



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**"DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANALGÉSICO Y ULCEROGÉNICO DE KETOROLACO SOLO Y EN  
COMBINACIÓN CON UN BIOFLAVONOIDE EN UN MODELO DE DOLOR DE TIPO ARTRITIS GOTOSA  
EN RATA"**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**  
**NANCY MUCIÑO GUTIÉRREZ**

**ASESOR DEL TEMA:**

**Dra. Guadalupe Esther Ángeles López**

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

**Dra. Rosa Ventura Martínez**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX**

**AÑO 2022**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**PRESIDENTE:** Dr. Andrés Navarrete Castro  
**VOCAL:** Dr. José Eduardo Roa Coria  
**SECRETARIO:** Dra. Guadalupe Esther Ángeles López  
**1er. SUPLENTE:** Profesor: Víctor Hugo Aviles Rosas  
**2° SUPLENTE:** Profesor: Itzel Susana De La Rosa Lara

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO 28, DESARROLLO DE FÁRMACOS. DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA.  
FACULTAD DE MEDICINA. UNAM**

**ASESOR DEL TEMA:**

**Dra. Guadalupe Esther Ángeles López**

**Firma**



**SUPERVISOR TÉCNICO:**

**Dra. Rosa Ventura Martínez**

**Firma**



**SUSTENTANTE (S):**

**Nancy Muciño Gutiérrez**

**Firma**



**Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM.**

**Clave del proyecto: IN201820**

**NOMBRE DEL PROYECTO: Estudio de la interacción farmacológica de bioflavonoides de origen natural con analgésicos antiinflamatorios no esteroideos de uso clínico.**

# AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento especial a todas las ratitas que hicieron posible este proyecto y muchos más, les agradezco y las valoro mucho.

A mi asesora, la doctora Guadalupe Esther por apoyarme tanto, por sus consejos, paciencia, recomendaciones y enseñanzas tanto académicas como personales.

A la doctora Rosa Ventura por apoyarme en este proyecto, por sus consejos, su tiempo y enseñanzas.

A mi equipo de laboratorio, que me apoyaron en los experimentos y por hacer de mi estadía en el laboratorio, días muy divertidos.

A mis padres, por creer en mí y nunca dejarme sola. Sabiendo que no existirá una forma de agradecer una vida de sacrificio y esfuerzo, quiero que sientan que el objetivo logrado también es suyo y que la fuerza que me ayudó a conseguirlo fue su apoyo, con cariño y admiración.

A mis hermanos y a mi perrito, por ser mi soporte y mi ejemplo a seguir, por apoyarme y enseñarme que los éxitos son las pequeñas cosas del día a día que nos ponen feliz el corazón y el alma. Los amo.

A mis roomies, por estar siempre en peores y mejores momentos, por ser mi familia y hacer que las tardes de estudio y las noches de sushi fueran divertidas y las tardes de fiesta también. Siempre los llevaré en mi corazón.

A Salvador por ser parte tan importante en mi vida, por ser un soporte, por apoyarnos y estar en todo momento el uno para el otro, por el cariño, por las pláticas, los abrazos, las cenas y las risas.

A mis mejores amigos Axel, Lalo, África, Gadiel, Andy, por creer en mí, apoyarme en todo y por estar tanto en los momentos difíciles como en los más divertidos, por no dejarme caer, por construir la amistad más bonita y querernos tanto.

Al amor de mis días por estar en este proceso, por apoyarnos, por vernos crecer juntos y enseñarme la manera mas pura y sincera de querer.

Agradecimiento especial también para mí, por no rendirme cuando sentía que no podía más, por no detenerme y seguir luchando y esforzándome por concluir tanto este proyecto como mis proyectos personales y objetivos. Porque fueron meses complicados y ¡lo logré! Por luchar día a día hasta estar orgullosa de la mujer valiente, inteligente, sonriente, fuerte, independiente y capaz que soy ahora.



# ÍNDICE

RESUMEN .....	11
1. MARCO TEÓRICO.....	13
1.1. Dolor.....	13
1.2. Nocicepción.....	14
1.3. Fisiología del dolor .....	14
1.4. Clasificación del dolor .....	16
1.4.1. Dolor adaptativo.....	17
1.4.2. Dolor nociceptivo .....	17
1.4.3. Dolor no adaptativo o patológico .....	17
1.4.4. Dolor inflamatorio.....	18
1.4.4.1. Dolor artrítico.....	19
1.5. Artritis gotosa (gota) .....	20
1.6. Tratamiento agudo del dolor artrítico gotoso .....	21
1.6.1. Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).....	21
1.6.2. Ketorolaco .....	23
1.7. Terapias alternativas para el tratamiento de dolor .....	25
1.7.1. Quercetina (QUER) .....	26
1.7.2. Efecto antinociceptivo y anti-inflamatorio de la Quercetina .....	27
1.8. Combinación de fármacos.....	28
2. JUSTIFICACIÓN.....	30
3. HIPÓTESIS.....	31
4. OBJETIVOS.....	32
4.1. General.....	32
4.2. Específicos .....	32
5. MATERIAL Y MÉTODO .....	33
5.1. Animales .....	33
5.2. Fármacos y reactivos.....	33
5.3. Modelo de disfunción inducido por dolor en rata (PIFIR).....	33
5.4. Diseño experimental .....	35
5.4.1. Experimentos agudos.....	35

5.4.2. Experimentos subagudos .....	36
5.5. Modelo de inducción de daño gástrico con Indometacina.....	37
5.6. Análisis de datos.....	38
6. RESULTADOS .....	39
6.1. Experimento agudo .....	39
6.1.1. Efecto antinociceptivo de KET en administración individual en un modelo de disfunción inducido por dolor en rata .....	39
6.1.2. Determinación del efecto antinociceptivo de la combinación del KET (p.o) con QUER (i.p) .....	40
6.2. Experimento subagudo .....	45
6.3. Modelo de inducción de daño gástrico con Indometacina .....	50
6.3.1. Tratamiento agudo.....	50
6.3.2. Tratamiento subagudo .....	51
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	52
8. CONCLUSIONES .....	56
9. PERSPECTIVAS .....	57
REFERENCIAS.....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vía ascendente del dolor..	16
Figura 2. Clasificación del dolor de acuerdo con su mecanismo neurobiológico.	19
Figura 3. Acumulación de ácido úrico en la articulación del pie.	20
Figura 4. Mecanismo de acción de los AINEs por inhibición de la enzima COX.....	22
Figura 5. Estructura del ketorolaco trometamina.....	23
Figura 6. Estructura de la quercetina.	26
Figura 7. Administración de ácido úrico al 30 % en la pata derecha de la rata.....	34
Figura 8. A. Colocación de electrodos en almohadillas plantares de la rata. B. Cilindro rotatorio usado en el modelo PIFIR.....	35
Figura 9. Procedimiento de extracción y fijación de estómagos con formaldehído 10%. ..	37
Figura 10. Fotografías representativas del modelo de inducción de daño gástrico con Indometacina. Tratamiento agudo.....	50
Figura 11. Fotografías representativas del modelo de inducción de daño gástrico con Indometacina. Tratamiento subagudo.....	51



## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfico 1. (A) Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo obtenido con la administración oral de KET en diferentes dosis. (B) Efecto antinociceptivo en % de ABC de cada dosis de la administración oral de KET.....	40
Gráfico 2. (A) Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo obtenido con la administración de la COMB (KET en diferentes dosis por vía oral en combinación con QUER 100 mg/kg i.p). (B) Efecto antinociceptivo en % de ABC de cada dosis de la administración de la COMB. ....	41
Gráfico 3. (A) Cursos temporales del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo de la administración de KET (0.18-3.16 mg/kg p.o) y la administración de la COMB (KET 0.18-3.16mg/kg p.o con QUER 100 mg/kg i.p). (B) Efecto antinociceptivo de cada tratamiento en % ABC.....	43
Gráfico 4. (A) Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento subagudo obtenido con la administración oral de Ketorolaco en diferentes dosis. (B) Efecto antinociceptivo en % de ABC de cada dosis de la administración oral de KET. ....	46
Gráfico 5. (A) Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo vs subagudo de la administración de KET 3.16 mg/kg por vía oral. (B) Efecto antinociceptivo de cada tratamiento en % ABC.....	47
Gráfico 6. (A) Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo vs subagudo de la administración de la COMB (KET 3.16 mg/kg por vía oral y QUER 100 mg/Kg vía intraperitoneal). (B) Efecto antinociceptivo de cada tratamiento en % ABC.....	48
Gráfico 7. (A) Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento subagudo de la administración del KET 3.16 mg/kg vía oral vs COMB (KET 3.16 mg/kg p.o y QUER 100 mg/kg i.p). (B) Efecto antinociceptivo de cada tratamiento en % ABC .....	49
Gráfico 8. Área de úlcera (mm <sup>2</sup> ) producido por la administración de INDO (Indometacina 100 mg/kg p.o), SSI p.o, Vehículo (SSI p.o/SSI + Tween i.p), KET (ketorolaco 3.16 mg/kg) y COMB (KET 3.16 mg/kg p.o/QUER 100 mg/kg i.p) en el tratamiento agudo. ....	50
Gráfico 9. Área de úlcera (mm <sup>2</sup> ) producido por la administración de INDO (Indometacina 100 mg/kg p.o), Vehículo (SSI p.o/SSI + Tween i.p), QUER (100 mg/kg i.p), KET (ketorolaco 3.16 mg/kg) y COMB (KET 3.16 mg/kg p.o/QUER 100 mg/kg i.p) en el tratamiento subagudo .....	51

## ABREVIATURAS

ABC	Área bajo la curva
AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
ANADEVA	Análisis de Varianza
COMB	Combinación
COX-1	Ciclooxigenasa isoforma 1
COX-2	Ciclooxigenasa isoforma
CYP2C9	Citocromo P450 2C9
DE <sub>50</sub>	Dosis efectiva 50
dl	Decilitro
EEM	Error estándar de la media
GI	Gastrointestinal
h	Horas
i.m	Intramuscular
i.p	Intraperitoneal
IF	Índice de Funcionalidad
INDO	Indometacina
KET	Ketorolaco
kg	Kilogramo
5-LO	5-lipoxigenasa
mg	Miligramo
min	Minutos
mm <sup>2</sup>	Milímetros cuadrados
p.o	Vía oral

PG	Prostaglandina
PIFIR	Disfunción inducida por dolor en rata (por sus siglas en inglés)
QUER	Quercetina
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico
SSI	Solución Salina Isotónica
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
TXA	Tromboxanos

## RESUMEN

La artritis gotosa es una enfermedad que tiene una alta prevalencia a nivel mundial y se caracteriza por un metabolismo anormal del ácido úrico, el cual se acumula como cristales de urato en las articulaciones provocando inflamación y dolor. Este dolor de tipo inflamatorio generalmente es tratado con analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) como el diclofenaco o el ketorolaco. Sin embargo, los efectos adversos que producen los AINEs, como el daño a la mucosa gástrica, hacen que sea necesaria la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas para el manejo de este síntoma.

Los metabolitos obtenidos a partir de especies vegetales medicinales representan una alternativa terapéutica para el tratamiento del dolor. La quercetina, por ejemplo, es un flavonoide que se encuentra en varios alimentos y plantas medicinales, y que ha mostrado efecto analgésico sobre el dolor inflamatorio y en el modelo de artritis inducida por colágeno.

La combinación de fármacos nos permite optimizar la dosificación de dos fármacos administrados para obtener efectos terapéuticos mayores disminuyendo las dosis y, por lo tanto, el riesgo de efectos adversos. En ese sentido, el objetivo de este trabajo es evaluar la interacción farmacológica de varias dosis de ketorolaco (KET) con quercetina (QUER) en un modelo de dolor de tipo artritis gotosa en rata, así como también, un modelo de inducción de daño gástrico con Indometacina para evaluar la producción de úlceras en estómagos de rata con la dosis más alta de KET (3.16 mg/kg p.o) y la combinación con QUER (100 mg/kg p.o).

La quercetina es un flavonoide que se encuentra en una variedad de alimentos que incluyen manzanas, bayas, vegetales de *brassica*, alcaparras, uvas, cebollas, chalotes, té y tomates, así como muchas semillas, nueces, flores, cortezas y hojas. La quercetina también se encuentra en productos botánicos medicinales, como *Ginkgo biloba*, *Hypericum perforatum* (hierba de San Juan) y *Sambucus canadensis*.

En este estudio se evaluaron 6 dosis de KET, 0.18, 0.32, 0.56, 1.0, 1.78 y 3.16 mg/kg administrados por vía oral (p.o) de manera individual y en combinación con QUER 100 mg/kg administrador por vía intraperitoneal (i.p) en el modelo de disfunción inducido por dolor en rata (PIFIR). Lo anterior en un tratamiento de dosis única o tratamiento agudo con una n de 6 ratas. De igual manera, se evaluó la dosis más alta de KET (3.16 mg/kg p.o), la

dosis de QUER de 100 mg/kg i.p y la combinación de ambos en un tratamiento subagudo de 10 días. Al día 10 se llevó a cabo el modelo PIFIR con una n de 5 ratas.

Posterior a la evaluación subaguda en el modelo PIFIR, se extrajeron los estómagos de las ratas y se realizó el modelo de inducción de daño gástrico con Indometacina para evaluar el posible daño producido por los AINEs, tomando como control positivo una dosis única de Indometacina (INDO) 100 mg/kg p.o. No se observó un efecto gastroprotector en el tratamiento con QUER 100 mg/kg respecto al control positivo, tanto en tratamiento agudo como en tratamiento subagudo.

El mayor efecto antinociceptivo se presentó en la combinación de KET 3.16 mg/kg p.o con QUER 100 mg/kg i.p del tratamiento subagudo, alcanzando un 74.42 % del efecto y 59.09% para el tratamiento individual de KET con la dosis más alta. Entre ellos no hubo una diferencia significativa pero sí comparados con el vehículo.

En el tratamiento agudo se llegó a un máximo de efecto antinociceptivo del ketorolaco de 50.87 % y 50.56 % para la dosis de 1.78 y 3.16 mg/kg p.o, respectivamente. Así como también para el tratamiento agudo de la combinación de KET 1.78 mg/kg y KET 3.16 mg/kg p.o con QUER 100 mg/kg i.p donde se obtuvo un 50.39 % y 54.311 % de antinocicepción, respectivamente. Existe una diferencia significativa únicamente entre estas dosis y el vehículo, tanto en el tratamiento individual de KET como en la combinación con QUER 100 mg/kg. Por otro lado, no hay una diferencia significativa entre el KET administrado individualmente, respecto a la combinación con QUER 100 mg/kg i.p.

Los resultados obtenidos indican que la administración de QUER (100 mg/kg) i.p en combinación con KET no mejoraron el efecto analgésico del ketorolaco solo. Además de que la quercetina no disminuyó el efecto ulcerogénico del ketorolaco.

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1. Dolor

La Asociación Internacional para el estudio del dolor (IASP) lo define como, “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada o que parece asociada con un daño tisular real o potencial (IASP, 2020). Además, esta experiencia es individual, multifactorial influenciada por la cultura, los eventos anteriores de dolor, creencias, estados de ánimo y la capacidad de hacer frente a él (Sánchez y cols., 2014).

El dolor tiene al menos tres funciones: 1) advertir al individuo de la existencia de daño tisular real; 2) advertir al individuo de la probabilidad de que el daño tisular esté a punto de ocurrir al darse cuenta de que un estímulo tiene el potencial de causar tal daño; y 3) advertir a un grupo social de peligro tan pronto como exista para cualquiera de sus miembros (Le Bars, y cols., 2001).

Por su gran repercusión socioeconómica el dolor se considera uno de los principales problemas de salud pública. Dicha repercusión se manifiesta, por ejemplo, en el hecho de que supone uno de los motivos más frecuentes de consulta médica y de utilización de los servicios de salud, mientras que en lo que a gastos de medicamentos se refiere, los analgésicos constituyen uno de los primeros renglones de consumo, tanto por prescripción médica como por automedicación (Hernández, 2010).

Diversos autores han considerado al dolor como un problema de salud pública. Sin embargo, en nuestro país carecemos de estudios epidemiológicos que documenten el impacto del dolor en la población general. No obstante a lo anterior, se ha sugerido que este problema de salud afecta del 25 al 29 % de la población general a nivel internacional. Si consideramos que México cuenta con más de 105 millones de habitantes, entonces es posible que poco más de 28 millones de habitantes padezca este tipo de dolor (Covarrubias-Gómez y cols., 2010).

