacción motora progresiva y vegetativa, resultando en el aprendizaje de una conducta de rechazo, y que puede modificar la conducta específica de especies, incluyendo una conducta social”. Es importante hacer esta diferencia debido a que el dolor en los humanos se interpreta como la integración del estímulo nociceptivo en combinación con aspectos psicológicos que son desencadenados por factores sociales, culturales, económicos y ambientales. En el caso de los animales, el dolor se traduce al simple estímulo nociceptivo.

El dolor se ha clasificado de acuerdo a su duración, patogenia, a su localización y a su farmacología, las cuales se describen a continuación (Puebla, 2005).

A. Según su duración

- Agudo: El dolor se presenta en tiempo limitado, con escaso componente psicológico. Por ejemplo la perforación de víscera hueca o el dolor músculo esquelético en relación a fracturas patológicas.

- Crónico: El dolor es ilimitado en su duración, se acompaña del componente psicológico. Es el dolor típico del paciente con cáncer y SIDA.

B. Según su patogenia

- Neuropático: Este tipo de dolor es producido por un estímulo directo del sistema nervioso central (SCN) o por alguna lesión de las vías nerviosas periféricas. Se describe como punzante, quemante, acompañado de parestesias y disestesias, hiperalgesia, hiperestesia y alodinia. Son ejemplos de dolor neuropático la plexopatía braquial o lumbo-sacra post-irradiación, la neuropatía periférica post-quimioterapia y/o post-radioterapia y la compresión medular.
- Nociceptivo: Este tipo de dolor es el más frecuente y se divide en somático y visceral.
- Psicógeno: Interviene el ambiente psico-social que rodea al individuo. Es típico la necesidad de un aumento constante de las dosis de analgésicos con escasa eficacia.
- Dolor Inflamatorio: Es un dolor espontáneo que se presenta en respuesta a la inflamación y daño tisular, que permite la liberación de mediadores químicos que activan las terminales periféricas nociceptivas. Este tipo de dolor previene el contacto o el movimiento de la región afectada, al menos hasta que se reestablece el tejido, favoreciendo así su reparación y la disminución del daño ya ocasionado.
- Dolor Funcional: Se caracteriza por una hipersensibilidad al dolor que resulta de un proceso central alterado, sin daño aparente en los nervios. El dolor en este caso se debe a una sensibilidad o función anormal del sistema nervioso central.

C. Según la localización

- Somático: Se produce por la excitación anormal de nociceptores somáticos superficiales o profundos (piel, músculo esquelético, vasos y estructuras superficiales, entre otros). Es un dolor bien localizado, punzante y agudo, que se irradia siguiendo trayectos nerviosos. El más frecuente es el dolor óseo producido por metástasis óseas. El tratamiento debe incluir un analgésico antiinflamatorio no esteroideo (AINE's).

- Visceral: Se produce por la excitación anormal de nociceptores viscerales. Este dolor no está bien localizado, es continuo y profundo. Asimismo puede irradiarse a zonas alejadas al lugar donde se originó. Frecuentemente se acompaña de síntomas neurovegetativos. Son ejemplos de dolor visceral los dolores de tipo cólico, metástasis hepáticas y cáncer pancreático. Este dolor responde bien al tratamiento con fármacos.

D. Según la farmacología:

- Responde bien a los fármacos: dolores viscerales y somáticos.
- Parcialmente sensible a los fármacos: dolor óseo (además son útiles los AINE's) y el dolor por compresión de nervios periféricos (es conveniente asociar un esteroide).
- Escasamente sensible a fármacos: dolor por espasmo de la musculatura estriada y el dolor por infiltración-destrucción de nervios periféricos (responde a antidepresivos o anticonvulsiantes).

1.2. Nocicepción

La nocicepción es la respuesta del organismo al estímulo nocivo. El mecanismo electroquímico comprende cuatro procesos fisiológicos (Ver Figura 1) (Torregrosa, 1994).

- Transducción. Es la conversión de los estímulos nocivos en señales eléctricas por las terminaciones nerviosas periféricas.
- Transmisión. Es la propagación de las señales eléctricas a lo largo de las vías nociceptivas.
- Modulación. Es la alternación de las señales nociceptivas dentro del asta dorsal de la medula espinal; aquí se puede inhibir o amplificar la señal sensorial.
- Percepción. Es el proceso por el cual se integran los impulsos nociceptivos con factores cognoscitivos y emocionales para crear la experiencia subjetiva de dolor

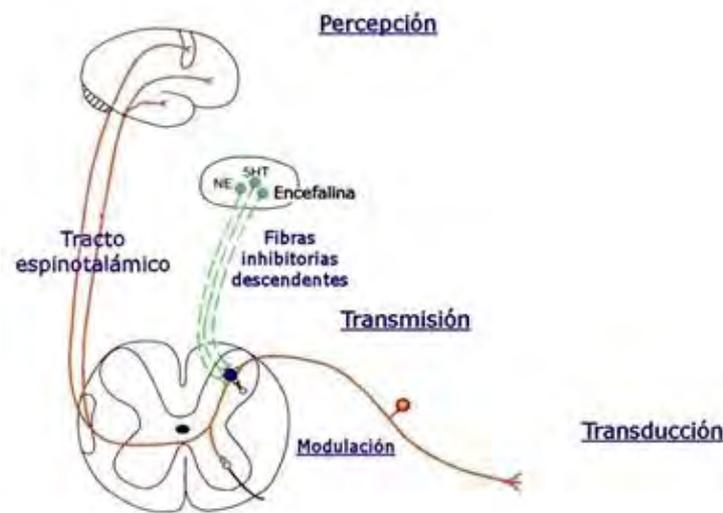


Figura 1. Procesamiento y modulación de la información nociceptiva (Waldmann, 1997).

1.3. Nociceptores

La transducción se lleva a cabo en el receptor del dolor, llamado nociceptor, el cual es la terminación periférica de una neurona bipolar cuyo cuerpo neuronal se encuentra en el ganglio raquídeo de la raíz dorsal. Los nociceptores son terminaciones periféricas de algunas fibras aferentes sensoriales primarias, capaces de diferenciar entre estímulos inocuos y nocivos, y de convertir éstos en un potencial de acción, proceso denominado transducción. Para ello, y a diferencia de otros receptores sensoriales, tienen un umbral alto para determinados estímulos, son capaces de codificar el impulso originado por un estímulo dañino de una forma concreta, y no suelen presentar “adaptación” sino por el contrario, sensibilización al estímulo. El umbral de dolor de estos receptores varía en función al tejido donde se encuentren, pero localmente se pueden producir disminuciones o incrementos del mismo debido a la presencia de ciertas sustancias. Las sustancias producidas tras la lesión e inflamación tisular, como los derivados del ácido araquidónico (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos), derivados de ATP, bradicinina e histamina, reducen el umbral para el dolor, mientras que los anestésicos y el óxido nítrico lo incrementan (Arbaiza, 2005). Según Arbaiza se distinguen 3 tipos de nociceptores:

- **NOCICEPTORES CUTÁNEOS:** Presentan un umbral alto de estimulación y sólo se activan ante estímulos intensos y no tienen actividad en ausencia del estímulo nocivo.

Existen 2 tipos y también se sitúan en el músculo, cápsula articular, ligamentos, periostio y grasa, pero no en el cartílago:

- o Nociceptores mielínicos A δ , se sitúan en la epidermis y dermis, y tienen velocidad de conducción alta. Responden a estímulos mecánicos, y evocan una sensación punzante.
 - o Nociceptores C amielínicos, que se sitúan solo en la dermis, y tienen velocidad de conducción lenta. Responden a estímulos de tipo mecánico, químico y térmico así como a las sustancias liberadas por un daño tisular.
- **NOCICEPTORES VISCERALES:** La mayor parte son fibras amielínicas y pueden ser de dos tipos: *de alto umbral*, que solo responden a estímulos nocivos intensos e *inespecíficos*, que pueden responder a estímulos inocuos o nocivos. En la Tabla 1 se muestran los diferentes tipos de estímulos que despolariza el nociceptor responsable del dolor visceral es diferente en cada órgano (Arbaiza, 2005).

Tabla 1. Clasificación de receptores de acuerdo al estímulo (De La Parra, 1997).

NOCICEPTORES	MODO DE ACCIÓN	NEUROFISIOLOGÍA
Mecánico	Se activan con la presión intensa sobre la piel, deformación tisular o cambios de la osmolaridad. Son receptores con un umbral de activación elevado.	Terminaciones nerviosas libres que pertenecen a fibras mielinizadas de pequeño diámetro.
Térmico	Se activan a cambios térmicos extremos, superiores a 45°C o inferiores a 5°C.	Formados por fibras mielinizadas de pequeño diámetro y también por fibras no mielinizadas.
Mixtos o Polimodal	Grupo más numeroso. Se activan ante estímulos intensos, de tipo mecánico, térmico o químico, que causen destrucción tisular.	Compuestos por fibras no mielinizadas con velocidad de conducción lenta.

Los cuerpos celulares de las fibras aferentes primarias se localizan de manera estratégica en los ganglios de la raíz dorsal, de donde se envía una rama que entra a la médula espinal a través de las raíces dorsales y termina en la sustancia gris del asta posterior, y otra rama dirigida hacia los tejidos corporales inervados. Después de la integración de la información nociceptiva en el asta dorsal de la médula espinal, esta se conduce vía las neuronas de proyección, hacia centros superiores en el cerebro. La neuroanatomía y la organización de las vías de proyección ascendentes son altamente complejas. Desde el punto de vista neuroanatómico, existen dos tipos de vías ascendentes (Granados *et al.*, 2004):

- I. Monosinápticas. Salen proyecciones que van directamente hacia las estructuras cerebrales, incluyendo los tractos: espinotalámico, espinomesencefálico, espinoparabraquial, espinohipotálámico y espinorreticular.
- II. Polisinápticas. Tienen en contraste con las monosinápticas, una extensión de relevo en su entrada hacia los centros superiores. Las dos rutas polisinápticas principales son la vía espinocervical, que proyecta al núcleo lateral cervical a nivel C1-C3, y la vía del hasta dorsal postsináptica, que proyecta hacia el núcleo cuneiforme y grácil de la columna dorsal. Este núcleo recibe inervación ascendente directa de las fibras aferentes nociceptivas. Del núcleo cervical lateral sale la información hacia el tracto cervico-talámico a varios núcleos talámicos, incluyendo los grupos de núcleos ventroposterior y posterior, y una vía cervico mesencefálica hacia el cerebro medio, incluyendo la sustancia gris periacueductal y el colículo superior.

Para comprender la participación de las vías ascendentes y los mecanismos supraespinales en la modulación y experiencia del dolor, es importante distinguir dos componentes fundamentales:

- Sensorial-discriminativo: que participa en la percepción y detección del estímulo nocivo *per se*, en cuanto a su intensidad, localización duración, patrón de temporalidad y calidad. En este componente están involucrados de manera importante los núcleos ventroposterior medial y lateral del tálamo.
- Afectivo-cognoscitivo: la relación entre el dolor y el estado de ánimo, la atención y memoria del dolor, la capacidad para soportarlo y su racionalización. En este componente participan de manera importante las cortezas insular, singular y prefrontal, teniendo interconexiones con regiones límbicas como son la amígdala, sustancia gris periacueductal, núcleo parabraquial y núcleo lenticular.

Dependiendo del sitio preciso del dolor, la duración, el tipo de estímulo nocivo y muchos otros factores, pueden existir canales múltiples de la información nociceptiva, los cuales convergen e interactúan a nivel supraespinal para dar una sensación global del dolor. Es importante hacer notar que existen diversas vías descendentes hacia la medula espinal

(Granados, 2004): vías descendentes inhibitorias; limitan el paso de la información hacia los centros superiores y vías descendentes excitatorias; facilitan el paso de la información hacia los centros superiores.

1.4. Inflamación.

La inflamación es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas. Los aspectos que se destacan en el proceso inflamatorio son (Gallin y Paul, 1989; Male *et al.*, 1991 y Roit *et al.*, 1992): a) La focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor. B) la respuesta inflamatoria es inmediata, e inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica. C) el foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos. Las alteraciones vasculares van a permitir, además, la llegada desde la sangre de moléculas inmunes.

Clásicamente la inflamación esta integrada por los cuatros signos establecidos por Celso: *Calor, Rubor, Tumor* y *Dolor*. El *calor* y *rubor* se deben a las alteraciones vasculares que determinan una acumulación sanguínea en el foco. El *tumor* se produce por el edema y acumulo de células inmunes, mientras que el dolor es producido por la actuación de determinados mediadores sobre las terminaciones nerviosas del dolor (Gallin y Paul, 1989).

1.4.1. Inflamación aguda

La inflamación aguda es la respuesta inicial del cuerpo a los estímulos dañinos y es desarrollada debido al movimiento de células y plasma desde los vasos sanguíneos hasta los tejidos. Este tipo de inflamación presenta cuatro signos cardinales que permiten reconocerla: *rubor* (enrojecimiento de la zona), *calor* (aumento de la temperatura local), *tumor* (edema) y *dolor* (Hyperalgesia). Estos cuatro signos de la inflamación fueron descritos por el médico romano Aunlus Cornelius Celsus año 30 A.C.; en 1870, el médico alemán Rudolf Virchow añadió otro signo de la inflamación aguda: *fuctio laesa* (pérdida de función), pero no es considerado signo cardinal debido a que algunas reacciones inflamatorias agudas no provocan

la pérdida de la función de la zona inflamada. Los signos cardinales de la inflamación pueden ser observados con claridad cuando aparecen en la piel o en la mucosas, pero no ocurre lo mismo en los tejidos (u órganos) internos. Por ejemplo, el dolor solamente se manifiesta donde existen las terminales nerviosas apropiadas para la conducción del estímulo doloroso; en enfermedades como la neumonía o la inflamación aguda del pulmón, se produce dolor, a menos que la inflamación incluya a la pleura parietal, cuyas terminales nerviosas lo transmiten (González, 2009). La inflamación aguda tiene un periodo de duración relativamente corto, que puede ser desde unos minutos, hasta varias horas o días y sus principales características son el exudado del líquido y proteínas plasmáticas (edema) así como la migración leucocitaria, predominantemente de neutrófilos (Robbins *et al.*, 1990).

El proceso de la inflamación aguda es iniciado por las células dañadas de los tejidos y por las células del sistema inmune innato residentes en ese lugar. Cuando las células del sistema inmune son activadas directamente por el estímulo dañino o por productos liberados de las células rotas, secretan rápidamente diversos compuestos (mediadores) responsables de la respuesta inflamatoria (Ver Tabla 2). La vasodilatación y el aumento concomitante del flujo sanguíneo causan el *rubor* y el *calor*. El incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos causa la salida de plasma y de proteínas desde los capilares hacia los tejidos, ocasionando el edema. Algunos de los mediadores liberados (como la bradicinina) producen un incremento en la sensibilidad del dolor, alertando al sistema nervioso acerca del daño producido. Los mediadores inflamatorios inducen cambios en la superficie de las células endoteliales de los vasos sanguíneos, que permiten la migración de leucocitos (en su mayoría neutrófilos), desde la sangre hacia los tejidos (González, 2009).

Además de los mediadores derivados de las células del sistema inmune, algunas cascadas bioquímicas constituidas por proteínas plasmáticas, actúan para iniciar y sostener la inflamación. Por ejemplo, la cascada del complemento activada por infecciones bacterianas, y los sistemas de coagulación y fibrinólisis, participan activamente en los procesos inflamatorios en donde existe ruptura de capilares (González, 2009).

Tabla 2. Mediadores de la respuesta inflamatoria (González, 2009).

NOMBRE	EJEMPLO	FUENTE	ACCIONES
--------	---------	--------	----------

GENÉRICO		PRINCIPAL	
Sistema de cininas	Bradicinina	Precusores en el plasma	Vasodilatación, incremento en la permeabilidad vascular, dolor.
Sistema del complemento	Factor C3	Precusores en el plasma	Se rompe para producir C3, C3b y C3a. Activa la liberación de histamina por las células cebadas y C3b se une a las paredes bacterianas actuando como una opsonina, favoreciendo la fagocitosis mediada por macrófagos.
Sistema del complemento	Factor C5a	Precusores en el plasma	Estimula la liberación de histamina por las células cebadas, induciendo vasodilatación.
Hígado	Factor XII	Precusores en el plasma	Es activado por colagénasa, plaquetas o membranas basales por medio de un cambio conformacional. Una vez activo, desencadena el sistema de cininas, el de fibrinólisis y el de coagulación.
Sistema del complemento	Complejo del ataque de membrana	Precusores en el plasma	Esta formado por la proteínas C5b, C6, C7, C8 y C9. se inserta en paredes bacterianas causando la lisis.
Sistema de fibrinólisis	Plasmita	Precusores en el plasma	Rompe los coágulos de fibrina, hidroliza al factor C3 y activa al factor XII.
Sistema de coagulación	Trombina	Precusores en el plasma	Produce fibrina insoluble para formar el coágulo sanguíneo. Activa las células cebadas.
Enzimas granulares	Triptasa	Células cebadas y granulocitos	Hidrolizan distintas sustancias para producir otros mediadores inflamatorios. Hidrolizan proteínas bacterianas.
Aminas vasoactivas	Histamina	Células cebadas, basófilos y plaquetas.	Causa vasodilatación y aumento de permeabilidad vascular.

Continuación de la Tabla 2.

Citocinas	Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α)	Células cebadas, macrófagos	Causa vasodilatación y aumento en la expresión de proteínas de adhesión en las células endoteliales.
Citocinas	Interferón γ (IFN- γ)	Linfocitos T y células NK	Tienen actividad, antitumoral e inmunomoduladora. Participa en la inflamación crónica.
Quimiocinas	IL-8	Macrófagos y células cebadas	Citosina quimiotáctica que atrae a los neutrófilos al sitio de la inflamación.
Gases solubles	Oxido Nítrico	Células endoteliales, macrófagos, glía.	Produce vasodilatación, relaja el músculo liso, inhibe la agregación plaquetaria.
Derivados del ácido araquidónico	Prostaglandinas	Células cebadas	Son producidas por la acción de las ciclooxigenasas (COX)1 y 2. Ocasionan vasodilatación, fiebre y dolor.
Derivados del	Leucotrienos	Células	Son producidas por la acción de la enzima

ácido araquidónico		cebadas	lipooxigenasa (LOX). Inducen vasodilatación, edema y dolor.
Derivados del ácido araquidónico	Tromboxanos	Células cebadas	Son producidas por la acción de la tromboxano sintasa sobre la prostaglandina H ₂ . Ocasionan vasodilatación, producción de óxido nítrico.
Factores angiogénicos	Factor de crecimiento del endotelio vascular.	Células cebadas	Produce cambios en la permeabilidad vascular y proliferación de las células endoteliales.

1.4.1.1. Células que desencadenan las reacciones inflamatorias agudas

Las células del sistema inmune innato que producen mediadores de la inflamación son principalmente macrófagos y las células cebadas. Los macrófagos tisulares proceden de monocitos circulantes y pueden adoptar funciones relativamente específicas por ejemplo, células hepáticas de Küpfer, macrófagos alveolares y microglía en el Sistema Nervioso Central. En la inflamación aguda, los macrófagos son activados directamente por los productos de las células rotas o por componentes de los microorganismos que penetran con la herida o con infecciones, como el ATP, el óxido nítrico o los liposacáridos bacterianos. En la inflamación crónica, los macrófagos tisulares pueden ser activados por mecanismos inmunológicos (interferón γ secretado por linfocitos T activados antigénicamente) y por mecanismos no inmunológicos, como proteínas de matriz extracelular y partículas externas. Los macrófagos activados aumentan su tamaño, aumentan su capacidad fagocítica y secretan una gran variedad de mediadores. Los mediadores de la inflamación secretados por los macrófagos incluyen proteasas, especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno, factores de coagulación, derivados de ácido araquidónico y citocinas. También secretan colagenasas que participan en la remodelación tisular, factores angiogénicos y factores de crecimiento profibrinogénicos, como el factor de crecimiento de fibroblastos, el factor de crecimiento transformante β y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (González, 2009).

Las células cebadas, por su parte, provienen de la médula ósea, de donde salen a la circulación como precursores inmaduros. Migran hacia todos los sitios vascularizados del cuerpo, se ubican en la periferia de los vasos sanguíneos y cerca de las terminaciones nerviosas, completando su diferenciación bajo la influencia de mediadores, hormonas y

neurotransmisores producidos localmente. Se caracterizan por tener un citoplasma lleno de vesículas secretoras denominadas gránulos, que contienen: histamina, serotonina, proteasas, hexosaminidasas, proteoglicanos y algunas citocinas pre-sintetizadas, como el factor de necrosis tumoral (FNT- α). Al ser estimuladas por diversos agentes, secretan los mediadores preformados en un proceso denominado desgranulación. La liberación de esas sustancias está acompañada de la síntesis de *novó* de citocinas y de derivados del ácido araquidónico. Poseen receptores de alta afinidad para la inmunoglobulina E y el entrecruzamiento del receptor desencadena una producción y liberación marcada de mediadores inflamatorios. Las células cebadas son las responsables de iniciar las reacciones de hipersensibilidad tipo I, mejor conocidas como reacciones alérgicas, pero también son importantes en la inmunidad innata contra bacterias, controlan la permeabilidad vascular y modulan el funcionamiento de diversas sinapsis periféricas. Las células cebadas son capaces de secretar de manera diferencial múltiples citocinas y factores angiogénicos, dependiendo del grado de ocupación del receptor para la inmunoglobulina E. Quimiocinas como CCL2, CCL3, CCL4 son producidas cuando apenas han sido formados algunos agregados del receptor en la membrana plasmática, mientras que citocinas reguladoras como las interleucinas 3 o 2 (IL-3 o IL-2) son producidas cuando la intensidad de la señal es lo suficientemente alta como para inducir la desgranulación y producir los síntomas de las alergias. Esto indica que la inflamación puede ser producida mucho antes de que sean observados signos de las reacciones de hipersensibilidad tipo I (González, 2009).

