

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

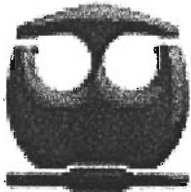
**Análisis de la interacción antinociceptiva
de la combinación de tramadol con un
inhibidor preferentemente selectivo de
COX-2**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIÓLOGA**

P R E S E N T A

LILIANA GARCÍA HERNÁNDEZ



MÉXICO, D.F.



2005

**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA**

m 350854



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente	Profa. Elia Brosla Naranjo Rodríguez.
Vocal	Profa. María Eva González Trujano.
Secretario	Prof. Francisco Javier López Muñoz.
1er. Suplente	Profa. Ruth Bustamante García.
2do. Suplente	Profa. Myrna Déciga Campos.

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 7 "Dolor y Analgesia", Departamento de Farmacobiología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-Coapa.

Asesor del tema:

Dr. Francisco Javier López Muñoz.



Supervisor Técnico:

Dra. Myrna Déciga Campos.



Sustentante:

Liliana García Hernández



DEDICATORIA

A Mamá, Papá y Víctor por ser el apoyo, la guía,
el ejemplo y la familia que estuvo conmigo todo
el tiempo. Esto no hubiera sido posible sin ustedes.
Gracias.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Myrna Déciga Campos por su amistad, enseñanza, paciencia, apoyo y por ser parte fundamental de mi formación profesional.

Al Dr. Francisco Javier López Muñoz por la confianza, la paciencia y el tiempo otorgado en la realización de ésta tesis y a todo el equipo de trabajo del laboratorio 7 del CINVESTAV-Coapa.

A toda mi familia, a mis abuelos, tíos y primos por los buenos deseos y el apoyo de todos los que creyeron en mi.

A mis super brothers, Panch, Clau, Christian, Susana, Fer, Mayda, Kikis y Laura por haber hecho de estos cinco largos años algo divertido y llevadero.

A todos mis profesores de la Facultad de Química y en especial al Dr. Ricardo Jasso Chávez, a la Dra. Ma. Eva González Trujano, a la maestra Ma. de los Dolores Campos Echeverría, a la maestra Ma. del Carmen Cortés Decuir y a la maestra Alicia Cervantes Peredo por el aprendizaje que fué más allá de la materia que impartían.

ÍNDICE GENERAL

	Página
1. RESUMEN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 IMPORTANCIA DEL DOLOR EN MEDICINA	2
2.2 NOCICEPCIÓN	2
2.3 TIPOS DE DOLOR	3
2.4 CONDUCCIÓN DEL ESTÍMULO DOLOROSO	4
2.5 MEDIADORES ENDÓGENOS	6
2.5.1 Histamina	6
2.5.2 Serotonina (5-HT)	7
2.5.3 Bradicینina	7
2.5.4 Prostaglandinas	8
2.5.5 Sustancia P	8
2.6 EL PROCESO INFLAMATORIO	9
2.7 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DEL DOLOR	11
2.7.1 Agonistas Opioides	11
2.7.2 AAINES	12
2.7.3 Antagonistas de los Aminoácidos Excitatorios	13
2.7.4 Antagonistas Neuropeptídicos	14
2.7.5 Anestésicos locales	15
2.7.6 Corticoesteroides	15
2.7.7 Antidepresivos	15
2.7.8 Sales de litio	15
2.7.9 Ansiolíticos	16
2.7.10 Anticonvulsivantes	16

2.8 COMBINACIONES DE ANALGÉSICOS OPIOIDES Y AAINES	16
2.9 TRAMADOL	18
2.10 ROFECOXIB	19
3. OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GENERAL	21
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES	21
4. HIPÓTESIS	22
5. MATERIAL Y MÉTODO	23
5.1 ANIMALES	23
5.2 FÁRMACOS	23
5.3 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA	23
5.4 DISEÑO DE EXPERIMENTOS	25
5.5 EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ADVERSOS GÁSTRICOS	27
5.6 PRESENTACIÓN DE LOS DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	28
5.6.1 Cursos temporales y áreas bajo la curva	28
5.6.2 Sinergismo de las combinaciones de rofecoxib y tramadol	29
5.6.3 Análisis estadístico	30
6. RESULTADOS	31
6.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO GENERADO POR LA ADMINISTRACIÓN INDIVIDUAL O EN COMBINACIÓN DE ROFECOXIB Y TRAMADOL	31
6.1.1 EFECTO DEL ÁCIDO ÚRICO Y EL VEHÍCULO	31
6.1.2 EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE LOS FÁRMACOS ADMINISTRADOS DE FORMA INDIVIDUAL	32
6.1.2.1. EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE ROFECOXIB	32
6.1.2.2. EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE TRAMADOL	32
6.1.2.3. CURVAS DOSIS-RESPUESTA DE ROFECOXIB Y TRAMADOL	33

