



20
7e1
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

FALLA DE ORIGEN

"DISFUNCION Y ANALGESIA EN EL MODELO
EXPERIMENTAL PIFIR EN LAS DIFERENTES FASES
DEL CICLO ESTRAL DE RATA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A I
MA. IRENE DIAZ REVAL

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO HUBIERO C.A.E.
DE NUESTRA DELEGACION

NOMBRE DEL DIRECTOR DE TESIS :
DR. FRANCISCO JAVIER LOPEZ - MUÑOZ
NOMBRE DEL ASESOR INTERNO :
Q.F.I. ESTELA VALENCIA PLATA

MEXICO, D. F.

1996



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



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 está 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.

**Doy gracias a
DIOS por haberme permitido
llegar a este momento, que es uno
de los más importantes en mi vida.**

**Dedico este trabajo a mis
padres: Liboria Reval y Alfonso Díaz,
ya que gracias a su incansable esfuerzo,
comprensión y amor me han permitido cumplir
una de las metas más importante en mi vida.**

**Agradezco a mis hermanos el
apoyo que me brindaron para la
realización de uno de mis más
grandes anhelos. Y Con especial
cariño a Hermila y Sabina.**

**A ti Joaquín
por todo el apoyo y la
confianza brindadas para la
realización de este trabajo y
por compartir conmigo los
triumfos y los fracasos del camino.**

**Dedico este trabajo
con especial cariño a
mis amigas Lucía y Alicia.**

Agradezco infinitamente al Dr. Francisco Javier López Muñoz por el apoyo brindado para la realización de este trabajo, y por los conocimientos adquiridos; así como a sus colaboradores por la paciencia brindada durante la realización del mismo.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de "Dolor y Analgesia" del Departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV-IPN, bajo la dirección del

Dr. Francisco Javier López Muñoz

y fungiendo como asesor interno:

Q.F.I. Estela Valencia Plata de la FES-ZARAGOZA, UNAM.

INDICE

INTRODUCCION.....	1
FUNDAMENTACION.....	4
1. DOLOR.....	4
1.1. MECANISMOS DE DOLOR.....	5
1.1.1. RECEPTORES DEL DOLOR O NOCICEPTORES.....	5
1.1.2. MÉDULA ESPINAL.....	6
1.1.3. VÍAS ASCENDENTES.....	6
1.1.3.1. Tracto Espino-Talámico.....	7
1.1.3.2. Tracto Espino-Reticular.....	7
1.1.3.3. Tracto Espino-mesencefálico.....	7
1.1.4. CENTROS SUPRAESPINALES.....	7
1.1.5. RECEPTORES.....	8
1.1.5.1. Receptores "mu".....	9
1.1.5.2. Receptores "kappa".....	9
1.1.5.3. Receptores "delta".....	10
1.1.5.4. Receptores "sigma" y "epsilon".....	10
1.1.6. NEUROTRASMISORES.....	10
1.1.6.1. Sustancia P (SP).....	11
1.1.6.2. Encefalinas y Endorfinas.....	11
1.1.6.3. Otros Péptidos.....	11
1.2. MECANISMOS DE CONTROL DEL DOLOR.....	12
2. ANALGÉSICOS.....	14
2.1. HISTORIA.....	14
2.2. CLASIFICACIÓN DE LOS ANALGÉSICOS.....	15
2.3. MORFINA.....	16
2.3.1. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS.....	17
2.3.2. FARMACOCINÉTICA.....	17
2.3.3. MECANISMO DE ACCIÓN ANALGÉSICA.....	18
2.3.4. TOLERANCIA Y DEPENDENCIA.....	19
2.3.5. SÍNDROME DE SUPRESIÓN.....	20
2.3.6. EFECTOS ADVERSOS.....	20
2.4. DÍPIRONA.....	20
2.4.1. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS.....	21
2.4.2. FARMACOCINÉTICA.....	21
2.4.3. MECANISMO DE ACCIÓN ANALGÉSICA.....	22
2.4.4. EFECTOS ADVERSOS.....	23
3. HORMONAS QUE REGULAN EL CICLO MENSTRUAL DE LA MUJER Y EL CICLO ESTRAL DE LA RATA.....	24
3.1. CICLO MENSTRUAL.....	25
3.2. CICLO ESTRAL DE LA RATA.....	26
3.3. POSIBLE INFLUENCIA DE LAS HORMONAS SEXUALES FEMENINAS SOBRE EL DOLOR Y ANALGESIA.....	29

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	31
OBJETIVOS.....	33
HIPÓTESIS.....	35
MATERIAL Y MÉTODOS.....	36
MATERIAL BIOLÓGICO.....	36
REACTIVOS.....	36
FÁRMACOS.....	36
MATERIAL.....	36
EQUIPO.....	37
MÉTODOS.....	38
MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA.....	38
DETERMINACIÓN DE LA FASE ESTRAL.....	41
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	42
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.....	42
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
1. DETERMINACIÓN DE LAS FASES DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA.....	44
2. EXPERIMENTOS CONTROL Y DISFUNCIÓN PRODUCIDA POR A.U. AL 30%.....	46
3. DISFUNCIÓN EN CADA UNA DE LAS FASES ESTRALES DE LA RATA.....	49
4. EFECTOS ANALGÉSICOS DE MORFINA EN LAS DIFERENTES FASES DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA.....	55
5. EFECTOS ANALGÉSICOS DE DAPIRONA EN LAS DIFERENTES FASES ESTRALES DE LA RATA.....	67
6. ANÁLISIS DE LAS DIFERENTES CDR DE MORFINA Y DAPIRONA EN LAS DIFERENTES FASES ESTRALES DE LA RATA.....	78
CONCLUSIONES.....	82
PROPUESTAS.....	84
BIBLIOGRAFÍA.....	85

INTRODUCCION

A través de la historia de la humanidad la manifestación del dolor ha sido la causa principal del desarrollo de diversos fármacos. Los analgésicos, por ser el tipo de medicamentos que eliminan la sensación dolorosa han tenido un gran desarrollo, y para su estudio se han creado diversos modelos experimentales como son: plancha caliente, pinzamiento de cola, estiramiento abdominal, y recientemente el modelo experimental de "disfunción inducida por dolor en rata" (PIFIR) entre otros; todos estos modelos son con el fin de estudiar los efectos analgésicos a nivel preclínico en donde se evalúa el analgésico tomando en cuenta el tipo de dolor que se produce en cada uno de ellos, probando diferentes dosis para saber cual es la más adecuada y analizando los efectos tóxicos que se pueden presentar. Finalmente con un estudio completo clínico, estos analgésicos se puedan probar en humanos teniendo ya una referencia de su modo de acción y finalmente el hombre los pueda utilizar.

El modelo PIFIR provoca una lesión en la cual el dolor es parecido al que se experimenta en la artritis de tipo gotoso; como es sabido, cualquier tipo de fármaco que el hombre utilice no actúa únicamente en el órgano blanco que se desea sino que mientras actúa en dicho órgano o sistema para eliminar cualquier enfermedad también puede actuar en un sitio donde no se desea que lo haga y de ahí que todos los fármacos presenten efectos adversos.

Existen otros factores que provocan diferencias en la eficacia de los medicamentos como son la edad, la raza y el sexo así como también los efectos tóxicos que se presentan dependen de los factores antes mencionados.

Se sabe que la farmacocinética de algunos medicamentos puede estar influenciada por sustancias endógenas existentes en el cuerpo humano, algunas de estas son las hormonas sexuales esteroideas que regulan el ciclo menstrual (Banerjee y col., 1983). En este estudio específicamente es interesante analizar si los cambios hormonales que se producen durante el ciclo estral de la rata hembra influye o modifica los efectos analgésicos que son observados en el modelo experimental PIFIR.

En algunos otros modelos experimentales se ha encontrado que los efectos analgésicos dependen de la fase del ciclo estral en la que se encuentre la rata, ya que cada una de las fases esta regulada por diferentes hormonas y distintas cantidades de las mismas y se ha supuesto que el mecanismo de acción del analgésico evaluado pueda influir, ya que es probable que interactúe con algunas de estas hormonas presentándose una eficacia menor o mayor de dicho analgésico. En base a estos estudios es importante analizar si existe alguna diferencia en alguna de las fases del ciclo estral de la rata con respecto a la analgesia producida con dos diferentes analgésicos: dipirone (analgésico tipo ácido acetil salicílico) y morfina (analgésico tipo opioide), el estudio se realizó con el método del modelo PIFIR y tomando muestras del epitelio vaginal de la rata, ya que estos animales como presentan un ciclo estral corto, reflejan directamente en las células antes mencionadas los cambios hormonales que estan ocurriendo, de esta manera se puede inferir que las diferencias presentadas en las distintas fases estrales con respecto a la analgesia dependen de la hormona que regula la fase del ciclo estral en la que se encuentre la rata, este estudio no sólo se realizó para evaluar el efecto analgésico sino también la disfunción que se provoca con el modelo. A los resultados obtenidos se les hace

un análisis de varianza de una vía (con ABC) y otro de dos vías (perfil del curso temporal) para saber si existe diferencia significativa tanto en la disfunción provocada como en la analgesia obtenida con los diferentes analgésicos evaluando efectos analgésicos globales como perfiles de analgesia presentados en cada fase del ciclo estral de la rata en el modelo PIFIR.

FUNDAMENTACION

1. DOLOR

Prácticamente, todos los animales racionales e irracionales tienen la capacidad de detectar y responder ante estímulos externos que pueden poner en peligro su integridad, causándoles algún daño físico y también produciendo una experiencia y sensación desagradable llamada dolor (Kavaliers, 1988).

El dolor es un fenómeno fisiológico complejo que involucra mecanismos neurofisiológicos y psicológicos; generalmente se presenta como una respuesta a un estímulo nocivo que empieza en un tejido periférico, se transmite a través del sistema nervioso y cuando el mensaje es recibido en SNC (corteza cerebral) hay una reacción psicológica (Melzack, 1982; Zimmermann, 1984; Lasagna, 1986).

Existe una gran cantidad de factores que modulan y modifican tanto la percepción como la reacción al dolor: ambientales, sociales, culturales; además de factores como el sexo, la edad, la dieta, etc. (Kerr y Wilson, 1978; Melzack, 1982). Algunas variables psicológicas que influyen en el dolor son la atención a la percepción del dolor, la ansiedad, la sugestión, etc., mientras que los mecanismos neurofisiológicos involucran sistemas neuronales y una gran variedad de sustancias (neurotransmisores) que transmiten el estímulo doloroso y modulan los mecanismos, tales como Acetilcolina (ACh), Noradrenalina (NA), serotonina (5-HT), sustancia P (SP), endorfinas y encefalinas (Lim, 1967).

1.1. MECANISMOS DE DOLOR

1.1.1. RECEPTORES DEL DOLOR O NOCICEPTORES.

El primer paso para que haya generación de dolor es la estimulación de terminales nerviosas libres no encapsuladas, existentes en los tejidos. Estas terminales nerviosas son morfológicamente similares, pero varían en su densidad y susceptibilidad a varios tipos e intensidades de estimulación, se clasifican principalmente en dos grupos: las fibras amielínicas C de conducción lenta (menos de 2.5 m/seg) y las A-delta, que son más rápidas que las fibras C (4-30 m/seg) dependiendo del grosor de su diámetro que varía de 1-6 μm (Edmeads, 1983). Estas fibras al ser receptores específicos para detectar dolor son conocidas como "nociceptores". Existen otros dos grupos de fibras nerviosas las A-alfa y las A-beta pero estas están especializadas en percibir estímulos sensitivos de tacto o de presión, por lo que no son objeto de éste estudio.

Los receptores de dolor pueden ser clasificados en tres grupos: los mecanorreceptores, son terminales nerviosas sensibles a estímulos mecánicos y excitan a las fibras mielínicas A-delta de mayor diámetro; los termorreceptores estimulados por calor, conducen la información a través de ambas fibras las C y las A-delta de menor diámetro, y el último grupo está compuesto por terminales nerviosas polimodales, éstas responden a diversos estímulos como son factores térmicos, mecánicos y químicos que excitan a las fibras C (Dykes, 1975). Todas estas terminales nerviosas son aferentes primarias que transportan estímulos dolorosos desde los tejidos periféricos hacia el núcleo trigémico y astas dorsales de la médula espinal (Dubner, 1980).

1.1.2. *MÉDULA ESPINAL*

El hecho de que el estímulo doloroso se transporta en el sentido anteriormente mencionado es porque las fibras aferentes corresponden al axón de neuronas nociceptoras cuyo soma está localizado en los ganglios de las astas dorsales, donde se conectan; dicha conexión abarca a más de una célula y de una lámina (Dykes, 1975). Las células de las astas dorsales que reciben de manera selectiva las fibras aferentes nociceptivas son fundamentalmente las células marginales de Cajal en la lámina I, algunas células de la lámina II y III que comprenden la sustancia gelatinosa y las células de la lámina V (Dubner, 1980).

Las neuronas marginales de las láminas I y V están especializadas en recibir información periférica de carácter nociceptivo, pero su respuesta está sometida a controles intraespinales de la lámina II y supraespinales. La excitabilidad de estas áreas, particularmente de la lámina V, depende de las aferencias no nociceptivas que sobre ellas concurren (Kerr y Wilson, 1978).

1.1.3. *VÍAS ASCENDENTES*

Los axones provenientes de las neuronas nociceptivas (láminas I, II, III y V), se concentran en una serie de tractos localizados principalmente en el cordón anterior y anterolateral de la sustancia blanca, dependiendo del núcleo donde terminan; los tractos reciben diferentes nombres: espino-reticular, espino-mesencefálico y espino-talámico; estos constituyen las vías ascendentes que llevan la información convenientemente codificada hacia centros superiores (Besson y col., 1982).

1.1.3.1. *Tracto Espino-Talámico*

El tracto espinotalámico proviene de las láminas I y V de las astas dorsales (éstas responden a estímulos mecánicos de alto umbral y a estímulos nocivos de amplio rango, respectivamente), cruza la línea media y se proyecta rostralmente a través del fascículo anterolateral de la médula, de ahí pasa a la materia gris periacueductal (MGP) y periventricular en el cerebro medio y diencefalo terminando en el tálamo (Basbaum, 1984).

1.1.3.2. *Tracto Espino-Reticular.*

El tracto espino-reticular principalmente proviene de otras células de la lámina V cruza la línea media y asciende al fascículo anterolateral, se proyecta a varios núcleos del cerebro y éstos se proyectan al tálamo (Edmeads, 1983).

1.1.3.3. *Tracto Espino-Mesencefálico*

El tracto espinomesencefálico también nace en las neuronas de la lámina V, cruza la médula y termina en la SGP.

1.1.4. *CENTROS SUPRAESPINALES*

Las fibras nerviosas procedentes de las neuronas de la médula, agrupadas en los tractos antes señalados, tienen principalmente tres sitios terminales: el bulbo, la sustancia gris y el tálamo, en estas áreas existe una multiplicidad de conexiones que originan múltiples procesos que acompañan la percepción dolorosa y también en estas conexiones hay puntos donde la aferencia nociceptiva estimula o provoca la

reacción de los sistemas eferentes responsables de controlar la entrada de impulsos nociceptivos en el asta posterior de la médula (Basbaum y Fields, 1984).

En estos sistemas hay transmisión de estímulos nociceptivos y no dolorosos en donde se establece una ruta que proviene de los tractos de la médula espinal, pasa hacia el bulbo o a la sustancia gris dependiendo de la intensidad del estímulo, de ahí se proyecta al tálamo que también percibe todo tipo de estímulo y entonces pasa hacia el cortex y es cuando se tiene conciencia del dolor (Basbaum, 1984).

1.1.5. RECEPTORES.

Algunas sustancias analgésicas (opioides) generan sus efectos farmacológicos al interactuar con sitios específicos del organismo llamados receptores; los receptores opioides son estructuras localizadas principalmente, a lo largo del SNC; algunos tipos específicos se han localizado en diferentes regiones del cerebro, espina dorsal y el intestino; las estructuras del SNC tienen la capacidad de interactuar con péptidos endógenos para inhibir una sensación dolorosa, siendo específicos para cada péptido, por ejemplo la meta-enkefalina es un péptido endógeno que activa los receptores "mu" para producir analgesia profunda. Pero los "receptores opioides" han recibido este nombre porque también interactúan con los compuestos de origen opioide exógenos, generando éstos efectos agonistas (estimulantes) y/o antagonistas (bloqueadores) con varios de ellos, ya que este tipo de compuestos cuando son administrados no actúan específicamente como los péptidos endógenos (Hayes y Vogelsang, 1991). Por ejemplo, la morfina se une con diferente afinidad y actividad a los receptores μ_1 , κ y δ para producir analgesia, pero también activa a los μ_2 causando principalmente depresión respiratoria y otros efectos adversos. En la actualidad, las

familias de receptores se han clasificado de acuerdo al tipo de analgesia que producen al ser activados.

1.1.5.1. Receptores "Mu"

Los receptores *mu* (actualmente han podido ser clasificados en: *mu*₁ y *mu*₂) se encuentran predominantemente en el cerebro y regiones subcorticales del cerebro (MGP e hipotálamo) y en las astas dorsales de la médula espinal. La activación agonista de los receptores *mu*₁ produce analgesia profunda, que es proporcional a la especificidad o afinidad del compuesto opioide administrado y a su actividad intrínseca. Mientras que la activación de los receptores *mu*₂ produce depresión respiratoria, náuseas, vómito, efectos cardíacos, euforia y dependencia física asociada con la administración frecuente del opioide (Omote y col., 1990). El ejemplo típico de sustancias que actúan en estos receptores es la morfina.

1.1.5.2. Receptores "Kappa"

Estos receptores predominan en las áreas corticales del cerebro, pero también se encuentran en las astas dorsales de la médula espinal, son responsables de la analgesia supraespinal, sedación y analgesia espinal. Los receptores "kappa" son activados por sustancias que presentan generalmente una mezcla de acciones opioides agonistas-antagonistas. Estos receptores forman también uniones débiles con algunos opioides agonistas puros (Dickenson, 1991). Ejemplo de sustancias opioides agonistas-antagonistas son: pentazocina y bremazocina.