Las células cebadas están adosadas a la pared de los vasos sanguíneos y cerca de las terminaciones nerviosas periféricas. Esta localización permite que los mediadores liberados en el proceso de desgranulación o las citocinas sintetizadas ante el daño tisular, actúen rápidamente sobre receptores del endotelio vascular y también sobre las terminales nerviosas, iniciando el proceso de recepción química de estímulos dolorosos. Los mediadores secretados actúan sobre receptores específicos ubicados en las neuronas aferentes, activando cascadas de señalización intracelular que transmitirán el mensaje de daño en los tejidos y será interpretado como dolor (González, 2009).

Las células cebadas, tienen a su vez, receptores para múltiples neurotransmisores, neuropéptidos y neuromoduladores secretados en las terminaciones nerviosas. Los receptores

para este tipo de compuestos están acoplados a la desgranulación, la síntesis de prostaglandina y leucotrienos, y a la liberación de citocinas inflamatorias. De este modo, diversos estímulos que desencadenan, por ejemplo, la liberación de sustancias P o acetilcolina de las terminales nerviosas, producen un tipo de inflamación llamada neurogénica, donde son liberados múltiples mediadores, son reclutadas células del sistema inmune y es remodelado el tejido sin que haya existido una lesión real en el tejido inflamado (González, 2009).

1.4.1.2. Cambios vasculares durante la inflamación aguda.

Los mediadores producidos en la inflamación aguda ocasionan cambios importantes en la estructura y función de los vasos sanguíneos. Los principales cambios hemodinámicos en las regiones inflamadas incluyen: la vasodilatación arteriolar y un incremento en la permeabilidad microvascular. La vasodilatación arteriolar resulta en un incremento de flujo sanguíneo local y el incremento en la permeabilidad causa que el plasma salga desde el interior de los vasos sanguíneos hasta los tejidos. Al disminuir la cantidad de líquido en los capilares, la concentración de células sanguíneas aumentan localmente, provocando un fenómeno denominado estasis vascular (González, 2009).

La estasis vascular ocasiona que los leucocitos se muevan lentamente, se desplacen desde el centro de flujo hacia las paredes del vaso (fenómeno conocido como marginación) e interaccionen con las células endoteliales. Debido a que los mediadores inflamatorios alteran las uniones existentes entre las células que conforman las paredes de los vasos capilares, permite la entrada de leucocitos circulantes en la sangre hacia el tejido inflamado, en un proceso denominado extravasación. Para analizar mejor este fenómeno, se describirá en tres etapas:

- I. Localización y reclutamiento de los leucocitos al endotelio de los vasos que están siendo afectados por la inflamación. Esta etapa consiste en el anclaje de los leucocitos circulantes al endotelio de los vasos de la zona inflamada.
- II. La migración a través del endotelio, o transmigración, a través del proceso de diapédesis. Esta etapa de la extravasación consiste en el paso de los leucocitos reclutados en las paredes de los vasos hacia el tejido inflamado, a través de las uniones célula-célula del

endotelio vascular. Además de las uniones mediadas por integrinas y selectinas, gran variedad de mediadores solubles pueden colaborar para dar mayor fuerza motriz a este paso.

- III. Movimiento de leucocitos a través de los tejidos hasta llegar al sitio de mayor daño tisular. Esta etapa de la extravasación consiste en la llegada de los leucocitos desde los vasos sanguíneos al sitio de la inflamación por un proceso llamado quimiotaxis. También involucra combatir a los agentes dañinos mediante la secreción de sustancias microbicidas y la fagocitosis de partículas extrañas (González, 2009).

1.4.1.3. Control negativo de la inflamación aguda

La respuesta inflamatoria aguda requiere de una estimulación constante para sostenerse. Los mediadores inflamatorios tienen vidas medias cortas y son degradados rápidamente en los tejidos. De esa manera, la inflamación cesa una vez que el estímulo se ha removido. Sin embargo, el proceso de resolución de la inflamación no ocurre solamente por la carencia de un estímulo inflamatorio: es un proceso activo que es desencadenado de manera coordinada al inicio de la inflamación aguda, y está basado en la producción de sustancias con actividades antiinflamatorias, por las mismas células que iniciaron la inflamación. Las principales familias de mediadores antiinflamatorios son las interleucinas tardías (IL-10, TGF β) las lipoxinas, las resolvinas y las protectivas. Son dos citocinas producidas en las fases finales de la inflamación aguda. Su principal actividad biológica es el control negativo de varias funciones de los leucocitos. El TGF β , por ejemplo, produce apoptosis de diversas estirpes de células del sistema inmune, y modifica la diferenciación de los linfocitos, induciendo un estado particular caracterizado por la ausencia de respuesta a los diferentes antígenos. Las lipoxinas son derivados de ácido araquidónico que poseen actividades antiedematogénicas (resuelven el edema causado por la inflamación), son estimuladoras potentes de la actividad fagocítica de los macrófagos y ayudan a remover los restos celulares de los tejidos inflamados. Detienen el reclutamiento celular, reducen la formación de nuevos vasos sanguíneos, disminuyen la presión intraocular y pueden, en general disminuir los efectos de la inflamación aguda. Las resolvinas son derivados del ácido eicosapentanoico, un ácido graso esencial omega 3 presente en diversos alimentos. Las resolvinas reducen la infiltración de células polimorfonucleares en lesiones de la piel y mejoran la sintomatología de

padecimientos asociados a la inflamación, como la periodontitis y la colitis alérgica. Las protectivas son derivados oxigenados del ácido docosahexaenoico, y son capaces de disminuir el infiltrado celular y el edema en modelos animales de inflamación. Reducen la remodelación pulmonar en el asma, aceleran la recuperación después de la peritonitis y tienen la capacidad de disminuir la secreción de mediadores inflamatorios en leucocitos activados (González, 2009).

Los mediadores antiinflamatorios actúan en coordinación con otros sistemas de reparación tisular. Tienen acciones coordinadas con hormonas que inducen proliferación celular para regenerar las zonas dañadas (González, 2009).

1.4.2. Inflamación crónica

La inflamación crónica y los procesos de reparación están, al igual que las respuestas de inflamación aguda, regulados por mecanismos complejos. La inflamación crónica connota un proceso que dura semanas, meses y, a veces, hasta años. La inflamación crónica está caracterizada por el reclutamiento de células mononucleares, (incluyendo linfocitos, monocitos y células plasmáticas) al sitio de la lesión inicial. Sin embargo, en estos procesos inflamatorios observamos la formación de nuevos vasos capilares (angiogénesis) y un incremento en la producción de moléculas de matriz extracelular. Reemplazar el tejido dañado por nuevos vasos sanguíneos y depositar proteínas de matriz extracelular constituyen dos aspectos fundamentales de la inflamación crónica y simultáneamente, forman parte del proceso de cicatrización y reparación de los tejidos dañados. El reclutamiento de una variedad tan grande de células es llevado a cabo gracias a las interacción compleja de citocinas, Quimiocinas y productos de células dañadas (González, 2009). La inflamación crónica es menos uniforme y obviamente, de mayor duración. Se asocia histológicamente a la presencia de linfocitos y macrófagos y a la proliferación de vasos sanguíneos y tejido conectivo (Smith y Reynard, 1992).

Las características de una respuesta inflamatoria dependen de la localización de la lesión y del tipo de agente que causó el daño. La inflamación crónica está marcada generalmente por una morfología relativamente específica (por ejemplo, la formación de un granuloma en la

tuberculosis, infiltración de eosinófilos en infecciones parasitarias) y por la coexistencia de la reparación del tejido como la angiogénesis y la producción de matriz extracelular (González, 2009).

Aunque los macrófagos juegan un papel central en todas las facetas de la inflamación crónica, otros tipos celulares también son importantes. Los linfocitos T y B son reclutados al sitio de la inflamación. Los linfocitos T producen interferon gamma (IFN- γ), el cual activa a los macrófagos. Los linfocitos activados producen una gran cantidad de citocinas, involucradas en la proliferación y diferenciación de células T (IL-2) y en la regulación inmunológica (IL-5). Los eosinófilos y las células cebadas participan también en la inflamación crónica, se caracterizan por estar presentes en las reacciones inflamatorias alérgicas y en las infecciones parasitarias. El estado inflamatorio está caracterizado por la presencia de linfocitos, eosinófilos y células cebadas activadas (González, 2009).

Cuando existe un estímulo doloroso capaz de generar daño al tejido, gran cantidad de sustancias endógenas son liberadas en el sitio de lesión formando lo que se conoce como “sopa inflamatoria”, la cual le da el nombre de dolor inflamatorio a este tipo de dolor y es la responsable de excitar o sensibilizar las terminales nerviosas localizadas en la periferia, que a su vez son responsables de convertir el estímulo doloroso en potenciales de acción una vez que el estímulo doloroso es detectado por los receptores específicos al dolor, éste es conducido hasta el hasta dorsal de la médula espinal, donde el estímulo es transmitido a neuronas de segundo orden que a su vez conducen la información a centros supraespinales en donde el estímulo es procesado y percibido (González, 2009).

1.4.3. Fases de la inflamación

Los tejidos dañados y las células tumorales liberan mediadores químicos que son los responsables de crear el foco inflamatorio el cual modifica las respuestas de los nociceptores aferentes para crear un estímulo-respuesta (Ver figura 2). Aunque todos los tejidos al lesionarse van a liberar mediadores de la inflamación, la fuente principal de los mismos es el mastocito.

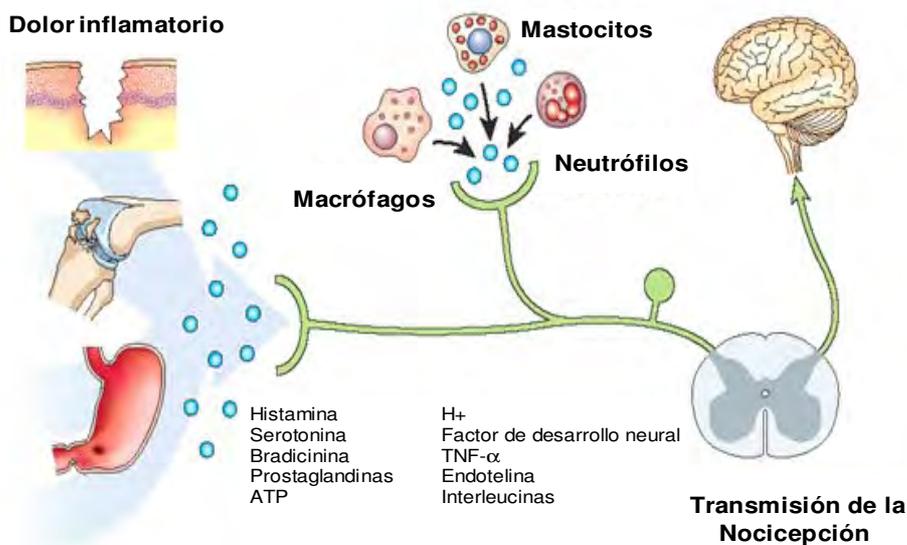


Figura 2. Proceso del dolor inflamatorio. Durante la inflamación se liberan diversas sustancias mediadoras que incluyen péptidos (bradicinina), lípidos (prostaglandinas), neurotransmisores (serotonina, 5HT y adenosin trifosfato -ATP-), neurotrofinas (NGF) y reducción de pH. Estos factores excitan o sensibilizan (disminuyen el umbral) las terminales de los nociceptores al interactuar con sus receptores (Joachim y Clifford, 2002).

El campo del proceso inflamatorio es el tejido vascularizado, incluyendo el plasma, las células circulantes, los vasos sanguíneos y los componentes celulares y extracelulares del tejido conectivo. Las células circulantes que tienen importancia en la inflamación son los neutrófilos, eosinófilos, basófilos y plaquetas. Las células del tejido conectivo son las células cebadas, que están en íntima relación con los vasos sanguíneos, los fibroblastos, linfocitos y macrófagos del mismo (Clark y Johnson, 1995).

1.4.4. Terapéutica del dolor inflamatorio

Los AINE's constituyen uno de los grupos de fármacos más prescritos, con múltiples usos terapéuticos tanto en el tratamiento de dolor músculo esquelético, como en otra amplia gama de indicaciones debido a sus efectos analgésico, antipirético, antiinflamatorio y antiagregante plaquetario. Sin embargo, su uso se ve limitado por la posible aparición de efectos adversos, potencialmente letales, como puede ser la enfermedad úlcero-péptica o la insuficiencia renal.

Los AINE's se utilizan ampliamente por sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas, inhiben a la enzima ciclooxigenasa (COX), responsable de la síntesis de las prostaglandinas a

partir de ácido araquidónico (Ferreira, 1972) (Ver figura 3). A la fecha, se han descrito al menos dos isoformas de COX, una denominada COX-1 o “constitutiva” y descrita como la responsable de la biosíntesis de prostaglandinas importantes en la homeostasis y ciertas funciones fisiológicas (citoprotección en el tubo gastrointestinal y regulación del flujo sanguíneo renal). Otra denominada COX-2 o “inducible”, que aparece en el escenario en respuesta a un daño tisular o estímulo inflamatorio y por lo tanto se ha propuesto que participa y/o empeora la respuesta inflamatoria (Torres y Granados, 2001).

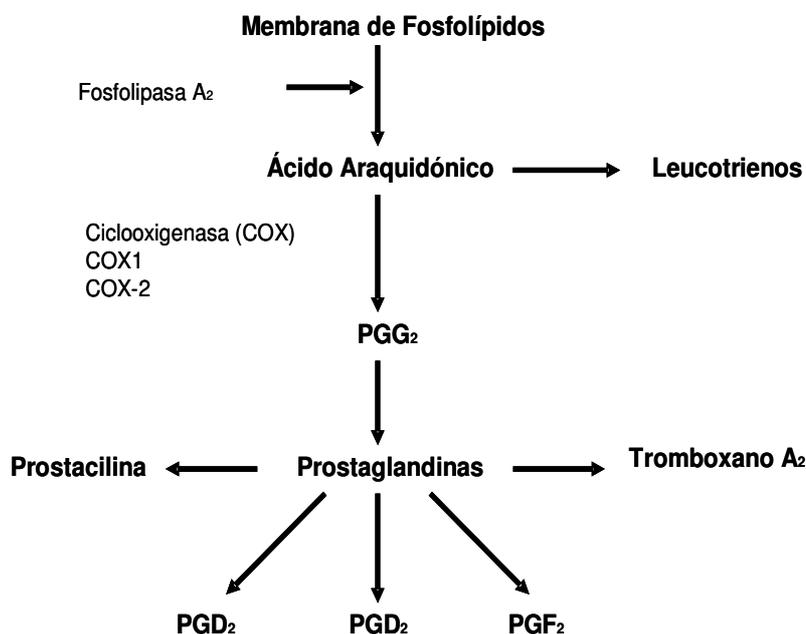


Figura 3. Producción de prostaglandinas a partir de ácido araquidónico (Osiri y More, 1999).

Los AINE’s tradicionales son relativamente no selectivos (Warner *et al.*, 1999) y su uso crónico en el tratamiento de la artritis reumatoide se ha asociado con daño gastrointestinal como principal efecto no deseado (Wallace y Granger, 1992). Se ha informado la expresión constitutiva de COX-2 en varios tejidos, incluyendo riñones (Harris *et al.*, 1999), tubo gastrointestinal, aparato reproductor femenino y endotelio vascular (Slater *et al.*, 1994).

Se ha demostrado en modelos de inflamación que el efecto antiinflamatorio de los inhibidores selectivos de la COX-2 a dosis altas también inhibe a la COX-1 (Wallace *et al.*, 1998). Gilroy *et al.*, 1999, sugieren que las prostaglandinas sintetizadas por la COX-2 pueden tener propiedades antiinflamatorias. Evidencia genética en ratones que carecen del gen para la enzima COX-2 presentan respuesta inflamatoria similar a la observada en ratones normales

(Morham *et al.*, 1995), mientras que los ratones que carecen del gen COX-1 presentan una respuesta inflamatoria disminuida (Langenbach *et al.*, 1995). Por lo tanto, se sugiere que la COX-1 puede contribuir de manera importante tanto a la respuesta inflamatoria como al dolor asociado al proceso inflamatorio.

La COX-1 se expresa constitutivamente en la mayoría de los tejidos, especialmente plaquetas, células endoteliales, tracto gastrointestinal, microvasculatura renal, glomérulos y túbulos colectores. Su expresión aumenta de dos a cuatro veces cuando se estimula, y los glucocorticoides no la inhiben; es responsable de la regulación del flujo sanguíneo renal, excreción de sodio y de la protección de la mucosa gástrica (Abramson y Weissmann, 1989).

La COX-2 es indetectable en la mayoría de los tejidos en situación basal. Sin embargo, con el desarrollo de los inhibidores selectivos se ha podido comprobar que la COX-2 participa no solo en la mediación de la inflamación sino también en funciones reguladoras y otras circunstancias patológicas. Aparece en determinadas situaciones en riñón, cerebro (células endoteliales y neuronas corticales excitadoras), mucosa del colón, en algunas neoplasias y osteoclastos. Aumenta entre 10 y 80 veces en presencia de citoquinas inflamatorias, factores de crecimiento o endotoxinas, a nivel de células migratorias (monocitos y macrófagos), sinoviocitos, fibroblastos, células epiteliales o endoteliales y condrocitos (Abramson y Weissmann, 1989).

1.5. Artritis Reumatoide

La artritis reumatoide es una enfermedad sistémica autoinmune, caracterizada por provocar inflamación crónica de las articulaciones, que produce destrucción progresiva con distintos grados de deformidad e incapacidad funcional. En ocasiones, su comportamiento es extraarticular; puede causar daños en cartílagos, huesos, tendones y ligamentos de las articulaciones afectando diversos órganos y sistemas, como ojos, pulmones, corazón, piel o vasos (Katzung, 2004).

En este trastorno, se depositan inmunocomplejos en las articulaciones afectadas, lo que causa una respuesta inflamatoria amplificada por los eicosanoides. Los linfocitos y

macrófagos se acumulan en el sinovio, en tanto que los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos se localizan principalmente el líquido sinovial. Los principales eicosanoides producidos por los polimorfonucleares son leucotrienos, los cuales facilitan la proliferación de linfocitos T y actúan como quimioatractivo. Los macrófagos sintetizan los productos de la COX, Prostaglandina E₂ y tromboxano A₂, así como grandes cantidades de leucotrienos (Katzung, 2004).

La artritis reumatoide puede presentarse a cualquier edad, sin distinción de razas y sexos, pero la incidencia máxima de su inicio ocurre entre los 25 y 55 años de edad. Es una enfermedad que causa la inflamación de la membrana sinovial de muchas articulaciones. Esta inflamación constituye el síntoma principal de la enfermedad y es la responsable del dolor, de la hinchazón claramente visible y de la sensación de rigidez que los pacientes pueden tener por las mañanas. La persistencia de la inflamación de la membrana sinovial provoca que el hueso se dañe y aparezcan pequeñas erosiones (Barbera y Domínguez, 2004).

Uno de los problemas más complejos que presenta la artritis reumatoide es la proliferación sinovial excesiva, que provoca cambios en la estructura de esta membrana e induce a la formación de un tejido de granulación que se denomina *Pannus* (Ver figura 4). La formación del *pannus* es el elemento determinante en la aparición de erosiones, con la consiguiente desorganización del espacio interarticular y la destrucción de la articulación (Firestein, 2003).

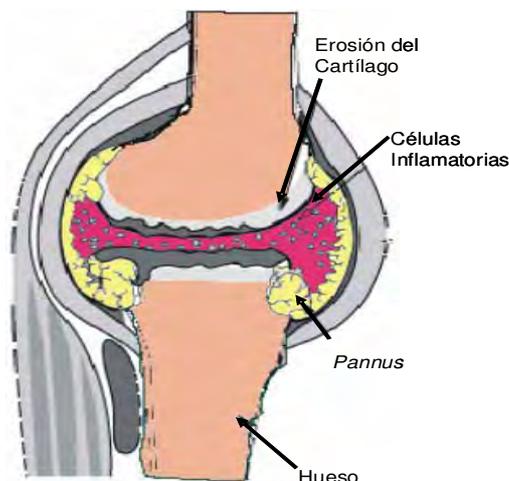


Figura 4. Articulación afectada por la artritis reumatoide. El *pannus* causa la erosión del cartílago y del hueso adyacente, de manera progresiva (Barbera y Domínguez, 2004).