## 1.2. Nocicepción

A principios del siglo XX, Sherrington (1910) introdujo el término nocicepción (del latín *nocere*, "dañar"). La nocicepción es el proceso neural que implica la transducción y transmisión de un estímulo nocivo al cerebro a través de una vía de dolor. El dolor es el resultado de una interacción entre los sistemas de señalización, la modulación desde los centros superiores y la percepción única del individuo (Steeds, 2016).

El proceso nociceptivo ocurre solo en respuesta a la activación de un subconjunto específico de neuronas sensoriales periféricas de alto umbral denominados nociceptores. Esta estimulación juega un papel esencial, alertando al individuo de la presencia de estímulos potencialmente dañinos. En esta situación, la nocicepción tiene un papel protector, permitiendo que el individuo reaccione adecuadamente al estímulo y minimice sus efectos (Costigan & Woolf, 2000).

## 1.3. Fisiología del dolor

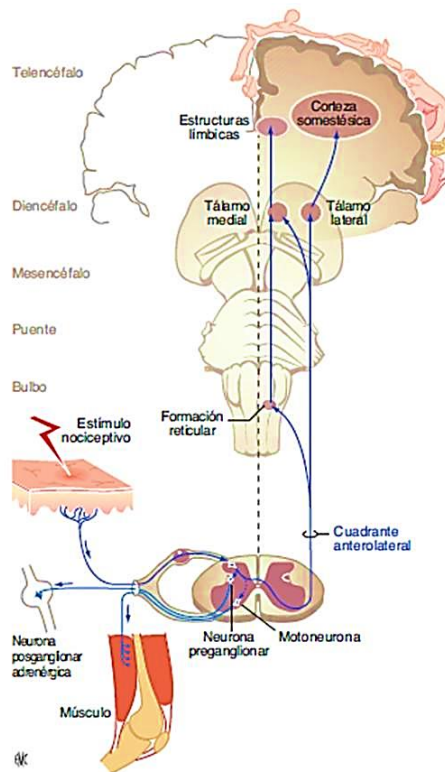
La estimulación mecánica, química o térmica nociceptiva reclutará nociceptores periféricos que conducen la señal nociceptiva en la neurona sensorial primaria al asta dorsal de la médula espinal. En el asta dorsal, la neurona primaria hará un contacto sináptico con la neurona secundaria o de proyección. Las neuronas secundarias forman los tractos espinotalámico (lateral) y espinoreticular (medial) que se cruzarán inmediatamente en la médula espinal y enviarán proyecciones aferentes a los centros superiores. Una gran proporción de neuronas aferentes formará una segunda sinapsis en los núcleos lateral y medial del tálamo, que posteriormente harán contacto sináptico con las neuronas terciarias (Marchand, 2008).

Los impulsos nociceptivos se transmiten desde la periferia a la médula espinal a través de fibras nerviosas aferentes primarias que pueden estar sin mielina o mielinizadas. Los componentes del sistema nervioso central (SNC) de esta vía constituyen conexiones anatómicas particulares en la médula espinal, el tronco encefálico, el tálamo y la corteza, la "vía del dolor" (Figura 1), que vincula la entrada sensorial generada en aferentes primarios de alto umbral con esas partes de SNC responsable de la conciencia de las sensaciones dolorosas (Goleman y cols., 2015).

Las fibras nerviosas no mielinizadas son fibras C, de diámetro pequeño con diámetros en el rango de 0.4–1.2  $\mu\text{m}$ . Las fibras nerviosas aferentes primarias mielinizadas son las fibras A $\delta$  (2–6  $\mu\text{m}$  de diámetro), mientras que las fibras nerviosas finamente mielinizadas son las fibras A $\beta$  (> 10  $\mu\text{m}$  de diámetro). Las fibras C aferentes primarias y las fibras A $\delta$  son responsables de la transmisión de estímulos nocivos, mientras que las fibras A $\beta$  transmiten estímulos mecánicos inocuos como el tacto. En pocas palabras, los nociceptores recopilan información de estímulos nocivos que se transmiten por las fibras C y las fibras A $\delta$  a través de los ganglios de la raíz dorsal a las láminas superficiales I / II del asta dorsal de la médula espinal. Las fibras A $\delta$  transmiten impulsos desde el asta dorsal a las láminas más profundas (III – IV) de la médula espinal y a los centros superiores del cerebro a través de los tractos espinotalámicos. Las neuronas del asta dorsal comprenden neuronas de proyección, interneuronas locales y neuronas propioespinales (Boyatzis y cols., 2015).

Estas neuronas también están involucradas en la activación de vías inhibitorias descendentes endógenas que modulan las neuronas del asta dorsal. La plasticidad sináptica es dependiente de la actividad en la médula espinal que genera hipersensibilidad al dolor posterior a la lesión junto con los mecanismos celulares y moleculares responsables de esta forma de plasticidad neuronal se denominan "sensibilización central". El sistema nervioso periférico (SNP) está englobado por el término "sensibilización periférica" y abarca los cambios en los niveles de expresión de receptores, canales iónicos y neurotransmisores (Goleman y cols., 2015).





**Figura 1. Vía ascendente del dolor.** Imagen obtenida de (Plaghki y cols., 2018).

#### 1.4. Clasificación del dolor

Existen diversas formas de clasificar el dolor, las cuales incluyen por ejemplo el tiempo de evolución que puede ser agudo o crónico. El dolor agudo se define como “dolor de reciente aparición y duración limitada, por lo regular tiene una relación temporal y causal identificable a una lesión o enfermedad”, mientras que al dolor crónico lo podemos definir como “comúnmente persistente más allá del tiempo de curación de una lesión y con frecuencia puede que no haya ninguna causa claramente identificable” (Marchand, 2008). De acuerdo a su intensidad, puede considerarse como moderado o severo, por su referencia puede ser localizado o difuso (Costigan & Woolf, 2000).

Otra de las clasificaciones es de acuerdo con los mecanismos neurobiológicos (figura 2), de los cuales se describirán a continuación.

### **1.4.1. Dolor adaptativo**

Este tipo de dolor se encarga de la supervivencia de las personas, debido a que protege al cuerpo humano de lesiones o potenciales lesiones, que pudieran afectar a algún organismo (Woolf, 2010).

### **1.4.2. Dolor nociceptivo**

Es generado por una lesión identificable externa que causa daño tisular y es acompañado por la estimulación de los nociceptores en las estructuras somáticas o viscerales (Steeds, 2016) en una situación en la que el SNC y el sistema nervioso periférico (SNP) estarían estructural y funcionalmente intactos (Speciali y cols., 2016). Es un dolor de alto umbral que solo se activa en presencia de estímulos intensos, su función protectora genera acciones inmediatas. El dolor nociceptivo se presenta como algo que debe evitarse al momento, y cuando se activa, el sistema anula la mayoría de las otras funciones neuronales (Woolf, 2010).

Puede ocurrir como resultado de una estimulación nociva mecánica, térmica o química y se describe de diversas maneras como un tipo de sensación dolorosa o punzante. El dolor nociceptivo comprende las cuatro etapas principales de la fisiología del dolor: transducción (es decir, acción de los receptores en la periferia), transmisión (es decir, potenciales de acción a lo largo de los axones), percepción (es decir, procesamiento cortical de la entrada nociceptiva) y modulación (es decir, acoplamiento de circuitos descendentes). Los estímulos nocivos se detectan primero mediante nociceptores mecánicos, térmicos y químicos que se encuentran en las terminaciones nerviosas especializadas presentes en la piel, las vísceras y otros órganos internos o externos (Goleman y cols., 2015).

### **1.4.3. Dolor no adaptativo o patológico**

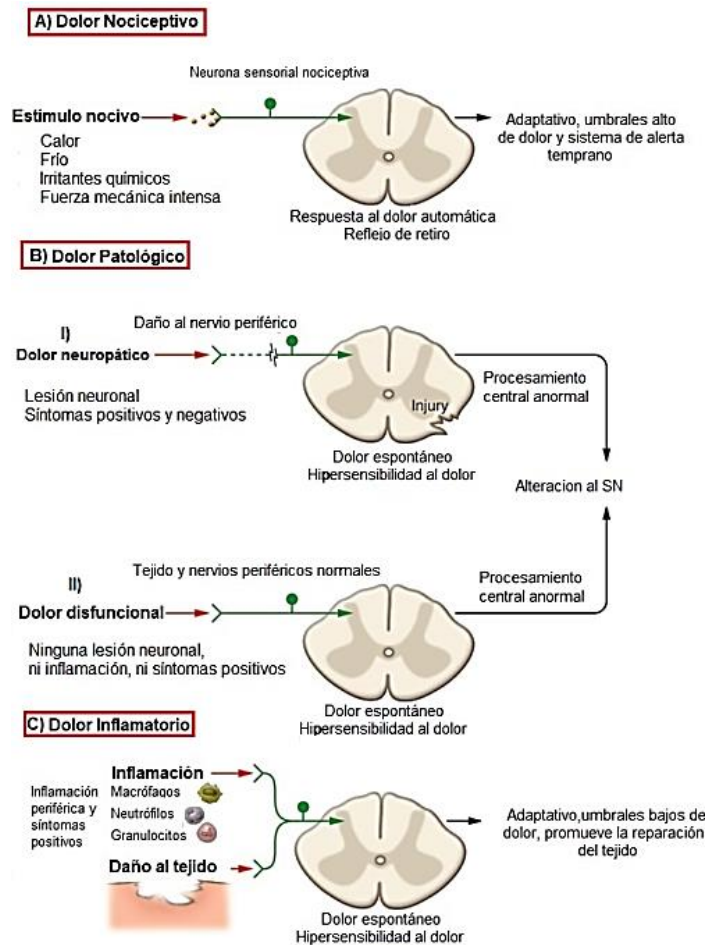
Es el dolor que no es protector, sino mal adaptativo, como resultado del funcionamiento anormal del sistema nervioso. Este dolor patológico, que no es un síntoma de algún trastorno, sino más bien un estado de enfermedad del sistema nervioso, puede ocurrir por

una lesión o enfermedad del sistema somatosensorial (Woolf, 2010) pero también en condiciones en las que no hay tal daño o inflamación (dolor disfuncional). El dolor patológico es en gran medida la consecuencia de las señales sensoriales amplificadas en el sistema nervioso central y es un dolor de umbral bajo. Por analogía, si el dolor fuera una alarma de incendio, el tipo nociceptivo se activaría adecuadamente solo por la presencia de calor intenso, el dolor inflamatorio se activaría por las temperaturas cálidas y el dolor patológico sería una falsa alarma causada por un mal funcionamiento del sistema en sí (Woolf, 2010).

#### **1.4.4. Dolor inflamatorio**

Es causado por una lesión del tejido, ya sea por trauma, calor, infección, toxinas o tumores. Una vez dañado el tejido, las células infiltradas del sistema inmunológico liberan múltiples mediadores químicos. Los mediadores forman una mezcla conocida como sopa inflamatoria, compuesta de citocinas, quimiocinas, prostaglandinas, bradicininas, purinas, iones y aminos. Las terminales periféricas de los nociceptores expresan receptores para algunos de los mediadores inflamatorios. Dicha expresión de receptores permite el incremento de la sensibilidad de los nociceptores en el tejido inflamado, esto se denomina sensibilización periférica. La sensibilización periférica contribuye a la hipersensibilidad característica del dolor inflamatorio (Chen y cols., 2013).

Este tipo de dolor es una de las características cardinales de la inflamación. Si bien este dolor es adaptativo, aún debe reducirse en pacientes con inflamación continua, como con la artritis reumatoide o en casos de lesiones graves o extensas (Woolf, 2010).



**Figura 2. Clasificación del dolor de acuerdo con su mecanismo neurobiológico.** A) Transmisión del dolor nociceptivo; B) Transmisión del dolor patológico, el cual puede ser causado por daño al sistema nervioso (Neuropático); o bien, por su función anormal (Disfuncional) y, C) Transmisión del dolor inflamatorio que involucra la activación del sistema inmune, promueve la reparación y cicatrización del tejido (Modificado a partir del artículo de Woolf, 2010).

#### 1.4.4.1. Dolor artrítico

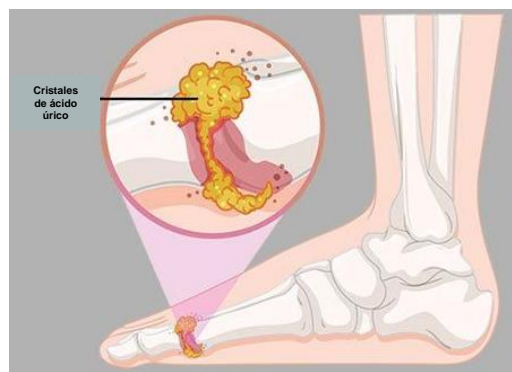
El dolor artrítico se incluye dentro del dolor inflamatorio y se considera un problema de salud pública, que desafortunadamente ha incrementado a nivel mundial. Una de las enfermedades que se encuentra relacionada con este tipo de dolor es la artritis reumatoide gotosa (Chen y cols., 2013).

## 1.5. Artritis gotosa (gota)

La artritis gotosa es una enfermedad metabólica que se caracteriza por hiperuricemia (concentraciones séricas de ácido úrico  $> 6.8$  mg/dl), lo que da lugar a depósitos de cristales de urato mono sódico en diferentes tejidos como en la sinovia, bursas, tendones y los riñones. Las articulaciones más afectadas son las de las extremidades inferiores, principalmente la primera articulación metatarsofalángica (figura 3). Otras articulaciones afectadas comúnmente son los tobillos, los talones, las rodillas, las muñecas, los dedos y los codos (Olivé & Sallés, 2003). Los depósitos pueden observarse en forma de tofos a la exploración física o radiológica (Secretaría de Salud, 2009).

La hiperuricemia se debe a la producción excesiva de uratos, a la disminución de la excreción de uratos o a la combinación de ambas. La producción excesiva puede deberse a una alteración genética, a alguna enfermedad con un elevado recambio celular o a la ingestión elevada de purinas en la dieta (Olivé & Sallés, 2003).

El ácido úrico es el producto final de la degradación de las purinas. Algunos animales, pero no los humanos, producen una enzima denominada uricasa que degrada el ácido úrico en alantoína (un producto muy soluble). En cambio, aunque los seres humanos también poseemos el gen de la uricasa éste es inactivo, lo que genera el riesgo de que los valores séricos de uratos aumenten y se produzcan depósitos de cristales de ácido úrico (Figura 3) (Olivé & Sallés, 2003).



**Figura 3. Acumulación de ácido úrico en la articulación del pie.** Imagen modificada de (Levine, 2018).

Suele presentarse de forma brusca por la noche o madrugada y los síntomas y signos inflamatorios aparecen en 12 o 24 horas. El dolor es intenso, se acompaña de calor, tumefacción e impotencia funcional, eritema, también puede acompañarse de síntomas generales, como malestar y fiebre, generalmente bien tolerados por el paciente (Olivé, & Sallés, 2003).

Afecta al 1-2 % de los adultos y es la artropatía inflamatoria más común en los hombres. La prevalencia incrementa con la edad, por arriba del 7 % en hombres mayores de 65 años y 3 % en mujeres mayores de 85 años. La prevalencia de gota es de 8.4/1000 personas de todas las edades (Secretaría de Salud, 2009). En México, se estima que la prevalencia de la gota es de 0.3 % (Peláez-Ballestas y cols., 2011).