1.1.5.3. *Receptores "Delta"*

Este tipo de receptores aún no están bien estudiados, se han encontrado muy poco en regiones corticales del cerebro y en grandes cantidades en el tubérculo olfatorio y las amígdalas, su función aún no está muy clara ya que su activación puede producir analgesia a través de la acción sinérgica con los receptores *mu* particularmente a nivel de médula espinal. Estos receptores también parecen tener alguna función en los efectos epilépticos y sedativos de los opioides y están asociados con la adicción (O mote y col., 1990). Ejemplo de sustancias con actividad agonista en estos receptores es la N-alilnormetazocina.

1.1.5.4. *Receptores "Sigma" y "Épsilon"*

Los receptores *épsilon* no parecen tener relación con la analgesia producida por los opioides a diferencia de los receptores *sigma*. Estos últimos son activados por mezclas de opioides agonistas-antagonistas pero sus efectos son disforia, hipertonia, taquicardia y alucinaciones (Hayes y Vogelsang, 1991). La nalbufina es un agonista opioide que genera analgesia al interactuar con receptores *sigma*. Mientras que los receptores *épsilon* son activados por algunos tipos de beta-endorfinas.

1.1.6. NEUROTRASMISORES

Existen sustancias endógenas que pueden facilitar o inhibir la acción de neuronas implicadas en la transmisión del dolor, éstas generalmente son péptidos.

1.1.6.1. *Sustancia P (SP)*

Esta sustancia es un undecapéptido que ha sido identificado inmunohistoquímicamente en las fibras A-delta y C de las neuronas, en el tracto de Lissauer y en las láminas I, II y III de las astas dorsales. La función de esta sustancia es básicamente actuar como propagador o transmisor entre las neuronas que son excitadas por un estímulo doloroso. La estimulación aferente libera SP; estudios donde se administra morfina o encefalina localmente en las astas dorsales, inhiben la liberación de esta sustancia y se produce analgesia al evitar que la señal de dolor llegue a la parte supraespinal del SNC; por esta razón se considera un neurotransmisor de primer orden (Omaña-Zapata y Condés-Lara, 1991).

1.1.6.2. *Encefalinas y Endorfinas.*

En el cerebro existen ciertas células que tienen sustancias implicadas en la nocicepción, como lo son las encefalinas. Estas pueden producir analgesia así como inhibir la contracción de músculo liso intestinal (Edmeads, 1983). Algunos estudios han demostrado que también las láminas I y II de las astas dorsales contienen células responsables de los impulsos nocivos, donde se encuentra la encefalina que está situada postsinápticamente para modular la transmisión de la señal dolorosa (Basbaum, 1984). Las endorfinas también son péptidos que han sido aislados del cerebro así como de la pituitaria y tienen un papel importante en el control descendente del dolor actuando entre otros sitios, en la sinapsis de las neuronas del hipotálamo (Shyu y col., 1982).

1.1.6.3. *Otros Péptidos*

Existen otros péptidos que también contribuyen a la nocicepción o al control de

impulsos dolorosos, sin embargo, sus mecanismos siguen siendo estudiados. Entre estos péptidos se pueden citar a la "neurotensina" que se ha encontrado principalmente en la sustancia gelatinosa (lámina II y III) y excita a los nociceptores espinales; otro es la "somatostatina" que ejerce principalmente un efecto inhibitorio sobre los nociceptores y se encuentra en las células de pequeño diámetro de las astas dorsales. Otras sustancias como la "bombesina", "citocina", "polipéptido vasoactivo intestinal", etc., se ha encontrado que aparentemente derivan de neuronas espinales con proyección al tálamo pero su función es desconocida (Basbaum, 1984).

Diversas sustancias que no son péptidos como son GABA, NA, ACh, y 5-HT también contribuyen al control de la nocicepción, están localizadas en las astas dorsales y generalmente actúan como neurotransmisores (Lim, 1967).

1.2. MECANISMOS DE CONTROL DEL DOLOR

Así como existen mecanismos por donde se transmite un estímulo nocivo, también existen mecanismos mediante los cuales el dolor es modulado o inhibido antes de que haya percepción y posteriormente una respuesta. En estos mecanismos actúan sustancias o neuronas, básicamente de las astas dorsales y en especial de la sustancia gelatinosa (Dykes, 1975); éstas actúan similarmente a una puerta que puede incrementar o disminuir la intensidad de los impulsos desde las fibras periféricas que pasan por la médula espinal y se proyectan al cerebro, actuando de la siguiente manera: los impulsos de las fibras largas tienden a cerrar la puerta, mientras que los de las fibras cortas generalmente la abren y la experiencia dolorosa se presenta cuando el número de

impulsos nerviosos que son percibidos en estas áreas excede el nivel crítico (Melzack, 1982); dicha puerta también está influenciada por las vías descendentes que provienen del cerebro en donde las neuronas nociceptivas de primer orden activan a las neuronas de segundo orden por acción de la SP (Omaña-Zapata y Condés-Lara, 1991). Las neuronas de primer orden llevan en sus axones receptores que son activados por la liberación presináptica de la SP; éstos son receptores opiáceos que pueden ser activados por sustancias exógenas tales como morfina o también por encefalina que como se mencionó anteriormente, es una sustancia endógena que se libera cerca de las terminales de las interneuronas de las astas dorsales (Kerr y Wilson, 1978; Basbaum y Fields, 1984).

Estudios recientes han demostrado que las vías descendentes para la inhibición del dolor involucran sucesivamente a la SGP, el núcleo de Rafé magnus (NRM) y las interneuronas de las astas dorsales mencionadas anteriormente, actuando de la siguiente manera: la SGP es activada por un estímulo nocivo que proviene de las vías ascendentes o por un estímulo directo en ella, lo que provoca impulsos en sus axones y se libera encefalina de las terminales sobre el NRM; las neuronas del NRM se activan y liberan 5-HT en las terminales de las astas dorsales activando las interneuronas en la médula espinal; y éstas secretan encefalina que se combina con los receptores opiáceos en los axones de las neuronas nociceptivas de primer orden inhibiendo la transmisión del dolor presinápticamente en las astas dorsales, siendo este un mecanismo endógeno de control del dolor (Basbaum y Fields, 1984), pero también se puede controlar utilizando sustancias exógenas como son los analgésicos.

2. ANALGÉSICOS

Para lograr aliviar el dolor, a través del tiempo se ha hecho uso de múltiples factores, hasta llegar finalmente a los analgésicos. El dolor debe ser aliviado corrigiendo la causa fundamental, sin embargo, generalmente es necesario hacer uso de terapéutica específica con fármacos que alivien la sensación dolorosa, después de que el dolor haya cumplido con la función de advertirnos que existe algún problema; esos compuestos específicos para aliviar la sensación dolorosa sin alterar la conciencia son los analgésicos.

2.1. HISTORIA

Dado que el dolor aparece acompañando al hombre desde sus orígenes, el problema del alivio del dolor siempre ha existido. Se reporta el uso de la goma de opio desde épocas pre-cristianas; aún así, la morfina fue extraída de la goma de opio en forma pura apenas en 1803 (Goodman y Gilman, 1986); se le ha considerado a la morfina como analgésico prototipo del grupo de los opioides y como patrón de comparación en cuanto a eficacia y potencia con nuevos compuestos analgésicos. Es reconocida su eficacia en procesos dolorosos, aún de intensidad alta. Por otra parte, en tiempos de Galeno se usó la mandrágora, posteriormente Celso, conocido por su descripción de los síntomas de la inflamación, ya había usado la corteza del sauce para prevenir precisamente la inflamación. En 1853 se utilizó el ácido salicílico para este fin y el ácido acetilsalicílico se ha usado desde 1899 (Bernbard y Koeppen, 1992).

En el caso de las pirazolonas, éstas pueden ser rastreadas desde 1820, en ese

mismo año se aisló la quinina y fue hasta 1882 cuando se sintetizó la quinolina, en ese tiempo se trataban de sintetizar compuestos parecidos a la quinina y dos años más tarde Knorr y Filehene sintetizaron la fenazona (Bernbanrd y Koepen, 1992). En 1920 Blockmuhl sintetizó la dipirona, compuesto analgésico muy útil a nivel mundial y usado con gran demanda a nivel clínico en México y Europa. Este analgésico manifiesta eficacia analgésica similar a la de aspirina, ibuprofeno, ketofreno, entre otros (López-Muñoz y col., 1993a); y potencia analgésica similar a la de aspirina y acetaminofen (López-Muñoz y col., 1993b).

2.2. CLASIFICACIÓN DE LOS ANALGÉSICOS

Existen diversas clasificaciones de los analgésicos, nosotros podríamos manejar dos grupos de acuerdo al mecanismo de acción por el que actúan: en el primero tenemos a los analgésicos "**opioides**", éstos son alcaloides que fueron extraídos del opio, aunque actualmente los hay sintéticos o semisintéticos a estos últimos solo se les han hecho modificaciones a las estructuras naturales. Se encontró que estos analgésicos, además de poseer propiedades analgésicas también tenían efectos sedantes o narcóticos, por lo que en un tiempo se les clasificó como tales; éstos pueden provocar con el uso crónico adicción que es uno de sus efectos adversos más peligrosos. El primero de estos analgésicos aislado en estado de pureza fue la morfina, que hasta la actualidad es el prototipo de este grupo porque posee adecuadas características de eficacia y potencia analgésicas (Kerr y Wilson, 1978) en comparación con diversos analgésicos de su mismo grupo para dolores severos. Estos fármacos actúan

principalmente a nivel de SNC sobre receptores específicos, este mecanismo será explicado más adelante.

El segundo grupo lo componen fármacos derivados principalmente de tres tipos de compuestos: ácido acetil salicílico, anilina y pirazolonas (Brune, 1990), a este grupo se le ha denominado en general: Analgésicos "Antiinflamatorios no Esteroideos" ("AINE" o por sus siglas en ingles: "NSAIDs") o como compuestos de tipo ácido acetil salicílico, ya que este analgésico es el prototipo. Éstos a diferencia de los primeros analgésicos mencionados tienen la ventaja de que no son "narcóticos" ni provocan adicción, generalmente son usados para dolores que están asociados con inflamación que pueden ser crónicos pero no muy severos, todos ellos difieren en su actividad analgésica y sus efectos colaterales, ya que algunos son más eficaces como analgésicos pero tienen poca actividad antiinflamatoria; otros son buenos como antipiréticos pero su efecto analgésico es menor. Estos analgésicos actúan preferentemente a nivel periférico inhibiendo la síntesis de prostaglandinas (Brune, 1992), mecanismo que será explicado más adelante. En este grupo encontramos clasificada a la dipirona que es un derivado de las pirazolonas.

Para fines de este trabajo solo se hablará de la morfina por ser el prototipo de los analgésicos opioides, y de la dipirona ya que se utilizará como modelo de los analgésicos de tipo AINE.

2.3. MORFINA

La morfina es un derivado fenantrénico sustituido, parcialmente hidrogenado, que

tiene una estructura aromática de 4 anillos. El sistema de anillos posee un grupo hidroxilo fenólico en el carbono 3, un puente epoxi entre los carbonos 4 y 5, un grupo hidroxilo alcohólico a nivel del carbono 6 y un nitrógeno en el anillo piperidínico sustituido con metilo que por lo tanto es una amina terciaria. La estructura activa es el isómero *levo* natural, por lo que se deduce que el lugar receptor es estereoespecífico (Bowman y Rand, 1984).

2.3.1. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

La morfina y opioides relacionados tienen efectos principalmente en el SNC y el intestino (Vaught y col., 1985); los efectos son diversos e incluyen analgesia para aliviar dolores muy severos, la ansiedad, somnolencia y euforia son producidas con cantidades menores a la dosis terapéutica, que va seguida de una sensación de relajamiento que se acompaña de un aumento en actividad motora, y con dosis mayores se presentan otros efectos tóxicos como sedación acompañada de fantasías, que puede ser el efecto más importante que explique el porque se lleva a cabo el abuso en el consumo de estos fármacos (Goldstein y col., 1979).

2.3.2. FARMACOCINÉTICA

La morfina se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal (GI), mucosa nasal y el pulmón y por administración subcutánea o intramuscular, con administración oral el efecto puede ser menor en comparación a las vías de administración anteriormente mencionadas debido a que en el hígado se metaboliza en gran parte.

Después de haber sido administrada la morfina pasa a sangre donde se une a las proteínas plasmáticas; la morfina que queda libre sale rápidamente y se acumula en los tejidos parenquimatosos de riñón, pulmón, hígado y bazo; el músculo esquelético absorbe menos cantidad en comparación a los órganos antes mencionados de donde es eliminada la gran mayoría aproximadamente 24 horas después por filtración glomerular como morfina-3-glucurónido, y muy poca se excreta intacta, cantidades aún menores llegan a encontrarse en heces (Katsung, 1986).

2.3.3. MECANISMO DE ACCIÓN ANALGÉSICA.

El organismo humano tiene un sistema endógeno analgésico que previene el dolor y parece que existen dos mecanismos por los cuales la transmisión de las sensaciones dolorosas son suprimidas; estas incluyen tanto despolarización como hiperpolarización de interneuronas dentro de la médula espinal, inhibiendo de esta manera ya sea la liberación de neurotransmisores (por ejemplo de SP), o evitando la excitación de la célula postsináptica. El otro es el mecanismo supraespinal, el cual se lleva a cabo en estructuras específicas dentro del cerebro; existen tres sistemas asociados con su activación, que incluyen el sistema opioide que libera endorfinas, el adrenérgico que libera NA y el serotoninérgico que libera 5-HT (Lipp, 1991).

Cuando el sistema analgésico endógeno no es suficiente para controlar el dolor, los analgésicos exógenos pueden ser usados para ayudar al sistema endógeno. Fang y col. (1986) demuestran que diferentes analgésicos opioides agonistas son capaces de actuar a nivel de receptores mu y delta para producir analgesia supraespinal; así como

también Upton y col. (1983) determinan las diferencias existentes entre los receptores mu y kappa para producir analgesia, mientras que, por otro lado en otros estudios se observó que los receptores mu, delta y kappa están involucrados en la analgesia espinal relacionada con diferentes clases de estímulo nocivo (Przewlocki y col., 1983); de lo que se deduce que los opiáceos interactúan con los receptores y producen analgesia por el mismo mecanismo que la encefalina (despolarización o hiperpolarización de interneuronas) e inhiben la liberación de transmisores asociados con la transmisión del dolor (Simonds, 1988).

2.3.4. TOLERANCIA Y DEPENDENCIA

Cuando los opiáceos se administran en forma repetida o crónica y en dosis crecientes, se desarrolla irremediamente "tolerancia" a varios efectos farmacológicos que producen los opiáceos. Esta tolerancia está caracterizada por una disminución en la intensidad de los efectos que normalmente se producen con la dosis equivalente administrada una sola vez; y un acortamiento del período de analgesia, euforia, sedación y depresión respiratoria; el ritmo de desarrollo y su grado dependen de la vía de administración, régimen posológico y la frecuencia de la dosis (Bowman y Rand, 1984). La tolerancia se acompaña de dependencia física ya que el adicto mientras está recibiendo el fármaco reacciona bien, pero en cuanto es suprimida la administración del fármaco o se administra un antagonista, se precipita o presenta el "Síndrome de Supresión o Abstinencia" (Goldstein y col., 1979).

2.3.5. SÍNDROME DE SUPRESIÓN

Si se suspende la administración del opioide cuando ya se ha producido tolerancia y dependencia física se ocasionan trastornos profundos; primero hay nerviosismo y una intensa búsqueda del fármaco, después se producen bostezos, goteo nasal, lagrimeo y transpiración, escalofríos, fiebre, vómito y respiración jadeante, pérdida de apetito, insomnio, hipertensión, dolores, pérdida de peso e hiperactividad del sistema nervioso simpático (Goldstein y col. 1979).

2.3.6. EFECTOS ADVERSOS.

La morfina y los opioides similares en dosis ligeramente superiores a las dosis efectivas pueden producir diversos efectos adversos tales como vómito, náuseas, vértigo, alteración mental, disforia, depresión respiratoria, constipación e incremento en la presión del tracto biliar (Goodman y Gilman, 1986). Cuando hay intoxicación (generalmente por el uso inmoderado del fármaco), el síntoma más característico es el estado de estupor que puede llegar hasta el coma, la respiración es muy lenta y superficial, el rostro tiene aspecto cianótico, las pupilas se contraen y el ritmo cardíaco es lento (García-Valdecasas, 1970); y como se había mencionado anteriormente el uso frecuente o crónico produce tolerancia farmacológica tanto a los efectos analgésicos como a algunos efectos adversos.

2.4. DIPIRONA

La dipirona es un analgésico del grupo de los AINE, todo el conjunto de

analgésicos que forman este grupo no tiene relación química entre sí, sin embargo, tienen propiedades analgésicas similares, la relación química se da, como se mencionó anteriormente, de grupos que tienen su origen en las mismas estructuras químicas, en particular la dipirona fue sintetizada a partir de la fenazona en 1920, por lo que corresponde al grupo de las pirazolonas, todo este grupo de analgésicos proviene de una estructura química base similar (anillo heterocíclico con dos átomos de nitrógeno), por lo que sus propiedades farmacológicas así como sus efectos adversos son muy parecidos entre sí (Goodman y Gilman, 1986).

2.4.1. PROPIEDADES FARMACOLOGICAS

La dipirona así como los demás analgésicos del tipo de la aspirina tienen propiedades farmacológicas muy parecidas aunque sus efectos analgésicos dependen del tipo de dolor que se este tratando; este fármaco esencialmente tiene propiedades analgésicas pero también antipiréticas, espasmolíticas y antiinflamatorias muy adecuadas.