1.5.1. Diagnóstico

El diagnóstico de la artritis reumatoide se fundamenta en las manifestaciones que presenta el paciente, los signos que el médico detecta en el examen físico y los exámenes de laboratorio. Debido a la poca especificidad de los síntomas es difícil diagnosticar la enfermedad en sus inicios. El Colegio Americano de Reumatología en 1987 estableció los siete criterios de diagnóstico de la artritis reumatoide:

1. Artritis de tres o más articulaciones.
2. Artritis bilateral y simétrica.
3. Artritis en las articulaciones de las manos.
4. Rigidez matutina de las articulaciones durante más de 1 hora.
5. Presencia de nódulos reumatoides.
6. Factor reumatoide positivo.
7. Cambios radiológicos típicos.

Un paciente puede ser diagnosticado con artritis reumatoide solo si cumple cuatro o más criterios mencionados anteriormente (Arnett *et al.*, 1988). La causa de la artritis reumatoide es desconocida. Se conoce que es una enfermedad de origen multifactorial, de naturaleza autoinmune, que involucra factores genéticos, ambientales, inmunológicos y hormonales (Barbera y Domínguez, 2004).

1.5.2. Etiología

La patogénesis de la artritis reumatoide se caracteriza por la acción concertada de diferentes tipos de células que desencadenan la destrucción progresiva del cartílago y del hueso (Barbera y Domínguez, 2004). En situaciones normales, existe un equilibrio entre las interleucinas inflamatorias como el FNT- α , así como el IFN γ y antagonistas de IL-1 o FNT- α (Arend, 2001). Probablemente el reconocimiento de un antígeno exógeno o autoantígeno sea el detonante de una serie de eventos que culminan con la destrucción articular en pacientes con artritis reumatoide. Este fenómeno desencadena la activación de los linfocitos T CD4⁺ lo que, junto con la estimulación de diferentes citocinas, inducen a su diferenciación a

células Th1 con la consecuente liberación de IL-2 e IFN γ (Gracia, 2000). La acción de estas citocinas sobre los macrófagos provoca la producción de cantidades elevadas de FNT- α y de IL-1. Estos, a su vez, ejercen funciones en el ámbito local y sistémico, tales como: regular la expresión de las moléculas de adhesión en las células endoteliales como el antígeno asociado a la función leucocitaria tipo 1 y la adhesión de moléculas intercelulares tipo 1, las cuales favorecen el reclutamiento de otras células al sitio de la inflamación. Además, estimulan a los macrófagos, fibroblastos, condrocitos y osteoclastos a la liberación de otros mediadores de la inflamación, como IL-5 y IL-8. El FNT- α y IL-1 estimulan la proliferación de la membrana sinovial que da lugar a la formación del *pannus*, pueden inducir la diferenciación de linfocitos B a células productoras de anticuerpos, que potencialmente participan en la destrucción articular. Además, inhiben la producción de otras citocinas como IL-10 e IL-4, producidas por las células Th2 y estimulan a los hepatocitos para liberar IL-6, a su vez, favorece la producción de las proteínas de la fase aguda, las cuales potencian la respuesta inmune (Forre, 2000).

Un mejor conocimiento de la patogénesis de la enfermedad ha permitido establecer que la membrana sinovial de pacientes con artritis reumatoide se caracteriza por presentar hiperplasia, angiogénesis e infiltrado de células inflamatorias, principalmente el linfocito CD4⁺, el cual, al activarse ante un estímulo antigénico, induce a los macrófagos, monocitos y fibroblastos sinoviales a la producción de citoquinas pro-inflamatorias como IL-1, IL-6 y FNT- α que van a actuar de forma sinérgica, induciendo a la producción de metaloproteasas de matriz por los sinoviocitos y condrocitos, perpetuando el proceso inflamatorio que conlleva a la destrucción articular (Dayer, 1997; Choy *et al.*, 2001; Dougados, 2001). El FNT- α y la IL-1 son las citoquinas más importantes en la patogénesis de la artritis reumatoide. Sus concentraciones séricas en el líquido sinovial son elevadas en estos pacientes (Saxne *et al.*, 1988; Chikanza *et al.*, 1995). El efecto biológico del FNT- α está mediado por su unión a dos receptores, el receptor tipo I (p55) y el receptor tipo II (p75), los cuales hacen parte de la gran familia de receptores de superficie celular. El receptor tipo II participa en la estimulación y proliferación de las células T, mientras que el receptor tipo I parece estar implicado de forma importante en la defensa del huésped y respuesta inflamatoria (Tartaglia *et al.*, 1993; Peschon *et al.*, 1998).

El óxido nítrico (ON) es sintetizado por la familia de la sintasa de óxido nítrico, la IL-1, el FNT- α y el IFN γ aumentan la actividad de la sintasa de óxido nítrico inducible y de la COX-2 (Ver figura 5), lo que ocasiona altos niveles de PG's y de ON. El ON tiene efectos catabólicos en la función de los condrocitos en la artritis reumatoide: activa metaloproteasas, aumenta la apoptosis y disminuye los niveles del antagonista del receptor de IL-1. La familia de las metaloproteasas degrada todos los componentes de la matriz extracelular del cartílago, como proteoglicanos y colágeno tipo II (CII) (Clancy *et al.*, 1998).

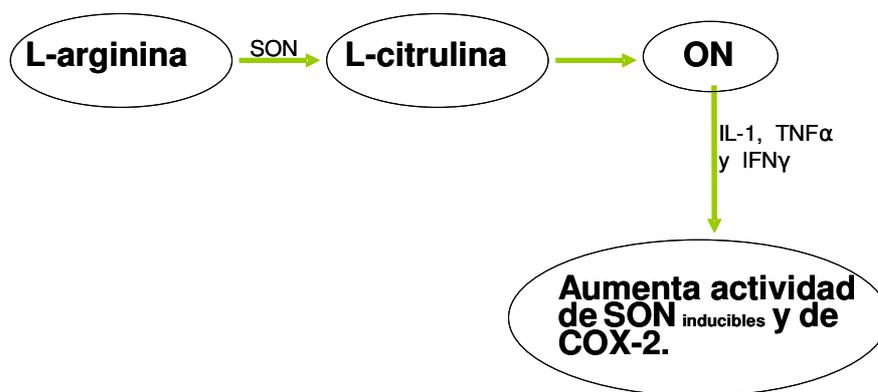


Figura 5. Producción de la sintasa de óxido nítrico (SON) inducible y de la COX-2 (Clancy *et al.*, 1998).

1.5.3. Tratamiento Farmacológico

El objetivo del tratamiento de la artritis reumatoide es conseguir una disminución de la actividad inflamatoria suficiente para obtener un alivio sintomático significativo para el paciente, disminuyendo la presencia de dolor. Así como, preservar su capacidad funcional para realizar las actividades cotidianas, incluyendo la capacidad laboral, mejorar su calidad de vida, y el retraso o detención de la lesión estructural articular, así como la prevención de la morbilidad y la mortalidad. Generalmente, el tratamiento consiste en la combinación de AINE's, fármacos modificadores de la enfermedad y/o los glucocorticoides (Martín *et al.*, 2003).

1.5.3.1. AINE's

El tratamiento de la artritis reumatoide incluye generalmente el uso de AINE's o inhibidores selectivos de la COX-2, debido a que consiguen reducir el dolor y la inflamación

de la articulación y además mejoran la función. El inconveniente es que no alteran el curso de la enfermedad con lo que no previenen la destrucción de la articulación. La elección de estos agentes se basa en consideraciones de eficacia, seguridad, conveniencia y costo (Barbera y Domínguez, 2004).

Uno de los principales problemas del uso prolongado de estos fármacos son los efectos adversos, sobre todo, la toxicidad gastrointestinal. Pueden producir: úlceras, perforaciones, hemorragias gástricas y duodenales. Los inhibidores selectivos de COX-2 producen menos toxicidad gastrointestinal aunque aumentan el costo de la terapia 15 a 20 veces más que los AINE's no selectivos. Por eso se tiende al uso de agentes gastroprotectores que son efectivos para reducir la incidencia de toxicidad gastrointestinal (Barbera y Domínguez, 2004).

1.5.3.2. Glucocorticoides

Estos fármacos tienen eficacia para disminuir las manifestaciones articulares. Sin embargo, presentan efectos secundarios marcados, como obesidad, osteoporosis, hipertensión, retención de líquidos, hiperglucemia, cataratas, fragilidad cutánea y una prematura aterosclerosis. En general no son empleados solos, ni por tiempos prolongados y una vez que se observa alguna mejoría en los pacientes, debe dejarse de administrar. También pueden ser inyectados en las articulaciones cuando la inflamación y el dolor son marcados (Kremer, 2001). Estos efectos deben valorarse detalladamente con el paciente antes de comenzar la terapia. Para tratar de evitar la osteoporosis, los pacientes tratados con glucocorticoides deben recibir 1500 mg de calcio elemental por día (incluido en la dieta y en los suplementos) y 400-800 UI de vitamina D por día. La dieta hormonal sustitutiva en mujeres postmenopáusicas y los bifosfonatos (previenen la resorción ósea) deben ser también considerados (*American College of Rheumatology*, 2002).

1.5.3.3. Antirreumáticos modificadores de la evolución de la enfermedad

Los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad o SYSADOA por sus siglas en inglés "*Symptomatic Slow Action Drugs for Osteoarthritis*" tienen el potencial para reducir o prevenir el daño de la articulación, preservar la integridad y funcionalidad de la

articulación y, últimamente se ha visto que reducen el costo total de la asistencia sanitaria y mantienen la productividad económica de los pacientes con artritis reumatoide durante más años (Isasi *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2003).

Los SYSADOA comparten dos características comunes: a) su beneficio sintomático se produce varias semanas después de iniciar el tratamiento (2-3 semanas); b) y su efecto se mantiene durante algunos meses después de la suspensión del mismo (Jordan, 2003). Estos fármacos son eficaces en el tratamiento de la osteoartritis, su acción es similar al de los AINE's, aunque su inicio de acción es más lento, si bien, son también menores los efectos secundarios y sus efectos se prolongan en el tiempo, incluso algunos meses después de la suspensión del tratamiento (Uebelhart, 2008).

La American Collage of Rheumatology, la European League Against Rheumatism (EULAR), y algunos autores clasifican (Jordan, 2003; Isasi *et al.*, 2004; Uebelhart, 2008; Lovu *et al.*, 2008) a la glucosamina y a la condroitina como SYSADOA, se ha propuesto que estos fármacos postergan la acción de la osteoartritis, mejoran la movilidad y disminuye el dolor después de unas semanas de tratamiento. La glucosamina es un aminomonosacárido, precursor básico de la estructura de los glucosaminoglicanos que forman parte celular del tejido conectivo del organismo. Este componente intercelular es el principal responsable de la función mecánica del cartílago (Persiana *et al.*, 2005). La condroitina es el componente mayoritario del cartílago, reduce el dolor y mejora la movilidad, reduce la inflamación y reduce el espacio estrecho del cartílago de la rodilla (Lovu *et al.*, 2008).

Muchos estudios realizados han demostrado el beneficio del tratamiento con los fármacos modificadores de la enfermedad en la artritis reumatoide, consiguen controlar los signos y síntomas de las articulaciones afectadas, mejoran el estado funcional, la calidad de vida y retardan la aparición de erosiones en las articulaciones.

1.5.3.4. Alternativas terapéuticas “suplementos alimenticios”

El tratamiento convencional para la artritis reumatoide comienza por lo general con AINE's o los inhibidores selectivos de la COX-2, en los casos graves glucocorticoides, ninguno de estos fármacos cura la enfermedad, y todos ellos tienen el potencial de causar

efectos adversos significativos. Debido a las limitaciones y los riesgos de la terapia convencional, muchos pacientes y profesionales están buscando otras maneras de tratar la enfermedad. Los criterios comúnmente utilizados incluyen modificaciones dietéticas, suplementos nutricionales, productos botánicos y antibióticos. Algunos de los pacientes experimentan poco o ningún beneficio, mientras que otros muestran una mejoría dramática hasta el punto de convertirse en libres de síntomas durante muchos años. Recientemente, en el tratamiento de la osteoartritis se utiliza la glucosamina, la condroitina y la glicina como un complemento y alternativa a la terapia convencional, con el propósito de disminuir los efectos adversos (Alan y Gaby, 1999; Rindone *et al.*, 2000; McAlindon *et al.*, 2000; y Richy *et al.*, 2003).

Algunos suplementos como la glucosamina y la condroitina parecen ser seguros y eficaces (Clegg *et al.*, 2006). La ingestión de determinados aminoácidos (Glicina) como complemento dietético contribuye a un mejor estado de salud (De la Paz, 2006). En los Estados Unidos y la Gran Bretaña, estos fármacos son regulados como suplementos alimenticios. Existen varios estudios que aseguran que la glucosamina y la condroitina son efectivos y reducen el dolor los síntomas de la osteoartritis en comparación con el placebo (Pujalte *et al.*, 1980; Reginster *et al.*, 2001). La presentación comercial de la glucosamina es, en sobres de 1500 mg (Richy *et al.*, 2003) y en cápsulas de 500 mg (McAllindon *et al.*, 2000), en tanto que la presentación de la condroitina es en capsulas de 400 mg (Uebelhart, 2004).

2. Glucosamina, Condroitina y Glicina

Debido a que los tratamientos tradicionales para la artritis reumatoide causan más efectos adversos que benéficos la gente que padece esta enfermedad ha tenido la necesidad de buscar tratamientos alternos que disminuyan los efectos secundarios. La glucosamina, la condroitina y la glicina son tratamientos alternativos como suplementos alimenticios para el tratamiento de la osteoartritis (Jordan, 2003).

2.1. Glucosamina

La glucosamina o quitosamina (Horton y Wander, 1980) es un amino-monosacárido que actúa como precursor de la glicosilación de proteínas y lípidos para producir glucosaminoglucanos y proteoglicanos (Ver figura 6).

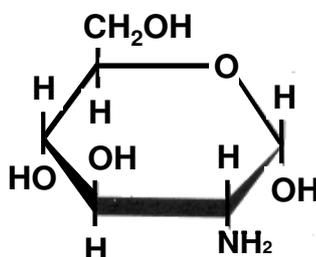


Figura 6. Estructura química de la glucosamina ($C_6H_{13}NO_3$) (Horton, 1980).

2.1.1. Farmacodinamia

La glucosamina administrada por vía oral se emplea en el tratamiento de la artritis; favorece el desarrollo de los tejidos cartilagosos, además de ser un suplemento dietético (Clegg *et al.*, 2006). La glucosamina modifica el efecto de algunos fármacos hipoglucemiantes como: gliburida, glipizida, glimepirida, acarbosa, nateglinida, insulina, pioglitazona, rosiglitazona y la metformina (Lavery *et al.*, 2005). Se ha documentado que inhibe la producción de óxido nítrico y de prostaglandinas E_2 (PGE₂), también inhibe la expresión de iNOS y COX2, y la activación de NF- κ B (Chan *et al.*, 2005).

2.1.2. Farmacocinética

La glucosamina es una molécula pequeña (PM 179 g/mol) muy hidrosoluble, por lo que es absorbida con facilidad por las células intestinales por medio de transporte activo. En los seres humanos, cerca del 90% administrada por vía oral, es absorbida rápidamente (Persiani *et al.*, 2005). Luego de su ingestión se concentra en el hígado en donde puede seguir tres vías diferentes: incorporarse a las proteínas plasmáticas, ser degradada a moléculas de menor tamaño o ser utilizada para otros procesos de biosíntesis (Braham *et al.*, 2003). La eliminación de la glucosamina o sus metabolitos es por vía biliar (Bruyere *et al.*, 2003; Mathieu, 2002).

2.2. Condroitina

La condroitina es un glucosaminoglucano sulfatado compuesto por una cadena de disacáridos de N-Acetilgalactosamina y N-Ácido glucurónico alternados (ver figura 7). El sulfato de condroitina se encuentra habitualmente asociado a proteínas constituyendo agregados de alto peso molecular denominados proteoglicanos. Una cadena de condroitina puede estar constituida por más de 100 azúcares individuales, cada uno de los cuales puede estar sulfatado en posiciones y en número diverso (Jordan, 2003).

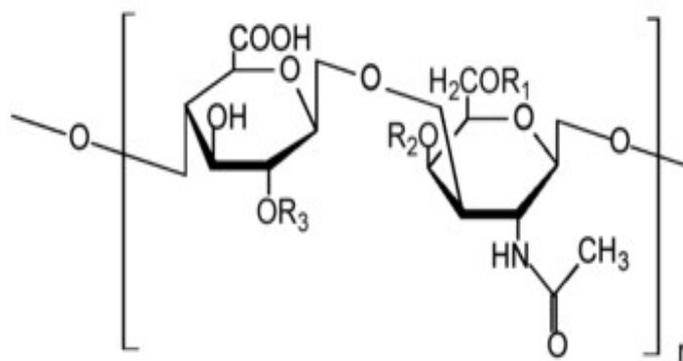


Figura 7. Estructura química de condroitina-4-sulfato: $R_1 = H$; $R_2 = SO_3H$; $R_3 = H$, condroitina-6-sulfato: $R_1 = SO_3H$; $R_2, R_3 = H$ (Jordan, 2003).

2.2.1. Farmacodinamia

La dosis oral de la condroitina en ensayos clínicos es de 800–1200 mg/día. El sulfato de condroitina se presenta en forma farmacéutica de cápsulas (800 mg/día) y se toma durante al menos 3 meses. No obstante, en pacientes con sintomatología inflamatoria importante, está indicado empezar con una dosis de 1200 mg/día (3 x 400 mg cápsulas al día en una sola toma o en dos dosis) durante las primeras 4 ó 6 semanas para seguir con 800 mg/día hasta completar el período de administración de al menos 3 meses (Pavelka *et al.*, 1998).

Los mecanismos de acción de la condroitina están descritos para los tres niveles de la articulación: cartílago, membrana sinovial y hueso subcondral. A nivel del cartílago actúa favoreciendo la síntesis de proteoglicanos, ácido hialurónico y colágeno II; y por otro lado disminuyendo la actividad catabólica de los condrocitos inhibiendo algunas enzimas proteolíticas (colagenasa, elastasa, fosfolipasa A2, catepsina B, agreganasa 1), la formación de

otras sustancias que dañan al cartílago (óxido nítrico y radicales libres) y reduciendo la apoptosis. Además, está descrita una actividad antiinflamatoria a nivel de los componentes celulares de la inflamación (FNT- α , IL-1 β , COX-2 PGE-2, NF-Kb) (Jomphe *et al.*, 2008). A nivel de la membrana sinovial, la condroitina actúa estimulando la síntesis de ácido hialurónico, y reduciendo la inflamación y el derrame articular. A nivel del hueso subcondral, ejerce un efecto positivo sobre el desequilibrio óseo ocurrido en el hueso subcondral artrósico (Kwan *et al.*, 2007).

El Colegio de Reumatología en América y la Liga Europea de Asociaciones de Reumatología, sugieren que la aparición del efecto antinociceptivo de la condroitina se demora aproximadamente de 4 a 6 semanas y que el efecto sintomático se mantiene después de 4 a 8 semanas (Hochberg y Dougados, 2000).

La respuesta clínica compleja de la condroitina tentativamente puede ser explicada por los múltiples efectos provocados. Por un lado, la disminución del dolor y la inflamación se puede explicar por un efecto anti-inflamatorio, a través de diversos mecanismos como la disminución de la expresión de la fosfolipasa A2, de COX-2, y de las concentraciones de PGE2. Por otra parte, en las articulaciones la condroitina reduce las concentraciones de citoquinas pro-inflamatorias, como el FNT- α y IL-1 β , sistémica y conjuntamente de las concentraciones de ON y de las especies reactivas del oxígeno. Por otro lado, la protección de la estructura común puede explicarse por el hecho de que en los condrocitos, la condroitina disminuye la IL-1 β (Lovu *et al.*, 2008).

La condroitina y/o los disacáridos sulfatados aparecen para obtener un efecto anti-inflamatorio en la membrana sinovial y en los niveles de condrocitos. Posiblemente, la condroitina y/o disacáridos reducen la reacción inflamatoria por la disminución de translocación nuclear NF-kB (ver figura 8). En los condrocitos, este efecto es mediado por la inhibición de la fosforilación de la proteína quinasa activada por el mitogeno p38 y, en menor grado la fosforilación de la quinasa de la señal extracelular regulada 1/2. De hecho, se necesitan estudios adicionales para caracterizar mejor el mecanismo preciso de acción subyacente de la condroitina-inducida para la mejora de la sinovitis (Lovu *et al.*, 2008).