## **1.6. Tratamiento agudo del dolor artrítico gotoso**

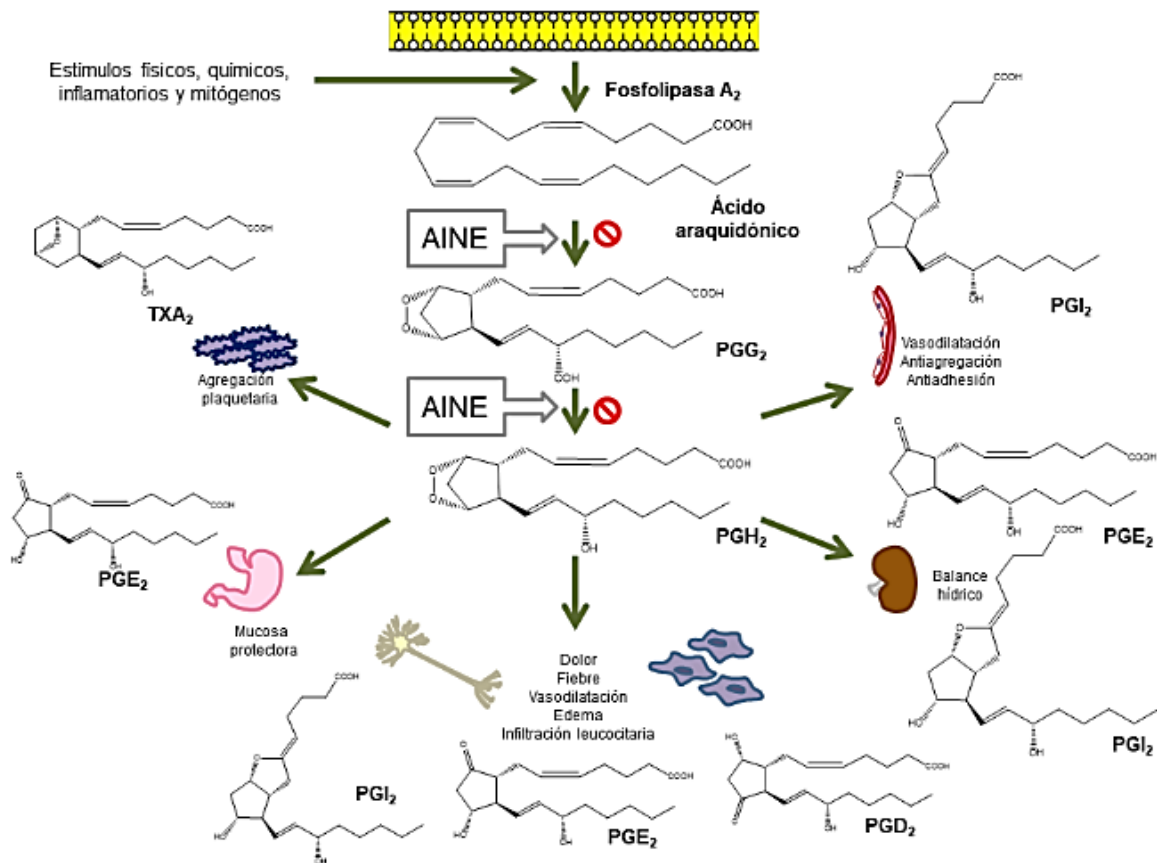
En general el tratamiento para el ataque agudo de la artritis gotosa, incluye medicamentos que alivian los síntomas de inflamación como los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los que pueden modificar la enfermedad como el hipo-uricemiante colchicina (Olivé, A. , Sallés, 2003).

### **1.6.1. Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)**

Los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), actualmente constituyen uno de los grupos farmacológicos más prescritos y consumidos en el mundo. Los factores para el consumo masivo van desde la condición de su venta sin necesidad de receta médica, uso en diversos síndromes dolorosos, prevención de eventos isquémicos cardiovasculares, cerebrovasculares, síntomas asociados con la osteoartritis y otras afecciones musculoesqueléticas crónicas.

Su mecanismo de acción se lleva a cabo al inhibir indistintamente a las isoformas de la enzima ciclooxigenasa, COX-1 y COX-2 (figura 4) (Oscanoa & Lizaraso, 2015). La COX-1 es una enzima constitutiva involucrada en funciones fisiológicas como el mantenimiento de la protección gástrica, flujo renal y otros como la agregación plaquetaria, migración de neutrófilos y en el endotelio vascular. Por el contrario la COX-2, es una isoenzima inducida

por los mediadores de la inflamación en condiciones patológicas (Rivera-Ordóñez, 2006). Las COX 1 y 2 catalizan la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas (PGs) (Bertolacci y cols., 2014).



**Figura 4. Mecanismo de acción de los AINEs por inhibición de la enzima COX.** (Guadarrama, 2018).

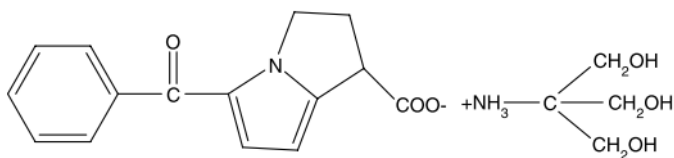
El daño gastrointestinal asociado con los AINEs ha sido ampliamente documentado. Los problemas gastrointestinales como el daño asintomático de la mucosa, el dolor abdominal o la dispepsia, y las complicaciones graves, como úlceras o hemorragias, son hallazgos comunes en pacientes tratados con AINEs. Los AINEs también se han asociado con efectos

nocivos en el intestino delgado, incluida la inflamación asociada con la pérdida de sangre y proteínas, ulceración, perforación de intestino grueso, diarrea y hemorragia (Griffin, 1998).

La úlcera péptica es una patología del tracto gastrointestinal superior, caracterizado por daño o lesión en la pared gástrica o duodenal, que penetra más allá de la capa muscular. Cerca del 25 % de los pacientes con úlcera péptica tienen una complicación severa como hemorragia, perforación u obstrucción gástrica. Las complicaciones son más comunes en pacientes adultos y en pacientes que toman AINEs. Es por eso que el utilizar AINEs, en menor dosis resulta de suma importancia para la prevención de este tipo de complicaciones (Hernández, 2008).

### 1.6.2. Ketorolaco

El ketorolaco (KET) está estructuralmente relacionado con la indometacina y es miembro del grupo del ácido heteroarilacético. Es un AINE quiral comercializado como la mezcla racémica, en forma de sal de trometamina (figura 5). Se administra por vía oral, sublingual, intramuscular, intravenosa y como una solución oftálmica tópica (Sinha y cols., 2009).



**Figura 5. Estructura del ketorolaco trometamina.** (Sinha y cols., 2009).

El ketorolaco inhibe de manera no selectiva a la COX, por lo que impide tanto la formación de PGs pro-inflamatorias como la producción de PG protectoras de la mucosa gástrica provenientes de COX-1. Este fenómeno explica muchos de los efectos adversos secundarios a la administración del ketorolaco (Wray, 2010).



Su eficacia analgésica se ha estudiado ampliamente para el tratamiento del dolor moderado a severo en muchos entornos clínicos. Se ha demostrado que el ketorolaco oral proporciona una analgesia igual o mejor que la aspirina, el acetaminofen y el dextropropoxifeno con acetaminofen (López Muñoz y cols., 2004). El KET también parece inhibir la agregación plaquetaria inducida por el ácido araquidónico y el colágeno (Sinha y cols., 2009).

Se descubrió que el KET era 36 veces más potente que la fenilbutazona, aproximadamente el doble de potente que la indometacina y 3 veces más potente que el naproxeno para suprimir el edema inducido por carragenina en ratas (Sinha y cols., 2009).

En algunos estudios clínicos, pequeñas dosis del fármaco han mostrado una analgesia igual o mejor que los fármacos como el naproxeno sódico, la morfina, entre otros. La actividad antiinflamatoria de KET es inferior a su actividad analgésica (Sinha y cols., 2009).

Debido a su actividad analgésica, su seguridad, su propiedad no sedante y su eficacia en función de los costos en comparación con los narcóticos en algunas situaciones clínicas, se recomienda como una alternativa apropiada para los analgésicos opioides (morfina y meperidina). Parece ser una excelente opción para tratar el dolor moderado a severo (Sinha y cols., 2009).

Los efectos adversos más frecuentes de KET son trastornos gastrointestinales que incluyen sangrado gastrointestinal (especialmente en los ancianos), perforación y ulceración péptica. En algunos casos, también se asocia con dolor en el sitio de inyección (Sinha y cols., 2009).

El ketorolaco se absorbe rápidamente y la concentración plasmática máxima del fármaco se alcanza a los 30-40 min después de la administración oral y 45-50 min después de la administración i.m. La vida media plasmática media del ketorolaco es consistente entre oral y administración i.m., que varía de 5.21 a 5.56 h. La biodisponibilidad del KET se estimó en 87 %. La insuficiencia hepática no tiene ningún efecto sobre la vida media, mientras que aumenta significativamente en pacientes con insuficiencia renal. La principal vía metabólica en humanos es a través de la conjugación de ácido glucorónico y la hidroxilación en el hígado. Los productos metabólicos, junto con algunos medicamentos, se excretan en la orina sin modificaciones (Sinha y cols., 2009).

El KET se absorbe completamente en la administración oral y la farmacocinética es similar a la de la administración intramuscular. Muchas personas muestran una absorción más rápida con la administración oral del medicamento, que siempre se prefiere para el inicio más rápido del alivio del dolor (Sinha y cols., 2009).

## 1.7. Terapias alternativas para el tratamiento de dolor

Debido a los efectos secundarios adversos de los AINEs, se ha estudiado la medicina tradicional y los productos naturales utilizados en la medicina popular como posibles alternativas a estos medicamentos; estos tienen una toxicidad mínima relacionada con el tracto gastrointestinal (Ambriz-Pérez y cols., 2016).

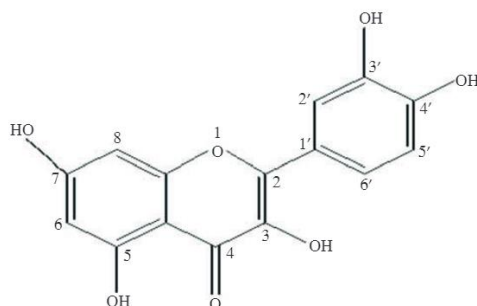
Sin embargo, solo una cantidad relativamente pequeña de plantas mexicanas se han estudiado para su posible aplicación médica y es menor aún el número de plantas medicinales sobre las que se han realizado estudios de eficacia clínica y seguridad de sus principios activos y/o de los extractos que de ellas se obtienen (Mariscal, 2014).

Tan sólo en México, se estima que entre el 80 y 90 % de la población recurre a la herbolaria para el tratamiento de algunas enfermedades, cifra similar a la población mundial que recurre a la misma (Carrillo y cols., 2010).

En ese sentido, un estudio previo de la especie vegetal *Tilia americana* var. *mexicana*, comúnmente conocida como “tila”, produjo un efecto antinociceptivo en un modelo de dolor artrítico y se encontró que su efecto farmacológico se encontraba mediado en parte por la presencia del flavonoide quercetina (Martínez y cols., 2009).

### 1.7.1. Quercetina (QUER)

La quercetina (Figura 6) es la forma de aglicona (flavonoide sin azúcar) de varios glucósidos flavonoides, como la rutina y la quercitrina, y se encuentra en plantas como los cítricos, las cebollas y el té de trigo sarraceno. Los alimentos ricos en quercetina incluyen cacao en polvo, arándanos, col rizada, apio, brócoli, lechuga, tomates (rojo maduro), *Ginkgo biloba* y zanahorias (Gupta y cols., 2016).



**Figura 6. Estructura de la quercetina.** (Gupta y cols., 2016).

Solo el 2 % de la quercetina se absorbe después de una dosis oral. El principal determinante responsable de la absorción de quercetina glucósido/conjugado es la naturaleza del resto de azúcar presente en él. Por ejemplo, la absorción de quercetina glucósido se produce desde el intestino delgado, mientras que la quercetina rutinosida se absorbe en el colon después de la eliminación del resto de carbohidratos a través de la acción enzimática bacteriana sobre él (Gupta y cols., 2016).

Después de la absorción en el intestino delgado, la quercetina se transporta al hígado a través de la circulación portal, donde experimenta el metabolismo de primer paso. Se une fuertemente a la albúmina en plasma. Después de la ingestión de quercetina, el nivel plasmático máximo se alcanza en 0.7–7.0 h (Gupta y cols., 2016)

La quercetina se metaboliza en el hígado y el intestino. El metabolismo de la quercetina absorbida ocurre principalmente en el hígado, mientras que la parte no absorbida es metabolizada por microorganismos intestinales. La biotransformación de la quercetina ingerida ocurre por glucuronidación, hidroxilación, metilación y sulfonilación. En las células epiteliales intestinales, se encuentra que la quercetina se metaboliza en quercetina-3-glucuronido y quercetina-7-glucurónido. Los glucurónidos de quercetina también se

metabolizan aún más a través de 2 vías: la primera vía implica la metilación del grupo funcional catecol de ambos glucurónidos de quercetina por metiltransferasas; el segundo implica la hidrólisis inicial del glucurónido por la enzima beta-glucuronidasa endógena, y luego la sulfatación a quercetina-3-sulfato (Gupta y cols., 2016). Debido a la posible inhibición de la enzima CYP2C9, la quercetina puede afectar el metabolismo y la farmacocinética de los sustratos de CYP2C9 en humanos (Bedada & Neerati, 2018).

Después de la administración oral, la quercetina absorbida se excreta rápidamente en la bilis y la orina dentro de las 48 h como conjugados de glucurónido y sulfato de quercetina, 3'-O-monometil quercetina y 4'-O-monometil quercetina. La vida media de eliminación de la quercetina es de aproximadamente 25 h. La eliminación de quercetina se retrasa significativamente después de su ingestión con dietas enriquecidas en grasa (Gupta y cols., 2016).

### **1.7.2. Efecto antinociceptivo y anti-inflamatorio de la Quercetina**

Se ha descubierto que la quercetina tiene efectos antioxidantes e inhibitorios sobre las enzimas productoras de inflamación, ciclooxigenasa y lipoxigenasa y la posterior inhibición de mediadores inflamatorios, incluidos los leucotrienos y las prostaglandinas. La quercetina conduce a la inhibición del factor de necrosis tumoral de la citocina  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), que es una de las principales citocinas proinflamatorias involucradas en la patogénesis de la enfermedad inflamatoria crónica. TNF- $\alpha$  regula el crecimiento, la proliferación, la diferenciación y la viabilidad de los leucocitos activados. Por lo tanto, la quercetina puede usarse ampliamente como terapia anti-TNF- $\alpha$  y posee una actividad antiinflamatoria potencial (Gupta y cols., 2016).

La quercetina se encuentra en muchos medicamentos y alimentos a base de hierbas y presenta actividad antiinflamatoria a través de la modulación de enzimas y vías que producen mediadores de la inflamación. Se ha demostrado que la quercetina produce un efecto protector contra la úlcera gástrica en ratas. Además, estudios anteriores han informado que la quercetina se ha propuesto como posible candidato para minimizar las úlceras gástricas. Por lo tanto, la protección gástrica con agentes naturales como la quercetina puede ser una estrategia factible para minimizar las úlceras gástricas inducidas por AINEs (Bedada & Neerati, 2018).

La quercetina también muestra propiedades anti-gota debido a su acción inhibitoria sobre la enzima xantina oxidasa, lo que conduce a una menor formación de ácido úrico y por lo tanto una disminución de la inflamación. Además de esto, también ha demostrado su eficacia en la prostatitis, la cistitis intersticial, la degeneración macular relacionada con la edad y los efectos secundarios extrapiramidales inducidos por neurolépticos (Gupta y cols., 2016).

Además, el extracto acuoso de *T. americana* var. *mexicana* que contenía quercetina, mostró un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis con dosis de 30 y 100 mg/kg en el modelo PIFIR. El extracto acuoso también produjo una disminución de la nocicepción a una dosis de 100 mg/kg en la prueba de formalina (Martínez y cols., 2009).

La quercetina se considera un flavonoide antiinflamatorio natural con eficacia clínica que se ha aislado como un compuesto bioactivo común presente en plantas medicinales utilizadas para tratar el dolor y la inflamación. Sus acciones antinociceptivas y antiinflamatorias se han evaluado en diferentes modelos de nocicepción química y térmica, como las pruebas de contracción abdominal, dolor inducido por glutamato y capsaicina, ensayo de inmersión en la cola y pruebas de placa caliente. La quercetina también produjo un efecto moderado en la prueba de formalina y un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis en el modelo PIFIR (modelo de dolor de tipo artritis gotosa inducido por disfunción en ratas), sugiriendo un efecto antinociceptivo sobre el dolor artrítico (Martínez y cols., 2009).

## **1.8. Combinación de fármacos**

La ventaja potencial del uso de la terapia combinada es que los efectos analgésicos se pueden maximizar mientras se minimiza la incidencia de efectos secundarios adversos. Por lo tanto, el uso de combinaciones de medicamentos que ofrecen sinergia analgésica debería permitir una reducción en la dosis requerida y disminuir la incidencia de efectos adversos (López-Muñoz y cols., 2004).