2.4.2. FARMACOCINÉTICA.

La dipirona generalmente se usa en soluciones para administrar intramuscular o intravenosamente, pero también existen otras preparaciones como gotas, tabletas y supositorios; su acción farmacológica está asociada con los metabolitos que se forman dentro del organismo, ya que después de ser administrada, la dipirona es hidrolizada a 4-metilaminoantipirina (MAA), este metabolito alcanza una biodisponibilidad del 100% con administraciones orales e i.v., el cual es desmetilado a 4-aminoantipirina (AA),

que a su vez es acetilado a 4-acetilaminoantipirina (AAA), se cree que el AA es el metabolito principal para la acción analgésica (Vlabov, 1992), los metabolitos son excretados en orina en las siguientes concentraciones: MAA y AA menos del 10%, AAA 25% y MAA 12% (Rosenkranz, 1992).

2.4.3. MECANISMO DE ACCIÓN ANALGÉSICA

La dipirona es un fármaco, como se mencionó anteriormente, con potente actividad analgésica, antiinflamatoria y algunos efectos antipiréticos y espasmolíticos; ha sido ampliamente utilizado para dolor agudo, crónico y en procesos inflamatorios.

Este analgésico se clasifica como de acción periférica porque sus metabolitos 4-metilaminoantipirina y 4-aminoantipirina inhiben la síntesis de prostaglandinas de forma similar a la del ácido acetilsalicílico (Schmidt, 1990). Las prostaglandinas se sintetizan en todas las células, excepto en los eritrocitos y se liberan cuando dichas células sufren daños, estas sustancias se asocian particularmente con el desarrollo del dolor que acompaña a una lesión o inflamación, aunque también pueden causar cefalea y dolor vascular, en general tienen la capacidad de sensibilizar a los receptores del dolor a la estimulación mecánica y química. Los analgésicos tipo aspirina actúan inhibiendo la síntesis de las prostaglandinas al actuar sobre la ciclooxigenasa, la cual es un catalizador que actúa sobre un intermediario de las prostaglandinas y también en la liberación de éstas últimas de las células (Goodman y Gilman, 1986).

Sin embargo, en estudios recientes se ha observado que los analgésicos ácidos inhiben la síntesis de prostaglandinas en sitios periféricos, especialmente en los tejidos

inflamados, mientras que, los analgésicos no ácidos lo hacen principalmente en el sistema nervioso central, algunos autores indican que la dipirona tiene un sitio de acción central y uno periférico, por ejemplo: He X. y col. (1992) en su estudio demuestran que la dipirona causa efectos antinociceptivos por una acción periférica sobre las unidades aferentes mielinizadas finas, y que, además tiene una acción central que se ejerce claramente sobre médula espinal aunque existe la posibilidad de que también incluya la SGP en donde podría actuar sobre los receptores espinales opiáceos.

2.4.4. EFECTOS ADVERSOS

Los efectos adversos que se han asociado con los analgésicos AINE generalmente son el sangrado intestinal, el daño renal, casos aislados de shock, reacciones pseudoalérgicas de la piel, las mucosas y el tracto respiratorio (Baar y col., 1991), pero todos estos efectos dependen del analgésico en particular que se esté administrando. En el caso de la dipirona el efecto adverso más importante que presenta es la agranulocitosis, este problema se presenta cuando el medicamento interfiere con la síntesis de proteínas sobre la replicación celular (Lobato, 1990), y se caracteriza por la aparición en el plasma de anticuerpos contra granulocitos, aunque algunas veces cada administración de fármaco produce descenso repentino del número total de leucocitos acompañado de escalofríos intensos, fiebre, cefalalgia, mialgia y artralgia y después de unas horas el ataque cesa (Goodman y Gilman, 1978). En casos aislados se ha observado que la agranulocitosis puede ser fatal, por tal motivo este analgésico fue retirado del mercado en muchos países, pero en revisiones realizadas recientemente se

ha encontrado que este problema se presenta con poca frecuencia (4.6 por millón de habitantes por año) en comparación a los problemas gastrointestinales que provoca el ácido acético salicílico y además con los avances de la medicina es curable en un 80% de los casos que se detectan a tiempo (Lobato, 1990 y Goldenberg, 1990).

3. HORMONAS QUE REGULAN EL CICLO MENSTRUAL DE LA MUJER Y EL CICLO ESTRAL DE LA RATA.

Como es sabido existen animales (ratas, ratones, cobayos, perros y gatos) con ciertas características orgánicas (metabolismo, funcionamiento de ciertos órganos y tejidos y funcionamiento hormonal) similares a las del ser humano, por lo que ha sido posible hacer estudios preclínicos casi de cualquier índole en animales para después tratar de extrapolar los resultados al humano y predecir los efectos que pudieran presentarse en él, obviamente con las variaciones o diferencias pertinentes. Es decir, la experimentación en animales de laboratorio tiene un papel muy importante en el estudio, desarrollo, evaluación y descubrimiento de sustancias potencialmente útiles en el futuro para el hombre, y el avance del conocimiento de padecimientos que sufre el mismo hombre.

Por otra parte se sabe que puede haber para algunos fármacos diferencias en la magnitud de efecto que se genera en animales hembra y macho, esto debido a las diferencias hormonales; más aún puede haber variaciones en las mismas hembras debido a diferencias dadas por las diferentes fases de sus ciclos estrales.

El modelo experimental "PIFIR" por sus siglas en inglés "Pain Induced Functional

Impairment Model in Rat", es un modelo relativamente reciente, diferente a los modelos tradicionales empleados para evaluar analgesia, que puede emplear tanto ratas hembra como macho, y en el cual no ha sido caracterizado si bajo el estímulo doloroso (artritis de tipo gotoso) que se emplea para evaluar los analgésicos, se produce algún cambio en la analgesia debido a las diferentes fases del ciclo estral que pudieran presentar las ratas hembras.

3.1. CICLO MENSTRUAL

En las mujeres a diferencia de las hembras de otras especies de mamíferos, el ciclo hormonal que regula la maduración de los óvulos para que pueda haber fecundación, se caracteriza porque existe una descarga vaginal de sangre una vez al mes, a lo que se le denomina menstruación, de ahí el nombre de ciclo menstrual, todo el ciclo dura aproximadamente de 28 a 30 días pero el menstruación sólo dura de 4 a 5 días (Nalvandov, 1969).

Los cambios hormonales que ocurren durante el ciclo menstrual, empiezan en la fase folicular, en donde los niveles de la hormona folículo estimulante (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) se elevan. Como resultado de esto, los folículos de Graafian se empiezan a desarrollar en uno de los ovarios y las células secretan 17-beta-estradiol, androstendiona y 17-alfa-hidroxiprogesterona. La elevación de la secreción de estrógeno antes de la ovulación baja los niveles de FSH y al mismo tiempo provoca la proliferación de las glándulas uterinas. El estrógeno dispara una descarga ovulatoria de LH desde la glándula pituitaria, y usualmente va acompañada por una descarga simultánea de FSH;

en las mujeres, no se sabe el intervalo de tiempo exacto que existe entre el pico de estrógeno, el pico de LH y el momento de la ovulación. Después de la ovulación, el cuerpo lúteo empieza a formarse y secreta grandes cantidades de progesterona, y en menor proporción 17-alfa-hidroxiprogesterona y 17-beta-estradiol, a esto se le conoce como fase luteal, la cual dura alrededor de 14 días, después de este período de tiempo el cuerpo lúteo se hipertrofia por acción del estrógeno y la progesterona, por lo que el endometrio súbitamente queda sin soporte hormonal, las arterias endometriales entran en espasmo y el epitelio es desprendido de el lumen uterino ambos con cierta cantidad de sangre (Frisch, 1982)

3.2. CICLO ESTRAL DE LA RATA

Las ratas ovulan espontáneamente, su ciclo estral es muy corto, solo dura 4 días y está determinado por el ritmo diario. Existen ciertas similitudes hormonales entre el ciclo menstrual de la mujer y el ciclo estral de la rata, en el que pueden diferenciarse claramente cuatro fases de acuerdo a las características del epitelio vaginal como se puede apreciar en la Tabla I (Marenzi, 1957).

Han sido realizados numerosos estudios con el objeto de determinar que hormonas son las que regulan el ciclo estral de la rata y cuales son las concentraciones en las que se presentan, así se han determinado por medio de métodos específicos como cromatografía o radioinmunoensayos, las concentraciones de éstas (Butcher y col. 1974), y con cortes de útero o frotis vaginales los cambios que en el se presentan por acción de las mismas.

Tabla 1: Cambios en los ovarios e histología vaginal durante el ciclo estral en ratas.

FASE DEL CICLO	DURACIÓN	TIPOS DE CÉLULAS EN FROTIS VAGINALES
PROESTRO	12 horas	Nucleadas
ESTRO	30 horas	Cornificadas
METAESTRO	6 horas	Cornificadas y Leucocitos
DIESTRO	48 horas	Leucocitos

De los experimentos de Smith y col. (1975) así como de muchos más investigadores se han podido deducir las hormonas que se presentan en cada una de las fases del ciclo estral. La funcionalidad hormonal del ciclo estral de la rata se observa indirectamente por los cambios existentes en el epitelio vaginal de la rata, estos animales por tener un ciclo estral corto reflejan en la histología vaginal los cambios ováricos con mayor fidelidad, a diferencia de la mujer u otros mamíferos con ciclos estrales largos (Nalbandov, 1969).

De las hormonas que participan en el ciclo estral de la rata la LH, FSH y prolactina se encuentran en concentraciones basales en las fases de metaestro y diestro, se presenta un aumento en la secreción de éstas en las primeras horas del proestro alcanzando concentraciones máximas en el plasma aproximadamente a la mitad del proestro, posteriormente la concentración disminuye llegando a sus valores basales en

las primeras horas del estro donde se mantienen, excepto la prolactina que de nuevo alcanza concentraciones altas en la mitad del estro, posteriormente decae a valores casi de cero donde se mantiene (Butcher y col., 1974). Con respecto al estradiol sus concentraciones más bajas se presentan al finalizar el estro y al inicio del metaestro donde aquí la secreción empieza a aumentar hasta que finaliza esta fase, donde disminuye levemente, a estas concentraciones elevadas se les atribuye el hecho de que en esta fase se presenten células nucleadas y cornificadas en el frotis vaginal; en el diestro la secreción se incrementa hasta alcanzar sus máximos valores en la mitad del proestro (Smith y col., 1975).

Posiblemente el estímulo para que se incremente la secreción de estradiol son las bajas concentraciones en las que se encuentra la LH y esto probablemente se deba al hecho de que los folículos primero alcanzan un estado de desarrollo en el metaestro ya que el estradiol declina en asociación a cuando la LH surge y esto puede ser debido al efecto de la LH directa o indirectamente sobre la secreción de progesterona, estas dos aparecen en el plasma al mismo tiempo teniendo también la progesterona su concentración máxima a la mitad del proestro antes de la ovulación, ocurriendo esta última en las primeras horas del estro por lo que el estro es la fase fértil del ciclo, existen otras fases donde se encuentran concentraciones altas de progesterona y es en el metaestro y diestro, pero esto es debido a la funcionalidad del cuerpo lúteo.

Como se puede observar durante estos períodos existen cambios hormonales importantes que podrían modificar los efectos de algunos fármacos entre ellos los analgésicos.

3.3. POSIBLE INFLUENCIA DE LAS HORMONAS SEXUALES FEMENINAS SOBRE EL DOLOR Y ANALGESIA.

El tratamiento farmacológico del dolor tradicionalmente ha sido similar en hombres y en mujeres; solo algunas diferencias o correcciones de las dosis, suelen hacerse para el tratamiento en niños y personas de edad avanzada. Sin embargo, se sabe de diferencias en los efectos de algunos fármacos como son naloxona (antagonista opioide mu), ICI 154,129 (antagonista opioide delta) y alphaxolona (anestésico de tipo esteroideal) entre hombres y mujeres (Fink y col., 1982, Kavaliers y Duncan, 1987), también existen reportes de estudios preclínicos en diversas especies animales como son ratas y ratones (Coville y Telford, 1970). Por otra parte es muy probable que las diferencias en concentraciones hormonales que periódicamente sufre la mujer, pueda afectar la eficacia de ciertos medicamentos entre ellos los analgésicos. Recientemente estudios realizados en rata con diferentes modelos experimentales (plancha caliente: Lipa y Kavaliers, 1990; tail-flick: Banerjee y col. 1983; Frye y col. 1993) han reportado que existen diferencias sexuales a la respuesta nociceptiva y analgésica. Se ha inferido que esto es debido a la diferencia de la actividad hormonal existente entre hembras y machos (Dawkins y Potter, 1988), ya que la actividad ovárica está regulada por los niveles de esteroides sexuales que son secretados en las diferentes fases del ciclo estral de las hembras. Algunos grupos de investigación que han realizado estudios preclínicos con analgésicos de tipo opioide (Kavaliers y Duncan, 1987; Chatterjee, 1982) han descubierto que las hembras presentan una respuesta más baja que los machos, mientras que estudios realizados para compuestos de tipo no opioide (Bodnar, 1988) han demostrado que por este

mecanismo de acción, la analgesia no está influenciada por factores estrales. En algunos reportes donde han utilizado morfina sugieren que el dolor puede en algunos casos movilizar un esteroide endógeno de origen gonadal el cual actúa para reducir la nocicepción y que esta sustancia o su mecanismo de acción puede potenciar a la molécula de la morfina (Pinsky y col. 1975). También existen evidencias bioquímicas que indican que los niveles de los péptidos opioides fluctúan en función de la fase del ciclo estral (Wiesenfeld-Hallin y Södersten, 1984). Frye y col. (1992) mencionan que hay un incremento en la nocicepción durante el proestro y estró.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para evaluar los efectos analgésicos que producen nuevos analgésicos o combinaciones de ellos, se han ideado diferentes modelos experimentales, los cuales utilizan animales generalmente de sexo masculino por ser más fáciles de manipular y por no manifestar grandes cambios hormonales periódicos. Recientemente han sido empleados algunos de esos modelos experimentales para analizar los efectos analgésicos en hembras y algunos estudios han reportado que existen diferencias en las respuestas analgésicas de algunos fármacos naloxona, ICI 154,129 y morfina en los diferentes sexos de animales de experimentación.

Las diferencias reportadas muchas veces se deben al tipo de analgésico analizado, ya sea de tipo opioide ó de tipo AINE; o al modelo empleado, pero una razón muy importante puede ser la diferencia hormonal que existe en el ciclo estral de los animales hembras.

El modelo experimental PIFIR (López-Muñoz y col. 1993a) es un modelo experimental muy útil para el análisis de efectos analgésicos en animales de laboratorio (rata o cobayo); en este modelo experimental el proceso doloroso es muy parecido a una enfermedad que padece el hombre: la artritis de tipo gotoso, es un modelo específico, reproducible y económico, pero en este modelo experimental no se cuenta con un análisis y caracterización del dolor y efectos analgésicos en la rata hembra en las diferentes fases de su ciclo estral.

Por esta razón es de suma importancia caracterizar en este modelo experimental:

- 1. Si debido a las diferentes fases del ciclo estral de la rata se ve modificada la aparición de la disfunción y dolor producidos por el ácido úrico.**
- 2. Si en la analgesia producida en la rata hembra, existen diferencias debidas a las distintas fases del ciclo estral en el que se encuentre la rata hembra.**

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Caracterizar y analizar tanto la disfunción como los efectos analgésicos que se producen en la rata hembra durante cada una de las fases de su ciclo estral: proestro, estro, metaestro y diestro, en el modelo experimental.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- 1.1 Conocer y determinar cada una de las fases que componen el ciclo estral de la rata.
- 1.2 Determinar y analizar los cursos temporales (CTR) de la disfunción inducida por ácido úrico al 30% en cada una de las fases estrales de la rata.
- 1.3 Caracterizar y analizar por medio de cursos temporales los efectos analgésicos de un compuesto prototipo del grupo de los analgésicos opioides (morfina: agonista μ) en cada una de las fases del ciclo estral de la rata.
- 1.4 Caracterizar y analizar por medio de curvas dosis-respuesta (CDR) los efectos analgésicos de morfina en cada una de las fases del ciclo estral de la rata.
- 1.5 Caracterizar y analizar por medio de cursos temporales los efectos analgésicos de un compuesto del grupo de los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (dipirona: analgésico NSAIDs) en cada una de las fases del ciclo estral de la rata.

1.6 Caracterizar y analizar por medio de curvas dosis-respuesta analgésicos los efectos analgésicos de dipirona en cada una de las diferentes fases del ciclo estral de la rata.

HIPÓTESIS

Se ha observado que la respuesta a los estímulos nociceptivos y analgésicos difiere algunas veces de aquellos en que las condiciones hormonales cambian de acuerdo al ciclo estral (hembras). Se ha establecido que esas diferencias pueden estar en función del modelo experimental utilizado, del tipo de dolor provocado y del mecanismo de acción del analgésico, por lo que:

"Es probable que los grandes cambios hormonales que se producen durante las diferentes fases del ciclo estral de la rata hembra generen alguna alteración tanto en la pérdida de la funcionalidad generada por el ácido úrico, como en el efecto analgésico evaluado en el modelo experimental disfunción inducida por dolor en la rata".

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

Ratas hembras Wistar de 150-170 g, con abstinencia de alimento 12 h antes del experimento y con libre acceso a agua.

REACTIVOS

Eter sulfúrico, comercial

Acido úrico U-2625, Sigma Chemical Co.

Aceite mineral, comercial

Agua destilada

Cloruro de sodio

FÁRMACOS

Dipirona (Neomelubrina), Química Hoechst de México

Morfina-clorhidrato, Secretaría de Salubridad y Asistencia, México.

MATERIAL

Cámara de anestesia (desecador Pyrex de 17 X 10 cm)

Jeringas de vidrio con capacidad de 1 ml

Agujas No. 22, 25 y 32 de 4 y 30 mm de longitud

Gotero de vidrio

Porta objetos

Mortero de porcelana con pistilo

Pegamento acrílico (comercial)

Cinta adhesiva

Marcadores de tinta indeleble

Jaulas

Lápiz graso

Espátula

EQUIPO

Microscopio Asstar/Wetzlar Nr 1550

Balanza granataria Ohaus (Mod. Triple Beam Balance)

Balanza analítica Sartorius (hasta décimas de mg)

Electrodos

Cilindro metálico rotatorio con 6 carriles de 30 cm

Sistema de registro de contactos con computadora Apple II+^{MR} y una tarjeta

Mountain A/D^{MR}

MÉTODOS

MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA.