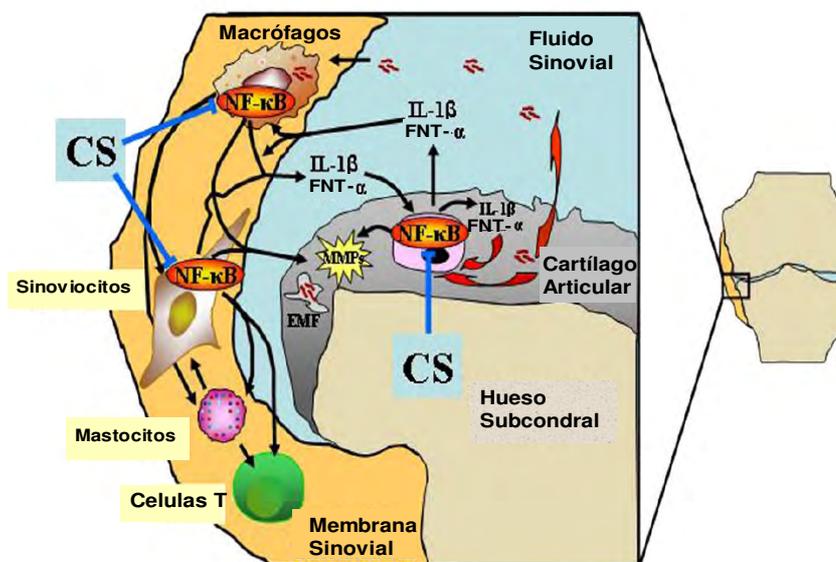


Figura 8. Mecanismo de acción de la condroitina. Los microtraumatismos locales producen fragmentos de matriz extracelular y fragmentos de fibronectina que activan los condrocitos mediante el aumento de la translocación nuclear de NF-κB, macrófagos sinoviales y sinoviocitos. El factor nuclear NF-κB es la clave en el proceso de activación inflamatoria de los condrocitos y macrófagos sinoviales, mastocitos, células T y sinoviocitos y en la liberación de citoquinas y MMP, que sostendrán la destrucción del cartílago y hueso subcondral (Lovu *et al.*, 2008).

2.2.2. Farmacocinética

Estudios farmacocinéticos llevados a cabo en humanos y en animales señalan que la condroitina se puede absorber oralmente; la biodisponibilidad oscila entre un 15 y un 24% de la dosis administrada por vía oral, la concentración máxima de la condroitina en sangre se alcanza en unas 4 h. De la fracción absorbida, el 10% se halla en forma de condroitina y el 90% en forma de derivados despolimerizados de menor peso molecular, es metabolizado en el hígado y los riñones. El 85% de la concentración de condroitina y de los derivados despolimerizados se halla fijada a diversas proteínas plasmáticas. El volumen de distribución es relativamente pequeño, alrededor de 0,3 L/kg. Ronca *et al.*, (1998) encontró que no se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal y que un elevado contenido de esta molécula se halla posteriormente a nivel del líquido sinovial y el cartílago. El tiempo de vida media oscila entre 5 y 15 h. Su cinética es de primer orden hasta dosis de 3000 mg, lo que implica que no se acumula en el organismo hasta esta dosis (Ronca *et al.*, 1998).

La condroitina no es metabolizada por enzimas del citocromo P₄₅₀, ello es de gran trascendencia ya que implica que este fármaco no puede presentar interacciones con otros medicamentos a nivel metabólico (Jordan, 2003). La condroitina es una sustancia natural endógena presente en la matriz extracelular de muchos tejidos del cuerpo, entre ellos el cartílago (Jordan, 2003; Monfort *et al.*, 2008)].

2.3. Glicina

La glicina es uno de los aminoácidos que forman las proteínas de los seres vivos. En el código genético está codificada como GGT, GGC, GGA o GGG; es el aminoácido no esencial más pequeño y el único no quiral de los 20 aminoácidos presentes en la célula (Katzung, 2004).

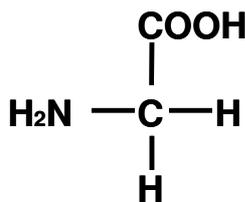


Figura 9. Estructura química de la Glicina (NH₂CH₂COOH) (Katzung, 2004).

La glicina tiene un receptor parecido a GABA, que además puede unir β-alanina, taurina, L-alanina, L-serina y prolina. No se activa con GABA y aumenta la conductancia para el cloro; la estricnina es un antagonista de este receptor que bloquea la glicina y no interactúa con el sistema de GABA. Este receptor se ha purificado utilizando el alcaloide estricnina, es un complejo de subunidades α y β, con estructura pentamérica, con homología al GABA-A y el receptor nicotínico. También posee 4 dominios transmembranales. En el citosol, se unen a gefinina para anclarse al citoesqueleto. Se piensa que otros receptores ionotrópicos pueden tener un sistema similar de anclaje a la membrana (Katzung, 2004).

Investigaciones realizadas en el Instituto del Metabolismo Celular, con sede en Tenerife, prueban que la ingestión de determinados aminoácidos como complemento dietético contribuye a un mejor estado de salud en pacientes con diversas patologías. Concretamente, se ha estudiado el efecto de la glicina como suplemento en la dieta de pacientes con diversos

problemas de la estructura mecánica del cuerpo como artrosis, osteoporosis, lesiones físicas, fijación de implantes dentarios y otros (De la paz, 2006).

La glicina es un neurotransmisor inhibitorio, actúa en el receptor de los canales cloro, inhibe la neurotransmisión de neuronas nociceptivas en la medula espinal. Se sugiere que un exceso de glicina exógena activa la sub-unidad 1 en la prueba de formalina la cual disminuye el dolor (Michael, 2009). En la espina dorsal los receptores de canales cloro de la glicina sub-unidad $\alpha 3$ son específicamente inhibidas por mediadores inflamatorios en un modelo de dolor crónico ((Wheeler *et al.*, 1999; Joseph *et al.*, 2006).

La glicina tiene diversas funciones metabólicas en el sistema nervioso central de mamíferos. Similar al GABA, actúa como un neurotransmisor en las sinapsis inhibitorias, donde activa la estricnina sensible a los receptores de glicina (GlyRs), como los receptores GABA-A/C, que pertenecen a receptores pentaméricos de acetilcolina de tipo nicotínico (nAChR). Además, la glicina actúa como un co-agonista de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) de excitación, un miembro de la familia tetramérica de receptores ionotrópicos de glutamato (Heinrich y Bodo, 2006).

Los transportadores de glicina (TsGly) se localizan en células gliales y neuronas, respectivamente juegan un papel importante en la liberación sináptica de glicina, o proporcionando glicina a neuronas glicinérgicas para regular la neurotransmisión glicinérgica. Por lo tanto, una inhibición del transportador de glicina podría usarse para modificar la señal de transmisión del dolor en la medula espinal. Recientemente se han desarrollado inhibidores específicos de los transportadores de glicina que pueden hacer de esta posibilidad una realidad, los inhibidores de los TsGly1 y los TsGly2 producen un efecto potencial antinociceptivo en varios modelos de dolor neuropático agudo o inflamatorio en animales, sus efectos anti-alodinia son mediados por la inhibición de los TsGly siguiendo la activación del receptor espinal $\alpha 3$. Estos resultados establecieron que los medicamentos contra dolor neuropático atacaran específicamente a los TsGly (Toshiro *et al.*, 2009).

En el sistema nervioso central la glicina participa con una función dual, por una parte mantiene un control inhibitorio directamente en las terminales glicinérgicas y por otra

mantiene un control excitatorio al participar conjuntamente como co-agonista en los receptores de glutamato y NMDA (ver figura 10 y 11)

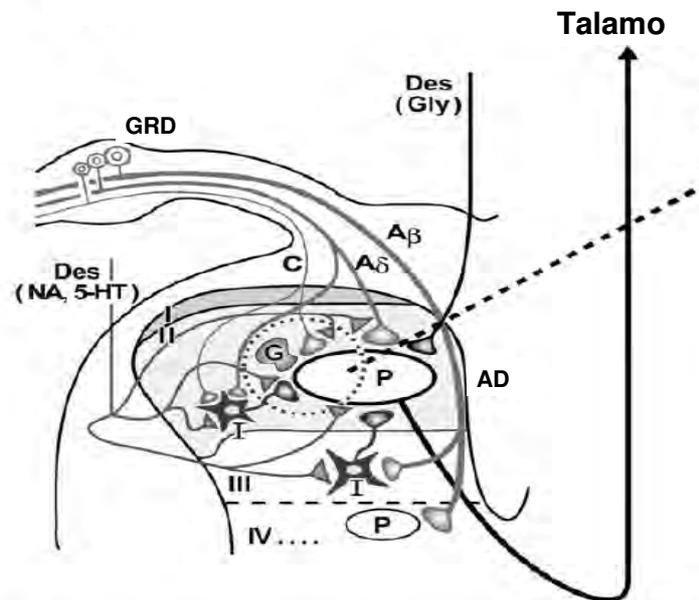


Figura 10. Ilustración esquemática de las posibles fuentes de la innervación glicinérgica inhibitoria en el cuerno dorsal de la médula espinal. El asta dorsal superficial (AD) de la médula espinal es el principal lugar donde se recibe la información nociceptiva de aferentes primarios y son transformados. La glicina es un neurotransmisor inhibitorio importante que es liberado por las interneuronas y puede modular la transmisión nociceptiva espinal a través de la isoforma RsGly α 3 (Toshiro *et al.*, 2009).

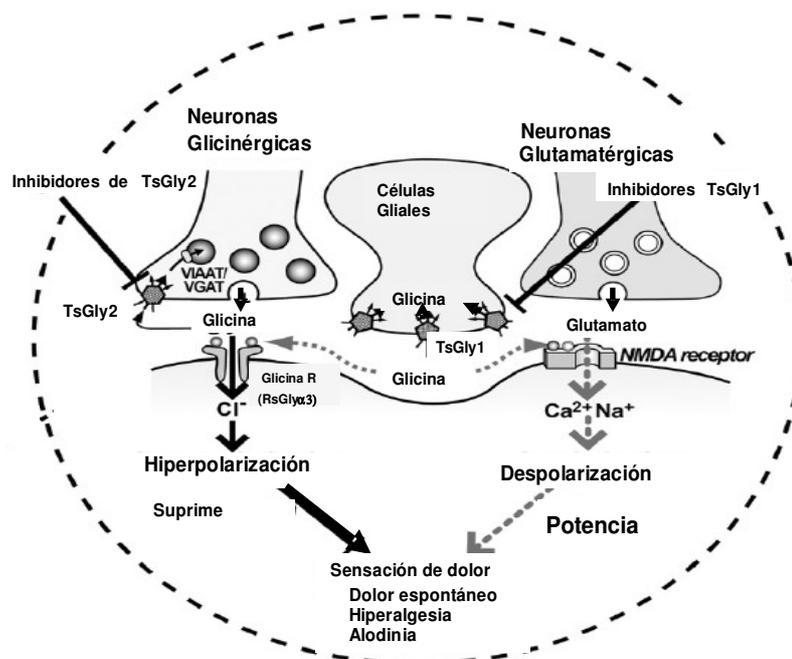


Figura 11. Localización y funciones de los transportadores de glicina en las sinapsis excitadoras e inhibitorias. La inhibición de los transportadores de glicina 1 y 2 aumenta la concentración de glicina en los receptores de glicina postsinápticos y suprime la sensación de dolor, mientras que los aumentos

de glicina en el lugar de los receptores NMDA participan en el aumento de la sensación de dolor (Toshiro *et al.*, 2009).

3. Modelos Experimentales de Inflamación.

Los modelos inflamatorios en animales de laboratorio, permiten valorar la potencia y efectividad antiinflamatoria de los fármacos, sustancias de origen vegetal y agentes antiartríticos de manera cuantitativa. En los animales de laboratorio ha sido posible diseñar un número importante de modelos experimentales que representan con bastante fidelidad algunos procesos inflamatorios (Williamson *et al.*, 1996). Estos modelos son útiles para valorar la eficacia de los fármacos antiinflamatorios, ya que las sustancias proinflamatorias que se utilizan permiten, gracias a su estandarización, predecir con seguridad la actividad terapéutica de las sustancias a prueba (Tabla 3). En estos estudios se utilizan agentes físicos, químicos, infecciosos, inmunogénicos, entre otros, para aplicarlos en las articulaciones o en las extremidades de conejos, ratas, cobayos y otros animales de laboratorio para producir alteraciones inflamatorias que en forma similar, se presentan en los procesos de artritis, osteoartritis y artritis reumatoide (Syntex, 1987).

Tabla 3. Modelos farmacológicos para evaluar la inflamación en animales de experimentación (Dawson, 1987).

MODELOS DE DOLOR	ANIMAL DE PRUEBA	TIPO DE INFLAMACIÓN
AGENTES FÍSICOS		
Dislocación	Conejo	Artrosis
AGENTES QUÍMICOS		
Carragenina	Rata	Artritis Reumatoide
Sulfas	Rata	Artritis Reumatoide
Colesterol	Conejo	Artritis Reumatoide
Caolina, Dextran y Formalina	Rata	Artritis Reumatoide
TPA (esteres de Phorbol)	Ratón	Dermatitis
AGENTES INFECCIOSOS		
<i>Streptobacilos</i>	Ratón	Artritis Reumatoide
<i>Diplostreptococcus</i>	Rata	Artritis Reumatoide
Herpes simple	Conejo	Artritis
AGENTES INMUNOLÓGICOS		
Complejos inmunes	Cobayo	Artritis
Adyuvante de Freíd	Rata	Artritis Reumatoide
Albúmina y levadura	Rata	Artritis Reumatoide
OTROS		
Papaína	Conejo	Artritis
Enzimas hidrolíticas	Conejo	Artritis Reumatoide



II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El dolor inflamatorio de la artritis reumatoide es un problema de salud importante para el sector salud, debido a que éste padecimiento ocasiona grandes inversiones de analgésicos que hasta el momento no han podido controlar el dolor de los pacientes que lo padecen. Este tipo de dolor es incapacitante para un gran sector de la población, lo que repercute en pérdidas económicas para el país.

La artritis reumatoide es un problema que afecta a millones de personas de edad avanzada, causa deformidad articular, reduce la movilidad y calidad de vida. La necesidad de quien padece esta enfermedad es buscar nuevas opciones de tratamiento y en algunos suplementos alimenticios que les permita aminorar los efectos de la enfermedad.

Los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) son el principal grupo de fármacos que se utilizan para el tratamiento de artritis reumatoide. Sin embargo, el uso crónico de AINE's ocasiona daño renal, cardiovascular y gástrico por lo que muchos pacientes mueren por los efectos adversos que por la enfermedad (*American College of Rheumatology*, 2002). Otros fármacos que se utilizan para esta patología es el empleo de glucocorticoides (su uso es limitado debido a su toxicidad), antirreumáticos de acción lenta (ARAL) y antirreumáticos modificadores de la enfermedad (ARME) éstos últimos disminuyen el daño óseo asociado con la artritis reumatoide pero tienen como desventaja ser más tóxicos que los AINE's (Barbera y Domínguez, 2004).

Por lo anterior, resulta indispensable proponer alternativas terapéuticas para el tratamiento del dolor que disminuyan los efectos adversos que generan los AINE's tradicionales. En el presente proyecto se evaluará el efecto antinociceptivo de la combinación de los fármacos glucosamina/condroitina y glucosamina/glicina como alternativas terapéuticas clínicas del dolor. Para lo cual se utilizará un modelo experimental en donde se induce dolor de tipo inflamatorio conocido como la prueba de formalina.



III. HIPÓTESIS

La combinación de glucosamina/condroitina y glucosamina/glicina presentan un efecto antinociceptivo de potenciación en rata.

IV. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la interacción del efecto antinociceptivo de la combinación de glucosamina/condroitina y glucosamina/glicina en la prueba de la formalina en ratas.

4.1. Objetivos específicos

- Determinar la curva dosis respuesta del efecto antinociceptivo de la administración individual de los fármacos glucosamina, condroitina y glicina, en la prueba de la formalina en rata.
- Determinar la interacción del efecto antinociceptivo de la combinación de glucosamina/condroitina en la prueba de formalina en rata.
- Determinar la interacción del efecto antinociceptivo de la combinación de glucosamina/glicina en la prueba de formalina en rata.

V. METODOLOGÍA

5.1. Material biológico

Se utilizaron ratas *Wistar* macho con un peso de 180-200 g. Las ratas permanecieron 5 días en el área de experimentación, con la finalidad de que se ambientaran a las condiciones de laboratorio (25 °C). Todos los experimentos se realizaron de acuerdo a las guías sobre aspectos éticos para la investigación del dolor experimental en animales (IASP, 1983), entre las 7:00 h y las 14:00 h. Una vez concluido el experimento los animales se sacrificaron en una cámara de CO₂.

5.1.1. Fármacos y reactivos

La glucosamina, la condroitina y la carboximetilcelulosa fueron adquiridos de sigma Aldrich, y la glicina fue donada por los laboratorios Merck. Todos los compuestos se resuspendieron en carboximetilcelulosa (1%) y se administraron por vía intraperitoneal (i.p.). El formol (37%) se adquirió del laboratorio J. T. Baker.

5.1.2. Administración de los Fármacos

La glucosamina (100, 316, 562 y 749 mg/kg, i.p.), la condroitina (100, 177, 316, 562, 749 y 1000 mg/kg, i.p.) y la glicina (100, 177, 316, 562, 749, 864 y 1000 mg/kg, i.p.) se administraron 15 min antes de la administración de formalina 1% (50 µL/pata). Todos los compuestos se disolvieron en carboximetilcelulosa (1%) como vehículo

5.2. Método

5.2.1. Prueba de la formalina.

Dubuisson and Dennis (1977), publicaron un reporte de la prueba de la formalina como modelo de nocicepción en animales. La prueba de la formalina esta basada en un procedimiento descrito por O`Keefe (1964), en el laboratorio en un estudio de dolor en gatos. La prueba involucra los ensayos de dolor en animales previamente en el laboratorio administrandoles pequeños volúmenes de formalina diluida en una de las patas de los animales. En el reporte inicial Dubuisson and Dennis administraron 50 μ L de 0.5% de formalina bajo la superficie dorsal de una pata en ratas y gatos. Los investigadores evaluaron la conducta del dolor provocada por la administración de 20-150 μ L de 0.25-15.0% de formalina administrada en la parte superficial derecha de varias especies, incluyendo el ratón, conejos, cerdos y primates (Terence *et al.*, 1993).

El efecto nociceptivo se evaluó en la prueba de formalina (1%). Las ratas se ambientaron en un cilindro de acrílico de 30 cm de diámetro durante 1 h; a una temperatura entre 25 y 27 °C, detrás del cilindro se colocaron espejos para facilitar la observación de la respuesta nociceptiva del animal (Ver figura 13). Los animales solo se retiraron del cilindro para la administración de los fármacos y de la formalina (1%). El vehículo (carboximetilcelulosa 1%), la glucosamina (100, 177, 316, 562 y 749 mg/kg, i.p.), la condroitina (100, 316, 562, 749 y 1000 mg/kg, i.p.) y la glicina (100, 177, 316, 562, 749, y 1000 mg/kg, i.p.) se administraron 15 min antes de la formalina (1%). La formalina (50 μ L) se administró en la superficie dorsal de la pata derecha de la rata. Se observó inmediatamente el comportamiento nociceptivo, el cual se caracterizó por sacudidas de la pata administrada. Posteriormente, se contó el número de sacudidas generadas durante un min cada 5 min hasta completar 60 min (Pitcher y Henry, 2002). Cada grupo experimental corresponde al promedio de 6 animales \pm error estándar medio (e.e.m.).



Figura 13. Ambientación de una rata en cilindro antes de la administración de la formalina al 1% (50 μ L).

Con los datos registrados se construyeron cursos temporales graficando en el eje X el tiempo de evaluación y en el Y el número de sacudidas. A partir de los cursos temporales se determinó el ABC, este parámetro representa el efecto antinociceptivo total del fármaco administrado (Ver figura 14).

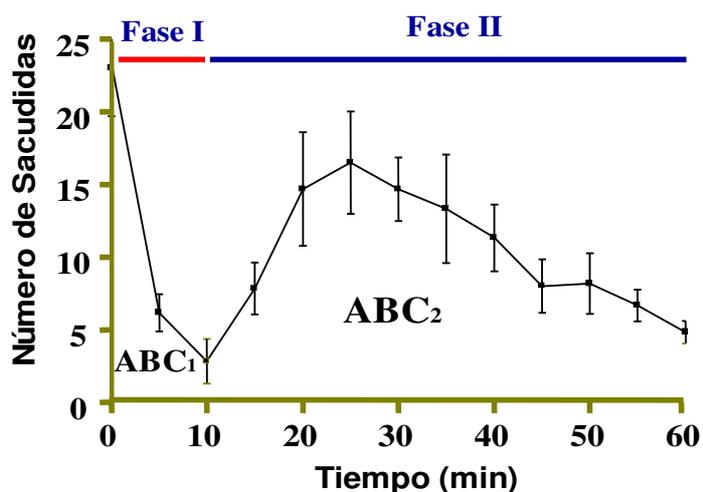


Figura 14. Prueba de formalina (1%). El área bajo la curva (ABC) representa el efecto antinociceptivo total de la conducta evaluada durante 60 min. Se representa por dos fases, la Fase I va de 0 a 10 min (punto de quiescencia) comienza por un número grande de sacudidas y disminuyen al final de los 10 min; la Fase II inicia a los 10 min en los que se aprecia aumento gradual del número de sacudidas, a los min 25 y 30 se observa un máximo y por último van disminuyendo las sacudidas.