En cuanto al conocimiento de la medicina tradicional, México es reconocido como el segundo país más importante del mundo, con una gran tradición ancestral y riqueza en el uso de plantas medicinales, después de China (Lucía y cols., 2021). La combinación de fármacos y plantas medicinales es una práctica que se realiza en México de manera cotidiana (Sprouse & Van Breemen, 2016). Cabe señalar, que las especies vegetales

medicinales poseen un gran número de metabolitos secundarios, los cuales interactúan a nivel farmacocinético y farmacodinámico con los fármacos que los pacientes utilizan, lo cual conlleva a un posible efecto terapéutico o a desencadenar un efecto tóxico (Brantley y cols., 2014).

Es por esta razón, que la investigación preliminar de las interacciones de fármacos con metabolitos secundarios de especies vegetales medicinales es de vital importancia, para conocer el tipo de interacciones que ocurren.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son los más utilizados para tratar el dolor inflamatorio y nociceptivo. Este tipo de fármaco disminuye la producción de prostaglandinas que inducen dolor a través de la inhibición de la ciclooxigenasa (COX). En muchas patologías inflamatorias como la gota, el uso prolongado de AINEs produce importantes efectos adversos en los sistemas cardiovascular, renal y gástrico. Por esta razón, muchas personas usan este tipo de fármacos en combinación con plantas medicinales populares.

En México, el tratamiento médico de muchas patologías es a base de medicamentos, pero gran parte de la población enferma hace uso de plantas medicinales combinando su tratamiento alopático. Por esta razón es necesario realizar estudios que determinen si la combinación de estas sustancias puede resultar beneficiosa para el paciente.

### **3. HIPÓTESIS**

El efecto analgésico del ketorolaco en combinación con la quercetina tendrá un efecto mayor al del ketorolaco administrado individualmente en un modelo experimental de dolor inflamatorio tipo artritis gotosa en rata de forma aguda y subaguda. Además, permitirá disminuir los efectos adversos gastrointestinales (úlceras gástricas) del ketorolaco.



## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. General**

- Determinar el efecto analgésico de la combinación de ketorolaco con quercetina en un modelo experimental de dolor inflamatorio tipo artritis gotosa en rata. Así como en el efecto gastroprotector de la combinación de ketorolaco y quercetina en el tratamiento agudo y subagudo.

### **4.2. Específicos**

- Evaluar el efecto analgésico de 5 combinaciones de ketorolaco con quercetina (100 mg/kg) en un modelo experimental de dolor inflamatorio de tipo artritis gotosa en rata de manera aguda y subaguda.
- Establecer la actividad gastropotectora (área promedio) de la quercetina para contrarrestar la producción de úlceras gástricas como efecto adverso del tratamiento individual con ketorolaco, en comparación con el tratamiento de la combinación con quercetina en un tratamiento agudo y subagudo.

## 5. MATERIAL Y MÉTODO

### 5.1. Animales

Se utilizaron ratas de la estirpe *Wistar* macho (180-200 g) proporcionadas por el Bioterio Central de la Facultad de Medicina de la UNAM. Se mantuvieron a una temperatura controlada, bajo un ciclo de 12 h luz/oscuridad, con agua y alimento *ad libitum*. Doce horas antes de la evaluación se les retiró el alimento y se mantuvieron con libre acceso al agua. Todos los experimentos se realizaron siguiendo los lineamientos éticos de acuerdo con la guía de ética para la investigación de dolor experimental en animales (Zimmermann, 1983), y a las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio, (Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999). El protocolo fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina (CICUAL) con número: 009-2018. Cada grupo consistió en seis animales y al terminar los experimentos los animales fueron sacrificados por dislocación cervical.

### 5.2. Fármacos y reactivos

La quercetina (CAS 849061-97-8), el ácido úrico (CAS 69-93-2), el aceite mineral (CAS 8042-47-5), la indometacina (CAS 53-86-1) y en carbonato de sodio (471-34-1) se adquirieron en Sigma-Aldrich (St. Louis MO USA). El ketorolaco trometamina en ampollitas de 30 mg/ml de AMSA Laboratorios. Cloruro de sodio (CAS 7647-14-5) y éter etílico (CAS 9240-03) de la marca J. T. Baker (Ciudad de México) y Formaldehído (CAS 50-00-0) de la marca Meyer (Ciudad de México).

### 5.3. Modelo de disfunción inducido por dolor en rata (PIFIR)

Este procedimiento determina la potencia y duración de la acción analgésica producida por varias clases de compuestos midiendo su efecto sobre el dolor tónico inducido por inflamación y permite la evaluación cuantitativa de la cinética del efecto analgésico.

Un día antes del experimento fue necesario el entrenamiento de los animales, para lo cual las ratas se colocaron en un cilindro rotatorio (4 RPM) durante 2 min. Este entrenamiento se realizó cada 15 min durante una hora.

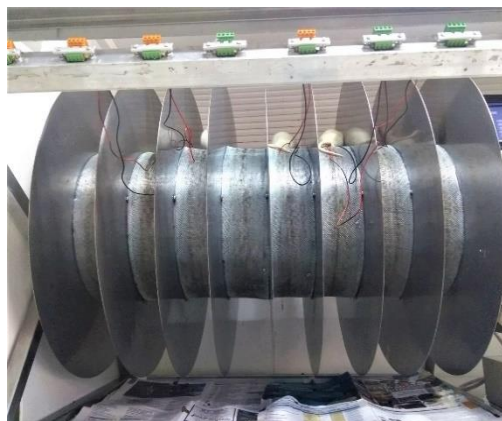
Los animales fueron anestesiados con éter etílico en una cámara de anestesia (desecador de vidrio Pirex saturado con vapores de éter). El dolor fue inducido por una inyección intra-articular de 0.05 ml de ácido úrico al 30 % suspendido en aceite mineral en la articulación de la rodilla de la extremidad posterior derecha. La suspensión se preparó suspendiendo 3.0 g de ácido úrico con 10 ml de aceite mineral en un mortero de vidrio. La inyección intra-articular se realizó a través del ligamento rotuliano utilizando una jeringa de vidrio de 1 ml (Becton, Dickinson LTDA, Brasil) con una aguja de calibre 24 de 5 mm (Figura 7). Se permitió que las ratas se recuperaran de la anestesia y 2.5 horas después se le colocó un electrodo a cada extremidad trasera entre las almohadillas plantares (Figura 8A). Posteriormente, se colocaron en un cilindro rotatorio de acero inoxidable de 30 cm de diámetro. El cilindro se hizo girar a 4 RPM, obligando a las ratas a caminar durante 2 min (Figura 8B). La variable medida fue el tiempo de contacto entre cada una de las patas traseras de la rata y el cilindro. Cuando el electrodo colocado en la pata del animal hace contacto con el piso del cilindro, se cierra un circuito y se registra el tiempo que permaneció cerrado. A estos animales se les determinó la pérdida de la funcionalidad de la extremidad trasera derecha, para que pudieran ser incluidos en el experimento. Posteriormente, se administraron los tratamientos.



**Figura 7. Administración de ácido úrico al 30 % en la pata derecha de la rata.**



**A**



**B**

**Figura 8. A.** Colocación de electrodos en almohadillas plantares de la rata. **B.** Cilindro rotatorio usado en el modelo PIFIR.

## **5.4 Diseño experimental**

### **5.4.1. Experimentos agudos**

Para determinar el efecto antinociceptivo del ketorolaco en administración individual y en combinación con quercetina se formaron grupos con una n de 6 animales. El tratamiento fue administrado una vez que el índice de funcionalidad fue igual o menor al 10 %. El ketorolaco se administró por vía oral en dosis de (0.18, 0.56, 1.0, 1.78 y 3.16) mg/kg y la quercetina se administró por vía intraperitoneal en dosis de 100 mg/kg.

Se realizaron combinaciones de las 5 dosis de ketorolaco (p.o) con la dosis de 100 mg/kg de quercetina (i.p). Las soluciones de ketorolaco se prepararon con solución salina 0.9 %, mientras que la quercetina se preparó con 2 gotas de Tween 80 para lograr una suspensión y se diluyó en solución salina 0.9 %, el vehículo se preparó con solución salina 0.9 % para ketorolaco y con solución salina 0.9 % y 2 gotas de Tween 80 para la combinación de ketorolaco con quercetina.

#### 5.4.2. Experimentos subagudos

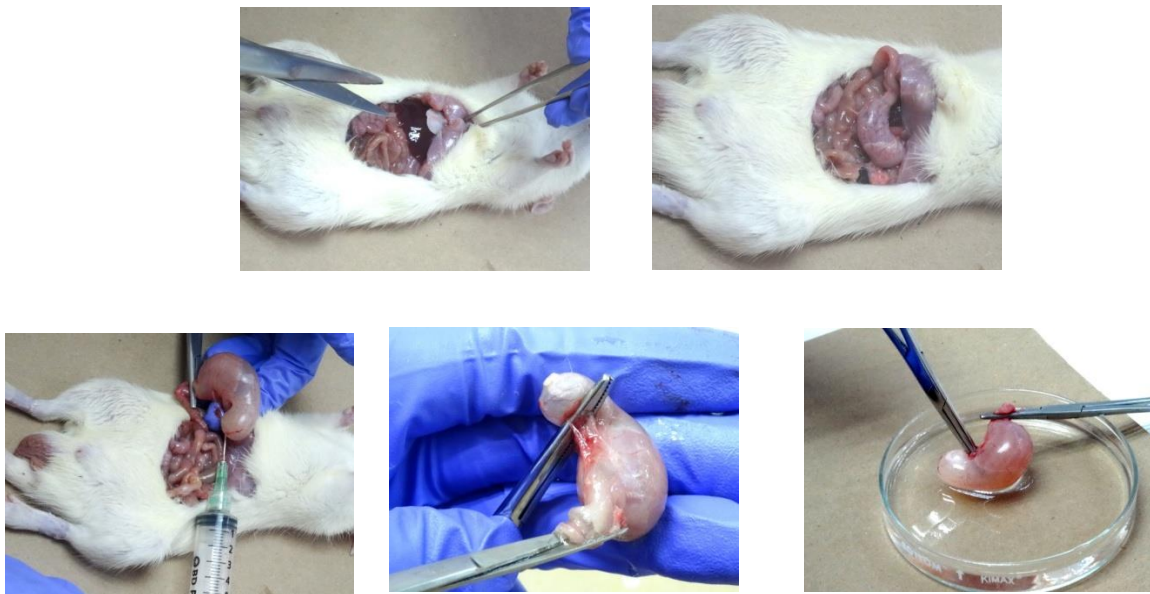
Para determinar el efecto antinociceptivo del KET en administración individual y en combinación con QUER en un tratamiento subagudo, se formaron grupos con una n de 5 animales. Los tratamientos se dividieron en 5 grupos, un grupo control, administrado con vehículo (SSI p.o/SSI + Tween 80 i.p), QUER 100 mg/kg i.p, KET 3.16 mg/kg p.o, la combinación de ambos (COMB) (KET 3.16 p.o + QUER 100 i.p) mg/kg y como control positivo se usó Indometacina (INDO) en una dosis de 100 mg/kg p.o. El tratamiento subagudo se realizó en un periodo de 10 días, en el que diariamente se le administró el tratamiento correspondiente a cada grupo, respetando un horario de administración constante de entre las 8:00 y 9:00 am. Las ratas permanecieron en el bioterio por 9 días con alimento y agua *ad libitum* y un ciclo de 12 h luz/oscuridad; el día 9, fueron entrenadas en el cilindro rotatorio y el alimento les fue retirado, continuando con libre acceso al agua. El día 10 se procedió a hacer el experimento del modelo PIFIR, el tratamiento de QUER, KET o combinación, según corresponda, repitiendo el procedimiento antes redactado, administrando el tratamiento 2.5 hrs después de la administración del ácido úrico, incluso sin tener el 10 % o menos del % IF, considerando así, el tiempo en que se presenta el evento doloroso, como sucedería normalmente en el tratamiento agudo.

La solución de KET, la suspensión de QUER y los vehículos, se prepararon de la misma manera que en el tratamiento agudo. La indometacina (INDO) se preparó en una dosis de 100 mg/kg con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 1 %.

Al finalizar el experimento del modelo PIFIR, las ratas fueron sacrificadas por dislocación cervical y los estómagos fueron extirpados para así dar pauta al modelo de inducción de daño gástrico con Indometacina.

## 5.5 Modelo de inducción de daño gástrico con Indometacina

El estudio se realizó en un tratamiento agudo de una sola dosis y un tratamiento subagudo de 10 días. Los grupos del tratamiento subagudo se dividieron en 5 grupos, cada uno con una n de 5 ratas, vehículo (SSI p.o/SSI + Tween 80 i.p), tratamiento QUER 100 mg/kg i.p, KET 3.16 mg/kg p.o, la combinación de ambos (COMB) (KET 3.16 p.o + QUER 100 i.p) mg/kg y como control positivo se usó indometacina (INDO) en una dosis de 100 mg/kg p.o. El tratamiento agudo se dividió en 5 grupos, cada uno con una n de 5 ratas; SSI 0.9 % p.o, vehículo (SSI p.o/SSI + Tween 80 i.p) asemejando al tratamiento de la COMB, Indometacina 100 mg/kg p.o, KET 3.16 mg/kg p.o y COMB (KET 3.16 p.o + QUER 100 i.p) mg/kg. Al término del experimento subagudo y agudo en PIFIR, se sacrificaron las ratas por dislocación cervical y se extirparon los estómagos. El procedimiento se realizó utilizando la metodología modificada Robert, 1979. Los estómagos se disecaron y llenaron con 8 ml de formaldehído al 10 %; 10 minutos después, los estómagos fueron abiertos por la curvatura mayor y se enjuagaron con agua destilada para eliminar su contenido y proceder a escanearlos, para su posterior observación y medición de las posibles lesiones gástricas (Figura 9).



**Figura 9.** Procedimiento de extracción y fijación de estómagos con formaldehído 10%.

## 5.6 Análisis de datos

Los datos de analgesia se graficaron en cursos temporales de índice de funcionalidad (IF) vs tiempo; la analgesia se estimó con la recuperación de % IF, de estos datos se obtuvo el área bajo la curva (ABC) mediante el método de los trapezoides y se graficó el % ABC. Para el análisis estadístico se utilizó un Análisis de Varianza (ANADEVA de una vía) seguido de la prueba de Dunnett para un nivel de significancia  $p < 0.05$ . Se tomó como control la respuesta del vehículo del modelo experimental. Se obtuvo el promedio  $\pm$  error estándar de una  $n$  de 6 para cada tratamiento.

$$\%IF = \frac{\text{Tiempo de contacto de la pata derecha}}{\text{Tiempo de contacto de la pata izquierda}} \times 100$$

Para cuantificar el área de lesión en los estómagos, se utilizó una plantilla cuadrículada, donde cada cuadro, representa un milímetro cuadrado de estómago. Se obtuvo el promedio  $\pm$  EEM de una  $n$  de 5 para cada tratamiento. Tomando como control positivo, el área de lesión del estómago con tratamiento de Indometacina 100 mg/kg (p.o).