Todo el protocolo experimental siguió las recomendaciones del Comité de Investigación y Ética de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (Covino y col., 1980) y los lineamientos y estándares éticos para la Investigación del Dolor Experimental en Animales (Zimmermann, 1983). Para la evaluación de los efectos analgésicos se empleó el modelo experimental de "disfunción inducida por dolor en rata" o modelo PIFIR (López-Muñoz y col. 1993a).

El área de experimentación fue mantenida a una temperatura de 20-25°C. Los animales fueron anestesiados con vapores de éter sulfúrico en una cámara de anestesia. En el momento en que estuvieron privadas de la sensibilidad general, les fue administrado 0.05 ml de ácido úrico al 30%, suspendido en aceite mineral, en la articulación fémoro-tibio-rotular de la pata posterior derecha, con una jeringa de 1 ml y una aguja No. 25 o 22 de 4 mm de largo (Figura 1).

Inmediatamente después las ratas fueron pesadas y les fue adherido un electrodo entre los espacios de los cojinetes plantares de ambas extremidades posteriores, con pegamento instantáneo y cinta adhesiva; en este espacio de tiempo las ratas se recuperaron de la anestesia y entonces fueron colocadas en cada uno de los carriles del cilindro metálico conectando los electrodos a un contador, el cilindro también estuvo unido al contador, por lo tanto al hacer contacto los electrodos con la superficie del cilindro, el circuito se cierra y fue registrado el tiempo de contacto de cada una de las

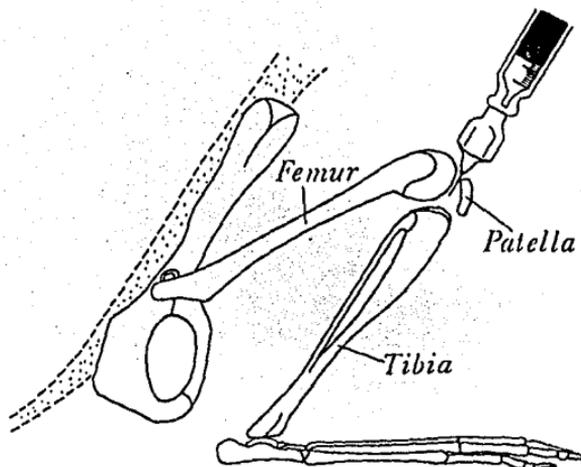


FIGURA 1: Sitio de la administración intra-articular de la suspensión de ácido úrico en la extremidad posterior derecha de la ratona para producir disfunción y dolor en el modelo "Disfunción inducida por dolor".

extremidades de la ratona y el cilindro (Figura 2). El cilindro fue rotado a una velocidad de 4 rpm durante períodos de 2 min, forzando a las ratas a caminar, los datos fueron registrados en el contador. Se dejó descansar a las ratas y cada 30 min se repitió este procedimiento. El analgésico fue administrado después de que la ratona perdió la funcionalidad de la extremidad lesionada, esto se observó cuando el contador registró un tiempo de contacto igual a cero o menor al 10% con respecto a la extremidad control (sana) de la misma ratona, esto sucedió aproximadamente 2 h después de la

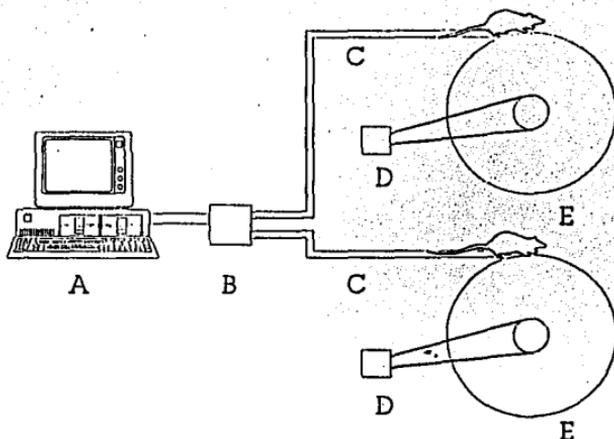


FIGURA 2: Esquema del sistema de registro del tiempo de contacto realizado con las extremidades traseras de la rata: A=dispositivo contador del tiempo, B=Caja con switch de dos posiciones, C=electrodos, D=motor, E=tambores rotatorios.

administración del ácido úrico. Este momento fue tomado como cero para evaluar el efecto analgésico, ya que en este momento fue administrado el agente analgésico a evaluar. El período de registro de lecturas se continuó por 4 h y en este tiempo fue observada y evaluada la recuperación que presentó la rata en la extremidad lesionada.

Con los datos obtenidos fue calculado el índice de funcionalidad porcentual (IF%), que es la relación que se obtiene al dividir el tiempo de contacto de la extremidad lesionada entre el tiempo de contacto de la extremidad control y multiplicando por 100. El IF% fue utilizado para trazar una gráfica de IF% contra tiempo, es decir, gráfica de

curso temporal o CTR. Posteriormente fue calculada el área bajo la curva (ABC) de cada curso temporal mostrado por diferentes dosis de fármaco, y con estos valores fueron construidas las curvas dosis respuesta (CDR) correspondientes al graficar ABC o efecto analgésico global (ya que comprende tanto los efectos máximos como la duración de estos) que es posible obtener de este modelo experimental. El máximo de ABC que es posible obtener fue 375 unidades de área, lo que representa una recuperación de la funcionalidad al 100% en un tiempo máximo de 30 minutos y que ese efecto se mantenga así hasta el final del período de evaluación de 4 h.

DETERMINACIÓN DE LA FASE ESTRAL

Una hora después de que las ratas estuvieron sobre el cilindro, fueron tomadas las lecturas correspondientes de los tiempos de contacto, y fue tomada una muestra vaginal de cada animal con la finalidad de poder establecer la fase del ciclo estral en que se encontraban. Esta técnica fue realizada de acuerdo a la utilizada por Marenzi (1957), que está basada en la técnica de Papanicolao. El procedimiento es el siguiente: con un gotero de vidrio fue tomada una gota de solución salina fisiológica y se depositó en la zona vaginal de la rata succionándola inmediatamente, de esta manera se tomaron células del epitelio vaginal. La gota de solución conteniendo la muestra fue colocada en un porta-objetos y posteriormente observada al microscopio para diferenciar las células existentes en cada fase, todas las muestras se tomaron a la misma hora.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Para cumplir con los objetivos propuestos se establecieron 3 grandes grupos experimentales de ratas hembras: un grupo con una cantidad de 80 ratas y otros dos con una cantidad de 200 ratas, de 150-170g de peso. El primer grupo fue utilizado para aprender a determinar tanto las fases que componen el ciclo estral de la rata, los controles correspondientes del modelo experimental PIFIR (punción articular, administración del vehículo del ácido úrico y vehículos de los analgésicos), como para evaluar el perfil de la disfunción producida en cada fase del ciclo estral de la rata, completando una n=8 para cada una de las fases. Para evaluar la respuesta analgésica en ratas que tenían ya instalado el proceso artrítico se emplearon los otros 2 grupos (de 200 ratas cada uno), uno para morfina y otro para dipirona. A las ratas les fue administrado el ácido úrico para generar la artritis y posteriormente una de las 6 dosis ya sea de morfina o de dipirona. A cada rata se le tomó una muestra vaginal para determinar la fase del ciclo estral en la cual se encontraba, hasta completar una n=8 para cada fase y de cada dosis, es decir, cada una de las dosis fue evaluada en 32 ratas, 8 de cada fase para poder determinar primero los diferentes cursos temporales, posteriormente las ABC, y poder realizar el análisis y comparación estadística.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Para el análisis de datos se reunieron grupos con una "n" de 8 animales de cada fase estral tanto para la disfunción, como para las diferentes dosis de cada uno de los analgésicos.

Para determinar si existe diferencia entre las diferentes fases estrales de la rata tanto para la disfunción, como para la respuesta analgésica evaluada, se realizaron dos pruebas estadísticas: un análisis de varianza de un factor en el cual la variable fue el ABC para determinar si existía o no diferencia significativa entre los efectos analgésicos globales producido en cada una de las diferentes fases con cada una de las dosis de los analgésicos analizados, así como entre la disfunción generada en cada una de las fases, y empleando una " $p < 0.05$ "; la segunda prueba fue un análisis de varianza de dos factores en el que las variables son la fase estral de los grupos de ratas y el tiempo que dura la observación o evaluación de efectos analgésicos, con esta prueba fueron analizadas las diferencias existentes entre los perfiles de los cursos temporales mostrado en cada una de las fases, tanto en la disfunción como en los efectos analgésicos, con una $n=8$ y una $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. DETERMINACIÓN DE LAS FASES DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA.

Para fines del presente trabajo se realizó primero la observación diaria de células del epitelio vaginal de un grupo de 12 ratas; las muestras fueron tomadas todos los días a la misma hora. En estas ratas se encontraron grupos de diferentes células, las cuales caracterizan a cada una de las fases que componen el ciclo estral de la rata. Como ya se ha indicado en la literatura (Marenzi, 1957) el ciclo estral de la rata está compuesto por cuatro fases, estas fueron identificadas experimentalmente. En la figura 3 se presenta el tipo de células que representa a cada una de las fases en donde: las células nucleadas corresponden al proestro, las cornificadas al estro, en el metaestro existen dos tipos de células las cornificadas y leucocitos, y el diestro se caracteriza por la presencia de leucocitos únicamente. Todos los cambios celulares que se presentan son debido a las variaciones hormonales existentes a lo largo del ciclo estral, los resultados reportados están de acuerdo a los estudios realizados por Smith y col. (1975), ellos mencionan que la secreción de estrógenos es la causa principal de que las células experimenten esos cambios, ya que los estrógenos tienen un efecto estimulante que hace que las células se mantengan con vida, se reproduzcan y mueran, por lo tanto, por la acción de la progesterona que inhibe este efecto cuando las concentraciones de estradiol son más bajas (fase de diestro), la capa de células cornificadas se descama y el epitelio se infiltra de leucocitos que expulsan las células más externas y destruyen a

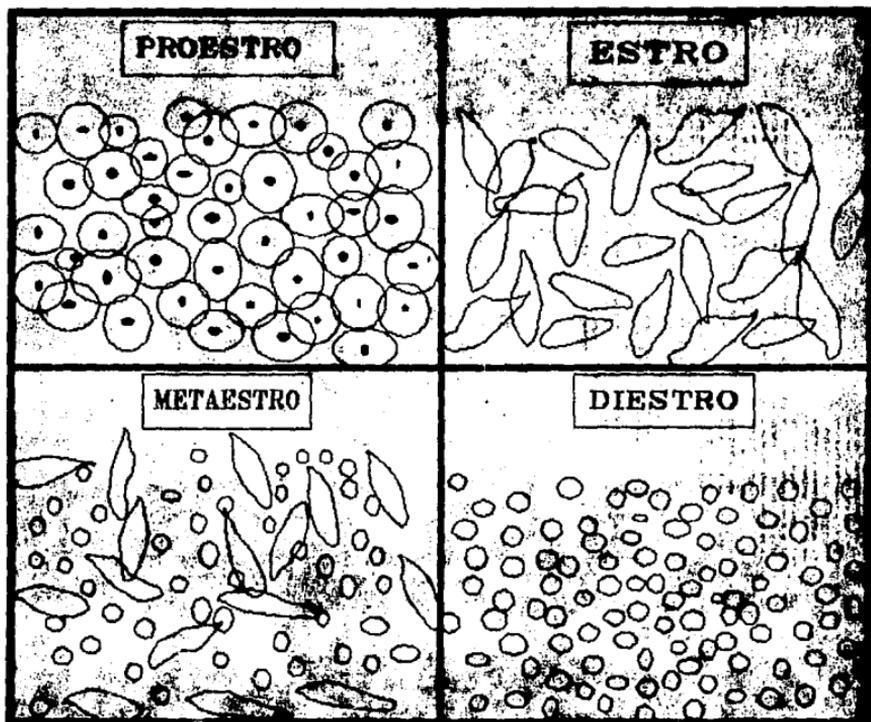


FIGURA 3: Esquemización de las células del epitelio vaginal que se presentan en las cuatro diferentes fases del ciclo estral de la rata.

las escamosas; en animales hembras cuyo ciclo estral es corto, se puede tener una idea de que cambios hormonales están ocurriendo de acuerdo a los cambios celulares que se presentan.

Después de haber aprendido a identificar plenamente las células de cada fase en ese grupo de ratas, se realizó la misma identificación celular pero ahora de manera rutinaria a todas las ratas que se emplearon en las evaluaciones posteriores, con la finalidad de poder determinar y analizar si había o no diferencia en la disfunción y analgesia que se presentaba en las ratas diferenciándolas y no, por sus diferentes fases estrales en que se encontraran.

2. EXPERIMENTOS CONTROL Y DISFUNCIÓN PRODUCIDA POR A.U. AL 30%.

En todo modelo experimental existen variables que pueden tener influencia en los resultados, en el modelo experimental PIFIR se provoca una artritis y con esta una disfunción en la articulación rótulo-tibio-femoral de una de las extremidades posteriores de la rata, empleando para esto una suspensión de ácido úrico (A.U.) al 30%. Se debe comprobar que sea el ácido úrico el único agente que provoca dicha disfunción y no algún otro factor experimental como lo son la manipulación, la punción o el vehículo en que está suspendido el ácido úrico, es por esta razón que se realizaron estas pruebas con grupos de 8 ratas para observar que efecto se presentaba; los resultados están representados en la figura 4.

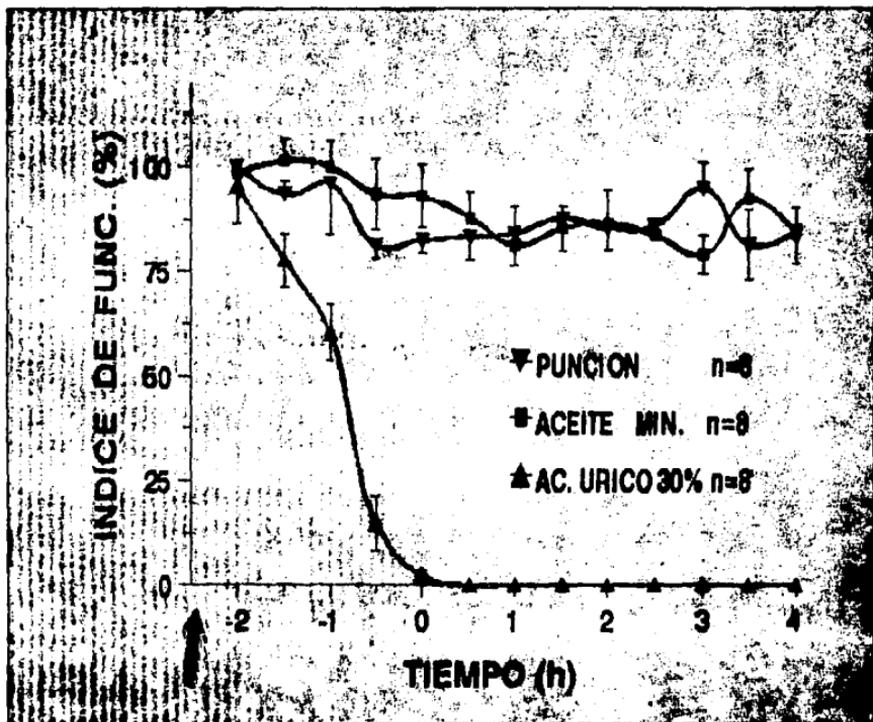


FIGURA 4: Cursos Temporales de los estudios control, efecto de la punción articular, vehículo del ácido úrico (aceite mineral) y del ácido úrico al 30 % sobre la funcionalidad. El ácido úrico es el único agente que produce disfunción en la extremidad de la rata.

Las gráficas de cursos temporales en donde se muestran los resultados obtenidos están compuestas por el eje "X" que representa el tiempo en horas que dura la observación y el eje "Y" que indica el IF% que nos muestra como se ve modificada la funcionalidad normal de la rata por la administración del A.U. y por el dolor generado. Este IF% también indica el grado de efecto analgésico producido cuando es administrado un agente analgésico; el IF% está en una escala de 0 a 100 y están graficados la media de al menos 8 ratas \pm el error estándar.

Los resultados indicaron que ni la punción articular sola, ni la administración intraarticular de 0.05 ml de aceite mineral, producen disfunción por si solos, ya que en todo el tiempo de observación el IF se mantiene alrededor del 100% y no se alteró, es decir no hay decrecimiento significativo en la funcionalidad; por otro lado, al administrar vía intraarticular el A.U. al 30% se observó claramente la aparición gradual y constante de la disfunción o pérdida del IF%, el cual dos horas después de haber sido administrado genero la perdida total de la funcionalidad, que ya en ese momento se presentó con un valor de cero. Esto también se observa físicamente en los animales, porque en este tiempo no pisan con la extremidad administrada con A.U.. Todo esto indica que la disfunción así como el dolor provocado en este modelo únicamente es función del ácido úrico; además se puede establecer que se está llevando a cabo una adecuada manipulación de las ratas y administración articular ya que ni el vehículo ni la punción articular produjeron alteración en la funcionalidad normal de la rata.

3. DISFUNCIÓN EN CADA UNA DE LAS FASES

ESTRALES DE LA RATA.

Este experimento así como los subsecuentes, se realizaron con grupos de 8 ratas para cada fase del ciclo estral, por lo que se obtuvieron cursos temporales independientes para cada fase del ciclo estral y se compararon cualitativamente entre sí para determinar si se presentaban diferentes efectos dependiendo de la fase del ciclo estral presente. En las gráficas se presenta también el curso temporal de un grupo promedio general (GPG), formado por las 32 ratas, que corresponde a procesar el total de datos de todas las ratas juntas (4 fases del ciclo, cada fase con una $n=8$). Esto con el único fin de tener una idea del perfil que tendría un promedio general.