A partir de los cursos temporales se determinó el ABC, este parámetro representa el efecto antinociceptivo total del fármaco administrado. Para comparar más de dos grupos se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguida de una prueba post-hoc de Tukey de comparaciones múltiples, con la finalidad de comparar con respecto a la administración del vehículo. Para considerar la significancia estadística se utilizó una $p < 0.05$, el procedimiento estadístico se realizó en el programa PRISMA versión 5.0.

La DE_{50} se determinó a partir del porcentaje de antinocicepción, se utilizó el modelo del máximo sigmoideo.

5.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

En el diagrama 1 se muestra el diseño experimental para evaluar el efecto nociceptivo del vehículo y el efecto antinociceptivo de la administración individual de los fármacos en la prueba de formalina en rata.

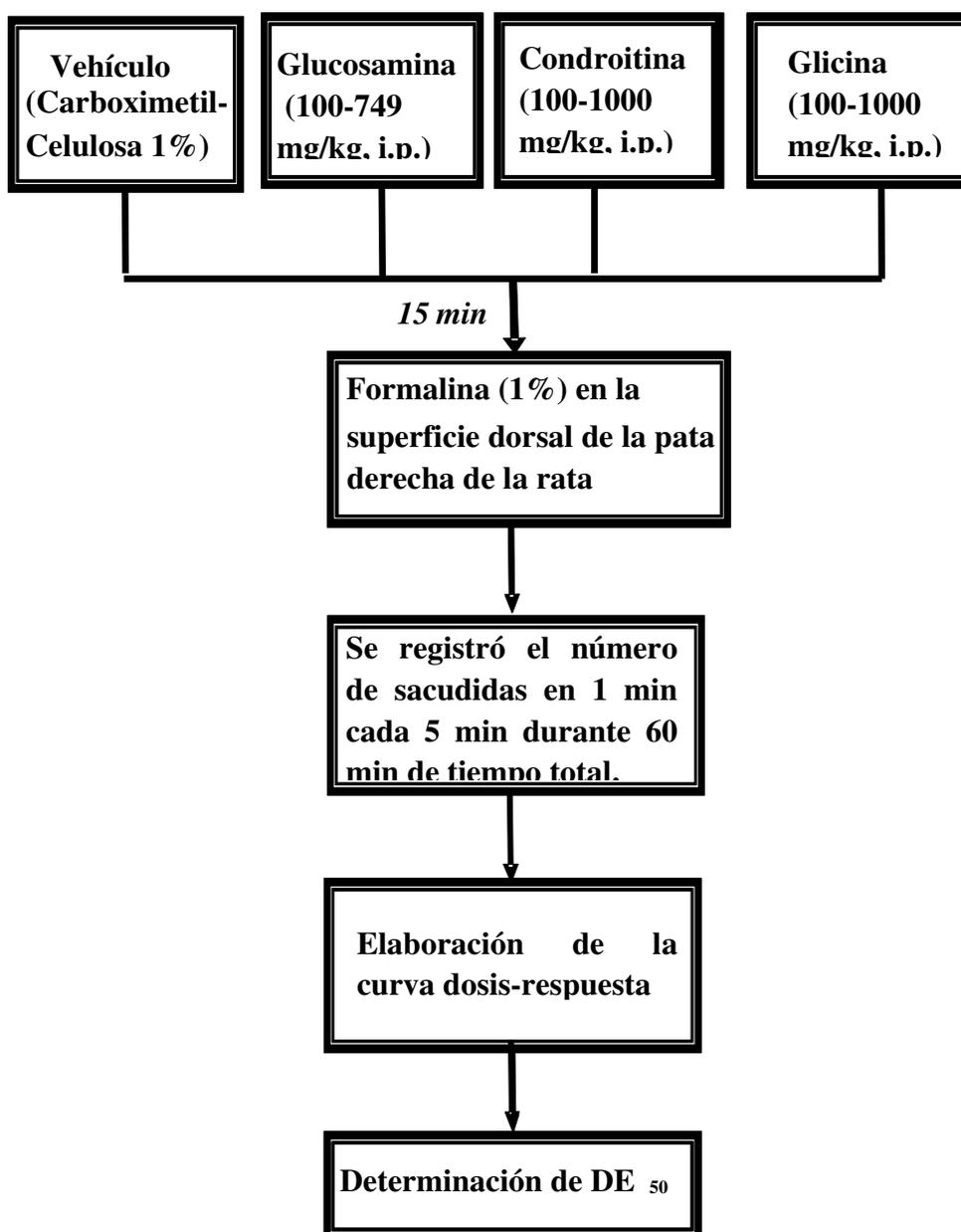


Diagrama 1. Diseño experimental de la evaluación del efecto antinociceptivo de la administración i.p. de glucosamina, condroitina y glicina en la prueba de formalina (1%).

En la tabla 4 se muestra las dosis evaluadas de las combinaciones de glucosamina con condroitina y de glucosamina con glicina.

Tabla 4. Combinación de glucosamina/condroitina y glucosamina/glicina

Glucosamina (mg/kg, i.p.)	Condroitina (mg/kg, i.p.)	Glicina (mg/ kg, i.p.)
316	177	177
	316	316
	562	562
562	177	177
	316	316
	562	562
749	177	177
	316	316
	562	562

5.3. Análisis de Datos y Estadística

Se construyeron cursos temporales graficando en el eje X el tiempo de evaluación y en el eje Y el número de sacudidas. De estos cursos temporales se obtuvo el área bajo la curva (ABC) utilizando la regla de los trapezoides, método que permite aproximar una integral definida (Tallarida y Murray, 1981). La disminución del ABC de cada grupo tratamiento en comparación con el vehículo representa el efecto antinociceptivo de los fármacos evaluados. Cada dato en las gráficas representa el promedio \pm e.e.m. de 6 animales por grupo.

Las curvas dosis respuesta se expresan como el porcentaje de inhibición de sacudidas (representando el área bajo la curva) con respecto al grupo vehículo. El porcentaje de efecto antinociceptivo (% Efecto) se cálculo con la siguiente formula:

% Efecto antinociceptivo

$$= \left(\frac{X - xi}{X} \right) (100) \dots\dots\dots\text{Formula (1)}$$

X = promedio de sacudidas registradas en el grupo que solo recibió el vehículo

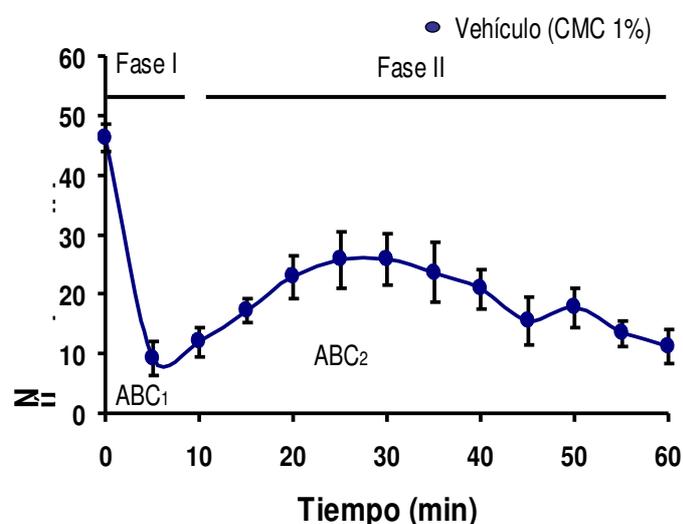
xi = sacudidas registradas de cada uno de los animales bajo el grupo de tratamiento respectivo.

Para análisis de los datos se realizó una comparación múltiple de los diferentes grupos contra el grupo que solo recibió vehículo. Se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y seguida por una prueba post-hot de Tukey. Los resultados con una $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos (*).

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. Nocicepción generada por la administración de formalina (1%) en rata.

Como primera etapa de la presente investigación, se caracterizó el efecto nociceptivo en la prueba de la formalina. En la gráfica 1 se muestra un curso temporal del efecto nociceptivo generado por la administración de formalina (1%) por vía subcutánea en la superficie dorsal de la pata derecha de la rata, estos animales recibieron (carboximetilcelulosa 1%) por vía intraperitoneal. El efecto nociceptivo se caracterizó en dos Fases, en la Fase I se presentó un rápido incremento en el número de sacudidas, esta conducta disminuyó en aproximadamente 10 min, en donde hay un punto de quiescencia (no hay sacudidas). Posteriormente, inició la Fase II caracterizada por un incremento gradual en el número de sacudidas, con un máximo de sacudidas entre 25 y 30 min, el estímulo nociceptivo disminuyó gradualmente. Se ha establecido que la Fase I se debe a un efecto irritante generado por la formalina; en esta fase hay un aumento en la liberación de mediadores de tipo inflamatorio como las PGs, 5-HT, ON entre otros. La Fase II se debe a un proceso central en donde se ven involucrados mediadores liberados en la médula espinal como SP, ON y activación de receptores NMDA, quienes envían señales al SNC para la percepción de nocicepción. Por lo anterior, fue importante diferenciar la Fase I inflamatoria de la Fase II en donde hay un proceso nociceptivo a nivel central y es más complejo.

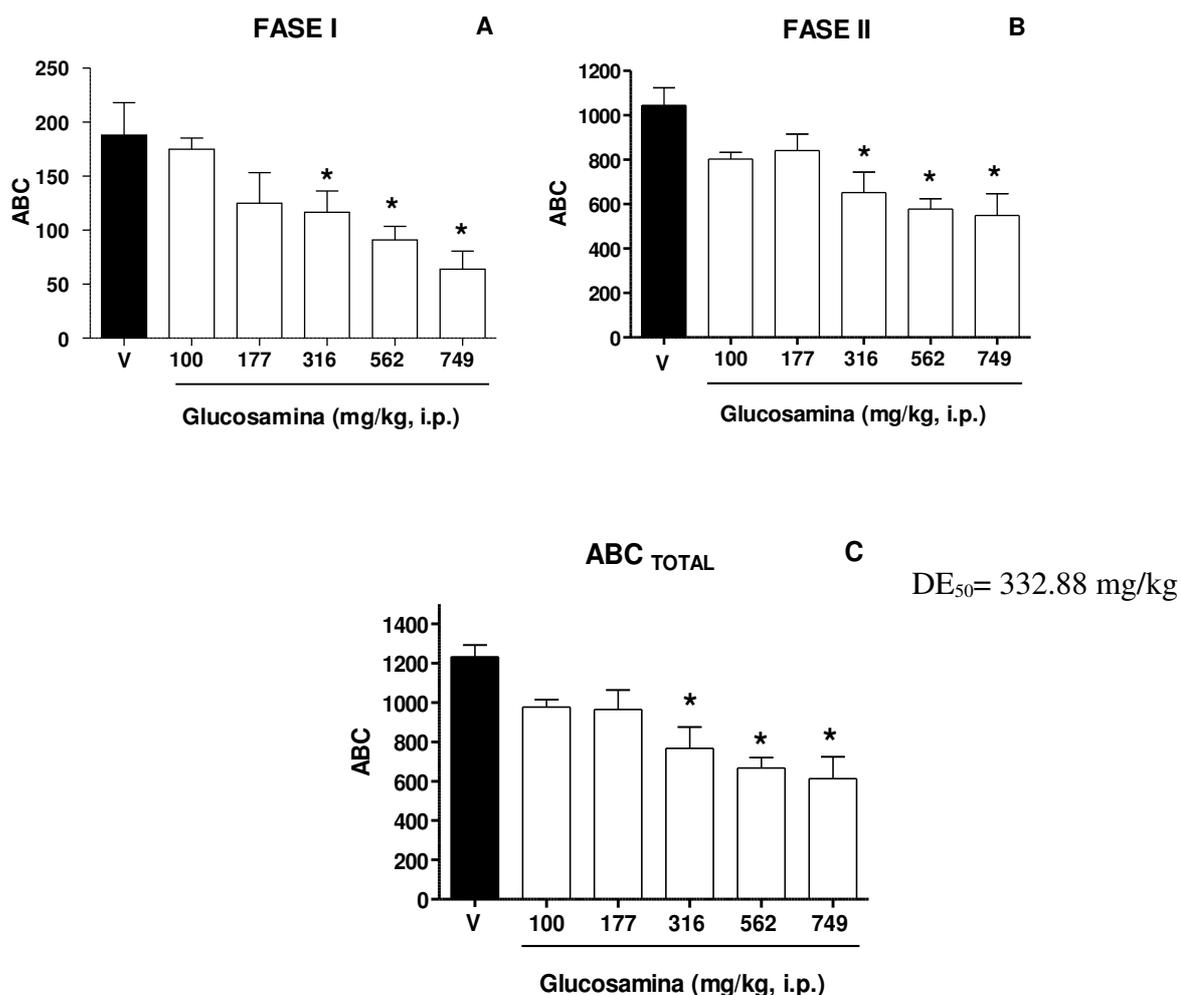


Gráfica 1. Evaluación de la administración de formalina (1%) en la superficie dorsal de la pata derecha de la rata, se utilizó como vehículo carboximetilcelulosa (1%, i.p.). Las sacudidas se contaron

cada 5 min durante 1 min hasta completar 60 min de evaluación. Cada punto representa el promedio de 6 animales evaluados \pm e.e.m.

6.2. Evaluación del efecto de la administración de glucosamina.

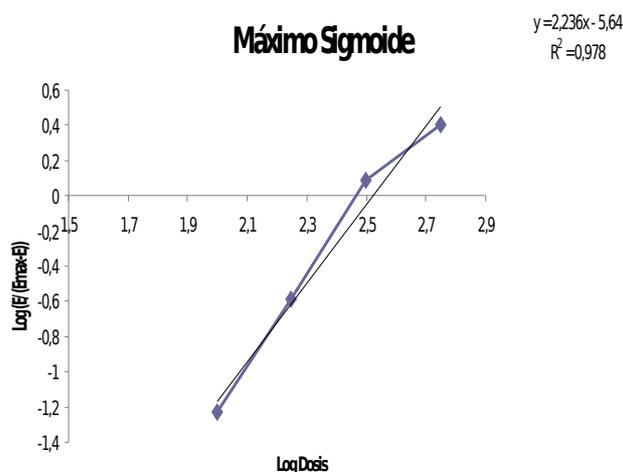
Con la finalidad de demostrar que la glucosamina tiene efecto antinociceptivo en una prueba de dolor inflamatorio (formalina), se administró glucosamina (177-749 mg/kg) en rata. En la gráfica 2, se observa una disminución del ABC tanto en la Fase I (panel A) como en la Fase II (panel B), también se observa el efecto antinociceptivo total (panel C) generado por la glucosamina. La disminución del ABC indica que este fármaco tiene un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis. Es importante resaltar que solo con las dosis de 316, 562 y 749 mg/kg se presentó diferencia estadística significativa con respecto a la administración del vehículo (* ($p < 0.05$)) utilizando una ANOVA seguida de una post-hot de Tukey.



Gráfica 2. Evaluación del efecto antinociceptivo de la administración intraperitoneal de glucosamina en la prueba de la formalina (1%). Cada barra representa el promedio del ABC del curso temporal del

número de sacudidas de 6 animales evaluados \pm e.e.m. Se muestra la Fase I (panel A), la Fase II (panel B) y el efecto total (panel C) generado por la administración del fármaco. La diferencia estadística es con respecto a la administración del vehículo (V), * ($p < 0.05$; $F = 7.8$) utilizando una ANOVA de una vía seguida de una post-hot de Tukey.

La DE_{50} (332.88 mg/kg) del efecto antinociceptivo generado por la administración intraperitoneal de glucosamina se determinó en el modelo máximo sigmoideo mediante la ecuación de Hill (ver Gráfica 3 y Tabla 6).



Gráfica 3. Modelo máximo sigmoideo para determinar la DE_{50} de la glucosamina (i.p.) en la prueba de formalina.

Tabla 5. Efecto antinociceptivo de la glucosamina (%).

Dosis	% Efecto antinociceptivo	Log Dosis	$\log (E/(Emax \cdot E))^{**}$
Control	---	---	---
100	2,26	2,00	-1,23
177	8,32	2,25	-0,59
316	22,49	2,50	0,09
562	29,24	2,75	0,41
749	40,72	2,87	---
1000	---	---	---

** Ecuación de Hill

$$\log \left(\frac{E}{Emax - E} \right) = h \cdot \log D - h \cdot \log DE_{50} \dots\dots\dots \text{Formula (2)}$$

$$DE_{50} = 10^{-b/h} \dots\dots\dots \text{Formula (3)}$$

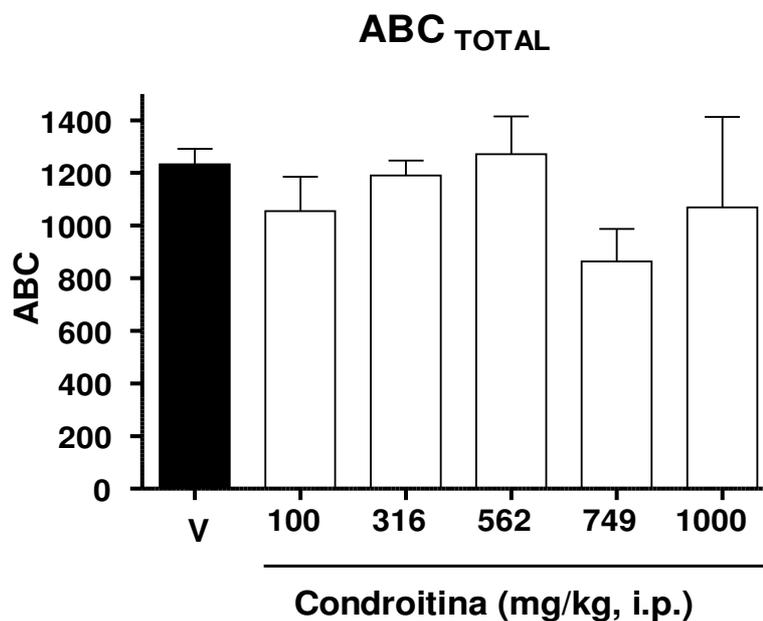
$$DE_{50} = 332.88 \text{ mg/kg}$$

Existen numerosas evidencias que demuestran que la glucosamina ayuda a disminuir el dolor de tipo artrítico (Creamer, 2000; McColl, 2001; Grainger, 2004). Se ha documentado que este fármaco puede potenciar el efecto antinociceptivo del ketorolaco y se le ha atribuido la disminución de daño gástrico generado por este AINE (Violin et al., 2007). Sin embargo, hasta el momento no se ha demostrado el efecto antinociceptivo a nivel preclínico de la administración de glucosamina. Los resultados obtenidos en el presente trabajo son los primeros que documentan la utilidad de la glucosamina en una prueba de dolor inflamatorio bien caracterizado por la administración de formalina.

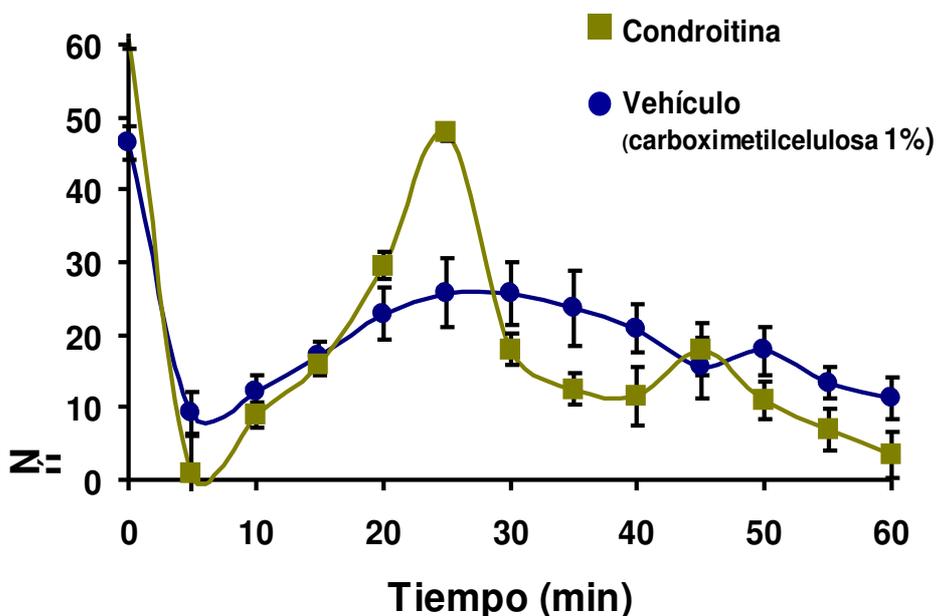
En cuanto al mecanismo de acción por el cual la glucosamina está generando su efecto antinociceptivo, se ha documentado que a nivel espinal puede inhibir completamente la producción de mediadores inflamatorios como la IL-6, FNT- α y el incremento de ON así como la producción de PGE₂, mediadores que participan en la generación de dolor e inflamación (Walsh et al., 2007). Además, el tratamiento con glucosamina a una dosis alta (1000 mg/kg) en rata disminuye la expresión de moléculas de adhesión intracelular (ICAM-1) y suprime la activación de NF-kappaB en cuerpos ciliares del iris de la rata, inhibe la producción de ON, PGE-2 y la expresión de SONi y COX-2 así como la activación de NF-kappaB (Chang et al., 2008), estos hallazgos explican porque disminuye la respuesta inflamatoria en la prueba de la formalina tanto en Fase I como en Fase II.