## 6 RESULTADOS

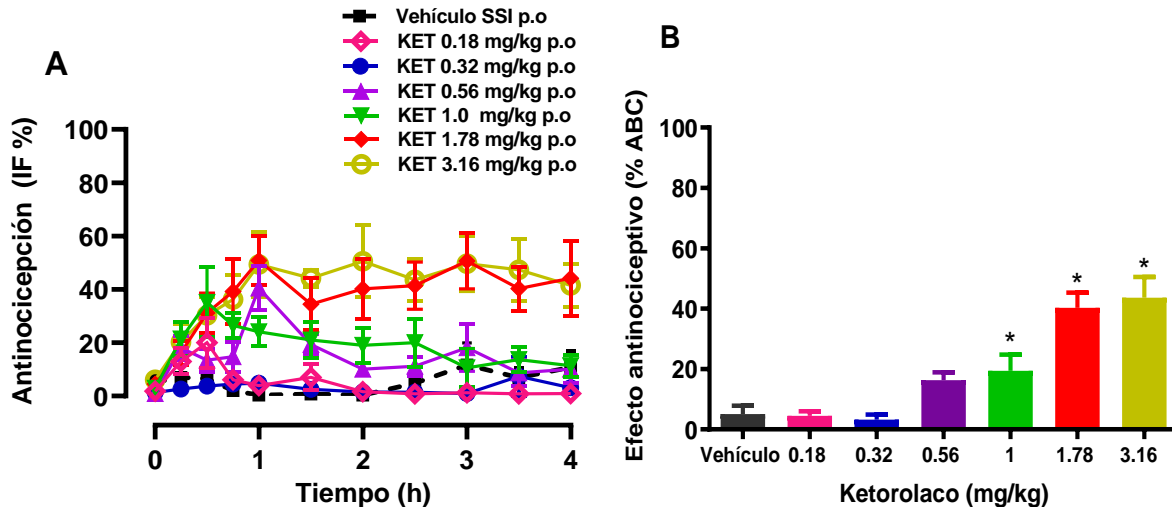
### 6.1. Experimento agudo

#### 6.1.1. Efecto antinociceptivo de KET en administración individual en un modelo de disfunción inducido por dolor en rata

El efecto antinociceptivo de la administración del KET por vía oral aumenta a medida que aumenta la dosis, a partir de la dosis de 1 mg/kg. Se produjo un efecto antinociceptivo de 50.87 % y 50.56 % con las dosis más altas (1.78 y 3.16 mg/kg respectivamente) a partir de la primera hora y hasta el final del experimento, a diferencia del vehículo que no presentó efecto. Los efectos máximos de cada dosis se alcanzaron alrededor de la primera hora de experimento (Gráfico 1 A).

A partir del curso temporal de la administración individual de KET por vía oral, se obtuvieron las ABC, que representan el efecto analgésico global de cada tratamiento durante las 4 h del experimento. No fue posible calcular la dosis efectiva 50 ( $DE_{50}$ ) del ketorolaco debido a que no se alcanzó el 50 % del efecto. Posterior a un ANADEVIA de una vía, se realizó un análisis post hoc Dunnett, donde se comparan los tratamientos en las diferentes dosis contra el vehículo. Existe una diferencia significativa únicamente con las dosis de KET de 1.0 mg/kg, 1.78 mg/kg y 3.16 mg/kg p.o. (\* $p < 0.05$ ) respecto al vehículo (Gráfico1 B).





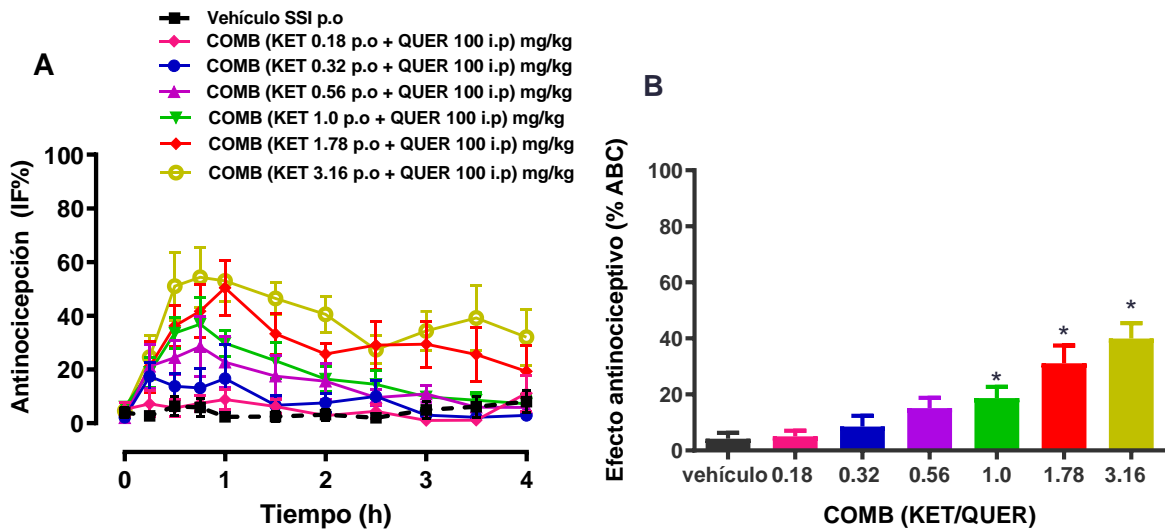
**Gráfico 1. (A)** Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo obtenido con la administración oral de KET en diferentes dosis, cada punto representa el promedio ± EEM de 6 ratas. **(B)** Efecto antinociceptivo en % de ABC de cada dosis de la administración oral de KET. \*p<0.05 ANADEV A de una vía, seguido por prueba post hoc Dunnett.

### 6.1.2. Determinación del efecto antinociceptivo de la combinación del KET (p.o) con QUER (i.p)

La dosis de quercetina administrada por vía i.p para combinar con las diferentes dosis de ketorolaco fue seleccionada a partir de una curva dosis respuesta, previamente obtenida dentro del grupo de laboratorio (datos no mostrados), esta curva no alcanzó el 50 % del efecto, siendo la dosis de 100 mg/kg la que alcanzó un máximo de efecto antinociceptivo de  $30.5 \pm 8.6$  % (Bustamante Marquina, 2018).

En la gráfica 2 A se muestra el curso temporal de la administración de KET (0.18, 0.32, 0.56, 1.0, 1.78 y 3.16) mg/kg p.o en combinación con una dosis de 100 mg/kg de QUER i.p, el efecto antinociceptivo presentado aumenta conforme al aumento de la dosis. El efecto máximo obtenido de la COMB, es de 50.38 % y 54.31 % en el curso temporal del tratamiento, logrado únicamente por las dosis más altas (1.78 y 3.16 mg/kg p.o respectivamente), similar a lo obtenido con la administración individual del KET. El efecto máximo se presentó alrededor de la primera hora de experimento y disminuyó hasta un 19.31 % y 31.99 % respectivamente, para el final del experimento.

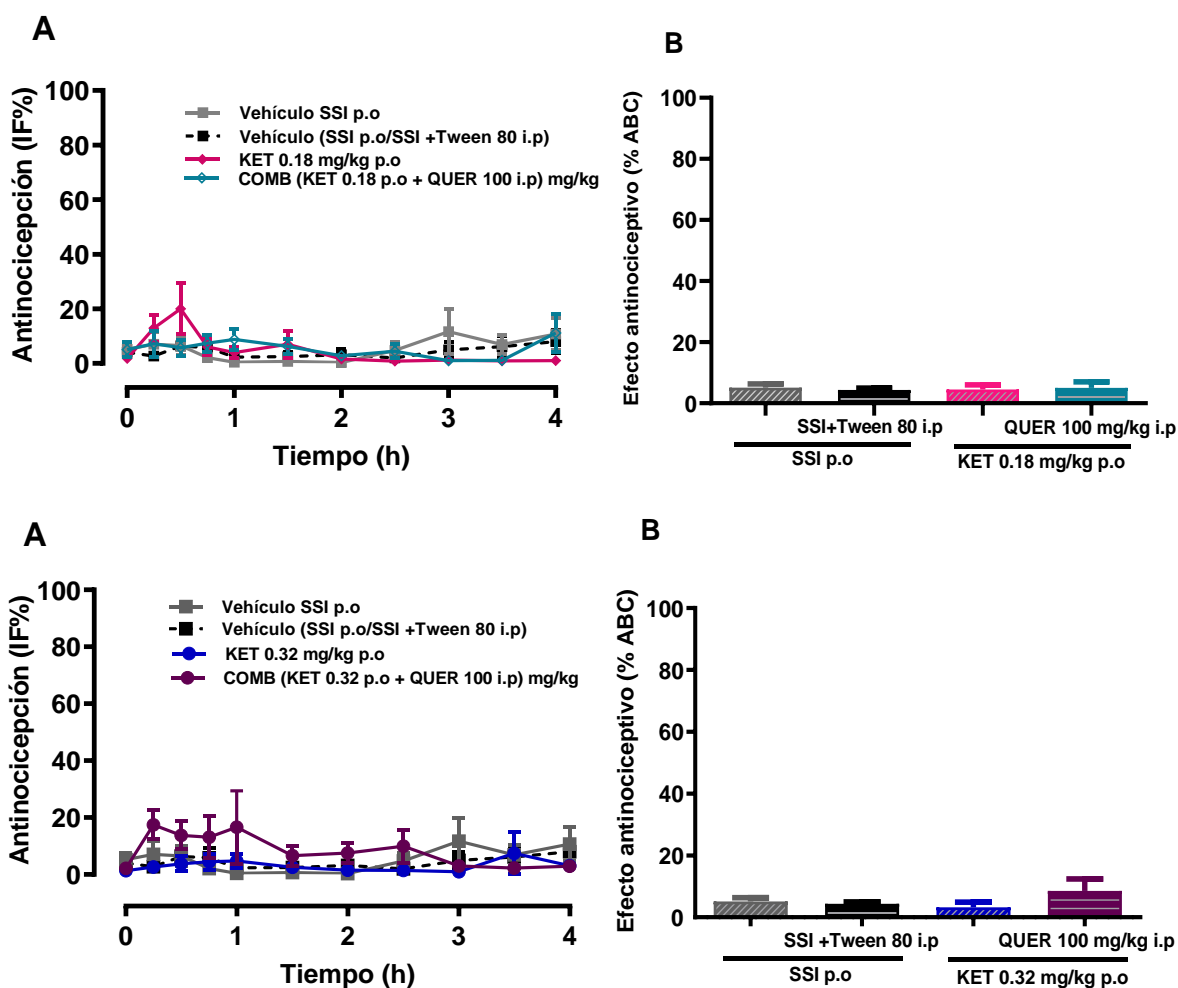
La gráfica 2 B, correspondiente al ABC obtenida del curso temporal de la COMB en las diferentes dosis y posterior a un ANADEVA de una vía con análisis post hoc Dunnett, muestra que existe diferencia significativa contra el vehículo con las dosis de 1.0 mg/kg, 1.78 mg/kg y 3.16 mg/kg. No fue posible calcular la dosis efectiva 50 (DE<sub>50</sub>) de la combinación debido a que no se alcanzó el 50 % del efecto.

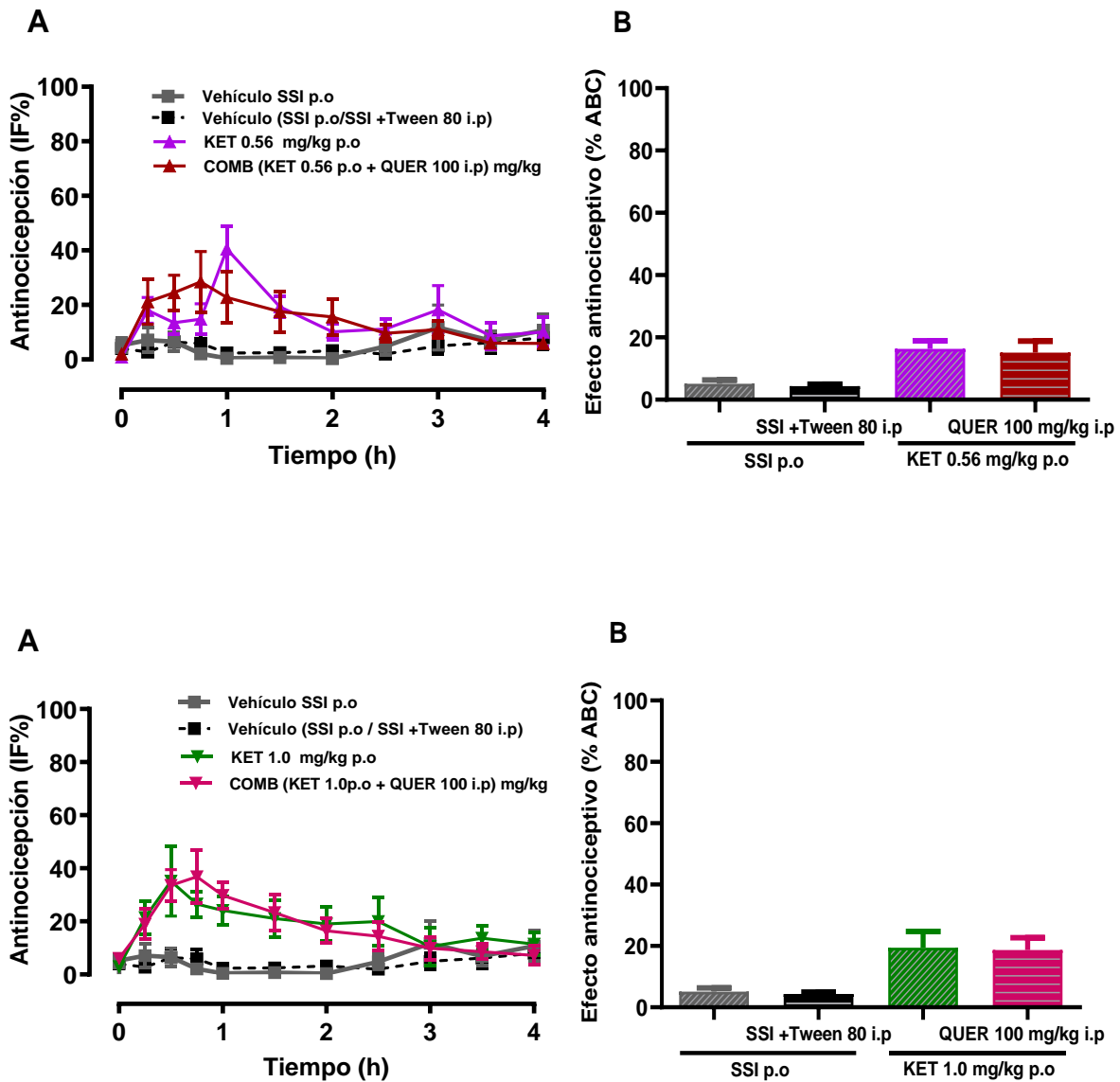


**Gráfico 2. (A)** Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo obtenido con la administración de la COMB (KET en diferentes dosis por vía oral en combinación con QUER 100 mg/kg i.p.), cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de 6 ratas. **(B)** Efecto antinociceptivo en % de ABC de cada dosis de la administración de la COMB. \* $p < 0.05$  ANADEVA de una vía, seguido por prueba post hoc Dunnett.