Las figuras 5 y 6 muestran los cursos temporales de la disfunción producida con la administración de ácido úrico al 30%, determinados en las diferentes fases del ciclo estral de la rata. En todos los cursos temporales que se presenten, se grafica en el eje "X" tiempo en intervalos de 0.5 h, mientras que en el eje "Y" el IF%, que en este caso muestra como se fue viendo modificada la funcionalidad de las ratas. En todas las gráficas que se muestran a continuación se grafica la media y error estandar.

La gráfica 5 muestra los perfiles de la disfunción que fueron obtenidos en cada una de las 4 fases del ciclo estral de la rata al administrar ácido úrico intraarticular para generar la disfunción y el estado artrítico. El perfil de la disfunción producida en cada

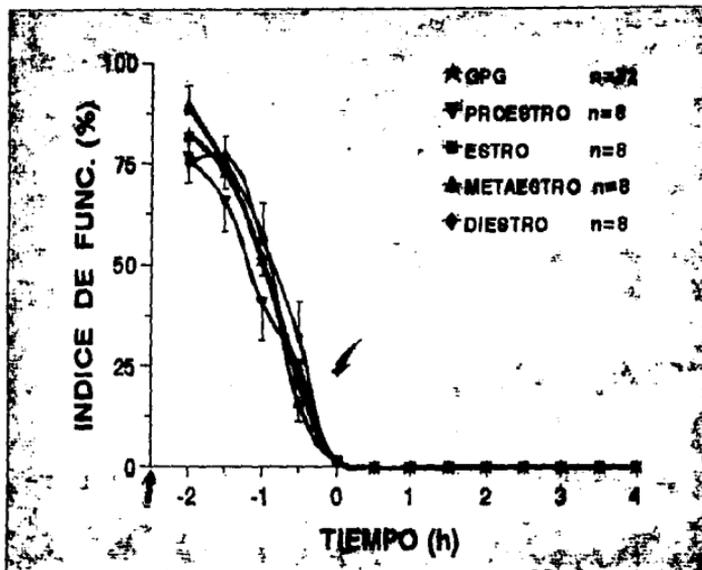


FIGURA 5: Efecto del ácido úrico al 30% en ratas agrupadas según la fase del ciclo estral que presente. La flecha superior indica el momento en que se observó la máxima disfunción. Estadísticamente ($p > 0.05$) no se encontraron diferencias significativas que indiquen que la disfunción dependa de la fase estral.

fase es muy similar, prácticamente 2.5 h después de la administración intraarticular, todas las ratas han perdido la funcionalidad mostrando un IF de "0". La primera 0.5 h posterior a la aplicación del ácido úrico no se observa en la gráfica ya que durante ese tiempo fue administrado el ácido úrico, también en ese tiempo las ratas dejan de manifestar efectos anestésicos, les son colocados los electrodos y están ya en condiciones de ser evaluadas. Las siguientes 2 h son las que si visualizamos en mediciones de 2 min cada 0.5 h (de -2 a 0 h en las gráficas). Se observa que el comportamiento de todas ellas es muy similar ya que todas tienen una pendiente muy parecida y no se desvían significativamente dentro de un rango de valores de IF. El tiempo en el que el IF es menor al 10%, es decir, el momento en el que se encuentra instalado el proceso de disfunción total o artritis, es el mismo para todas. El análisis estadístico de las ABC de la disfunción mostró que no había diferencia estadística entre esas ABC encontradas ($p > 0.05$). El análisis del perfil del curso temporal de la disfunción también mostró que no era diferente estadísticamente entre las 4 diferentes fases ($p > 0.05$).

Algunos investigadores (Crowley y col., 1976; Morley y col., 1984; Gintzler y Bohan 1990) que han realizado experimentos relacionados con la influencia de la fase del ciclo estral de las ratas, han tomado como controles a ratas hembras ovariectomizadas o pseudopreñadas. En el primer caso al extirpar los ovarios ya no hay cambios hormonales endógenos y comparan la respuesta de estos animales con los que no han sido ovariectomizados; en el segundo caso, si hay cambios hormonales pero son mínimos debido a que las hormonas que regulan este estado se encuentran prácticamente en niveles estables. El objetivo de este trabajo de tesis es diferente, ya que interesa

establecer y determinar si existe alguna diferencia entre la disfunción y analgesia producida en cada una de las diferentes fases del ciclo estral de las ratas.

Para mayor facilidad de análisis comparativo se usa la figura 7 en donde los datos están desglosados para cada una de las fases y comparados individualmente con el GPG. Al inicio del experimento se presenta un IF casi del 100% para todas las fases así como para el GPG, el cual va disminuyendo gradualmente y en los cuatro experimentos realizados, aproximadamente a las 2.5 horas fue alcanzado un valor de IF% de "0", lo que indica la pérdida total de la funcionalidad, y la rata al caminar durante los periodos de evaluación, deja de usar su pata por el proceso doloroso ya instaurado. La pendiente de la caída de funcionalidad que presentan las curvas de las cuatro fases es muy similar; el proestro y el diestro tienen una ligera desviación con respecto al GPG pero ésta no es significativa, mientras que en el estro la curva es tan parecida al GPG que se superponen; también el tiempo en que el IF% es "0" se presentó similar al del GPG.

Para inferir que existen diferencias en la disfunción producida en los diferentes grupos de ratas, se necesitaría observar una desviación significativa entre el curso temporal de la disfunción de alguna de las 4 fases comparada con las demás.

Por otra parte, en todo el tiempo que dura la evaluación experimental (4 h mas despues de que la funcionalidad fue de "0") de la funcionalidad no hubo recuperación espontánea; lo que indicó que tanto la disfunción, así como el dolor provocado, no presentan variación significativa en los grupos comparados. En base a estos resultados puede decirse que el perfil de disfunción, como de dolor generado es similar en ratas

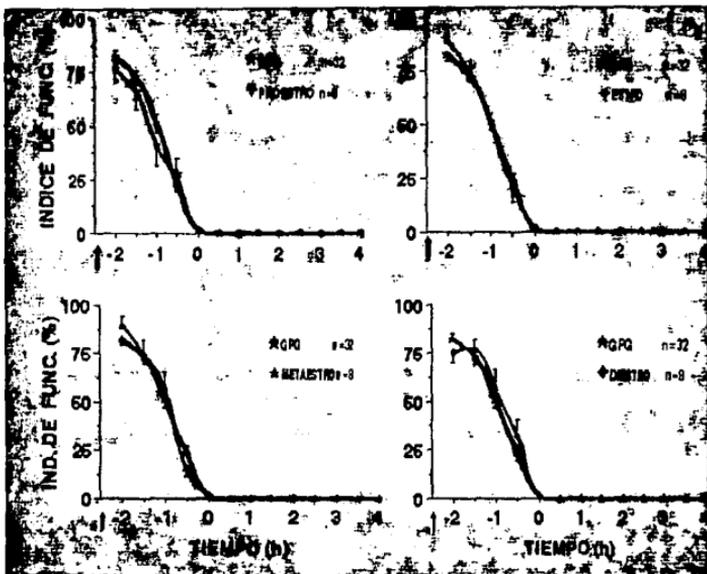


FIGURA 6: Comparación individual de la disfunción producida con ácido úrico al 30 %, en ratas agrupadas según la fase del ciclo estral que presentan. El análisis estadístico del perfil de los cursos temporales de las 4 diferentes fases mostró que no hay diferencia significativa ($p > 0.05$)

evaluadas y agrupadas en función de la fase del ciclo que presentan.

Algunos investigadores han reportado diferencias en la sensibilidad al dolor en las diferentes fases estrales de la rata, como es el caso de Frye y colaboradores (1993) donde concluyen que en el modelo de "*tail flick*" se incrementa la sensación nociceptiva en las fases de estro y proestro, y lo atribuyen a los bajos niveles de estradiol y progesterona que encontraron en dichas fases. Por otro lado, Lipa y Kavaliers (1990), que trabajaron con el modelo de "*plancha caliente*", no encontraron diferencias significativas a la respuesta nociceptiva en las diferentes fases estrales. Estos resultados nos indican que las posibles variaciones de sensibilidad al dolor que se pueden encontrar entre las fases podría ser explicada en función del tipo de estímulo doloroso empleado en cada modelo: es probable que en modelos que empleen estímulos nociceptivos no severos se puedan observar diferencias de percepción de dolor en las diferentes fases, mientras que en modelos que emplean estímulos nociceptivos medios o intensos, sea más difícil observar alguna diferencia, dada la intensidad del estímulo. El estímulo obtenido en el modelo PIFIR, con la administración intraarticular de ácido úrico al 30% es incapacitante en la rata al grado de evitar el uso de la extremidad de la rata al caminar, por lo que pudieramos decir, que el dolor producido es un dolor de tipo artrítico, quizás más severo que el estímulo obtenido en modelos como el estiramiento abdominal, pero menos severo que el dolor producido por estimulación eléctrica o en la plancha caliente.

4. EFECTOS ANALGÉSICOS DE MORFINA EN LAS DIFERENTES FASES DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA.

En las figuras 7a y 7b son presentados los cursos temporales de morfina en administración sc en las 6 diferentes dosis empleadas para posteriormente construir la CDR; para cada dosis se graficaron los datos del GPG y los datos de las cuatro fases del ciclo estral. La parte de la aparición gradual de disfunción fue eliminada para centrar la atención solo en los efectos analgésicos producidos por morfina. El analgésico fue administrado cuando el IF alcanzó un valor menor al 10% de funcionalidad, este punto es marcado como tiempo cero.

Las dosis de morfina que se administraron fueron 1.0, 1.7, 3.2, 5.6, 10.0 y 17.7 mg/Kg, ya que sufren incrementos logarítmicos iguales de 0.25 unidades de logaritmo. En estas gráficas se observa que al incrementar la dosis aumenta el efecto analgésico, es decir, existe una recuperación gradual sobre el IF%. Aunque con las dosis de 1.0 y 1.7 mg/Kg no se presentó tal efecto en ninguna fase, esto puede ser debido a que estas dosis son mínimas para eliminar el dolor provocado en estas condiciones experimentales, pero a partir de la tercera dosis (3.2 mg/Kg) ya se observa una recuperación mínima en los animales; recuperación que es más clara con las 3 dosis más grandes (5.6, 10 y 17.7 mg/Kg), cuyo efecto analgésico aumenta conforme pasa el tiempo y en algunas dosis se mantiene el efecto relativamente alto todo el tiempo de la observación, este efecto es mayor de acuerdo a la dosis y se observa una recuperación máxima con la dosis de 17.7 mg/Kg.

Para facilitar el análisis fueron desglosadas las gráficas de la administración de

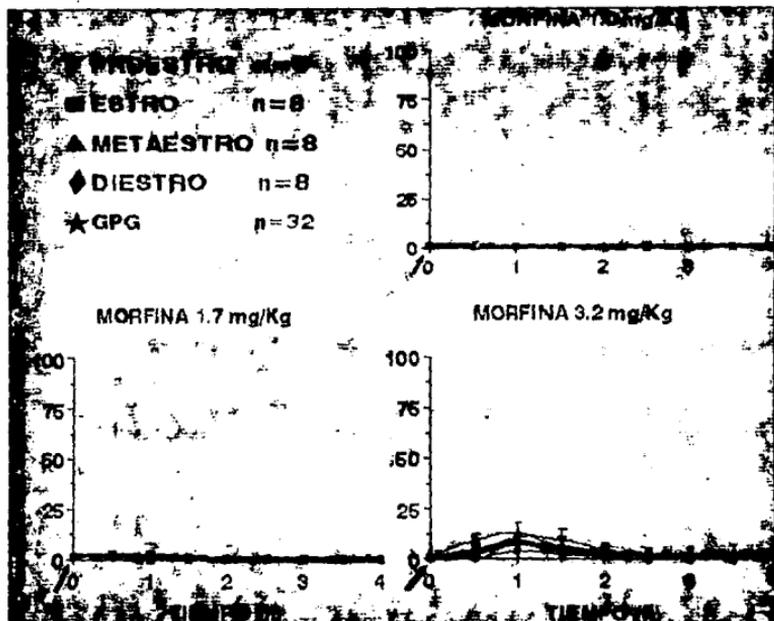


FIGURA 7a: Analgesia producida por la administración s. c. de morfina en dosis de 1, 1.7 y 3.2 mg/Kg., para cada dosis se estudiaron las 4 fases y un GPG. Las dos primeras dosis no presentaron efectos analgésicos, el análisis estadístico de la tercera dosis mostró que no existen diferencias en las 4 fases con respecto al efecto analgésico global ($p > 0.05$).

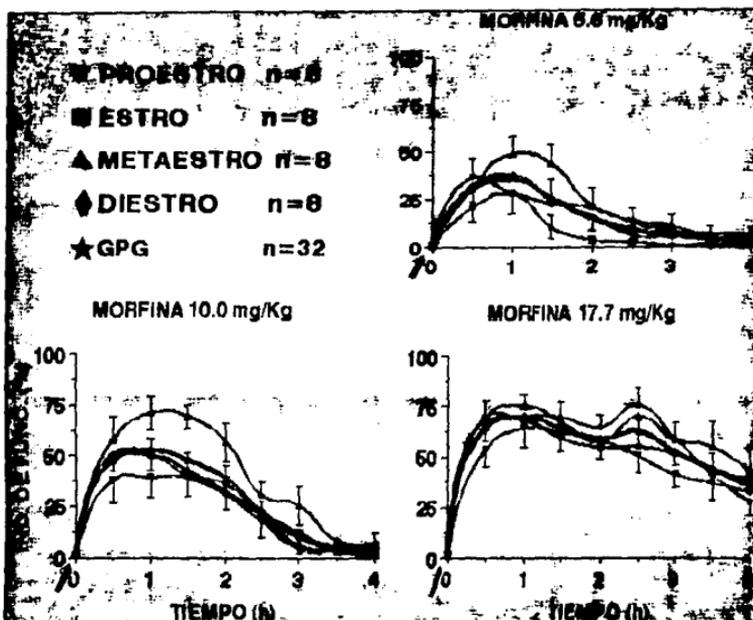


FIGURA 7b: Analgesia producida por la administración s.c de morfina en dosis de 5.6, 10.0 y 17.7 mg/Kg, para cada dosis se analizaron las 4 fases estrales y un GPG. Estadísticamente se encontró que no hay diferencia ($p > 0.05$) en el efecto analgésico global de las fases exceptuando la dosis de 10 mg/Kg ($p < 0.05$); el perfil de curso temporal si mostró diferencias entre las 4 fases estrales ($p > 0.05$).

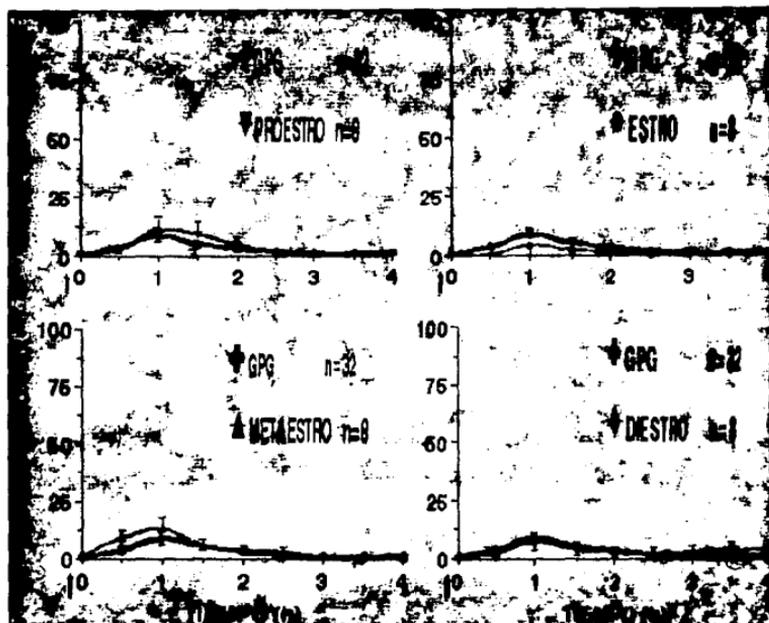


FIGURA 8: Efecto analgésico producido con la administración s.c. de 3.2 mg/Kg de morfina en cada una de las fases del ciclo estral de la rata. El análisis estadístico del perfil de curso temporal mostró que si existen diferencias entre las cuatro fases estrales ($p < 0.05$).

cada dosis con las diferentes fases y su GPG, esto no se realizó para las dos primeras dosis porque como ya se mencionó anteriormente no hubo efectos analgésicos. Así en la figura 8 son mostrados los cursos temporales de la dosis de 3.2 mg/Kg para cada fase junto con el GPG en donde el efecto analgésico es muy pequeño; se observa una recuperación donde el GPG presenta el $E_{m\acute{a}x} = 8.79\%$ después de 1 h de haber sido administrado el analgésico y después hay un decrecimiento lento que alcanza el valor de cero 2 h después de que se presenta el $E_{m\acute{a}x}$, las curvas de las diferentes fases son muy similares ya que todas tienen un $T_{E_{m\acute{a}x}}$ de 1 h y sus valores de $E_{m\acute{a}x}$ son de 10.79%, 4.25%, 12.88% y 7.25% para proestro, estro, metaestro y diestro respectivamente, después decae la funcionalidad hasta llegar a cero. El análisis estadístico mostró que las ABC (o efecto analgésico global) de las diferentes fases no mostraban diferencia significativa ($p > 0.05$), en cambio el análisis de los perfiles del curso temporal desarrollado en cada una de las fases por la misma dosis de morfina (3.2 mg/Kg) si mostró diferencias significativas ($p < 0.05$). Eso significa que aunque el efecto analgésico global es similar en todas las fases, el perfil de esos efectos analgésicos puede ser diferente. Por otro lado como el efecto analgésico fue mínimo se puede sugerir que esta dosis no tiene efectos analgésicos importantes para el dolor provocado en estas condiciones experimentales.