6.3. Evaluación de la administración de condroitina.

La condroitina es una sustancia natural endógena presente en la matriz extracelular de muchos tejidos del cuerpo, entre ellos el cartílago. En el presente proyecto se evaluó el efecto de la administración intraperitoneal de la condroitina en rata, se determinó que este fármaco no es capaz de revertir el efecto nociceptivo generado por la administración de formalina (1%). En la gráfica 4 se observa que aún cuando la dosis se incremento hasta 1000 mg/kg no se presentó una disminución del ABC, todos los grupos evaluados mostraron un efecto semejante con respecto a la administración del vehículo, no se presento diferencia estadística significativa. En la gráfica 5 se muestra un curso temporal en donde se observa claramente que el número de sacudidas de la administración de condroitina es similar a la administración del vehículo.



Gráfica 4. Evaluación del efecto generado por de la administración intraperitoneal de condroitina en la prueba de la formalina (1%). Cada barra representa el promedio del ABC del curso temporal del número de sacudidas de 6 animales evaluados \pm e.e.m. No se presentó diferencia estadística con respecto a la administración del vehículo (V), * ($p < 0.05$; $F = 3.7$) utilizando una ANOVA de una vía seguida de una post-hot de Tukey.



Gráfica 5. Curso temporal de la administración de condroitina (1000 mg/kg, i.p) y vehículo (carboximetilcelulosa 1%) en la prueba de la formalina (1%). Cada punto experimental representa el promedio de 6 animales \pm e.e.m.

Los datos obtenidos no están de acuerdo con el hecho de que se ha documentado que en pacientes con osteoartritis la condroitina disminuye el dolor con respecto al placebo (Harper, 2008; Monford, 2008; Kahan et al., 2009). Incluso se ha propuesto que el mecanismo de acción por el cual la condroitina presenta efecto antinociceptivo en las articulaciones se debe a que este favorece la síntesis de proteoglicanos, ácido hialurónico y colágeno II; y por otro lado, disminuye la actividad catabólica de los condrocitos inhibiendo algunas enzimas proteolíticas (MMP-3, MMP-9, MMP-13, MMP-14, colagenasa, elastasa, fosfolipasa A2, NAG, catepsina B, agrecanasa 1), la formación de otras sustancias que dañan al cartílago (óxido nítrico y radicales libres) y reducen la apoptosis. Además está descrita una actividad antiinflamatoria a nivel de los componentes celulares de la inflamación (TNF- α , IL-1 β , COX-2 PGE2, NF-Kb) (Jomphe et al., 2003). A nivel de la membrana sinovial, la condroitina actúa estimulando la síntesis de ácido hialurónico, y reduciendo la inflamación y el derrame articular. A nivel del hueso subcondral, ejerce un efecto positivo sobre el desequilibrio óseo ocurrido en el hueso subcondral artrósico (Kwan, 2007). El Colegio de Reumatología en América y la Liga Europea de Asociaciones de Reumatología sugieren la aparición del efecto antinociceptivo de la condroitina se demora aproximadamente de 4 a 6 semanas y que el efecto sintomático se mantiene después de 4 a 8 semanas (Hochberg, 2001). Esta es la razón por la cual probablemente no se pudo determinar un efecto nociceptivo, debido a que la evaluación se realizó después de una sola administración, en una fase aguda. Por lo que sería conveniente evaluar el efecto antinociceptivo generado por la administración crónica de la condroitina.

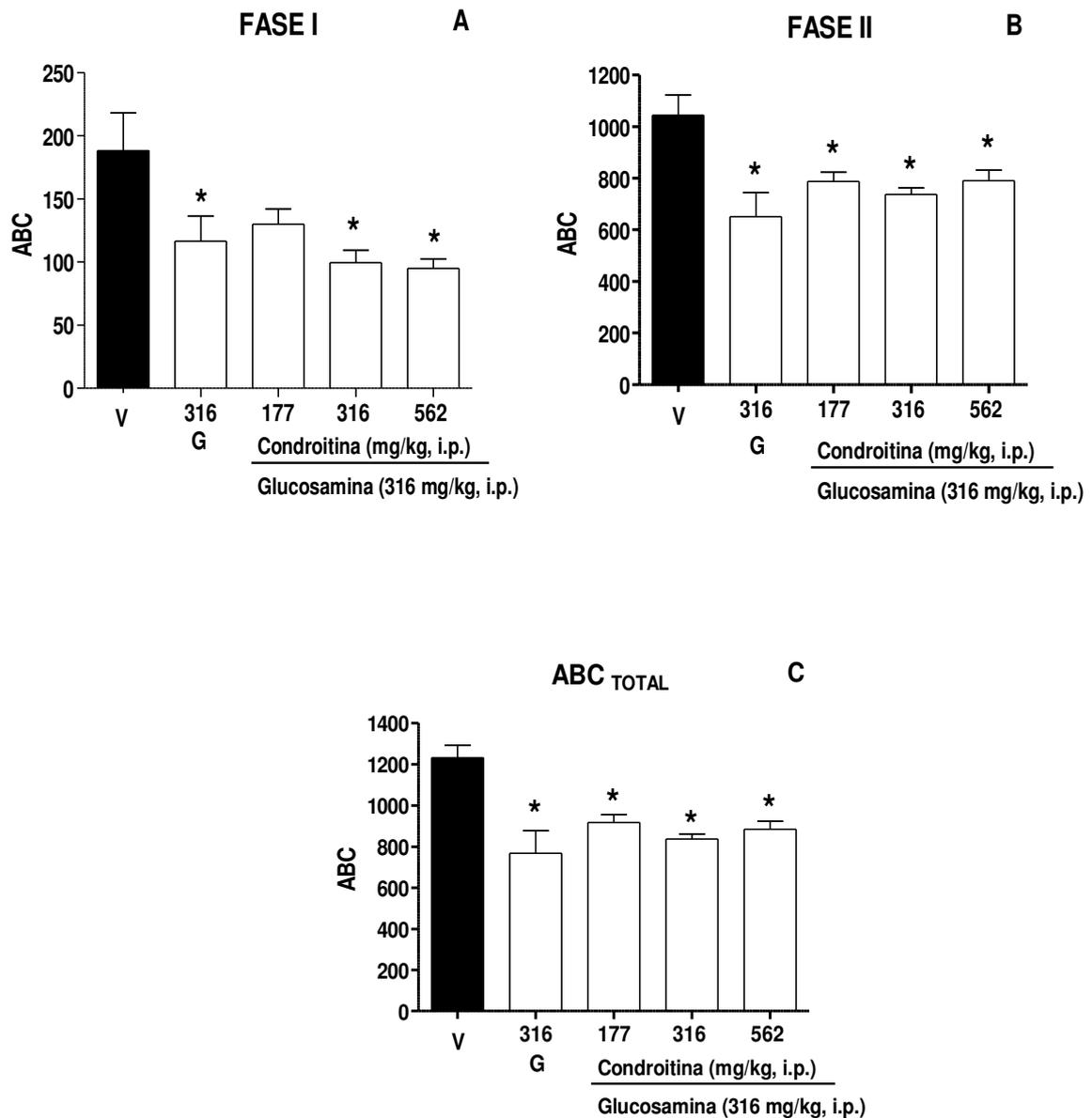
6.4. Coadministración de glucosamina con condroitina.

En el presente trabajo se evaluó la posible interacción farmacológica de la coadministración de glucosamina con condroitina, esto con la finalidad de obtener un efecto de potenciación. Algunos coadyuvantes como la cafeína no tienen efecto antinociceptivo pero son capaces de potenciar el efecto de algunos AINE's. En este sentido se propuso que la condroitina aunque no presenta efecto antinociceptivo podría potenciar el efecto de la glucosamina.

Se coadministró intraperitonealmente la dosis de 316, 562, 749 mg/kg de glucosamina con 3 dosis de condroitina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.). En la gráfica 6 se muestra el efecto de la administración de 316 mg/kg de glucosamina con las diferentes dosis de condroitina, en la gráfica 7 se muestra el efecto de la administración de 562 y en la gráfica 8 la dosis de 749 mg/kg de glucosamina, en ambas gráficas se mantuvieron las dosis de condroitina antes mencionadas.

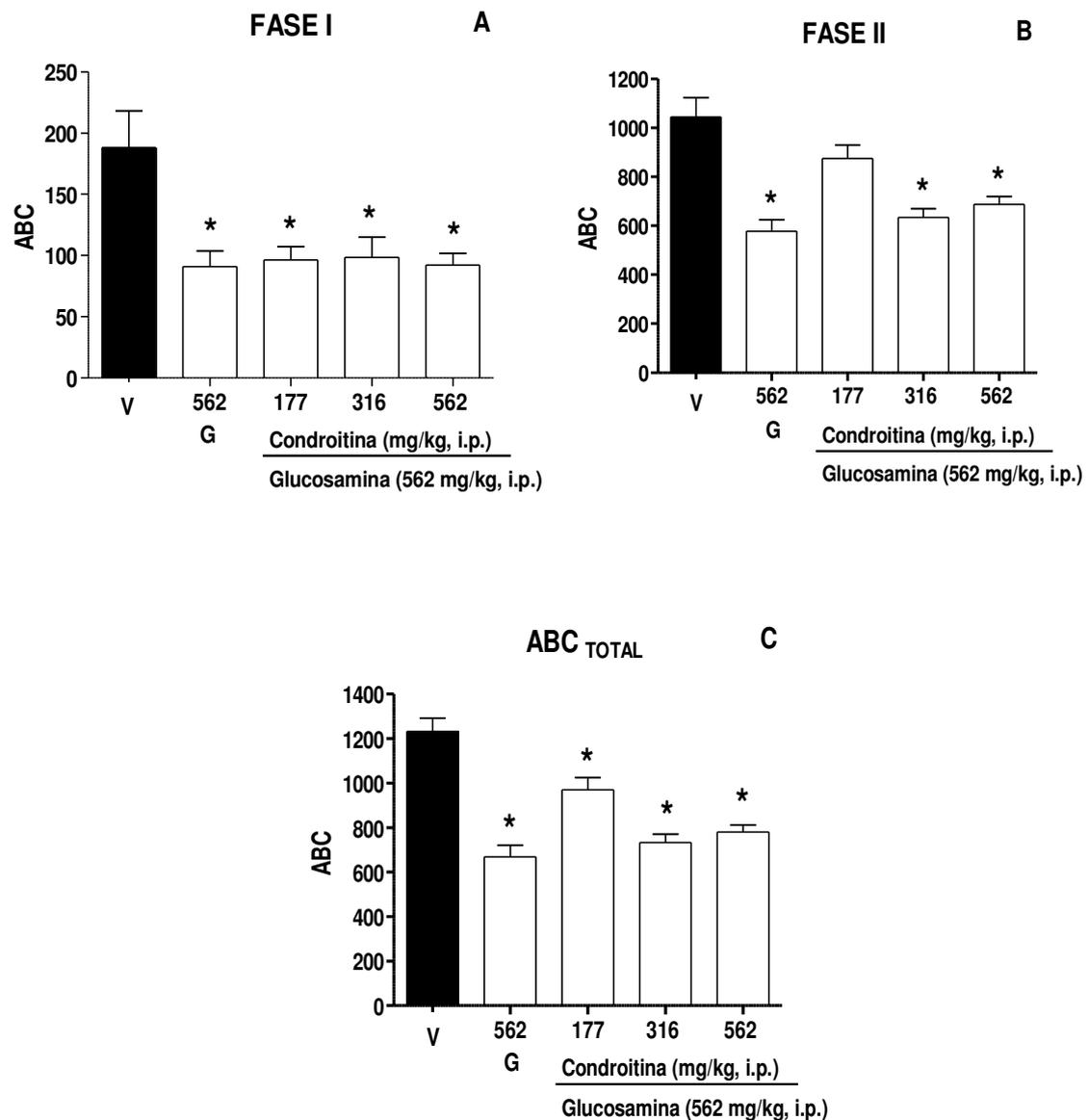
Cuando se combinaron diferentes dosis de glucosamina con condroitina se determinó que se presenta una disminución del efecto nociceptivo de las combinaciones con respecto al vehículo. Sin embargo, este efecto no es estadísticamente diferente (Prueba t student) con respecto al efecto individual de la administración de glucosamina. Estos resultados sugieren que el efecto antinociceptivo que se observa es generado por la glucosamina y no por la presencia de la condroitina.

Se tiene evidencias de que la combinación de glucosamina con condroitina se usa desde 1969 (Vetter et al., 1987) en donde se demostró que la administración tópica disminuía los síntomas de la osteoartritis. Posteriormente, se indicaron estos fármacos como suplementos alimenticios con la idea de que éstos podrían ayudar a los pacientes a recuperar la funcionalidad y disminuir la presencia de dolor. Hasta el momento todas las evidencias que se tienen sobre la utilidad de estos fármacos es contradictoria debido a que se han cuestionado aspectos metodológicos por los cuales se ha establecido que la combinación es adecuada, entre éstos está el número de pacientes que presentan los estudios, el patrocinador del estudio e inadecuado uso de agentes enmascarantes (Arnold, 2001; Owens, 2004). McAllindon, 2000 documento que la combinación de glucosamina y condroitina no disminuye los síntomas del dolor en tato que en un estudio más reciente se informo que era adecuada (Richy en el 2003).



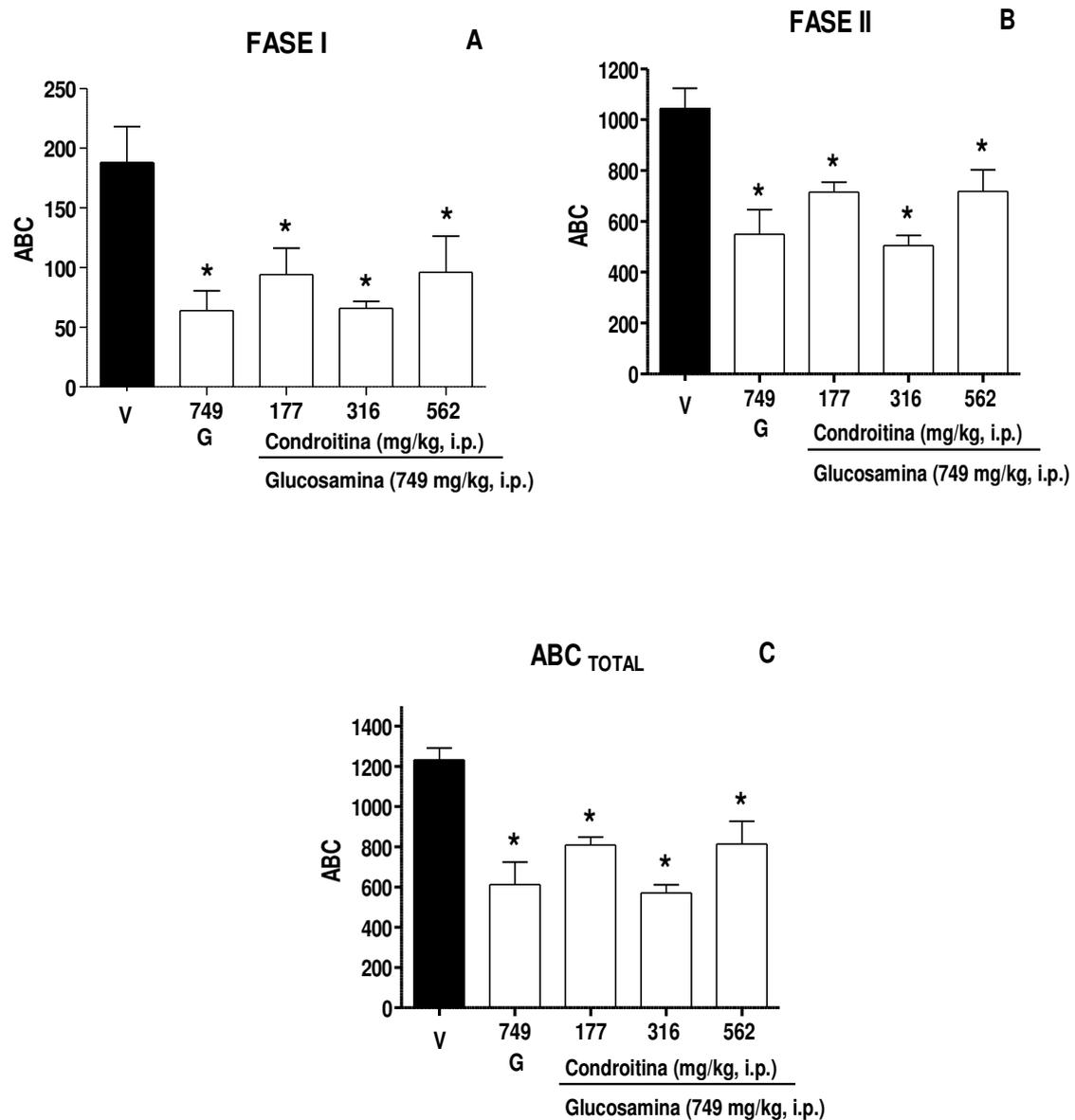
Gráfica 6. Evaluación del efecto antinociceptivo de la coadministración intraperitoneal de glucosamina (G) y condroitina en la prueba de la formalina (1%). Cada barra representa el promedio del ABC del curso temporal del número de sacudidas de 6 animales evaluados \pm e.e.m. Se muestra la Fase I (panel A), la Fase II (panel B) y el efecto total (panel C). La diferencia estadística es con

respecto a la administración del vehículo (V), * ($p < 0.05$; $F = 7.8$) utilizando una ANOVA de una vía seguida de una post-hot de Tukey. No se presentó diferencia estadística con respecto a la administración individual de la glucosamina (316 mg/kg i.p.).



Gráfica 7. Evaluación del efecto antinociceptivo de la coadministración intraperitoneal de glucosamina (G) y condroitina en la prueba de la formalina (1%). Cada barra representa el promedio del ABC del curso temporal del número de sacudidas de 6 animales evaluados \pm e.e.m. Se muestra la Fase I (panel A), la Fase II (panel B) y el efecto total (panel C). La diferencia estadística es con respecto a la administración del vehículo (V), * ($p < 0.05$; $F = 23$) utilizando una ANOVA de una vía seguida de una post-hot de Tukey. No se presentó diferencia estadística con respecto a la administración individual de la glucosamina (562 mg/kg i.p.).





Gráfica 8. Evaluación del efecto antinociceptivo de la coadministración intraperitoneal de glucosamina (G) y condroitina en la prueba de la formalina (1%). Cada barra representa el promedio del ABC del curso temporal del número de sacudidas de 6 animales evaluados \pm e.e.m. Se muestra la Fase I (panel A), la Fase II (panel B) y el efecto total (panel C). La diferencia estadística es con respecto a la administración del vehículo (V), * ($p < 0.05$; $F = 11$) utilizando una ANOVA de una vía seguida de una post-hot de Tukey. No se presentó diferencia estadística con respecto a la administración individual de la glucosamina (749 mg/kg i.p.).

Algunos meta-análisis han concluido que estos suplementos son muy adecuados para el mejoramiento del paciente osteoartístico, sin embargo, las evidencias científicas que lo demuestren han sido muy cuestionadas. Bucsi y Poor (1998) evaluaron el índice de licuefacción en pacientes con osteoartritis, administraron la combinación de glucosamina con condroitina durante 6 meses, aún cuando la diferencia estadística entre este grupo y el control no era muy evidente se estableció la utilidad de ésta en el tratamiento para osteoartritis. Bourgeois *et al.*, (1989) repitieron el mismo protocolo y determinaron que no era adecuada la terapéutica por lo que mejoraron el trabajo optimizando las dosis empleadas.