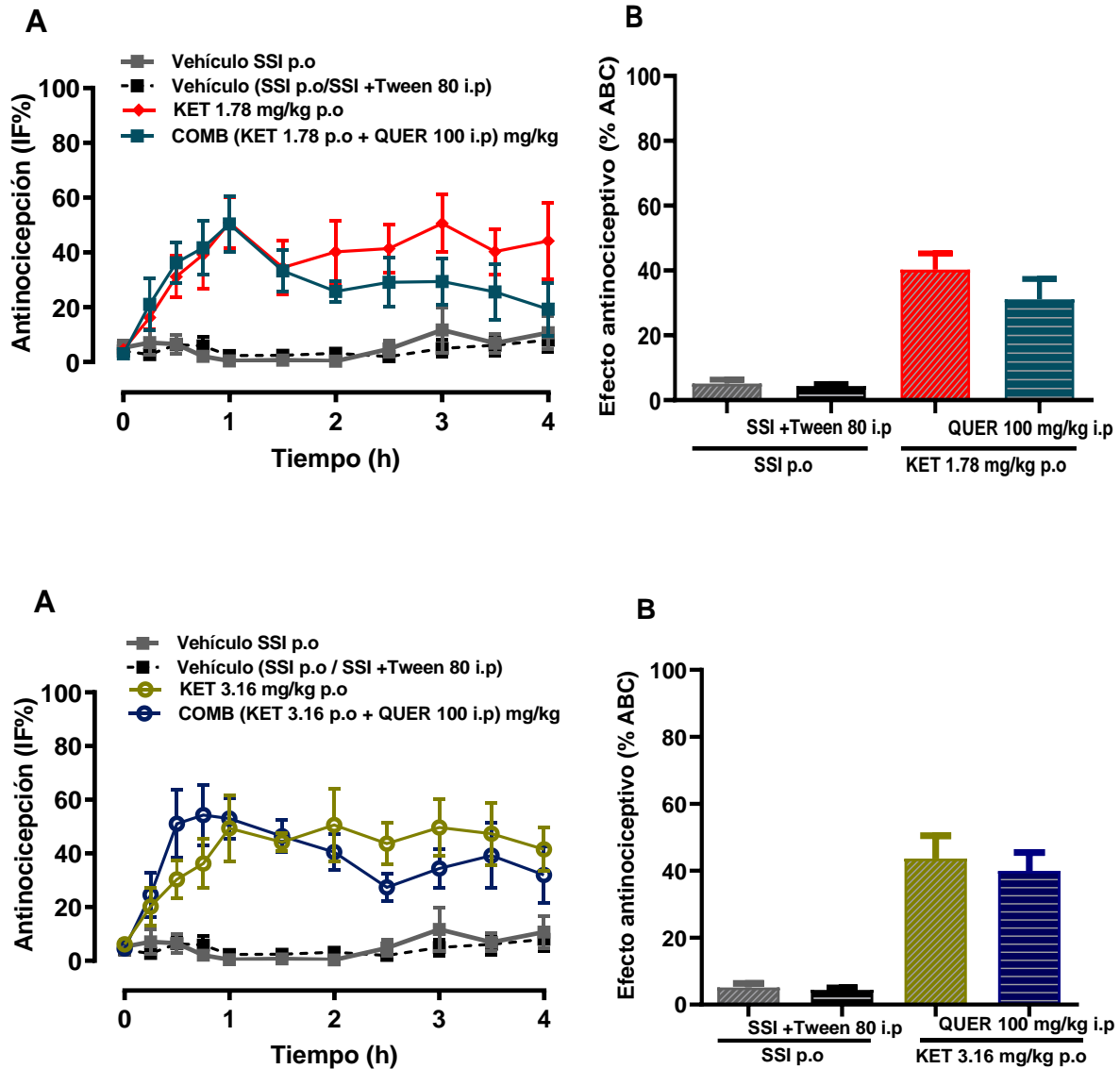
En las siguientes gráficas se muestra el efecto antinociceptivo de 6 combinaciones de KET p.o con QUER 100 mg/kg i.p, así como el efecto de los fármacos en administración individual. Y por otro lado el % de efecto antinociceptivo representado en ABC, obtenido de los cursos temporales de los tratamientos, se analizó con una t de student, para determinar si existe una diferencia significativa entre el tratamiento administrado individualmente o en combinación con la QUER 100 mg/kg i.p. Como se observa en el gráfico 3, del ABC, no existe diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos individuales de ketorolaco, en comparación de la COMB con quercetina. El efecto máximo en todos los casos, se presentó alrededor de la primera hora de experimento y disminuyó paulatinamente para el final del experimento. Para la dosis de 0.18 mg/kg de obtuvo un efecto máximo de 20 % en

el tratamiento individual y de 11.17 % en el tratamiento combinado con QUER 100 mg/kg; un 7.42 % para la dosis de 0.32 mg/kg en tratamiento individual y 17.45 % en la COMB; un 40.51 % de efecto en la dosis de 0.56 mg/kg en el tratamiento individual y 28.52 % en la COMB; un 35.10 % en la dosis de 1.0 mg/kg en el tratamiento individual y 36.84 % en la COMB; un 50.87 % en la dosis de 1.78 mg/kg en el tratamiento individual y 50.38 % en la COMB; finalmente, se obtuvo un 50.56 % de efecto antinociceptivo en la dosis más alta, 3.16 mg/kg en el tratamiento individual y 54.31 % en la COMB, en ambos tratamientos y 50 % en las dosis de 1.78 y 3.16 mg/kg.





**Gráfico 4. Continuation (A)** Cursos temporales del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo de la administración de KET (0.18-3.16 mg/kg p.o) y la administración de la COMB (KET 0.18-3.16mg/kg p.o con QUER 100 mg/kg i.p). Las líneas punteadas representan el efecto antinociceptivo de los vehículos correspondientes a cada fármaco. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de 6 ratas. **(B)** Efecto antinociceptivo de cada tratamiento en % ABC con una t de student para comparar el efecto del KET (0.18-3.16 mg/kg p.o) administrado individualmente y en COMB con QUER 100 mg/kg i.p.



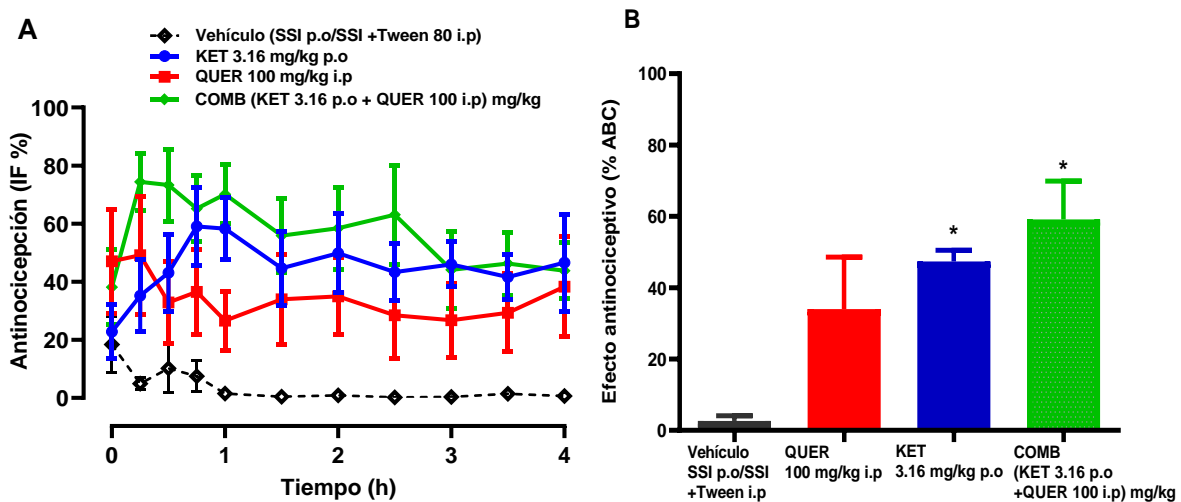
**Gráfico 3. Continuación. (A)** Cursos temporales del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo de la administración de KET (0.18-3.16 mg/kg p.o) y la administración de la COMB (KET 0.18-3.16 mg/kg p.o con QUER 100 mg/kg i.p). Las líneas punteadas representan el efecto antinociceptivo de los vehículos correspondientes a cada fármaco. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de 6 ratas. **(B)** Efecto antinociceptivo de cada tratamiento en % ABC con una t de student para comparar el efecto del KET (0.18-3.16 mg/kg p.o) administrado individualmente y en COMB con QUER 100 mg/kg i.p.

El efecto presentado por el KET después de la administración individual y en la combinación con QUER, muestra un aumento a medida que aumenta la dosis, ya que con las dosis de 0.18 mg/kg y 0.32 mg/kg, se alcanzó aproximadamente un 20 % de efecto antinociceptivo, con la dosis de 0.56 mg/kg y 1.0 mg/kg un 40 % y un aproximado de 50 % de efecto antinociceptivo con las dosis más altas, 1.78 mg/kg y 3.16 mg/kg. El efecto observado del KET administrado de manera individual coincide con el estudio previo realizado por López Muñoz y cols., 2004, donde evalúa el ketorolaco en las dosis de 0.18,0.56,1.0,1.78, 3.16 y 5.62 mg/kg p.o, administradas de manera individual y se obtiene un aumento del efecto conforme se aumenta la dosis.

## **6.2. Experimento subagudo**

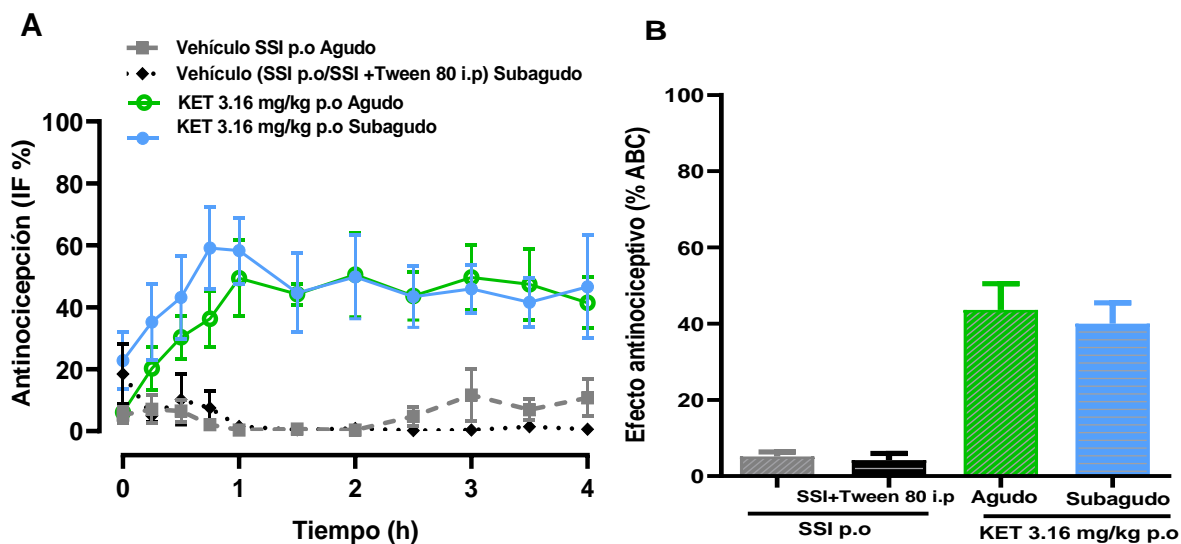
Se hizo una curva temporal del tratamiento de KET en una dosis de 3.16 mg/kg p.o administrado de manera individual y en combinación con QUER 100 mg/kg i.p, así como la administración individual de la QUER 100 mg/kg (Gráfico 4 A). Posteriormente con los resultados del curso temporal del efecto antinociceptivo, se hizo una gráfica del % ABC con un análisis ANADEVIA de una vía, seguido de un análisis post hoc Dunnet para comparar si hay un efecto significativo con los tres tratamientos, respecto al control (Gráfico 4 B). El tratamiento de 10 días con KET 3.16 mg/kg p.o, produjo un efecto antinociceptivo semejante al tratamiento agudo, así como el tratamiento con la COMB. La quercetina administrada individualmente en una dosis de 100 mg/kg i.p, sí presenta un efecto antinociceptivo llegando a un máximo de 49.17 % en la primera media hora del experimento, sin embargo el efecto es menor al que presenta el ketorolaco en la dosis más alta (3.16 mg/kg p.o) y no existe diferencia significativa entre estos tratamientos. La administración oral del KET 3.16 mg/kg produjo un efecto de 59.09 % presentado alrededor de la primera hora de experimento y disminuyendo al finalizar el mismo con un 46.59 % de efecto antinociceptivo. La QUER administrada de manera individual por vía intraperitoneal produjo un efecto antinociceptivo de 49.17 % cerca de la primera media hora de experimento, llegando a un 26.58 % a la primera hora del experimento y finalizando con 38.32 % de efecto antinociceptivo. La combinación de KET 3.16 mg/kg p.o con QUER 100 mg/kg produjo un efecto antinociceptivo mayor al KET y la QUER administradas individualmente, obteniendo

un máximo de 74.42 % logrado en la primera media hora del experimento y disminuyendo paulatinamente hasta 43.81 % para el final del experimento. Si bien, el efecto presentado por la COMB de KET 3.16 mg/kg con QUER 100 mg/kg i.p, es mayor que el efecto del Ketorolaco administrado individualmente en la dosis de 3.16 mg/kg, no existe una diferencia significativa entre estos tratamientos, sino únicamente contra el vehículo (SSI p.o/SSI + Tween 80 i.p).



**Gráfico 5. (A)** Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento subagudo obtenido con la administración oral de ketorolaco en diferentes dosis, cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de 5 ratas. **(B)** Efecto antinociceptivo en % de ABC de cada dosis de la administración oral de KET. \* $p < 0.05$  ANADEV A de una vía, seguido por prueba post hoc Dunnett.

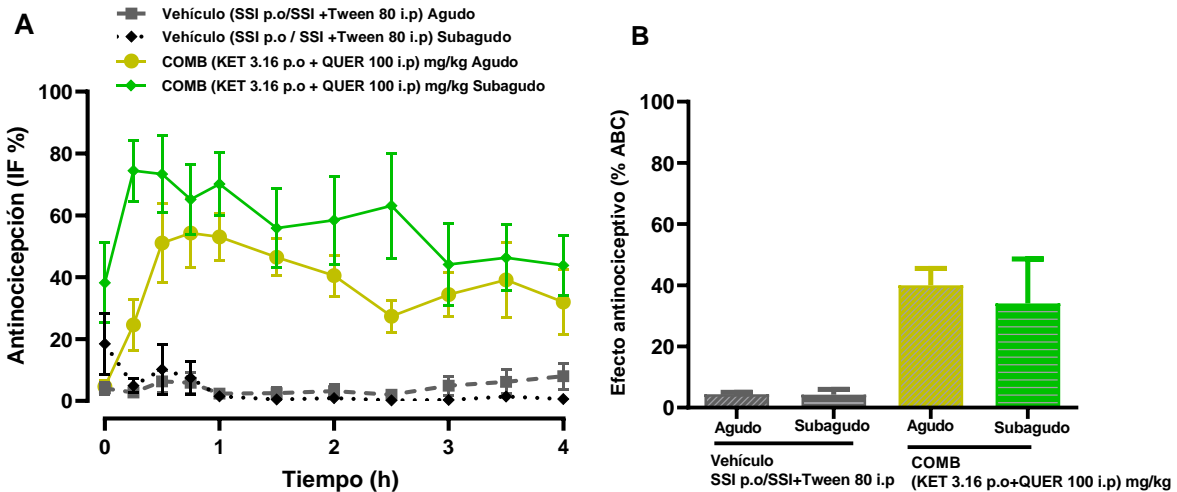
La gráfica 5 A representa el curso temporal del tratamiento de la dosis más alta de KET, 3.16 mg/kg con sus respectivos vehículos del tratamiento subagudo y agudo. Ambos muestran un comportamiento similar, donde se observa un efecto máximo de 59.09 % en el tratamiento subagudo y de 50.56 % en el tratamiento agudo, entre la primera y segunda hora del experimento, disminuyendo ligeramente a lo largo del experimento y finalizando con 46.59 % para el tratamiento subagudo y 41.48 % para el tratamiento agudo. El análisis con t de student, en la gráfica 5 B muestra que no hay una diferencia significativa entre los tratamientos.



**Gráfico 6. (A)** Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo vs subagudo de la administración de KET 3.16 mg/kg por vía oral. Las líneas punteadas representan el efecto antinociceptivo de los vehículos correspondientes a cada fármaco. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de 5 ratas. **(B)** Efecto antinociceptivo de cada tratamiento en % ABC, seguido de una t de student para comparar el efecto del KET 3.16 mg/kg administrado en tratamiento agudo y subagudo.

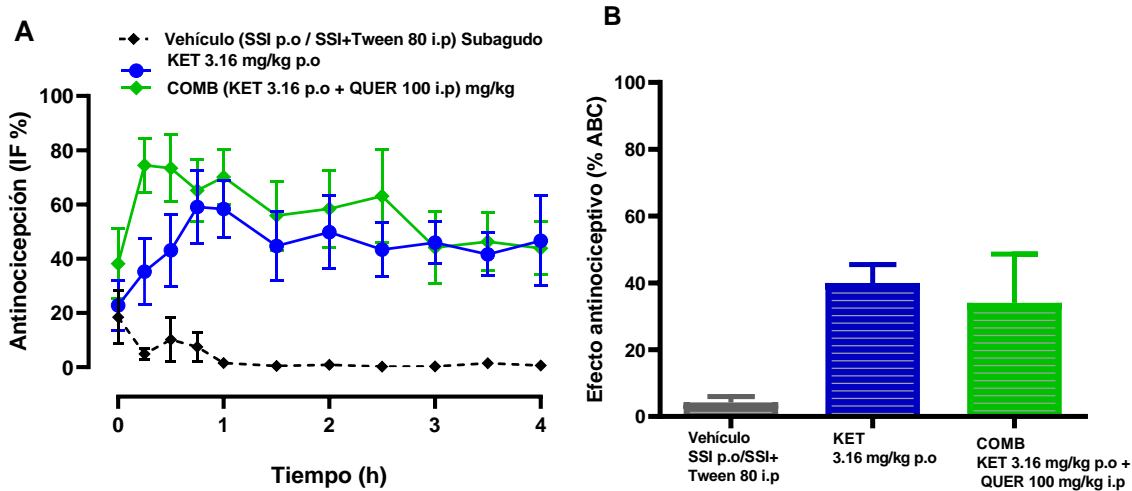
La combinación de KET 3.16 mg/kg p.o con QUER 100 mg/kg i.p en el tratamiento agudo, produjo un efecto antinociceptivo de 54.31 %, a diferencia del tratamiento subagudo, donde se obtuvo un efecto de 74.42 %. Ambos tratamientos presentan un comportamiento similar y el efecto máximo alrededor de la primera hora del experimento, disminuyen ligeramente a lo largo del experimento y finalizan con un 43.81 % para el tratamiento subagudo y 31.99 % para el tratamiento agudo (Gráfico 6 A). Sin embargo, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antinociceptivo del tratamiento subagudo de la COMB de KET 3.16 mg/kg p.o con QUER 100 mg/kg i.p con respecto a la COMB en el tratamiento agudo (Gráfico 6 B).