En la figura 9 podemos analizar los cursos temporales que se presentaron en cada una de las fases al administrar una dosis de morfina de 5.62 mg/Kg, con esta dosis se alcanzó un efecto analgésico más representativo en comparación a la anterior, aquí se observa que la morfina provoca un rápido incremento del IF o efecto analgésico que

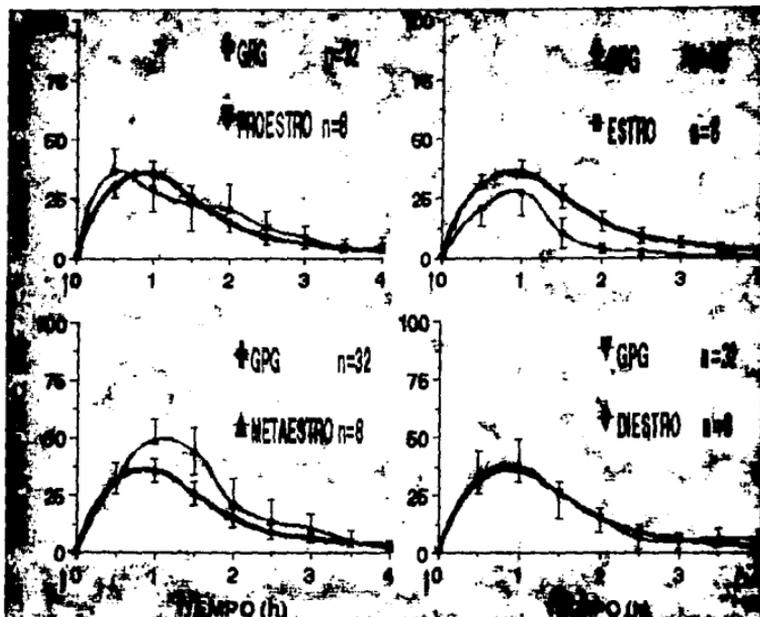


FIGURA 9: Cursos temporales obtenidos con la administración de morfina en una dosis de 5.62 mg/Kg, en cada fase estral de la rata. El análisis estadístico mostró que hay diferencia entre las 4 fases con respecto al perfil de curso temporal ($p < 0.05$).

alcanza un $E_{m\acute{a}x}$ de 35.7% una hora después de haber sido administrado el analgésico y después decrece lentamente, aunque su efecto es mínimo después de 3 h de la administración (alrededor de 9%) no se observan valores de 0. Los cursos temporales de las fases tienen pequeñas variaciones con respecto al GPG; el proestro presenta el $E_{m\acute{a}x}$ a los 30 min con un valor de 36.45% y después también desciende lentamente, el estro tiene un $T_{E_{m\acute{a}x}}$ de 1 h y un $E_{m\acute{a}x}$ de 27.8% y desciende más rápidamente que los anteriores, a las 3 h de haber sido administrado el fármaco ya no se presenta efecto analgésico. El metaestro presenta valores de $E_{m\acute{a}x}$ de 48.8% al mismo tiempo que el GPG, la pérdida del efecto analgésico también es lenta. El diestro para esta dosis también presenta un curso temporal muy parecido al GPG: $T_{E_{m\acute{a}x}}$ de 1 h, $E_{m\acute{a}x}$ de 37.8%, esta fase sigue siendo la que tiene menos variaciones con respecto al GPG. El análisis estadístico mostró nuevamente que no había diferencias significativas en los efectos analgésicos globales (ABC) mostrados al comparar las 4 fases ($p > 0.05$), sin embargo, el análisis del perfil del curso temporal analgésico mostrado por las 4 fases mostró que sí había diferencias significativa ($p < 0.05$). Situación que es muy clara incluso en forma visual. Es decir, en función de la fase estral presente, puede cambiar ya sea el $T_{E_{m\acute{a}x}}$ el $E_{m\acute{a}x}$ o ambos, pero no se ve modificado el alivio total que genera esa dosis en cada una de las fases.

La dosis de 10.0 mg/Kg presentó los cursos temporales (figura 10) donde hay un alivio de alrededor del 52% para el GPG con un $E_{m\acute{a}x}$ y un $T_{E_{m\acute{a}x}}$ que se presenta 0.5 h después de la administración, las fases que casi no presentan variaciones con respecto al GPG son el estro y diestro con valores de $E_{m\acute{a}x}$ alrededor del 50% (IF%) obtenidos

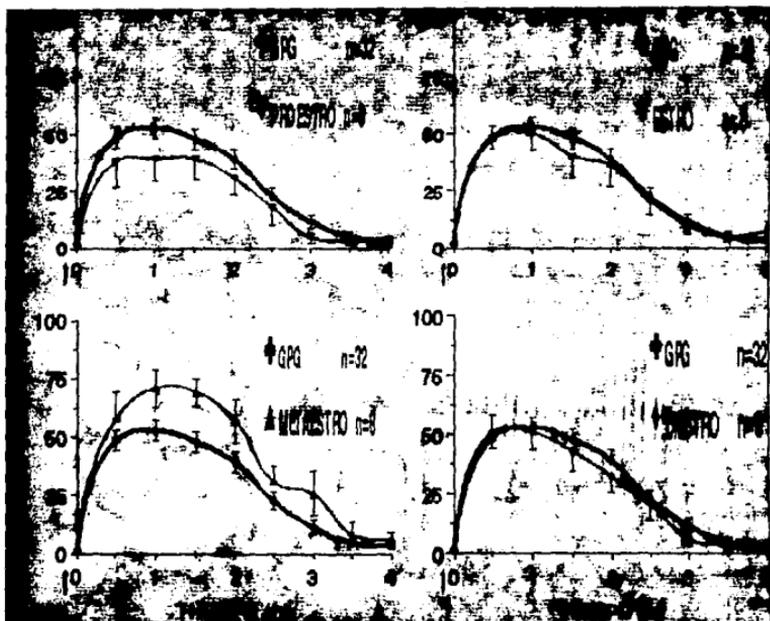


FIGURA 10: Efecto analgésico en cada fase estral de la rata producido con morfina s.c. en una dosis de 10.0 mg/Kg. La comparación de las cuatro fases mostró que el perfil de curso temporal es diferente ($p < 0.05$).

después de 0.5 h de haber administrado el fármaco; mientras que el proestro presenta un alivio ligeramente menor en comparación a las otras tres fases (el $E_{m\acute{a}x}$ fue de alrededor de 39%) y el metaestro presenta un efecto analgésico de $E_{m\acute{a}x}$ ligeramente mayor de alrededor de 71%, las dos fases presentaron un $T_{E_{m\acute{a}x}}$ de 0.5 h. Para todas las fases, se observó que después de alcanzado el $E_{m\acute{a}x}$ el IF desciende lentamente y al final de la observación sus valores son alrededor de 4%, de acuerdo al $T_{E_{m\acute{a}x}}$ se observa como la morfina induce un incremento rápido del IF lo que prueba su eficacia para este tipo de dolor. El análisis estadístico mostró que tanto los efectos analgésicos globales (ABC) generados con la misma dosis en ratas con diferente fase estral, como el perfil del curso temporal mostrado por la misma dosis en las diferentes fases estrales eran diferentes ($p < 0.05$). El perfil de curso temporal mas diferente entre las diferentes fases en forma visual se puede decir que es el metaestro; podríamos mencionar que el cambio es positivo, es decir, el efecto analgésico encontrado en esta fase es mejor tanto en $E_{m\acute{a}x}$ como en cobertura analgésica a través del tiempo que las otras 3 fases. Esta dosis del compuesto opioide, morfina (10 mg/Kg) fue la única que presentó diferencias estadísticas significativas tanto en ABC como en perfil de curso temporal al comparar los efectos generados en las 4 fases estrales de la rata.

La dosis más alta de morfina con la que se observó el efecto analgésico en las diferentes fases del ciclo estral de la rata fue la de 17.7 mg/Kg, los resultados están graficados en la figura 11, en donde se observan los cursos temporales de cada fase y del GPG. En estos resultados se aprecia como los cursos temporales muestran incremento del IF muy rápido y el $T_{E_{m\acute{a}x}}$ en todas las fases fue de 0.5 h. Esta dosis de

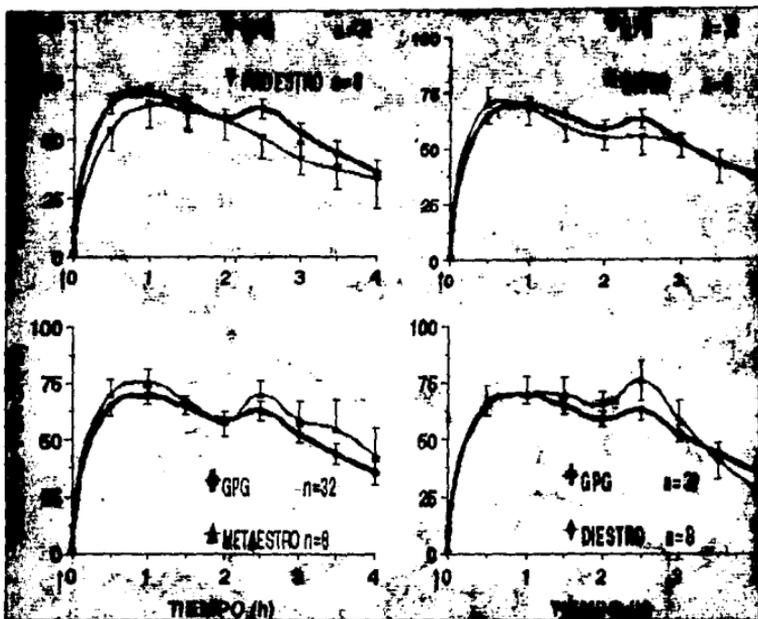


FIGURA 11: Administración de 17.7 mg/Kg de morfina a grupos de 8 ratas para cada fase estral. estadísticamente se encontró que el perfil de cursos temporales es diferente para cada fase del ciclo estral con una $p < 0.05$.

morfina proporcionó el mejor o mayor efecto analgésico en comparación a las demás dosis administradas, después de esto se observa un descenso del IF más lento que en las dosis anteriores, llegando al final de la observación con un IF alrededor de 36%. El proestro tiene un $E_{m\acute{a}x}$ de 64.5% y desciende gradualmente, al final el IF está cerca del 36%; en el estro, como ya se mencionó anteriormente, el mayor efecto analgésico se observa de un 69.7%, disminuye este efecto muy lentamente ya que entre la 2ª y 3ª hora después de la administración casi se mantiene constante y el valor final del IF es muy parecido al de proestro (39%). El metaestro tiene valores ligeramente mayores con respecto a las fases anteriores pero es muy similar ya que también presenta un $E_{m\acute{a}x}$ de 75.5%, que después disminuye. EL diestro presenta el $E_{m\acute{a}x} = 70\%$ y el valor final de IF es de 28%. Por todos los datos analizados se observa que esta dosis es la que presenta los efectos analgésicos más adecuados y se observa la eficacia de este analgésico para aliviar la artritis en la rata. También se presentaron algunos efectos adversos en algunos animales como son depresión respiratoria en el 17% de las ratas que recibieron esta dosis, otras presentaron hipereactividad, es decir, con ligeros estímulos sonoros tendían a caerse del tambor (40% de las ratas que recibieron esta dosis). El análisis estadístico mostró que no hay diferencia estadística en los efectos analgésicos globales (ABC), sin embargo, el perfil de los efectos analgésicos sí fue diferente ($p < 0.05$).

Podría pensarse que los resultados obtenidos en cuanto a la analgesia producida en este modelo experimental con un analgésico de tipo opiode contrastan con los resultados encontrados en otros modelos experimentales, en los que se afirma que sí existen variaciones dependiendo de la fase estral en la que se encuentren las hembras.

Frye y colaboradores (1992 y 1993) en sus estudios han encontrado que en las fases en las que existe mayor cantidad de estrógeno y progesterona, la respuesta a la analgesia es más "rápida" que cuando los niveles de estas hormonas son más bajos; estos resultados fueron encontrados empleando morfina (7.5 mg/Kg) en el modelo experimental "prensado de cola". Así mismo, Banerjee y colaboradores (1983), también han encontrado que en la analgesia inducida por opioides existen variaciones de acuerdo al ciclo estral, pero estos investigadores concluyeron que las hormonas que influyen en este fenómeno son la 17-alfa-hidroxiprogesterona que tiene una acción indirecta sobre la testosterona que es la hormona que afecta la sensibilidad a la morfina. Los resultados encontrados en esta tesis en realidad aclaran el panorama respecto a la analgesia y la influencia de las hormonas en cada una de las fases del ciclo estral, ya que es claro que si el análisis se realiza estudiando los efectos analgésicos globales prácticamente no hay diferencias en los efectos generados en cualquiera de las 4 fases; sin embargo, el perfil del curso temporal si cambia, y si analizamos latencia, efectos máximos, tiempo necesario para alcanzar esos efectos o efecto a través del tiempo esas variables si pueden verse modificadas en forma significativa. Esto explicaría el porque algunos autores pueden encontrar que si cambio el efecto analgésico y otros encontrar que no, ya que la variable empleada para evaluar el efecto analgésico puede ser diferente. En el caso de morfina en la dosis de 10 mg/Kg si se encontró que el metaestro generaba además de un perfil de curso temporal diferente, también un efecto analgésico global diferente, fue el único caso. La explicación de este comportamiento no la tenemos, ya que en el modelo PIFIR no fueron medidos los niveles de hormonas existentes en cada

fase, solo se guiaron los experimentos de acuerdo a las fases que presentaban las hembras analizadas; por la literatura existente se sabe que hormona influye en cada fase, y a esa hormona se le podría atribuir la posible diferencia en cuanto a la analgesia que pudiera existir.

5. EFECTOS ANALGÉSICOS DE DIPIRONA EN LAS DIFERENTES FASES ESTRALES DE LA RATA.

En la FIGURA 12a y 12b son presentados los cursos temporales obtenidos al administrar dipirona sc a grupos de 8 ratas hembras en sus 4 diferentes fases estrales y comparándolas entre si. En estas gráficas en el eje "X" solo se presenta el tiempo a partir del cual fue administrado el agente analgésico, es decir, la parte de pérdida o caída de la funcionalidad causada por el ácido úrico no es presentada ya que es la misma en todos los casos y ya ha sido analizada y presentada anteriormente en este mismo trabajo. Las dosis administradas de dipirona fueron 31.6, 56.2, 100.0, 177.8, 316.2 y 562.3 mg/Kg. De acuerdo a la figura 12a con las dosis de 31.6 y 56.2 mg/Kg las ratas no presentaron alivio en ninguna de las fases, por lo que estos datos sugieren que dichas dosis no son suficientes para eliminar el dolor en estas condiciones experimentales; a partir de la dosis de 100 mg/Kg se observa como existe un incremento del IF aunque esta dosis no sea muy eficaz, pero el incremento es mayor conforme la dosis aumenta siendo obviamente la dosis de 562.3 mg/Kg la que mayor efecto analgésico presenta. La observación de los cursos temporales sugiere que la dipirona en comparación con la morfina tiene para estas condiciones experimentales un efecto analgésico

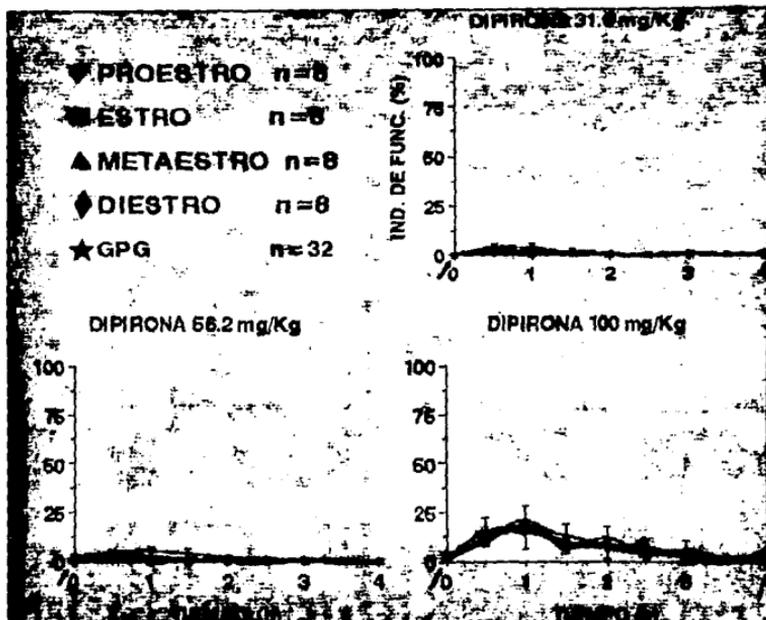


FIGURA 12a: Analgesia producida con dipirona, expresada como la recuperación del índice de funcionalidad en un período de observación de 4h, en dosis de 31.6, 56.2 y 100 mg/Kg. Para cada dosis se analizaron las 4 fases del ciclo estral y estadísticamente se encontró que el efecto analgésico global no difiere ($p > 0.05$) entre las fases para todas las dosis.