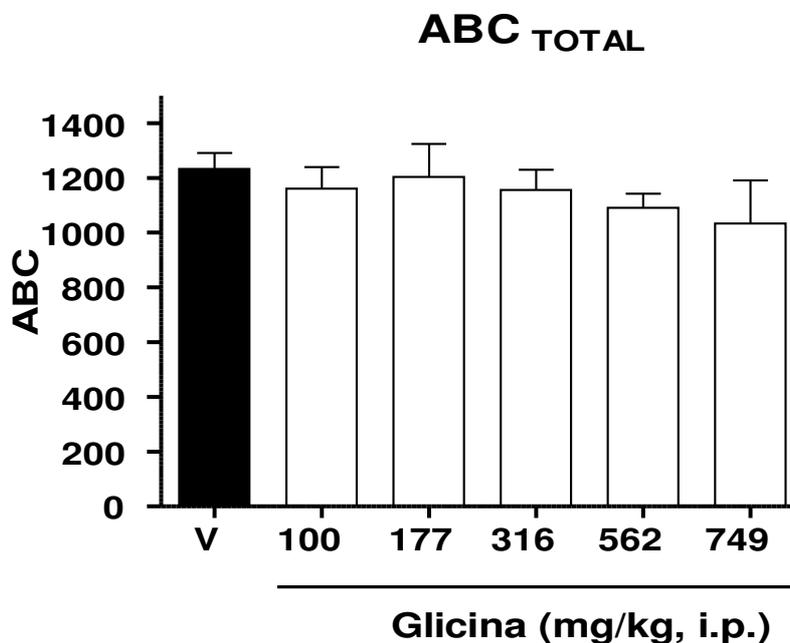
Silva *et al.*, (2009) demostraron que la combinación de glucosamina con condroitina disminuye el daño al cartílago y mejora la funcionalidad en ratas que semejan artritis. Se tienen datos de cómo estos compuestos pueden ayudar a la regeneración del cartílago, sin embargo, no existen evidencias que demuestren que pueden servir para el tratamiento del dolor. Por otro lado, es muy importante mencionar que es necesario que se realicen nuevos estudios que demuestren la eficacia de la combinación, los cuales deben ser controlados y aleatorizados, además de evaluar los efectos a largo plazo y la calidad de estos compuestos.

Por otra parte, Clegg (2006) estableció que la glucosamina con condroitina administrados solos o en combinación no mejora la presencia de dolor de manera eficaz en el grupo de pacientes con artritis. Los análisis sugieren que la combinación puede ser eficaz en un subgrupo de pacientes con dolor moderado a severo. En la actualidad existe evidencia clínica que indica que la glucosamina en combinación con condroitina en el tratamiento del dolor leve presente en la rodilla de pacientes con osteoartritis es ineficaz. Es importante notar que esta información debe tomarse con precaución ya que depende del tipo dolor y de su localización para que un fármaco pueda tener efecto en estos pacientes con osteoartritis (Distler, 2006).

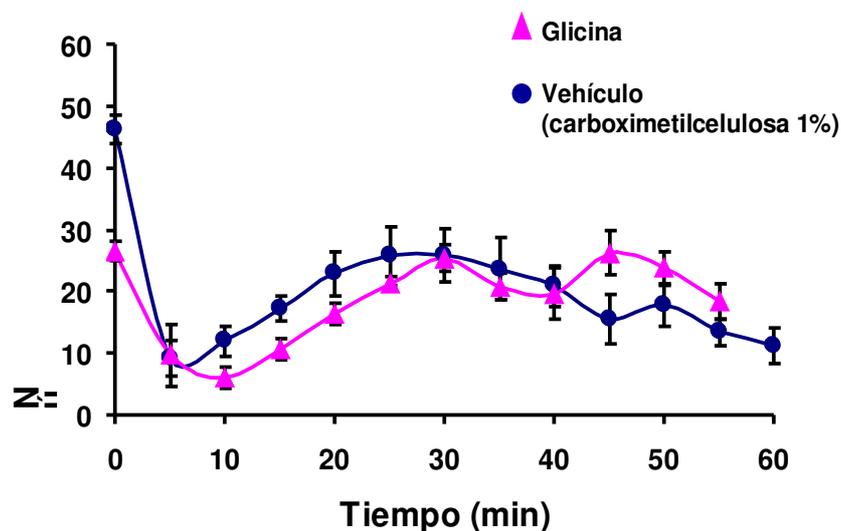
En cuanto a los datos relativamente escasos en la glucosamina y el estrechamiento del espacio articular y la ausencia de datos sobre los efectos estructurales de condroitina, se necesitan más estudios para investigar la relación entre el tiempo, dosis, características basales de los pacientes, y la eficacia estructural de una forma precisa, modificadores de la enfermedad de caracterización de estos compuestos (Richy, 2003).

6.5. Evaluación de la administración de la glicina en rata

La glicina es un aminoácido no esencial, actúa como neurotransmisor inhibitor en el sistema nervioso central. En el presente proyecto se evaluó el efecto de la administración intraperitoneal de la glicina en rata, se determinó que este fármaco no es capaz de revertir el efecto nociceptivo generado por la administración de formalina (1%). En la gráfica 9 se observa que aún cuando la dosis se incrementó hasta 1000 mg/kg no se presentó una disminución del ABC, todos los grupos evaluados mostraron un efecto semejante con respecto a la administración del vehículo, no se presentó diferencia estadística significativa. En la gráfica 10 se muestra un curso temporal en donde se observa claramente que el número de sacudidas de la administración de glicina a la dosis más alta evaluada es similar a la administración del vehículo.



Gráfica 9. Evaluación del efecto de la administración intraperitoneal de glicina en la prueba de la formalina (1%). Cada barra representa el promedio del ABC del curso temporal del número de sacudidas de 6 animales evaluados \pm e.e.m. Se muestra el efecto total del fármaco generado por la administración del fármaco y la formalina. La diferencia estadística es con respecto a la administración del vehículo (V), * ($p < 0.05$; $F = 0.57$) utilizando una ANOVA de una vía.



Gráfica10. Curso temporal de la administración intraperitoneal de glicina (1000 mg/kg, i.p.) y vehículo (carboximetilcelulosa i.p.) en la prueba de formalina (1%). Cada punto experimental representa el promedio de 6 animales \pm e.e.m.

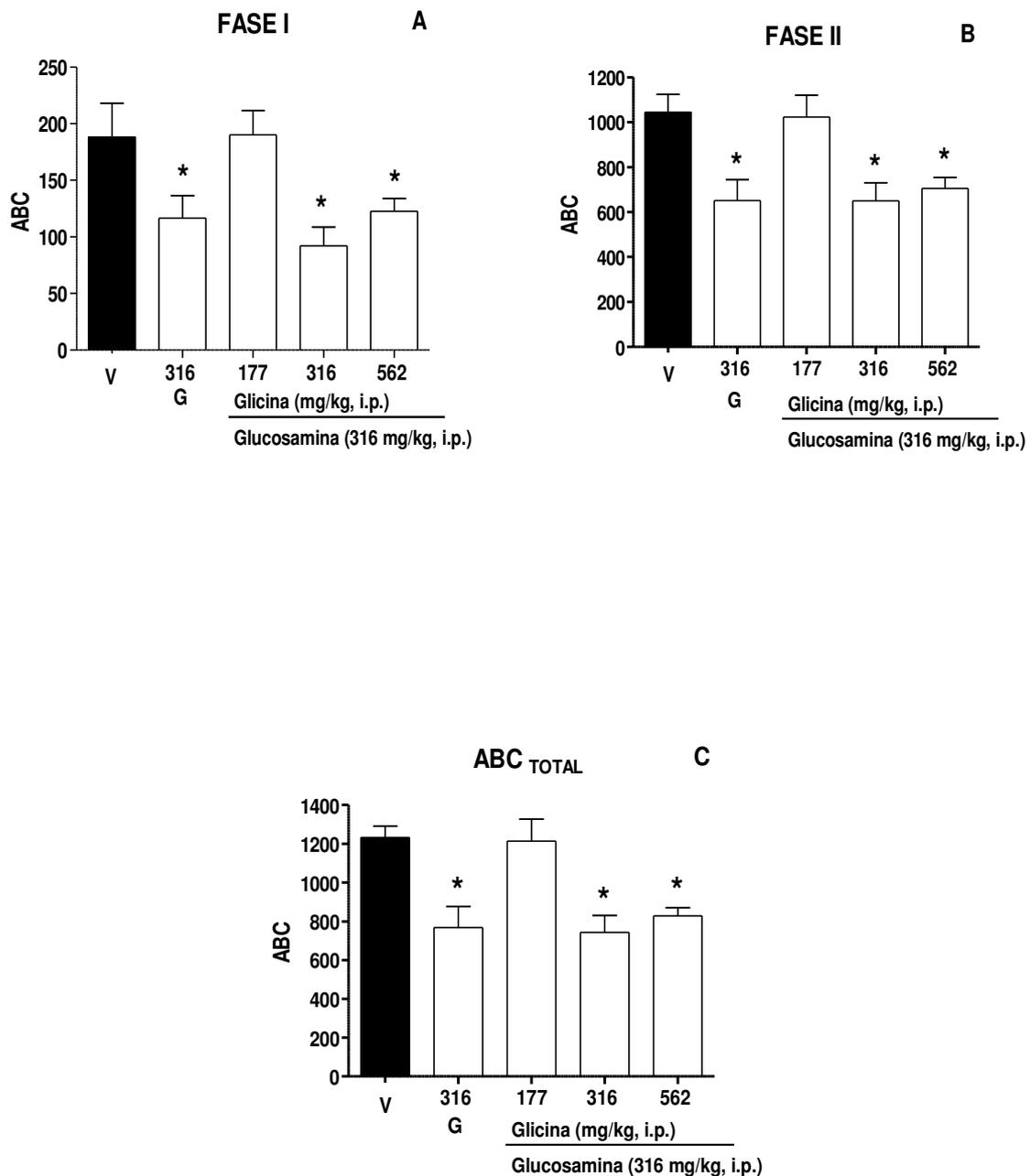
La glicina es un neurotransmisor inhibitorio que actúa en el receptor de los canales de cloro, inhibe la neurotransmisión de neuronas nociceptivas en la medula espinal. Se sugiere que un exceso de glicina exógena activa la sub-unidad 1 en la prueba de formalina la cual disminuye el dolor (Michael, 2009). En la espina dorsal, los receptores de canales cloro de la glicina sub-unidad $\alpha 3$ son específicamente inhibidas por mediadores inflamatorios en un modelo de dolor crónico (Joseph, 2006).

La glicina como neurotransmisor inhibitor es esencial para las respuestas de sobresalto, de control motor y sensorial de la señal del procesamiento en la medula espinal. Glicina ejerce sus acciones inhibitorias mediante la unión a su receptor, que es en gran parte localizado en la membrana postsináptico neuronal. Las señales inhibitorias postsinápticas se oponen a la acción de despolarización (estimulación de cloruro excitación/neurotransmisión) de aumentar la permeabilidad a través de la membrana neuronal postsináptica. La glicina hiperpolariza las neuronas motoras postsinápticas mediante el aumento de la conductancia de cloro, por lo que

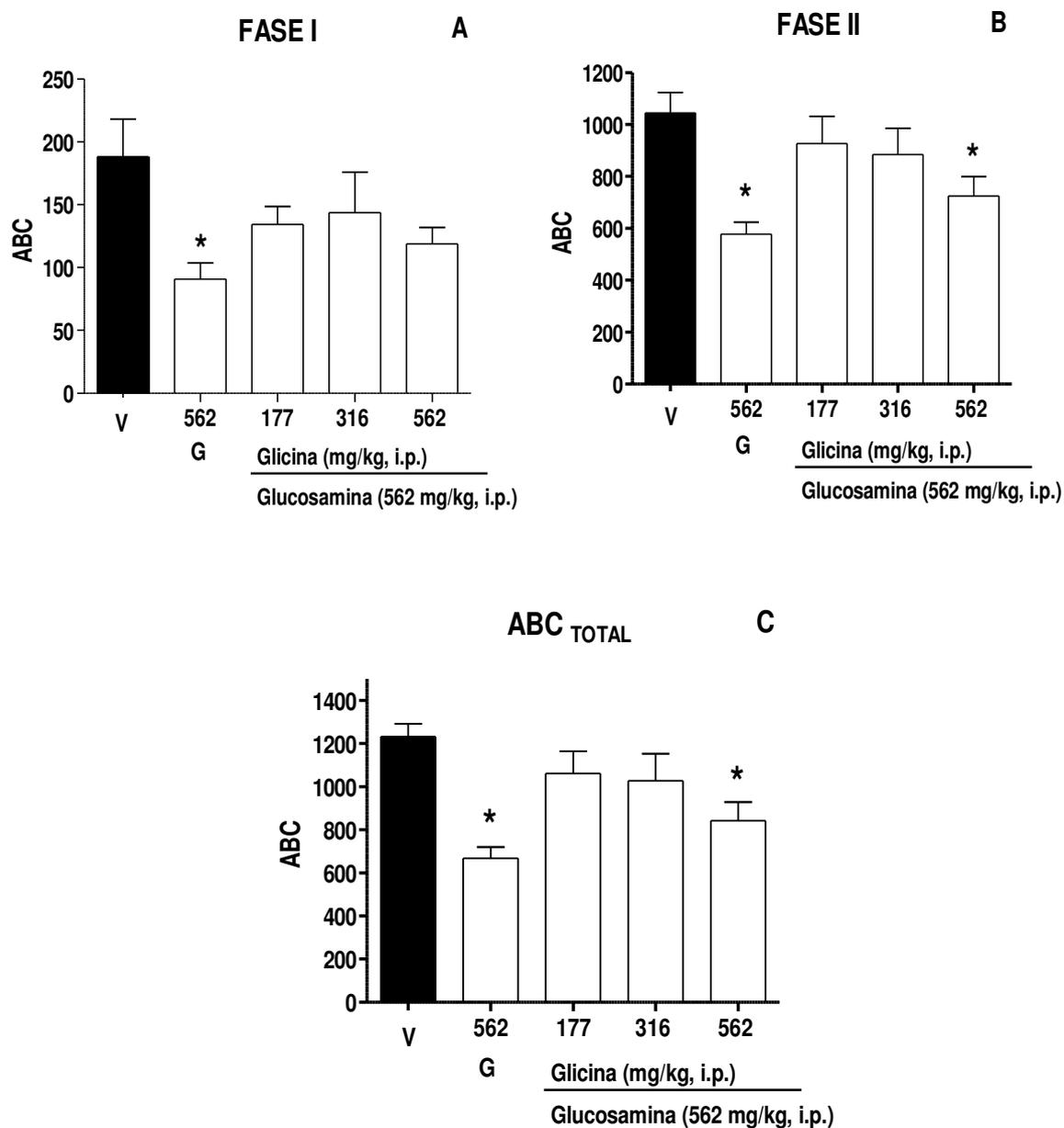
el receptor de glicina se refiere a menudo a un canal glicina-cloro de acceso controlado. La neurotransmisión inhibitoria por la glicina ha demostrado ser bloqueada selectivamente por la estricnina (Wheeler et al., 1999). La glicina tiene potencial terapéutico en la analgesia periférica; sin embargo, en esta prueba de formalina no hubo efecto antinociceptivo, por lo que se sugiere que se evalúe en otros modelos de nocicepción.

6.6. Coadministración de glucosamina con glicina.

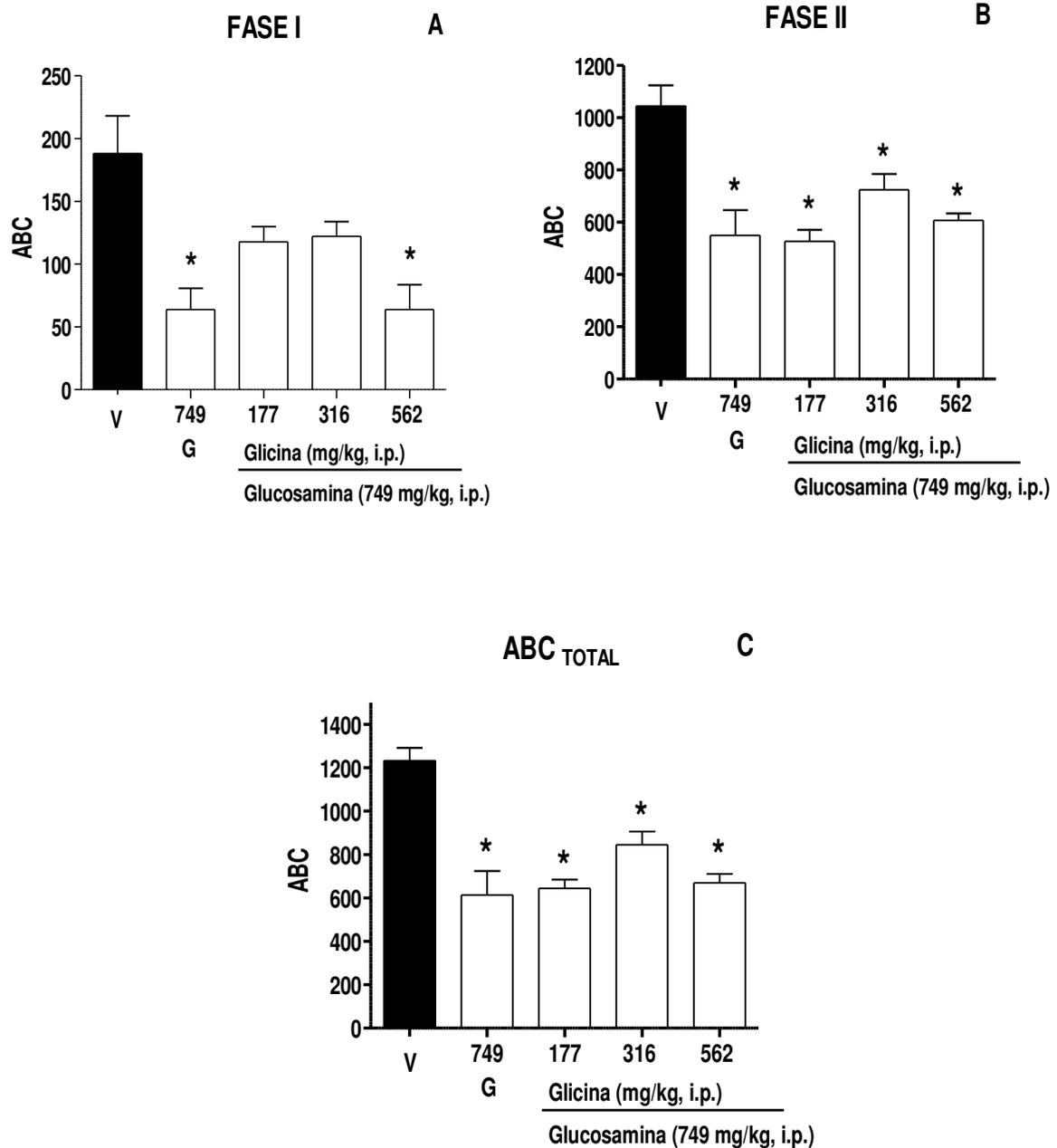
Las gráficas 11, 12 y 13 muestran el efecto antinociceptivo de la coadministración de glucosamina (316, 562 y 749 mg/kg, i.p.) con glicina (177, 316 y 562 mg/kg, i.p.). En las tres gráficas se observa que se presenta una disminución del efecto nociceptivo generado por la administración de formalina. Sin embargo, este efecto no es estadísticamente diferente con respecto a la administración individual de glucosamina. Estos datos resultan interesantes ya que existen evidencias clínicas que esta combinación podría ser útil. Sin embargo, en el presente trabajo se está mostrando que no es así por lo menos en dolor inflamatorio.



Gráfica 11. Evaluación del efecto antinociceptivo de la coadministración intraperitoneal de glucosamina (G) y glicina en la prueba de la formalina (1%). Cada barra representa el promedio del ABC del curso temporal del número de sacudidas de 6 animales evaluados \pm e.e.m. Se muestra la Fase I (panel A), la Fase II (panel B) y el efecto total (panel C) generado por la administración del fármaco y formalina. La diferencia estadística es con respecto a la administración del vehículo (V), * ($p < 0.05$; $F=8$) utilizando una ANOVA de una vía seguida de una post-hot de Tukey. No se presentó diferencia estadística con respecto a la administración individual de la glucosamina (316 mg/kg i.p.).



Gráfica 12. Evaluación del efecto antinociceptivo de la coadministración intraperitoneal de glucosamina (G) y glicina en la prueba de la formalina (1%). Cada barra representa el promedio del ABC del curso temporal del número de sacudidas de 6 animales evaluados \pm e.e.m. Se muestra la Fase I (panel A), la Fase II (panel B) y el efecto total (panel C) generado por la administración del fármaco y formalina. La diferencia estadística es con respecto a la administración del vehículo (V), * ($p < 0.05$; $F = 5.9$) utilizando una ANOVA de una vía seguida de una post-hot de Tukey. No se presentó diferencia estadística con respecto a la administración individual de la glucosamina (562 mg/kg i.p.).



Gráfica 13. Evaluación del efecto antinociceptivo de la coadministración intraperitoneal de glucosamina (G) y glicina en la prueba de la formalina (1%). Cada barra representa el promedio del ABC del curso temporal del número de sacudidas de 6 animales evaluados \pm e.e.m. Se muestra la Fase I (panel A), la Fase II (panel B) y el efecto total (panel C) generado por la administración del fármaco y formalina. La diferencia estadística es con respecto a la administración del vehículo (V), * ($p < 0.05$; $F=15$) utilizando una ANOVA de una vía seguida de una post-hot de Tukey. No se presentó diferencia estadística con respecto a la administración individual de la glucosamina (749 mg/kg i.p.).