**Gráfico 7. (A)** Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento agudo vs subagudo de la administración de la COMB (KET 3.16 mg/kg por vía oral y QUER 100 mg/kg vía intraperitoneal). Las líneas punteadas representan el efecto antinociceptivo de los vehículos correspondientes a cada tratamiento. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de 5 ratas. **(B)** Efecto antinociceptivo de cada tratamiento en % ABC, seguido de una t de student para comparar el efecto de la COMB (KET 3.16 mg/kg por vía oral y QUER 100 mg/kg vía intraperitoneal) administrado en tratamiento agudo y subagudo.

Al igual que en las gráficas anteriores, en el gráfico 7 A se muestra un comportamiento similar entre el tratamiento subagudo de KET 3.16 mg/kg p.o administrado individualmente y el tratamiento subagudo de la combinación de KET 3.16 mg/Kg p.o con QUER 100 mg/kg i.p, teniendo el efecto máximo alrededor de la primera hora del experimento en un 59.09 % para el tratamiento de KET individual y 74.42 % en la COMB, disminuyendo ligeramente a lo largo del experimento y finalizando con 46.59 % para el KET 3.16 mg/kg y 43.81 % para el tratamiento de la combinación. Sin embargo, no hay una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos subagudos de la combinación de KET 3.16 mg/kg con QUER 100 mg/kg y KET 3.16 mg/kg, (Gráfico 7 B).

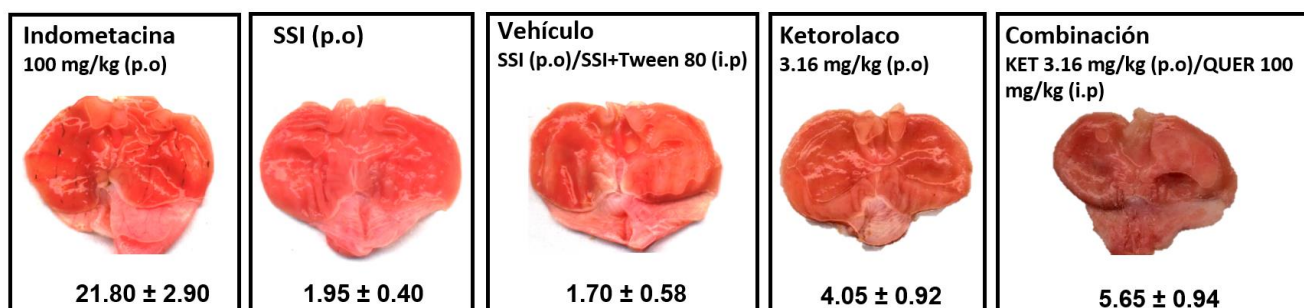


**Gráfico 8. (A)** Curso temporal del efecto antinociceptivo del tratamiento subagudo de la administración del KET 3.16 mg/kg vía oral vs COMB (KET 3.16 mg/kg p.o y QUER 100 mg/kg i.p). La línea punteada representa el efecto antinociceptivo del vehículo correspondiente a la COMB. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de 5 ratas. **(B)** Efecto antinociceptivo de cada tratamiento en % ABC, seguido de una t de student para comparar el efecto de la COMB (KET 3.16 mg/kg por vía oral y QUER 100 mg/kg vía intraperitoneal) vs KET 3.16 mg/kg administrado en tratamiento subagudo.

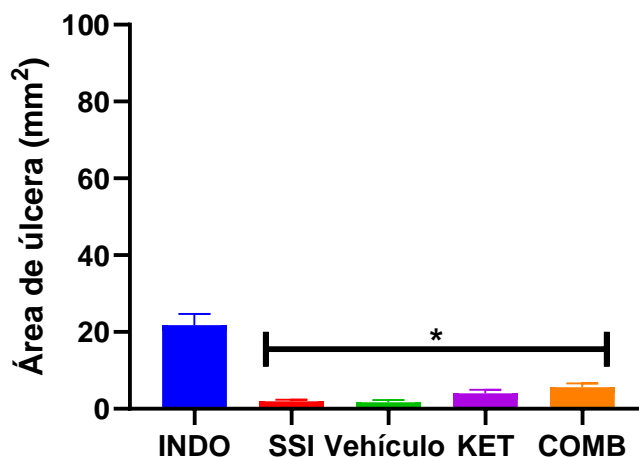
### 6.3. Modelo de inducción de daño gástrico con Indometacina

Posterior a la extracción de los estómagos de las ratas en los diferentes tratamientos, se escanearon con una escala constante y se contabilizó el área de úlcera en mm<sup>2</sup> de cada estómago, tanto en el tratamiento agudo (Figura 10) como en el tratamiento subagudo (Figura 11).

#### 6.3.1. Tratamiento agudo

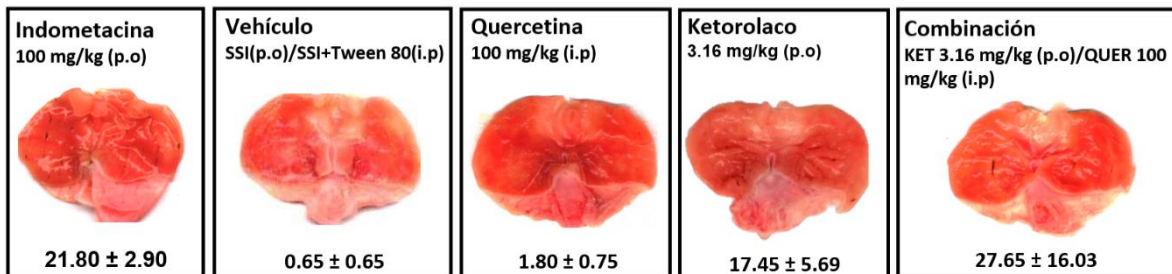


**Figura 10.** Fotografías representativas del área de úlcera en mm<sup>2</sup> de los estómagos disecados de ratas que recibieron los diferentes tratamientos, ketorolaco 3.16 mg/kg p.o solo y en combinación con QUER 100 mg/kg, en tratamiento agudo (1 dosis), teniendo como referencia Indometacina 100 mg/kg p.o, para evaluar el daño gástrico después del modelo de disfunción inducida por dolor en rata. Se presenta el promedio ± EEM de 5 ratas.

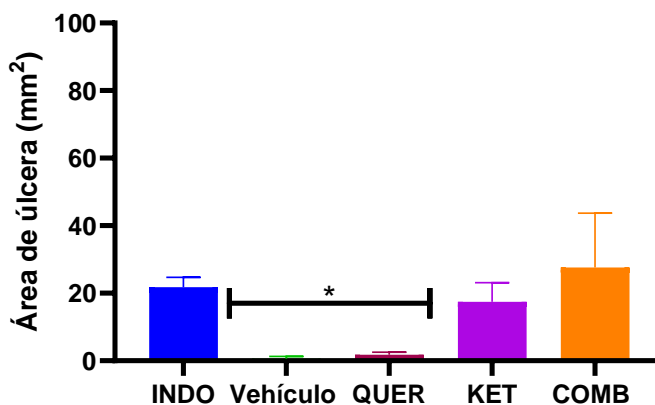


**Gráfico 8.** Área de úlcera (mm<sup>2</sup>) producido por la administración de INDO (Indometacina 100 mg/kg p.o, SSI p.o, Vehículo (SSI p.o/SSI + Tween i.p), KET (ketorolaco 3.16 mg/kg) y COMB (KET 3.16 mg/kg p.o/QUER 100 mg/kg i.p) en el tratamiento agudo. Se realizó una ANADEVIA de una vía, seguido de un análisis post hoc Dunnett, tomando como control, la Indometacina 100 mg/kg p.o. \*p<0.05.

### 6.3.2. Tratamiento subagudo



**Figura 11.** Fotografías representativas del área de úlcera en mm<sup>2</sup> de los estómagos disecados de ratas que recibieron los diferentes tratamientos, ketorolaco 3.16 mg/kg p.o solo y en combinación con QUER 100 mg/kg, en tratamiento subagudo (10 días), teniendo como referencia indometacina 100 mg/kg p.o., para evaluar el daño gástrico después del modelo de disfunción inducida por dolor en rata. Se presenta el promedio ± EEM de 5 ratas.



**Gráfico 9.** Área de úlcera (mm<sup>2</sup>) producido por la administración de INDO (Indometacina 100 mg/kg p.o), Vehículo (SSI p.o/SSI + Tween i.p), QUER (100 mg/kg i.p), KET (ketorolaco 3.16 mg/kg) y COMB (KET 3.16 mg/kg p.o/QUER 100 mg/kg i.p) en el tratamiento subagudo. Se realizó una ANADEVIA de una vía, seguido de un análisis post hoc Dunnett, tomando como control, la Indometacina 100 mg/kg p.o \*p<0.05.

Con los datos obtenidos, se realizó un ANADEVIA de una vía y posteriormente un análisis Dunnett para comparar control positivo con el vehículo y los tratamientos. Únicamente se obtuvo diferencia significativa, entre el vehículo y la quercetina con respecto al control positivo (INDO 100 mg/kg).

## 7 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En esta investigación, se evaluó el efecto analgésico de ketorolaco administrado por vía oral de manera individual en diferentes dosis y en combinación con quercetina en una dosis de 100 mg/kg por vía intraperitoneal con ayuda del modelo de disfunción inducido por dolor en rata (PIFIR). Este modelo de disfunción inducido por dolor en rata se basa en tratar de reproducir un dolor similar al que sufren los pacientes con enfermedad de gota (López-Muñoz y cols., 1993). Para evaluar adecuadamente la eficacia potencial de un agente analgésico, es necesario determinar no solo la eficacia analgésica en un momento fijo, sino también la duración del efecto. Los datos se expresan como el índice de funcionalidad (IF), este es el tiempo de contacto de la extremidad inyectada con ácido úrico dividido por el tiempo de contacto de la extremidad izquierda del control multiplicado por 100. El IF se determina cuando las ratas se ven obligadas a caminar. Este es un comportamiento natural de los animales y, por lo tanto, no son necesarias largas sesiones de entrenamiento. El uso del IF tiene la ventaja de que la extremidad no lesionada sirve como control. El uso de animales pequeños como sujetos experimentales presenta la ventaja de que no se requieren cantidades significativas de fármaco. (López-Muñoz y cols., 1993). Se utilizó el modelo PIFIR porque permite evaluar el curso temporal del efecto antinociceptivo en el mismo animal; además, no genera aprendizaje condicionado y tiene una alta sensibilidad (López-Muñoz y cols., 2004).

El tratamiento de la gota aguda se basa en la colchicina y los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) (Olivé & Sallés, 2003). Los AINEs son rápidos y efectivos sobre todo cuando se toman en las primeras horas de inicio de la sintomatología (Olivé & Sallés, 2003). Coincidiendo con el presente estudio, el efecto máximo del KET tanto solo como en combinación con la QUER, se presentó durante la primera hora de experimento.

El uso clínico de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) es limitado por sus efectos adversos a nivel gastrointestinal (GI). La gastropatía por AINEs es el resultado del desequilibrio entre factores defensivos y nocivos de la mucosa, y se asocia con algunos mecanismos multifactoriales como la necrosis inducida por ácido gástrico, la inhibición de las enzimas ciclooxigenasa (COX) y la subsiguiente supresión de la producción de prostaglandinas como PGE<sub>2</sub> y PGI<sub>2</sub>, proceso inflamatorio exacerbado, daño oxidativo y disminución del flujo sanguíneo e isquemia (Pineda-Peña y cols., 2019). Además, pueden presentar efectos adversos como insuficiencia renal aguda, sobre todo en pacientes

susceptibles. Específicamente, KET posee más efectos analgésicos que antiinflamatorios, y se utiliza en dolores agudos a moderados (Buckeley y Brogden, 1989).

Por otra parte, se realizó la combinación de QUER, un flavonoide presente comúnmente en muchas frutas y verduras, así como en plantas medicinales. La quercetina no solo presenta efectos analgésicos en modelos nociceptivos como: hiperalgesia mecánica inducida por carragenina (Verri y cols., 2012) estiramiento abdominal (Filho y cols., 2008); y formalina (Filho y cols., 2008), sino que también presenta efectos antiinflamatorios (Verri y cols., 2012), antioxidantes, anticancerígenos y en enfermedades cardiovasculares (D'Andrea, 2015). La quercetina redujo significativamente la nocicepción neurogénica causada por la inyección intraplantar de capsaicina así como también en la primera fase de la prueba de formalina. De hecho, Schultke y colaboradores (2003) demostraron que la quercetina promueve la recuperación funcional después de una lesión espinal aguda y sugirieron el uso de este compuesto en el tratamiento del dolor (Filho y cols., 2008). Una de las especies vegetales medicinales en las que se ha encontrado la QUER es la *Tilia americana* var. *mexicana*, siendo uno de los metabolitos responsables de su efecto analgésico e inflamatorio en el modelo PIFIR (Martínez y cols., 2009).

Se ha demostrado que algunos flavonoides no solo inhiben el sitio activo de la peroxidasa de COX-1, COX-2 y 5-lipoxigenasa (5-LO), lo que da como resultado la inhibición de la producción de prostanoideos (prostaglandinas y tromboxanos) y leucotrienos, respectivamente. De hecho, algunos flavonoides inhiben la producción de PGE<sub>2</sub>, lo que coincide con la inhibición de la actividad de la COX. Es de destacar que los inhibidores de la COX-1 tienen efectos secundarios, como un aumento de las úlceras gástricas e intestinales, porque se ha demostrado que las prostaglandinas PGE<sub>2</sub> y PGI<sub>2</sub> aumentan la producción de moco protector gástrico. Sin embargo, debido a que la actividad de los flavonoides no depende exclusivamente de la inhibición de las enzimas COX, sino que afecta a otras vías concomitantemente con la inhibición de la COX, no presentan estos efectos secundarios comunes de los AINEs que se dirigen a las enzimas COX. Es probable que los flavonoides funcionen a través de más de un mecanismo (Verri y cols., 2012).

En un estudio previo dentro de nuestro grupo de trabajo, la quercetina no produjo un efecto antinociceptivo por vía oral; por vía i.p, la dosis que alcanzó el mayor efecto terapéutico fue la de 100 mg/kg (Bustamante, 2018). Filho y cols, en 2008 encontraron que la quercetina inhibió de manera dependiente de la dosis las respuestas nociceptivas en el modelo de estiramiento abdominal por ácido acético, con una eficacia máxima a los 30 min y efectos

significativos incluso 6 h después de la administración, mencionando que la quercetina administrada por vía oral (p.o.) mostró menor potencia que la administración por vía i.p., lo que coincide con el hallazgo de que varios flavonoides muestran una mala absorción oral.

Con respecto a las combinaciones de KET con QUER. El propósito de las combinaciones de fármacos analgésicos es optimizar los regímenes de dosis para que se obtengan mayores efectos analgésicos con una disminución de los efectos secundarios no deseados (López-Muñoz y cols., 2004). La gastroprotección, como mecanismo antiulceroso de varios productos naturales y extractos crudos obtenidos de plantas medicinales, juega un papel importante como alternativa viable en la prevención de la gastropatía inducida por AINEs. (Navarrete y cols., 2005). Por ejemplo, algunos tratamientos con extractos que contienen flavonoides y/o fracciones de extractos ricos en flavonoides o flavonoides aislados reduce las lesiones gástricas inducidas por AINEs, como aspirina e indometacina, o incluso promueven la cicatrización de los tejidos (Verri y cols., 2012).