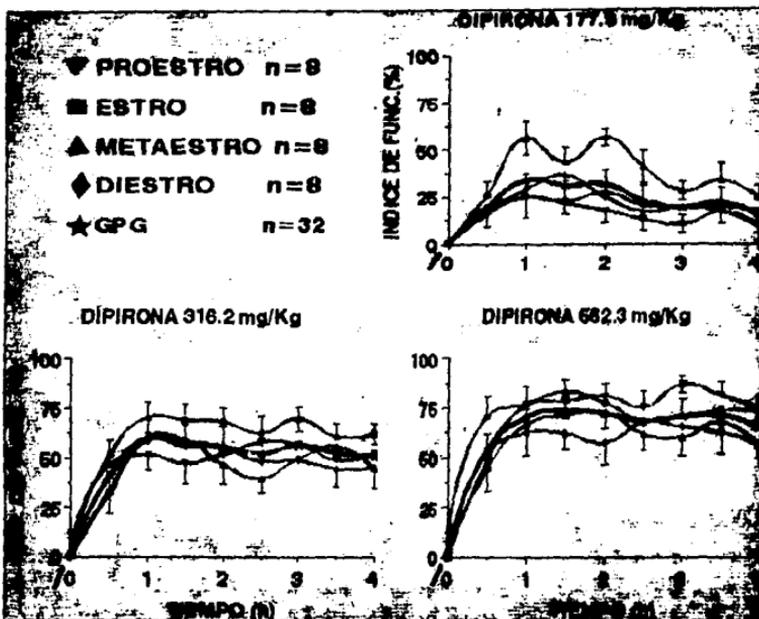


FIGURA 12b: Efecto analgésico producido con dipirone s c en dosis de 177.8, 316.2 y 562.3 mg/Kg, el análisis estadístico de las cuatro fases estrales mostró el efecto analgésico global no difiere significativamente ($p > 0.05$) en las cuatro fases del ciclo estral.

también muy eficaz, ya que después de que fue alcanzado el $E_{m\acute{a}x}$, el efecto se mantiene alrededor de ese porcentaje durante las siguientes horas, esto se observa claramente en las tres dosis mayores de dipirona (177.8, 316.2 y 562.3 mg/Kg), lo que no sucedió con morfina. Es decir el perfil de efecto analgésico es diferente para morfina y dipirona.

Como ya se ha mencionado anteriormente las figuras se desglosan para hacer el análisis más fácil. En la figura 13 se muestran los cursos temporales obtenidos al administrar la dipirona en dosis de 100 mg/Kg, con ésta dosis el efecto analgésico es mínimo, pero ya se pueden analizar los efectos que se presentan en las diferentes fases estrales, así se comprueba que con esta dosis no existe diferencia alguna en dichas fases ya que todas presentan un $T_{Em\acute{a}x}$ de 0.5 h con valores muy parecidos de $E_{m\acute{a}x}$ 15.3%, 15.9%, 21% y 18.22% para el proestro, estro, metaestro y diestro respectivamente; después de que se presenta el efecto máximo existe un descenso lento y gradual del alivio, pero la pendiente que se observa en las diferentes curvas es muy similar, y no hay una desviación determinante en las diferentes curvas de cada fase que implique una divergencia significativa entre ellas y con respecto al curso temporal del GPG. El análisis estadístico mostró que tanto los efectos analgésicos globales (ABC), como el perfil del curso temporal de las 4 fases no fueron diferentes estadísticamente ($p > 0.05$). Como en el caso de las gráficas de morfina mostradas anteriormente, el curso temporal de un grupo promedio general (GPG) es mostrado solo para tener idea de la desviación que sufrirían los cursos temporales de cada fase con respecto al promedio general.

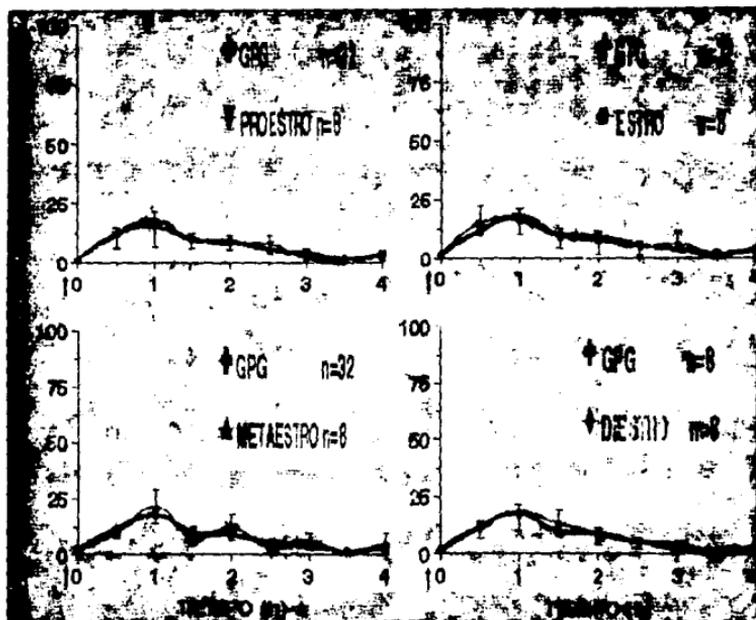


FIGURA 13: Influencia del efecto analgésico de dipirone en una dosis de 100mg/Kg sobre las diferentes fases del ciclo estral de la rata, cada grupo se estudio con n=8 y el analisis estadístico se realizó con una $p > 0.05$, encontrandose que el perfil de curso temporal no difiere con respecto a la fase del ciclo estral.

La dosis de 177.8 mg/Kg de dipirona mostró cursos temporales de cada fase muy dispersos con respecto a la curva del GPG como se puede observar en la figura 14, pero se debe hacer un análisis antes de dar conclusiones: el GPG obtiene el $T_{Emáx}$ 1 h después de que se administra el analgésico con un $E_{máx}$ de 34% que desciende lentamente y al final de la observación tiene un IF de 15.5%; en el proestro el $T_{Emáx}$ también se alcanza 1 h después de la administración y tiene un efecto analgésico del 25%; el efecto de recuperación también desciende en esta fase y finalmente hay una recuperación del 10.4%. El estro alcanzó el $E_{máx}$ una h después de la administración del analgésico, lo que es igual al $T_{Emáx}$, con un valor de 25% , pero el efecto no varía mucho y la curva se mantiene alrededor de ese valor, teniendo la curva al final de la observación un IF 15%. Con respecto al metaestro aquí la curva presentó una desviación en comparación a las fases anteriores ya que el alivio que representa la curva es mayor al observado en las otras fases, el $T_{Emáx}$ sigue siendo el mismo, pero el mayor efecto alcanzado tiene un valor de IF de 56.4% y posteriormente se observa un descenso rápido que termina con un IF de 24.6%. En el diestro el $T_{Emáx}$ se observa a la 1 h con una recuperación de 36.6%, este efecto disminuye hasta llegar a un IF de 9.7% al final de la observación. El análisis estadístico mostró nuevamente que solo hay diferencia significativa en los perfiles del curso temporal analgésico mostrado ($p < 0.05$), pero no en el ABC.

La figura 15 muestra los cursos temporales obtenidos con la dosis de 316.2 mg/Kg, donde las curvas de las cuatro fases son muy parecidas entre sí; todos los

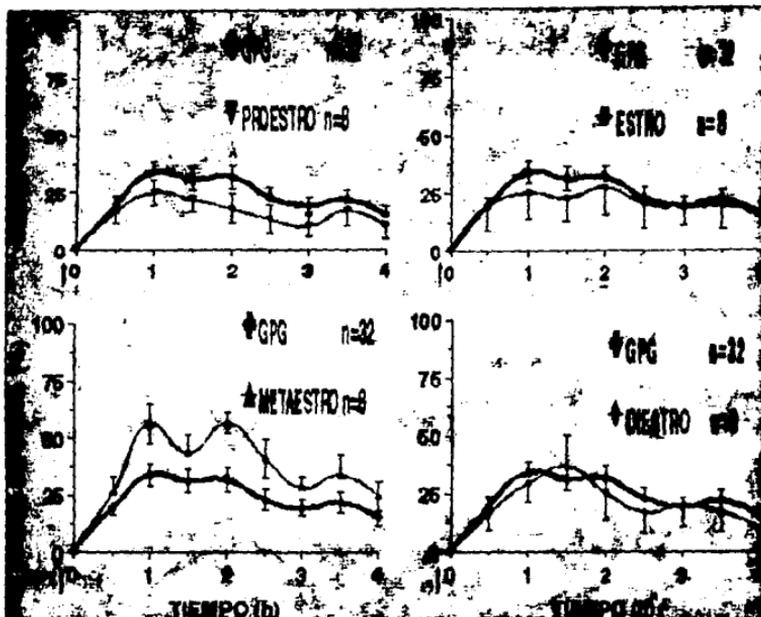


FIGURA 14: Efecto de dipirona administrada s.c. en una dosis de 177.8 mg/Kg. Estudio comparativo de las 4 fases estrales analizado estadísticamente, el cual muestra que el perfil de cursos temporales difiere entre las fases del ciclo estral con una $p < 0.05$.

$T_{E_{m\acute{a}x}}$ de las curvas se presentaron 1 h después de la administración, con excepción del proestro en donde el $T_{E_{m\acute{a}x}}$ fue de 0.5 h; en el proestro el mayor efecto analgésico mostrado fue del 52%, la curva en toda la observación también fluctúa entre este valor, terminando con un IF de 52.3%; el estro presenta una recuperación ligeramente mayor que las otras fases, el $E_{m\acute{a}x}$ es de 70.4%, en toda la observación el efecto analgésico tampoco difiere mucho, terminando con una recuperación alrededor del 62%; con lo que respecta al metaestro la recuperación más alta fue del 60.5%, finalizando con un efecto analgésico del 44.3%. La curva obtenida en la fase de diestro tiene un $E_{m\acute{a}x}$ de 58.8% posteriormente tiene un descenso ligeramente mayor y la observación termina con un IF de 44.9%. Se puede decir que esta dosis tiene un efecto analgésico aceptable para el tipo de dolor inducido en este modelo experimental. El análisis estadístico volvió a mostrar que no hay diferencias entre las fases en el ABC pero sí en el perfil de los cursos temporales ($p < 0.05$).

En la figura 16 se presentan los cursos temporales obtenidos al administrar 562.3 mg/Kg de dipirona a los grupos que representan cada fase del ciclo estral de la rata. Todas estas curvas presentan un rápido incremento del IF después de la administración del analgésico, la curva promedio presenta el $T_{E_{m\acute{a}x}}$ 1 h después de la administración con un efecto máximo de 73.9%, este alivio se mantiene casi constante todo el período que duró la observación; en el proestro también se observa un incremento rápido de analgesia y 1 h después de la administración se alcanza una recuperación del 76.5%; en el estro el $E_{m\acute{a}x}$ tiene un valor de 83.2 % con un $T_{E_{m\acute{a}x}}$ de 1.5 h, en todo el período de

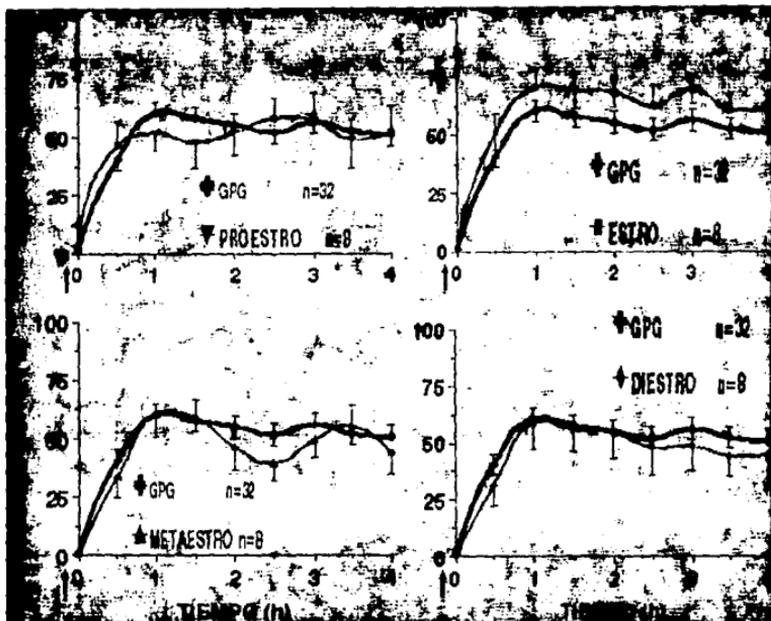


FIGURA 15: Cursos temporales que indican el efecto analgésico producido por 316.2 mg/Kg de dipirona s.c. La estadística demostró que los perfiles de curso temporal son diferentes entre las fases del ciclo estral con una $p < 0.05$.

observación el efecto analgésico no tiene descenso, los valores de IF fluctúan alrededor del máximo efecto por lo que se puede decir que no hay una disminución significativa del mismo; para el metaestro el IF se incrementa menos rápido en comparación a las fases anteriores y el $T_{E_{máx}}$ se obtiene a las 1.5 h con un valor de $E_{máx}$ de 71.7%, lo que indica la diferencia con respecto a las otras fases, y se observa un descenso rápido al final, terminando 4 h después de la administración con un IF de 56%; la curva que representa al diestro también tiene ligeras variaciones con respecto a las otras fases; en esta fase el $E_{máx}$ tiene un valor de 62.7% y se alcanza 1 h después de la administración, lo que es el $T_{E_{máx}}$, y finaliza la observación con un IF de 56.7%, de aquí podemos sugerir que gráficamente las curvas de curso temporal presentaron ligeras variaciones. El análisis estadístico señaló nuevamente que solo existe diferencia en el perfil de los cursos temporales ($p < 0.05$), pero no en el ABC.

Como se ha observado en los resultados obtenidos con morfina y con dipirona no existieron diferencias significativas entre las fases estrales de la rata cuando se analizó el ABC o efecto analgésico global, sin embargo los perfiles de la analgesia presentada si cambian según la fase del ciclo estral en que sean analizados. Así también, la fase del metaestro es la que presenta mayores cambios en general tanto en ABC con en curso temporal, el cambio mas importante en esta fase fue con morfina 10 mg/Kg. Los resultados obtenidos en el modelo PIFIR concuerdan con los obtenidos por Bodnar y col. (1988), donde concluyen que la analgesia inducida por analgésicos no opioides no esta influenciada por los factores estrales, de donde se puede sugerir que en estas condiciones experimentales los esteroides sexuales endógenos podrían no

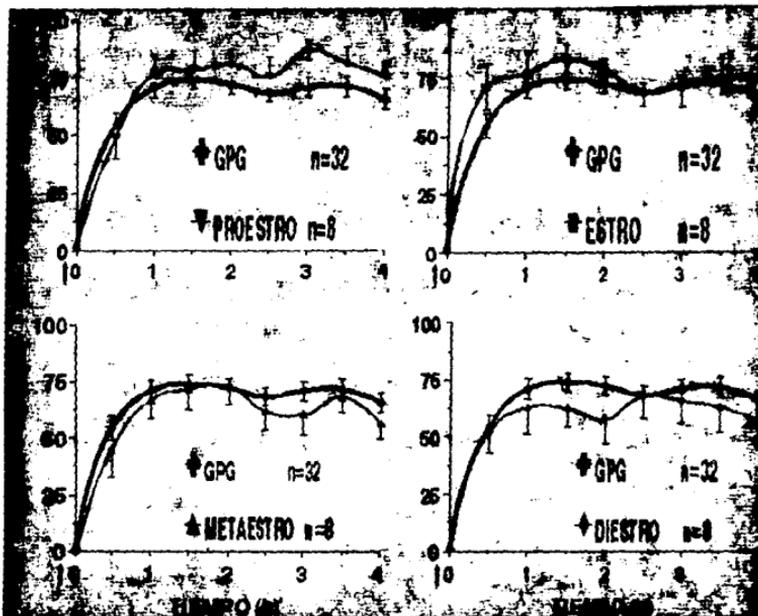


FIGURA 16: Cursos temporales que representan el efecto analgésico producido en cada una de las fases estrales con una dosis de 562.3 mg/Kg, el análisis estadístico de estos cursos muestra que hay diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las diferentes fases estrales de la rata.

influir en el mecanismo de acción de los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos, por lo que no se encontraron diferencias significativas entre las diferentes fases del cicloestral de la rata.

6. ANALISIS DE LAS CDR DE MORFINA Y DIPIRONA EN LAS DIFERENTES FASES ESTRALES DE LA RATA.

Para un mayor apoyo de los datos analizados anteriormente fueron construidas las curvas dosis respuesta (CDR) de las dosis los analgésicos antes mencionados, estos datos se presentan en las figuras 17 y 18. Estas gráficas se realizaron utilizando en el eje "X" las dosis de analgésico administrado y graficando en intervalos logarítmicos, y en el eje "Y" las áreas bajo la curva (ABC), obtenidas por el método convencional de trapecios de los datos de IF. Fueron graficados los datos para cada una de las fases utilizando grupos de 8 ratas \pm el error estándar.