VII. CONCLUSIONES.

- En el presente estudio se determinó que la glucosamina presentó un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis en la prueba de la formalina $DE_{50} = 332.88$ mg/kg, i.p.
- La condroitina y la glicina no presentaron efecto antinociceptivo en la prueba de la formalina.
- La coadministración de glucosamina/condroitina y glucosamina/glicina no modificaron el efecto antinociceptivo de la administración individual de glucosamina, por lo cual, bajo las condiciones de este estudio, no tienen efecto antinociceptivo en la prueba de la formalina.
- No serían útiles estas combinaciones para el tratamiento del dolor.

VIII. PERSPECTIVAS

Se propone que la administración de la condroitina y de la glicina sea en un periodo más largo y después aplicar el mismo modelo de formalina, con la finalidad de poder observar un efecto antinociceptivo a largo plazo y así comprobar la información que se ha venido proporcionando en la clínica.

IX. REFERENCIAS

- ❖ Abramson SB, Weissmann G. (1989). *The mechanisms of action of nonsteroidal antiinflammatory drugs*. Arthritis Rheum. 32: 1-9.
- ❖ Alan R, Gaby MD. (1999). *Alternative Treatments for rheumatoid arthritis*. Altern Med Rev. 4(6): 392-402.
- ❖ American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. (2002). *Guidelines for the Management of Rheumatoid Arthritis*. Arthritis Rheum. 46: 328-46.
- ❖ Apoked S. (2004). *Diccionario Morby de medicina, enfermería y ciencias de la salud*. 4ª ed. Nueva York: Sized. Pág. 164.
- ❖ Arbaiza D. (2005). *Neurofisiología del dolor*. Boletín El Dolor. 14: 14-40.
- ❖ Arend WP. (2001). *Cytokine imbalance in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: The role of interleukin-1 receptor antagonist*. Semin Arthritis Rheum. 30 (5 suppl 2): 1-6.
- ❖ Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, *et al.* (1988). *The ARA 1987 revised criteria for the classification of the rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum. 31 (3): 315-24.
- ❖ Arnold EL, Arnold WJ. (2001). *Use of glucosamina and Chondroitin sulphate in the management of ostoarthritis*. J Am Acad Orthop Surg. 9 (5): 352-353.
- ❖ Barbera A, Dominguez MC. (2004). *Características e inmunopatogénesis de la artritis reumatoide. Estado actual en el tratamiento*. Biotecnología aplicada. 21: 189-201.
- ❖ Bourgeois P, Chales G, Dehais J, Delcambre B, Kuntz JL, Rozanberg S. (1998). *Efficacy and tolerability of chondroitin sulphate 1200 mg/day vs chondroitin sulphate 3 X 400 mg/day vs placebo*. Osteoarthritis Cartilage. 6: 25-30.
- ❖ Braham R, Dawson B, Goodman C. (2003). *The effect of glucosamina supplementation on people experiencing regular knee pain*. Br J Sports Med. 37 (1): 45-49.

- ❖ Bruyere O, Honore A, Ethgen O, Rovalti LC, Giacobelli G, Henrotin YE *et al.* (2003). *Correlation between radiographic severity of knee osteoarthritis and future disease progression. Results from a 3-year prospective, placebo controlled study evaluating the effect of glucosamine.* Osteoarthritis Cartilage. 11 (1): 1-5.
- ❖ Busci L, Poor G. (1998). *Efficacy and tolerability of oral chondroitin sulphate as a symptomatic slow-acting drug for osteoarthritis (SYSADOA) in the treatment of knee osteoarthritis.* Osteoarthritis Cartilage. 6 (suppl A): 31-36.
- ❖ Carrasco JM, De Paz CJA. (2000). *Tratado de emergencias medicas.* 1ª ed. Madrid: Ed. Madrid. pág. 1534-1535.
- ❖ Chan PS, Caron JP, Rosa GJ, Orth MW. (2005). *Glucosamine and chondroitin sulphate regulate gene expression and synthesis of nitric oxide and prostaglandins E2 in articular cartilage explants.* Osteoarthritis and Cartilage. 13 (5): 387-394.
- ❖ Chang YH, Horng CT, Chen YH, Chien MW Liang CM and Chen JT. (2008). *Inhibitory effects of glucosamine on endotoxin induced uveitis in lewis rats.* Invest Ophthalmol Vis Sci. 49 (12): 5441-5449.
- ❖ Choy EHS, Panayi GS. (2001). *Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis.* N Engl J Med. 344: 907-916.
- ❖ Chikanzan IC, Kingsley G, *et al.* (1995). *Peripheral blood and synovial fluid monocyte expression of interleukin 1 α and 1 β during active rheumatoid arthritis.* J Rheumatol. 22: 600-606.
- ❖ Clancy RM, Amin AR, Abramson SB. (1998). *The role of nitric oxide in inflammation and immunity.* Arthritis Rheum. 7: 1141-1151.
- ❖ Clarck WG, Johnson A. (1997). *Farmacología Médica.* 13th edición. Editorial Mosby, España. 156-158.
- ❖ Clegg DO, Reda DJ, Harris CL, Klein MA, O'Dell JR, Hooper MM, *et al.* (2006). *Glucosamine, Chondroitin sulphate, and the Two in Combination for painful knee osteoarthritis.* N Engl J Med. 354 (8): 795-808.
- ❖ Creamer P. (2000). *Osteoarthritis pain and its treatment.* Curr Opin Rheumatol. 12 (5): 450-455.
- ❖ Dawson W. (1987). *Theories of mechanis of action of anti-inflammatory compounds.* In Williamson WRN, NY, Marcel Dekker. 109-119.

- ❖ Dayer JM. (1997). *Regulation of IL-1/TNF, their natural inhibitors, and other cytokines in chronic inflammation*. Immunologist. 5: 192-201.
- ❖ De La Parra. (1997). *Mecanismos básicos Del Dolor. Visión neurofisiológica*. Revista Argentina Del Dolor. 16(1): 25- 40.
- ❖ De la paz lugo. (2006). *Estimulación de la síntesis de colágeno en cultivos celulares. Posible tratamiento en enfermedades degenerativas mediante la dieta* [Tesis Doctoral]. Granada: Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Granada.
- ❖ Distler J, Angueloouch A. (2006). *Evidence-based Practice: Review of clinical evidence on the efficacy of glucosamina and chondroitin in the treatment of arthritis*. J Am Acad Nurse Pract. 18: 487-493.
- ❖ Dougados M. (2001). *Biological approach to Rheumatoid Arthritis treatment: Targeted interleukin-1 inhibition*. J Clin Rheumatol. 7 (suppl 3): 1-2.
- ❖ Ferreira SH. (1972). *Prostaglandins, aspirin-like drugs and analgesia*. Nature. 240: 200-203.
- ❖ Firestein G. (2003). *Evolving concepts of rheumatoid arthritis*. Nature. 23: 356-61.
- ❖ Forre O, Haugen M, Hassfeld WG. (2000). *New possibilities of treatment in arthritis rheumatoid*. Scand J Rheumatol. 29 (2): 73-84.
- ❖ Gallin, JI, Paul WE. (1989). *Inflammation: Fundamental Immunology*. Raven Press, New York. 721-733.
- ❖ Gilroy DW, Colville PR, Willis JD, Paul C, Willoughby DA. (1999). *Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties*. Nat. Med. 1999; 5: 698-701
- ❖ González EC. (2009). *La inflamación: respuesta del organismo al daño tisular*. Dolor y Analgesia. 13-23.
- ❖ Gracia JM. (2000). *Terapias biológicas en artritis reumatoide*. Semin Fund Espan Reumatol. 1: 10-21.

- ❖ Grainger R, Cicuttini FM. (2004). *Medical management of osteoarthritis of the knee and hip joints*. Med J Aust. 180 (5): 232-6. Review Erratum In. Med J Aust. 180 (9): 464.
- ❖ Granados SV, Castañeda HG, Ortiz RM. (2004). *Fisiopatología del dolor: Fisiología del proceso del dolor*. El dolor. 3-7.
- ❖ Harris RC, Wang JL, Cheng HF, Zhang Z and Mckanna JA. (1999). *Prostaglandins in macula densa function*, *Kidney Int.* 67: S49-S52.
- ❖ Heinrich B and Bodo L. (2006). *Glycine receptors: recent insights into their structural organization and functional diversit*. Journal of Neurochemistry. 97: 1600–1610.
- ❖ Hochberg MC and Dougados M. (2001). *Pharmacological therapy of osteoarthritis*. Division of Rheumatology and Clinical Immunology, Best Practice Research Clinical Rheumatology. 15 (4): 583-593.
- ❖ Horton, Derek; Wander, J.D. (1980). *The Carbohydrates* Vol IB. New York: Academic Press. 727-728.
- ❖ IASP. (1986). *Pain Terms: a current list with definitions an notes on usage*. Pain. 1(Supplet 3): 215-221.
- ❖ Isasi ZC, Alcaraz BM, Sanz AJ. (2004). *Fármacos de acción lenta para el tratamiento de la artrosis*. Inf Ter Sist Nac Salud. 28: 145-150.
- ❖ Joachim S y Clifford JW. (2002). *Can we conquer pain?*. Nature Neuroscience. 5: 1062-1067.
- ❖ Jomphe C, Gabriac M, Hale TM, Heroux L, Deblois D, *et al.* (2008). *Chondroitin sulfate inhibits the nuclear translocation of NF-KB in IL-1 β stimulates chondrocytes*. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2008; 102 (1): 59-65.
- ❖ Jordan KM *et al.* (2003). *EULAR Recommendations: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a task Force of the standing commite for international clinical studies including therapeutic Trials (ESCISIT)*. 62 (12): 145-155.
- ❖ Joseph WL and Robert CG. (2006). *Targeted Delivery of Glycine Receptors to peripheral Neurons as Treatment for Pain*. Current opinion in investigational Drugs. 7 (1): 48-53.

- ❖ Kahan A, Uebelhart D, De Vathaire F, Delmas PD, Reginster JY. (2009). *Long-term effects of chondroitins 4 and 6 sulfate on knee osteoarthritis: the study on osteoarthritis progression prevention, a two-year, randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Arthritis Rheum. 60(2): 524-33.
- ❖ Katzung BG. (2005). *Farmacología Básica y Clínica: Eicosanoides: prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y compuestos relacionados*. 9ª ed. México: El Manual Moderno.
- ❖ Kremer JM. (2001). *Rational use of new and existing disease-modifying agents in rheumatoid arthritis*. Ann Intern Med. 134 (8): 695-706.
- ❖ Kwan TS, Pelletier JP, Verges J, Lajeunesse D, Montell E, Fahmi H, et al. (2007). *Chondroitin and glucosamine sulfate in combination decrease the pro-resorptive properties of human osteoarthritis subcondral bone osteoblasts: a Basic science study*. Arthritis Res Ther. 9 (6): R117.
- ❖ Langenbach R, Morhan SG, Tiano HF, Loftin CD, Ghanayem BI, Chulada PC et al. (1995). *Prostaglandins synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induce inflammation and indomethacin-induce gastric ulceration*. Cell. 83 (3): 483-492.
- ❖ Laverty S, Sandy JD, Celeste C, Vachon P, Marier JF, Plaas AH. (2005). "Synovial fluid levels and serum pharmacokinetics in a large animal model following treatment with oral glucosamine at clinically relevant doses," Arthritis Rheum, 52(1): 181-191.
- ❖ Lovu MMD, Dumais BSG, du Souich MDP, Ph D. (2008). *Anti-inflammatory activity of chondroitin sulphate*. Osteoarthritis and cartilage. 16: S14-S18.
- ❖ Male DK, Champion B, Cooke A, Owen M. (1991). *Cell troffic and inflammation*. En: *Advance Immunology*. 2ª ed. Ed Gower London-New York.
- ❖ Martín AE, Cantero BS, Sánchez GF, Gómez CJ. (2003). *Nuevas perspectivas en el tratamiento de la artritis reumatoide*. Farm Hosp. 27 (6); 360-370.
- ❖ Mathieu P. (2002). *Radiological progression of internal femoro tibial osteoarthritis in gonarthrosis. Chondroprotective effect of chondroitin*. Press Med. 31 (29): 1386-1390.
- ❖ McAllindon TE, La Valley MP, Gulin JP, Felson DT. (2000). *Glucosamine and chondroitin for treatment of osteoarthritis: a systematic quality assessment and meta-analysis*. JAMA. 283(11): 1469-1475.

- ❖ McColl GJ. (2001). *Pharmacological Therapies for the treatment of osteoarthritis*. Med J Aust. 175 Suppl S: 108-11.
- ❖ Michael C, James R, Shaohua H, David MK, Richard JC, Johnson JW *et al.* (2009). *Targeted Delivery of glycine receptors to peripheral Neurons as treatment for pain*. Biophysical journal. 96 (3 suppl 1): 487a.
- ❖ Monfort J, Martel-Pelletier, Pelletier JP. (2008). *Chondroitin Sulphate for symptomatic osteoarthritis: critical appraisal of meta-analyses*. Curr Med Res Opin. 24(5): 1303-1308.
- ❖ Morham SG, Langerbach CD, Lofting HF, Tiano N, Vouloumanos JC, Jennette JF *et al.* (1995). *Prostaglandin Synthase 2 gene disruption causes sever renal pathology in the mouse*. Cell. 83: 473-482.
- ❖ O'Keefe J. (1964). *Spinal cord mechanisms subserving pain perception*. Unpublished M. Sc. Thesis, McGill University.
- ❖ Osiri M, More LW. (1999). *Specific Cyclooxygenase 2 inhibitors: A new Choise of nonsteroidal anti-inflammatory drug therapy*. Arthritis Care and Research. 12 (5); 351-359.
- ❖ Owens S, Wagner P, Vangsness CT. (2004). *Recent advances in glucosamine and chondroitin supplementation*. J Knee Surg. 17(4): 185-193.
- ❖ Pavelka K, Bucsi L, Manopulo R. (1998). *Double-blind, dose-effect study of oral CS 4&6 1200 mg, 800 mg, 200 mg against placebo in the treatment of femoro-tibial osteoarthritis*. Literal Rheumatologic. 24: 21-30.
- ❖ Persiani S, Roda E, Rovati LC, Locatelli M, Giacove-lli G, Roda A.(2005). *Glucosamine oral bioavilability and plasma pharmacokinetics after increasing doses of cristaline glucosamina in man*. Osteoarthritis and Cartilage. 13 (12): 1041-1049.
- ❖ Peschon JJ, Torrance DS *et al.* (1998). *TNF receptor deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation*. J Immunol. 160: 943-952.
- ❖ Pitcher GM y Henry JL. (2002). *Second phase of formalin induced excitation of spinal dorsal horn neurons in spinalized rats in reversed by sciatic nerve block*. Eur J Neuroscience. 15 (9): 1509-1515.
- ❖ Prithvi PR. (2002). *Tratamiento Práctico del dolor*. 3ª ed. Madrid: Harcourt.

- ❖ Pujalte JM, Llavore EP, yiescupidez FR. (1980). *Double-blind evaluation of oral glucosamine sulphate in the Basic treatment of osteoarthritis*. *Curr Med Opin.* 7 (2); 110-114.
- ❖ Puebla Díaz F. (2005). *Tipos de dolor y escala terapéutica de la OMS*. *Dolor Iatrogénico. Oncología.* 28 (3): 139-143.
- ❖ Reginster JY, Deroisi R, Rovati LC, Lee RL, Lejeune E, Bruyere O, *et al.* (2001). *Long-term effects of glucosamine sulphate on osteoarthritis progrssion: a randomized, placebo controlled clinical trial*. *Lancet.* 357: 251-256.
- ❖ Richey F, Bruyere O, Ethgen O, Cucherat M, Henrotin Y, Reginster JY. (2003). *Structural and symptomatic efficacy of glucosamine and chondroitin in knee osteoarthritis: A comprehensive meta-analysis*. *Arch Intern Med.* 163: 1514-1522.
- ❖ Rindone JP, Hiller D, Collacott E, Nordhaugen N, Arriola G. (2000). *Randomized, controlled trial of glucosamine for treating osteoarthritis of knee*. *West J Med.* 172: 91-94.
- ❖ Robins S, Cotran R, Kumar V. (1990). *Patología estructural y funcional*. 4a ed. Editorial Interamericana McGraw-Hill., Madrid España. 1: 11-14, 39, 71; 2: 994-998.
- ❖ Roit IM, Brostoff J, Male DK. (1992). *Inmunología*. 2ª ed. Barcelona: Salvat.
- ❖ Romero P. (2005). *Consecuencias clínicas de la estimulación sensorial persistente: La sensibilización espinal segmentaria*. *El dolor.* 14: 42-50.
- ❖ Ronca F, Palmieri L, Panicucci P, Ronca G. (1998). *Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate*. *Osteoarthritis Cartilage.* 6 (Suppl A): 14-21.
- ❖ Saxne T, Palludino MA, *et al.* (1988). *Detection of humor necrosis factor α but not tumor necrosis factor B in rheumatoid arthritis synovial fluid and serum*. *Arthritis Rheum.* 31: 1041-1045.
- ❖ Silva FS, Yoshinari NH, Castro RR, Girao VC, pompeu MM, Feitosa JP *et al.* (2009). *Coed glucosamine and chondroitin sulfate provides functional and structural benefit in the anterior cruciate ligament transaction model*. *Clin Rheumatol.* 28 (3): 109 -117.
- ❖ Slater DL, Berger L, Newton R, Moore G, Bennet P. (1994). *The relative abundance of type 1 to type 2 cyclo-oxygenase mRNA in human amnio at term*. *Biochem. Biophys. Res Comun.* 198: 304-308.

- ❖ Smith CM y Reynard AM. (1992). *Textbook of pharmacology*. Edit Saunders College Co. Philadelphia U.S.A. 401-430.
- ❖ Soares PC, Lourenca NF, Castro LJ. (2006). *Inhibition of pain behaviour by GABA_B receptors in the thalamic ventrobasal complex, effect on normal rats subjected to the formalin test of nociception*. Brain Research. 1115 (1): 3747.
- ❖ Syntex. (1987). *Inflamación y antiinflamatorios: actualizaciones*. Simposium. 23: 29, 61-83, 97-99.
- ❖ Tallarida RJ, Murray RB. (1981). *Manual of pharmacologic calculations with computer programs*. Springer-Verlag, New York; Heidelberg, Berlin.
- ❖ Tartaglia LA, Goedel DV *et al.* (1993). *Stimulation of human T-Cell proliferation by specific activation of the 75-kDa tumor necrosis factor receptor*. J Immunol. 151: 4637-4641.
- ❖ Terence JC, Marian EF, Jonh EM, Suntanu D, Ronald M. (1993). *The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioural pain rating*. Elsevier Science. 54: 43-50.
- ❖ Torregrosa ZS. (1994). *Mecanismos y vías del dolor*. Universidad Católica de Chile. 23 (3).
- ❖ Toshiro D, Katsuya M, Tomoya K Naoyo M, Norimitsu M. (2009). *Glycine transporter inhibitors as a novel drug dicoverly for neuropathic pain*. Pharmacology and Terapeutics. 123: 54-79.
- ❖ Uebelhart D. (2008). *Clinical review of chondroitin sulfate in osteoarthritis*. Osteoarthritis and cartilage. 16; S19-S21.
- ❖ Vetter G. (1987). *Double-blind comparative clinical trial with S-adenosylmethionine and indomethacin in the treatment of osteoarthritis*. Am J Med. 83: 78-80.
- ❖ Violin BV, Kompantsev DV, Pogorely VE, Makarova LM, Kompantseva EV, Leonova VN *et al.* (2007). *Effect of glucosamine sulphate on the analgesic and ulcerogenic activity of ketoprofen*. Eksp Lin Farmakol. 70 (3): 53-55.
- ❖ Waldmann R *et al.* (1997). *Dolor agudo. Mecanismos neurofisiológicos*. Nature 1997; 386: 173-177.

- ❖ Wallace JL, Granger DN. (1992). *Pathogenesis of NSAID gastropathy: Are neutrophils the culprits?* *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 129-133.
- ❖ Walsh AJ, O'neill CW, Lotz JC. (2007). *Glucosamine HCl alters production of inflammatory mediators by rat intertebal disc cells in vitro.* *Spine J.* 7(5): 601-608.
- ❖ Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, Bukasa A, Mitchell JA, Vane JR. (1999). *Nonsteroid drug selectives for cyclooxygenase-1 rather than cyclooxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: A full in vitro analysis.* *Proc, Natl. Acad. Sci.* 96: 7563-7568.
- ❖ Wheeler MD, Ikejema K, Enomoto N, Stacklewitz RF, Seabra V, Zhong Z *et al.* (1999). *Glycine: a new anti-inflammatory immuninutrient.* *Cell Mol Life Sci.* 56(9-10): 843-56.
- ❖ Williamson ME, Okpako TD. (1996). *Evans R. Pharmacological Methods in Phytotherapy Research: Selection, Preparation and Pharmacological Evaluation of Plant Material.* John Wiley & Sons. 1: 131-155.
- ❖ Zimmerman, M. (1986). *Physiological mechanisms of pain and its treatment.* *Clinique Anesthesiology und Intensive therapy.* 32: 1-19.