En este estudio, el uso de combinación de fármacos no fue óptima ya que no se obtuvo una diferencia significativa entre el tratamiento individual del KET en las diferentes dosis, respecto a la combinación con QUER 100 mg/kg, tanto el tratamiento agudo como en subagudo, lo cual contrasta con un estudio realizado con el modelo de formalina y dolor artrítico, donde el extracto acuoso de *T. americana* var. *mexicana*, con presencia de glucósidos de quercetina produce un efecto antinociceptivo (Martínez y cols., 2009). Esto se puede explicar por la concentración de ácido úrico utilizado en ambos estudios; ellos reportan haberlo utilizado al 20 % y nosotros al 30 %, lo que implica una mayor intensidad de dolor (Bustamante Marquina, 2018). Los resultados coinciden con el modelo de placa caliente (hot-plate) donde la quercetina incluso disminuye el nivel del umbral del dolor y no produce antinocicepción (Rylski y cols., 1979). El efecto antinociceptivo de la quercetina varía de acuerdo con el modelo que se utilice; la especie animal utilizada, las dosis de la quercetina, la vía de administración, etc. La principal diferencia de nuestros resultados con otros autores podría ser porque en la mayoría de los modelos experimentales (formalina, writhing, tail-flick, administración de glutamato o capsaicina) la quercetina se administra antes del estímulo doloroso; mientras que, en este estudio, se administró hasta que el proceso doloroso e inflamatorio ya se encontraba instalado en la extremidad a las 2.5 h después de la administración de ácido úrico, lo que conlleva a la pérdida de la funcionalidad. Bajo estas condiciones experimentales ya se liberaron varios mediadores inflamatorios y se

encuentra activada la vía ascendente del dolor; y es más fácil prevenir un evento que curarlo o remediarlo cuando ya se presentó (Bustamante Marquina, 2018).

En el tratamiento agudo, la combinación de ketorolaco 3.16 mg/kg p.o con quercetina (100 mg/kg i.p) tuvo un área de úlcera promedio, de 5.65 mm<sup>2</sup>, teniendo una respuesta significativamente menor respecto a la indometacina (100 mg/kg p.o), con un promedio de área de úlcera de 21.80 mm<sup>2</sup>, lo anterior coincide con un estudio realizado por Brito y cols., 2018; de igual manera, el área de úlcera del ketorolaco (3.16 mg/kg p.o) fue significativamente menor a la causada por la indometacina. Por otro lado, en el tratamiento subagudo, se obtuvo una diferencia significativa entre el vehículo SSI p.o/SSI+Tween 80 i.p (área de úlcera promedio de 0.65 mm<sup>2</sup>) y la quercetina 100 mg/kg i.p (área de úlcera promedio de 1.80 mm<sup>2</sup>) con respecto al control positivo INDO 100 mg/kg p.o (área de úlcera promedio de 21.80 mm<sup>2</sup>).

La quercetina no presenta un efecto gastroprotector en combinación con el ketorolaco, ya que no se observa diferencia significativa entre la administración del ketorolaco (3.16 mg/kg p.o) administrado de manera individual, respecto a la combinación con quercetina (KET 3.16 mg/kg p.o + QUER 100 mg/kg i.p) tanto en el tratamiento agudo, de una sola dosis, como en el tratamiento subagudo, administrado durante 10 días. En este sentido, la quercetina ha mostrado efectos de reducción de úlcera gástrica en modelos donde se utiliza etanol. Algunos flavonoides son capaces de activar el sistema de defensa de la mucosa mediante la estimulación de la secreción de moco gástrico y la eliminación de especies reactivas de oxígeno y radicales libres producidos por el etanol y de esta manera disminuyen las úlceras gástricas (De Lira Mota y cols., 2009); en el caso de los AINEs, la quercetina regula la apoptosis y actividad de la ciclooxigenasa (Serafim y cols., 2020), una de las posibles causas de no haber encontrado efecto gastroprotector en nuestro modelo, se debe a la vía de administración de la quercetina, que generalmente se administra por vía oral, mientras que en nuestro estudio se realizó por vía intraperitoneal.



## **8 CONCLUSIONES**

El efecto analgesico del KET no presenta una diferencia significativa al administrarse de manera individual o en combinación con QUER a la dosis de 100 mg/kg tanto en tratamiento agudo como en subagudo.

La quercetina no modifica el potencial ulcerogénico del ketorolaco.

## **9. PERSPECTIVAS**

Continuar con el estudio de la interacción de la QUER con diferentes AINEs utilizados en el tratamiento sintomático de la artritis gotosa para formar un análisis de interacción sinérgica y determinar el tipo de interacción (antagonismo o sinergismo).

Por lo tanto, resulta ineludible focalizar la atención sobre los aspectos de seguridad de los AINEs, con el fin de hacer uso racional y prevenir la patología inducida por este grupo farmacológico.

## REFERENCIAS

- Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., & Heredia, J. B. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1131412>
- Bedada, S. K., & Neerati, P. (2018). Evaluation of the effect of quercetin treatment on CYP2C9 enzyme activity of diclofenac in healthy human volunteers. *Phytotherapy Research*, 32(2), 305–311. <https://doi.org/10.1002/ptr.5978>
- Bertolacci, L., Romeo, E., Veronesi, M., Magotti, P., Albani, C., Lambruschini, C., Scarpelli, R., Cavalli, A., & Vivo, M. De. (2014). *NIH Public Access*. 135(1), 22–25. <https://doi.org/10.1021/ja308733u.A>
- Boyatzis, D., & Richard; Mckee, A. (2015). Molecular and cell biology of pain. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 131, Issue 9). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Brantley, S. J., Argikar, A. A., Lin, Y. S., Nagar, S., & Paine, M. F. (2014). Herb-drug interactions: Challenges and opportunities for improved predictions. In *Drug Metabolism and Disposition* (Vol. 42, Issue 3, pp. 301–317). American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. <https://doi.org/10.1124/dmd.113.055236>
- Bustamante Marquina, A. (2018). *Análisis de superficie de interacción sinérgica del efecto antinociceptivo de la combinación de diclofenaco con quercetina*.
- Carrillo Esper, R., Lara Caldera, B., & Manuel Ruiz Morales, J. (2010). Hierbas, medicina herbolaria y su impacto en la práctica clínica. In *Rev Invest Med Sur Mex* (Vol. 17, Issue 3). <https://www.medigraphic.com/pdfs/medsur/ms-2010/ms103a.pdf>
- Chen, L., Yang, G., & Grosser, T. (2013). Prostanoids and inflammatory pain. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 104–105, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2012.08.006>
- Costigan, M., & Woolf, C. J. (2000). Pain: Molecular mechanisms. *Journal of Pain*, 1(3 SUPPL.), 35–44. <https://doi.org/10.1054/jpai.2000.9818>
- Covarrubias-Gómez, A., Guevara-López, U., Gutiérrez-Salmerón, C., Betancourt-Sandoval, J. A., & Córdoba-Domínguez, J. A. (2010). Epidemiología del dolor crónico en México. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 33(4), 207–213.
- D'Andrea, G. (2015). Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia*, 106, 256–271. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.09.018>
- De Lira Mota, K. S., Dias, G. E. N., Pinto, M. E. F., Luiz-Ferreira, Â., Souza-Brito, A. R. M., Hiruma-Lima, C. A., Barbosa-Filho, J. M., & Batista, L. M. (2009). Flavonoids with gastroprotective activity. *Molecules*, 14(3), 979–1012. <https://doi.org/10.3390/molecules14030979>
- Filho, A. W., Filho, V. C., Olinger, L., & De Souza, M. M. (2008). Quercetin: Further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. *Archives of Pharmacal Research*, 31(6), 713–721. <https://doi.org/10.1007/s12272-001-1217-2>
- Griffin, M. R. (1998). Epidemiology of nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated

- gastrointestinal injury. *American Journal of Medicine*, 104(3 A).  
[https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(97\)00207-6](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(97)00207-6)
- Guadarrama, O. (2018). *Evaluación del efecto antinociceptivo y/o anti-inflamatorio de Brassica oleracea var. italica y metabolitos activos en modelos experimentales*. UNAM.
- Gupta, A., Bihman, K., Raheja, I., Sharma, S. K., & Kar, H. K. (2016). Quercetin: A wonder bioflavonoid with therapeutic potential in disease management. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(3), 248–252. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)61024-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)61024-6)
- Hernández, A. V. y cols. (2010). Aspectos epidemiológicos relacionados con el dolor en la población adulta. *Archivo Médico de Camagüey*, 14(4).
- Hernández Mortera, Rafael José, y cols. (2008). *Manejo de la úlcera péptica en adultos en el primer y segundo niveles de atención*.
- International Association for the Study of Pain (IASP) Terminology*. (2020).  
<https://www.iasp-pain.org/terminology?navItemNumber=576#Pain>
- Le Bars, D., Gozariu, M., & Cadden, S. W. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacological Reviews*, 53(4), 597–652.
- Levine, B. (2018, October 12). *La genética, no la dieta, es la causa probable de la gota | Salud cotidiana*. La Genética, No La Dieta, Es La Causa Probable de La Gota.  
<https://www.everydayhealth.com/gout/genetics-not-diet-likely-cause-gout/>
- López-Muñoz, F. J., Díaz-Reval, M. I., Terrón, J. A., & Déciga Campos, M. (2004). Analysis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rat. *European Journal of Pharmacology*, 484(2–3), 157–165.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2003.11.005>
- López-Muñoz, F. J., Salazar, L. A., Castañeda-Hernández, G., & Villarreal, J. E. (1993). A new model to assess analgesic activity: Pain-induced functional impairment in the rat (PIFIR). *Drug Development Research*, 28(2), 169–175.  
<https://doi.org/10.1002/ddr.430280207>
- Lucía, C. P. A., Jacqueline, B. R., Alberto, B. R. L., David, B. A., & Beatriz, R. A. (2021). Actualized inventory of medicinal plants used in traditional medicine in Oaxaca, Mexico. In *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* (Vol. 17, Issue 1, pp. 1–15). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13002-020-00431-y>
- Marchand, S. (2008). The Physiology of Pain Mechanisms: From the Periphery to the Brain. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 34(2), 285–309.  
<https://doi.org/10.1016/j.rdc.2008.04.003>
- Mariscal, A. (2014). Remedios Viejos Para Males Nuevos. *Medicina Herbolaria: Remedios Viejos Para Males Nuevos*, 13.
- Martínez, A. L., González-Trujano, M. E., Aguirre-Hernández, E., Moreno, J., Soto-Hernández, M., & López-Muñoz, F. J. (2009). Antinociceptive activity of *Tilia americana* var. *mexicana* inflorescences and quercetin in the formalin test and in an arthritic pain model in rats. *Neuropharmacology*, 56(2), 564–571.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.10.010>

- Navarrete, A., Sánchez-Mendoza, M. E., Arrieta, J., Cruz-Antonio, L., Oliva, I., & Castañeda-Hernández, G. (2005). Gastroprotection and effect of the simultaneous administration of Cuachalalate ( *Amphipterygium adstringens* ) on the pharmacokinetics and anti-inflammatory activity of diclofenac in rats . *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *57*(12), 1629–1636. <https://doi.org/10.1211/jpp.57.12.0013>
- Norma Oficial Mexicana, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. (1999). *Nom-062-Zoo*, *3*(2), 1–58. <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>
- Olivé, A. , Sallés, M. (2003). Tratamiento de la gota aguda. *FMC. Formación Médica Continuada En Atención Primaria*, *10*(6), 413–419. [https://doi.org/10.1016/S1134-2072\(03\)75934-9](https://doi.org/10.1016/S1134-2072(03)75934-9)
- Oscanoa-Espinoza, T., & Lizaraso-Soto, F. (2015). Nonsteroidal antiinflammatory drugs: gastrointestinal and cardiovascular and renal safety. *Rev Gastroenterol Peru*, *35*(1), 63–71.
- Peláez-Ballestas, I., Sanin, L. H., Moreno-Montoya, J., Alvarez-Nemegyei, J., Burgos-Vargas, R., Garza-Elizondo, M., Rodríguez-Amado, J., Goycochea-Robles, M. V., Madariaga, M., Zamudio, J., Santana, N., & Cardiel, M. H. (2011). Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology. *Journal of Rheumatology*, *38*(SUPPL. 86), 3–6. <https://doi.org/10.3899/jrheum.100951>
- Pineda-Peña, E. A., Meza-Pérez, D. G., Chávez-Piña, A. E., Velázquez-Moyado, J. A., Tavares-Carvalho, J. C., & Navarrete Castro, A. (2019). Pharmacodynamic interaction of 3 $\alpha$ -hydroxymasticadienonic acid and diligustilide against indomethacin-induced gastric damage in rats. *Drug Development Research*, *80*(5), 585–594. <https://doi.org/10.1002/ddr.21535>
- Plaghki, L., Mouraux, A., & Le Bars, D. (2018). Fisiología del dolor. *EMC - Kinesiterapia - Medicina Física*, *39*(1), 1–22. [https://doi.org/10.1016/s1293-2965\(18\)88603-0](https://doi.org/10.1016/s1293-2965(18)88603-0)
- Rivera-Ordóñez, A. (2006). AINES: Su mecanismo de acción en el sistema nervioso central. *Revista Mexicana de Anestesiología*, *29*(1), 36–40.
- Robert, A. (1979). Cytoprotection by Prostaglandins. *Gastroenterology*, *77*, 761–767. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(79\)90235-X](https://doi.org/10.1016/0016-5085(79)90235-X)
- Rylski, M., Duriasz-Rowinska, H., & Rewerski, W. (1979). The analgesic action of some flavonoids in the hot plate test. *Acta Physiologica Polonica*, *30*(3), 385–388. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/495143/>
- Salud, M. S. de. (2009). Prevención, diagnóstico, tratamiento y referencia oportuna de hiperuricemia y gota. *CENETEC*, 1–38. <https://doi.org/10.1192/bjp.111.479.1009-a>
- Sánchez, B., Santiago, J., & Guillermo, S. (2014). Epidemiología del dolor crónico Epidemiology of Chronic Pain Correspondencia. In *Archivos en Artículo de Revisión* (Vol. 16, Issue 4). <https://www.medigraphic.com/pdfs/medfam/amf-2014/amf144c.pdf>
- Serafim, C., Araruna, M. E., Júnior, E. A., Diniz, M., Hiruma-Lima, C., & Batista, L. (2020). A Review of the Role of Flavonoids in Peptic Ulcer (2010-2020). *Molecules (Basel, Switzerland)*, *25*(22), 1–32. <https://doi.org/10.3390/molecules25225431>

- Sinha, V. R., Kumar, R. V., & Singh, G. (2009). Ketorolac tromethamine formulations: An overview. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 6(9), 961–975. <https://doi.org/10.1517/17425240903116006>
- Speciali, J. G., Fleming, N. R. P., & Fortini, I. (2016). Primary headaches: dysfunctional pains. *Revista Dor*, 17(Suppl 1), 72–74. <https://doi.org/10.5935/1806-0013.20160053>
- Sprouse, A. A., & Van Breemen, R. B. (2016). Pharmacokinetic interactions between drugs and botanical dietary supplements. In *Drug Metabolism and Disposition* (Vol. 44, Issue 2, pp. 162–171). American Society for Pharmacology and Experimental Therapy. <https://doi.org/10.1124/dmd.115.066902>
- Steeds, C. E. (2016). The anatomy and physiology of pain. *Surgery (United Kingdom)*, 34(2), 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2015.11.005>
- Verri, W. A., Vicentini, F. T. M. C., Baracat, M. M., Georgetti, S. R., Cardoso, R. D. R., Cunha, T. M., Ferreira, S. H., Cunha, F. Q., Fonseca, M. J. V., & Casagrande, R. (2012). Flavonoids as anti-inflammatory and analgesic drugs: Mechanisms of action and perspectives in the development of pharmaceutical forms. In *Studies in Natural Products Chemistry* (1st ed., Vol. 36). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53836-9.00026-8>
- Woolf, C. J. (2010). What is this thing called pain? In *Journal of Clinical Investigation* (Vol. 120, Issue 11, pp. 3742–3744). <https://doi.org/10.1172/JCI45178>
- Wray, C. (2010). Ketorolac. *The Essence of Analgesia and Analgesics*, 14, 235–237. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511841378.055>
- Zimmermann, M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 16(2), 109–110. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(83\)90201-4](https://doi.org/10.1016/0304-3959(83)90201-4)