La figura 17 muestra las CDR obtenidas con morfina en las diferentes fases del ciclo estral. El mayor efecto analgésico observado en estas condiciones experimentales fue con la dosis de 17.7 mg/Kg de morfina. La CDR del GPG mostrado nos da idea de que tanta dispersión en su CDR presenta cada fase del ciclo estral. Visualmente es muy claro que prácticamente no hay dispersión importante en la CDR de las fases estrales. Esto era de esperar ya que el análisis estadístico de las ABC mencionados anteriormente señalaba no diferencia significativa, y por lo tanto no existen variaciones entre los efectos

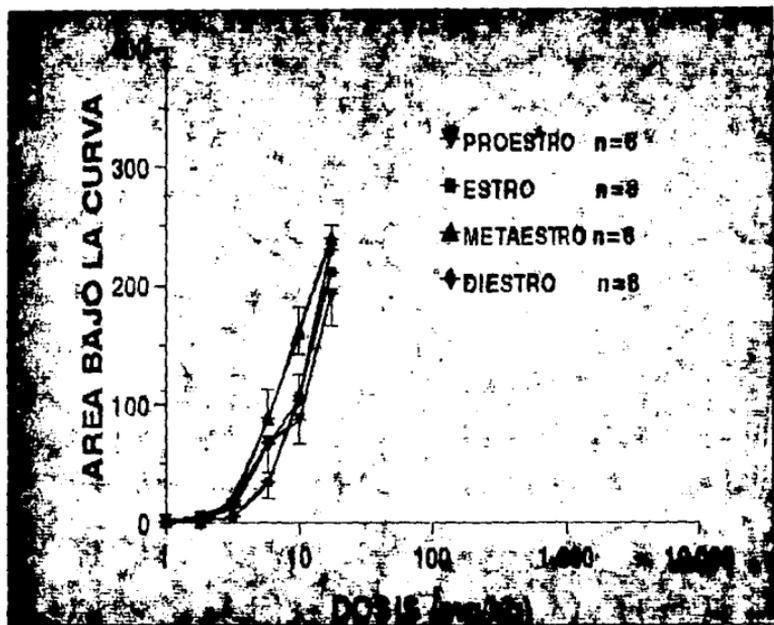


FIGURA 17: Curvas dosis respuesta obtenidas con todas las dosis de morfina administradas a c. El ABC representa el efecto analgésico global y estadísticamente se encontró que exceptuando a la dosis de 10 mg/Kg, las fases no presentan diferencias significativas ($p > 0.05$) que indiquen que el efecto analgésico depende de la fase estral que presente la rata.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

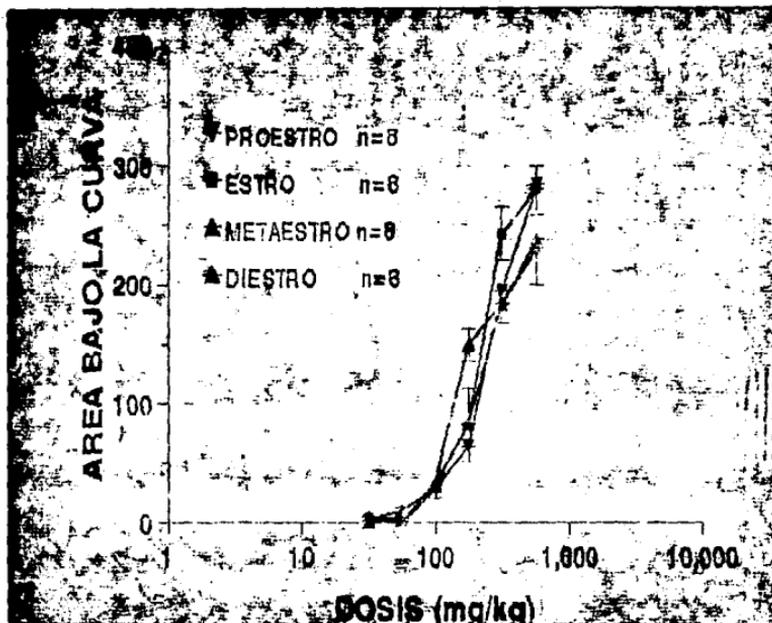


FIGURA 18: Curvas dosis respuesta obtenidas al administrar diferentes dosis de dipirone, cada una representa a una fase, donde estadísticamente se demostró que el efecto analgésico global (ABC) de la dipirone no presenta diferencias significativas en ninguna fase del ciclo estral ($p > 0.05$).

analgésicos mostrados en las diferentes fases del ciclo estral de la rata con respecto a la analgesia global.

Las CDR para dipirona en cada una de las fases están expresadas en la figura 18. La situación es muy similar a la encontrada con morfina, al analizar las CDR que están construidas con las ABC no se presentan cambios importantes en los efectos globales. Puede decirse que no hay variación entre todas las fases con respecto a la analgesia inducida con dipirona en estas condiciones experimentales.

De acuerdo a los resultados observados para cada analgésico, se puede comparar el efecto obtenido para los dos fármacos utilizados. En el tipo de dolor provocado en este modelo experimental (dolor del tipo artritis gotosa) el efecto analgésico que se logra es muy similar para ambos fármacos en las diferentes fases, es decir los dos fármacos presentan eficacia similar y adecuada, morfina de alrededor de 218 unidades de área, mientras que dipirona de alrededor de 257 unidades de área.

A diferencia de otros modelos experimentales donde si encontraron influencia significativa entre las fases esterales de la rata, en esos modelos experimentales se atribuyen tales resultados principalmente a las hormonas sexuales que regulan dicho ciclo, pero también pueden tener influencia las condiciones experimentales que se manejen, el tipo de dolor provocado con cada modelo experimental, el analgésico específico que se utilice, la raza de los animales que se estén utilizando y su manipulación.

CONCLUSIONES

1. La actividad hormonal que regula el ciclo estral de la rata se refleja directamente en los cambios del epitelio vaginal por ser muy corto dicho ciclo, y debido a la existencia de diferentes células.

2. En el epitelio vaginal se diferencian claramente las cuatro fases que componen el ciclo estral de la rata: proestro, estro, metaestro y diestro.

3. La disfunción provocada en el modelo experimental PIFIR por medio del ácido úrico, no se altera con el cambio hormonal endógeno que existe en cada una de las fases estrales de la rata: ni en el ABC de disfunción, ni en el perfil de curso temporal de disfunción ($p > 0.05$).

4. Con las dosis de 1.0 y 1.7 mg/Kg de morfina no se obtuvo efecto analgésico para ninguno de los grupos estudiados por lo que se considera que estas dosis son insuficientes para aliviar el tipo de dolor provocado en estas condiciones experimentales.

5. El análisis de los efectos analgésicos producidos en el proestro, estro y diestro con las diferentes dosis de morfina (3.1, 5.6 y 17.7 mg/Kg) mostró que el ABC o efecto analgésico global no cambia estadísticamente, sin embargo el análisis del perfil de curso temporal si se modifica significativamente ($p < 0.05$).

6. La dosis de morfina 10 mg/Kg generó cambios importantes tanto en ABC como en perfil de curso temporal de los efectos analgésicos ($p < 0.05$). La fase de metaestro es la que presentó los mayores cambios.

7. Los efectos analgésicos producidos por dipirona (100, 177.7, 316.2 y 562.3) en cada una de las fases del ciclo estral mostraron que no había cambios importantes en ABC, pero si en el perfil de los cursos temporales ($p < 0.05$).

8. La fase de metaestro para la dosis de 177.8 mg/Kg de dipirona también presentó cambios con respecto a las otras fases, pero el análisis estadístico mostró que el efecto global no cambiaba, mientras que el curso temporal si se modificaba.

9. En general la farmacodinamia de analgésicos de tipo AINES (dipirona) parece no verse afectada por los cambios hormonales que se presentan a través del ciclo estral de la rata en el dolor inducido con el modelo experimental PIFIR, obteniéndose similares efectos globales en las cuatro fases al administrar cualquier dosis.

10. La comparación de las CDR obtenidas en cada una de las fases del ciclo estral, tanto para dipirona como para morfina, mostró que no había diferencias importantes y modificación de efectos analgésicos en estas condiciones.

PROPUESTAS

1. El modelo experimental PIFIR maneja 3 niveles de dolor, para comprobar la influencia de las fases esterales en la disfunción se podrían analizar los otros dos niveles de dolor (2 y 3), para determinar si el tipo de dolor que es provocado en el modelo es influenciado por las fases esterales.

2. Con respecto al efecto analgésico se deben administrar más analgésicos de los dos grupos (opioides y tipo AINES) para determinar en cada caso particular si no se ve influenciada la acción analgésica por las concentraciones hormonales en la rata hembra.

3. El experimento también podría realizarse con hembras ovariectomizadas y realizar una comparación del efecto analgésico que se produce en éstas y en ratas normales agrupadas por fases con el fin de observar la influencia de las hormonas que regulan el ciclo esteral.

4. La explicación para el resultado de que en la fase de metaestro el efecto analgésico se ve favorecido (se observa gráficamente) se podría corroborar con un análisis específico de las hormonas que están influyendo tanto en ésta como en las otras fases y proponer un posible mecanismo de acción.

5. Se podría analizar el efecto nociceptivo y analgésico de los fármacos en hembras y machos para detectar si se dan efectos diferentes en algunos casos.

BIBLIOGRAFÍA

- Baar HA, Brune K, Rust M (1991): El uso de la dipirona. Dipirona: Investigaciones recientes sobre su modo de acción, farmacocinética y uso clínico, Editado por Brune K, Berlín: 47-52
- Banerjee P, Chatterjee TK, Ghosh JJ (1983): Ovarian steroids and modulation of morphine-induced analgesia and catalepsy in female rats. *European Journal of Pharmacology* 96:291-294
- Basbaum AI, (1984): Anatomical substrates of pain and pain modulation and their relationship to analgesia drug action. *Analgesics Neurochemical Behavioral and Clinical Perspectives*, Edited by Kuhar M and Pasternak G, Raven Press, New York: 97-122
- Basbaum AI, Fields HL (1984): Endogenous pain control systems: Brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Annual Review of Neuroscience* 7: 309-338
- Bernhardt W, Koepen D (1992): La historia de la analgesia. Resúmenes de Actualización en investigación de analgésicos no narcóticos, Italia:5
- Besson JM, Guilbaud G, Abdelmoumene M, Chaouch A (1982): Physiologie de la nociception. *Journal of Physiology* 78: 43-56
- Bodnar RJ, Romero MT, Kramer E (1988): Organismic Variables and Pain Inhibition: roles of gender and aging. *Brain Research Bulletin* 21:947-953
- Bowman y Rand (1984): FARMACOLOGIA BASES BIOQUIMICAS Y PATOLOGICAS, 2ª, Ed Interamericana, México, pp 16.4, 42.61-42.63
- Brune K (1990): Farmacología comparativa de analgésicos no opioides. *Memorias*

Simposium Internacional Antipiréticos y Analgésicos, México: 41-43

- Brune K (1992): Modo de acción de los analgésicos antipiréticos. Resúmenes de Actualización en investigación de analgésicos no narcóticos, Italia:8**
- Butcher RL, Collins WE, Fugo NW (1974): Plasma concentration of LH, FSH, Prolactin, progesterone and estradiol-17 beta throughout the 4-Day estrous cycle of the rat. Endocrinology 94:1704-1708**
- Chatterjee TK, Das S, Banerjee P, Ghosh JJ (1982): Possible physiological role of adrenal and gonadal steroids in morphine analgesia. European Journal Pharmacology 77:119-123**
- Covino BG, Dubner R, Gybels J, Kosterlitz HW, Liebeskind JC, Sternbach RA, Vyklicky L, Yamamura H, Zimmermann M (1980): Ethical standards for investigations of experimental pain in animals. Pain 9:141-143**
- Crowley WR, Jacobs R, Volpe J, Rodriguez-Sierra JF, Komisaruk BR (1976): Analgesic Effect of Vaginal Stimulation in Rats: Modulation by Graded Stimulus Intensity and Hormones. Physiology and Behavior 16:483-488**
- Dawkins K, Potter WZ (1991): Gender differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics of psychotropics: Focus on women. Psychopharmacology Bulletin 27:417-426**
- Diamond M (1970): Intromission pattern and species vaginal code in relation to induction of pseudopregnancy. Science 169:995-997**
- Dickenson AH (1991): Mechanisms of the analgesic actions of opiates and opioids. British Medical Bulletin 47:690-702**

- Dubner R, Hayes RL (1979): Pain Mechanisms in the trigeminal system. Mechanisms of Pain and Analgesic Compounds, Edited by Beers RF and Basset EG. Raven Press, New York:157-169
- Dubner R, Hayes RL, Hoffman DS (1980): Neural and behavioral correlates of pain in the trigeminal system. Pain, Edited by Bonica JJ Raven Press, New York: 63-72
- Dykes RW (1975): Nociception. Brain Research 99:229-245
- Edmeads J (1983): The physiology of pain: a review. Progress Neuro-Psychopharmacology & Biology Psychiatry 7:413-419
- Fang FG, Fields HL, Lee NM (1986): Action at the mu receptor is sufficient to explain the supraspinal analgesic effect of opiates. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 238:1039-1043
- Fink G, Sarkar DK, Dow RC, Dick H, Borthwick N, Malnic KS, Twine M (1982): Sex difference in response to alphaxalone anaesthesia may be oestrogen dependent. Nature 298:270-272
- Frisch RE (1982): Fatness, Puberty, Menstrual periodicity and Fertility. Clinical reproductive neuroendocrinology. Edited by Vaitukaitis JL, New York, pp 114-119
- Frye CA, Bock BC, Kanarek RB (1992): Hormonal milieu affecting tailflick latency in female rats and may be attenuated by access to sucrose. Physiology Behavior 52:699-706
- Frye CA, Cuevas CA, Kanarek RB (1993): Diet and estrous cycle influence pain sensitivity in rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior 45:255-260

- García-Valdecasas F (1970): *Farmacología del dolor. NEUROFARMACOLOGÍA*, Salvat editores S.A., 5ª, México, pp 226-242
- Gintzler AR, Bohan M (1990): Pain thresholds are elevated during pseudopregnancy. *Brain Research* 507:312-316
- Goldenberg D (1990): *Farmacoe epidemiología de los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos granulocitopenia, agranulocitosis y anemia aplástica en un estudio retrospectivo de prevalencia. Memorias Simposium Internacional Antipiréticos y Analgésicos*, México:71-80
- Goldstein A, Aronow L, Kalman S (1979): *FARMACOLOGIA*, Ed Limusa, México, pp 501, 704-714
- Goodman y Gilman (1978 y 1986): *LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA*, 3ª y 7ª, Ed Panamericana, Argentina, pp 477-492
- Hayes SR, Volgelsang J (1991): Opiate receptors and analgesia: An update. *Journal of Post Anesthesia Nursing* 6:125-128
- He X, Neugebauer V, Schaible HG, Schmidt FR (1991): Modo de acción y farmacocinética de los analgésicos antipiréticos. *Dipirona: Investigaciones recientes sobre su modo de acción, farmacocinética y uso clínico*. Editado por Brune K, Berlin:9-19
- Katzung BG, Trevor AJ (1986): *FARMACOLOGIA BÁSICA Y CLÍNICA*, 2ª, Ed El Manual Moderno, México:354-357
- Kavaliers M, Duncan I (1987): Stress-induced opioid analgesia and activity in deer mice: sex a population differences. *Brain Research Bulletin* 425:49-56

- Kerr FWL, Wilson PR (1978): Pain. *Annual Review of Neuroscience* 1:83-102
- Lasagna L (1986): The management of pain. *Drugs* 32:1-7.
- Lim KS (1967): Pain mechanisms. *Anesthesiology* 28:106-110
- Lipa SM, Kavaliers M (1990): Sex differences in the inhibitory effects of the NMDA antagonist, MK-801, on Morphine and stress-induced analgesia. *Brain Research Bulletin* 24:627-630
- Lipp J (1991): Possible Mechanisms of morphine analgesia. *Clinical Neuropharmacology* 14:131-147
- Lobato E (1990): Riesgo hematológico de los analgésicos antipiréticos, una actualización. *Memorias Simposium Internacional Antipiréticos y Analgésicos, México:68-70*
- López-Muñoz FJ, Salazar LA, Castañeda-Hernández G, Villarreal JE (1993a): A new model to assess analgesic activity: Pain-induced functional impairment in the rat (PIFIR). *Drug Development Research*. 28:169-175
- López-Muñoz FJ, Castañeda-Hernández G, Villalón CM, Terrón JA, Salazar LA (1993b): Analgesic effects of combinations containing opioid drugs with either aspirin or acetaminophen in the rat. *Drug Development Research* 29:299-304
- López-Muñoz FJ, Salazar LA (1993) Analgesic effects of multiple combinations of morphine and aspirin in the rat. *Proceedings of the Western Pharmacology Society* 36:263-266
- Melzack R (1982): Recent concepts of pain. *Journal of Medicine* 13:147-160
- Marenzi AD (1957): *HORMONAS*, Ed El Ateneo, México, pp 570-571 y 585-587

- Morley JE, Levine AS, Grace M, Kneip J, Gosnell BA (1984): The effect of Ovariectomy, estradiol and progesterone on opioid modulation of feeding. Physiology and Behavior 33:237-241**
- Nalbandov AV (1969): FISILOGIA DE LA REPRODUCCIÓN, Ed Acrobía, España, pp 124-175**
- Omaña-Zapata I, Condés-Lara M (1991): Mecanismos de control del dolor. Salud Mental 14:1-6**
- Omote K, Kitahata LM, Collins JG, Nakatani K, Nakagawa I (1990): The antinociceptive role of mu and gamma opiate receptors and their interactions in the spinal dorsal horn of cats. Anesthesia & Analgesia 71:23-28**
- Pinsky C, Koven SJ, LaBella FS (1975): Evidence for role endogenous sex steroids in morphine antinociception. Life Sciences 16:1785-1786**
- Prezewlocki R, Stala L, Greczek M (1993): Analgesic effects of mu, gamma y kappa opiate agonists and in particular dynorphin at the spinal level. Life Sciences 33:649-652**
- Rosenkranz B, Lange C, Schmidt D, Profozie V, Mrzijak V, Seidl K, Skrabalo K (1992): Cinética de los analgésicos en la insuficiencia renal. Resúmenes de actualización en investigación de analgésicos no-narcóticos, Italia:10**
- Schmidt RF (1990): Nuevos hallazgos sobre mecanismos de acción de los analgésicos-antipiréticos. Memorias Simposium Internacional Antipiréticos y Analgésicos, México:23-24**
- Shyu BC, Andersson SA, Thoren P (1982): Endorphin mediated increase in pain**

- threshold induced by long lasting exercise in rats. *Life Science* 30:833-840
- Simonds WF (1988): The molecular basis of opioid receptor function. *Endocrine Reviews* 9:200-212
- Smith MS, Freeman ME, Neill JD (1975): The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology* 96:219-226
- Upton N, Sewell DE, Spencer PSJ (1983): Analgesic actions of mu and kappa opiate agonists in rats. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie* 262: 199-207
- Vaught JL, Cowan A, Jacoby HI (1985): Mu and gamma but not kappa opioid agonists induce contractions of the canine small intestine in vivo. *European Journal of Pharmacology* 109:43-48
- Vlabov V (1992): Farmacocinética y farmacodinamia de los analgésicos no-narcóticos. Resúmenes de actualización en investigación de analgésicos no-narcóticos, Italia:9
- Wiesenfeld-Hallin Z, Södersten P (1984): Spinal opiates affect sexual behaviour in rats. *Nature* 309:257-258
- Zimmermann M (1983): Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16:109-110
- Zimmermann M (1984): Basic concepts of pain and pain therapy. *Drug Research* II:1053-1059