6.1.3 EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE LAS COMBINACIONES	34
6.1.3.1 COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE LA COADMINISTRACIÓN DE ROFECOXIB Y TRAMADOL CON RESPECTO AL VALOR ESPERADO	35
6.1.3.2 ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE INTERACCIÓN SINÉRGICA	39
6.1.3.3 COMBINACIONES QUE PRESENTAN EFECTOS ANTINOCICEPTIVOS DE TIPO ADITIVO	41
6.1.3.4 ISOBOLOGRAMA DE LA COADMINISTRACIÓN DE ROFECOXIB Y TRAMADOL	42
6.2 EVALUACIÓN DE EFECTOS ADVERSOS GÁSTRICOS PRODUCIDOS POR LA COADMINISTRACIÓN DE ROFECOXIB Y TRAMADOL	43
6.2.1 ÚLCERAS GÁSTRICAS Y EROSIONES INDUCIDAS POR INDOMETACINA. CONTROLES DE LOS EXPERIMENTOS	43
6.2.2 DAÑO GÁSTRICO GENERADO POR LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE ROFECOXIB, TRAMADOL Y LA COMBINACIÓN DE ÉSTOS	44
7. DISCUSIÓN	46
7.1 EL MODELO EXPERIMENTAL PIFIR	46
7.2 SELECCIÓN DE LOS FÁRMACOS Y LAS DOSIS	46
7.3 INTERACCIÓN SINÉRGICA DE ROFECOXIB Y TRAMADOL	47
7.4 EFECTOS ADVERSOS	50
8. CONCLUSIÓN	52
9. PERSPECTIVAS	52
10. REFERENCIAS	53

1 F Firmamento																	2 I Inferno						
3 D Droga	4 P Padraastro	LOS ELEMENTOS																5 Mr Mercadillo	6 Fn Fuerza nuclear	7 Sl Seattle	8 M Misi	9 Hc Hoja de cálculo	10 Ex Extracto de entrevista
11 Pz Prozac	12 Ds Drugstore																	13 Cn CNN	14 Tl Trago largo	15 Eu Estados Unidos hoy	16 Ap Antena parabólica	17 Dc Disco compacto	18 MI Metal
19 Mc Monocultura	20 J Japón	21 Si Sistema inmunológico	22 Bm Biomasa	23 Fc Potocopia	24 Pb Publicidad	25 Fk Frankenstein	26 H Hueso	27 Al Amanecer	28 At Asteroide	29 An Agujero negro	30 Ly Licra	31 Tf 00-x Información	32 Id Ideología	33 Ct Control	34 Mg McNugget	35 O Orlando	36 Tb Terrellenado con basuras						
37 Vd Video	38 Fx Fax	39 Dn Distorsión	40 Am Amnesia	41 Su Supresión	42 Si Simulación	43 Nu Edulcorante	44 Mi Milenio	45 Bv Biodiversidad	46 Co Coca cola	47 Es Esteroides	48 Gs Gasolina	49 B Comida basura	50 Ia Inteligencia Artificial	51 La Los Angeles	52 Ci Caféina	53 Ag Agonia	54 V LSD						
55 Ax Anorexia	56 Rs Bienes Raíces	57 Uc Usufructo del cuerpo	72 Pd Pecado	73 Cr Caramelo	74 Mo Marilyn Monroe	75 Jd James Dean	76 Bd Base de datos	77 Js Joy Luck	78 Nc Neocomas	79 Sm Superman	80 Lo Lotería	81 Ec Eclipse	82 Gv Gravedad	83 Ch Cazadora de cuero	84 Ee Entrevista espectáculo	85 Dx Desintoxicación	86 Va Vampiro						
87 Ca Cajero Automático	88 Vi Virus	89 Au Oro	104 Y Yo	105 T Tú	108 Lz Luz																		

58 G Guerra	59 Lv Las Vegas	60 Cb Código de barras	61 Sr Star	62 Lt Lactid	63 Cm Caja musical	64 Br Brujo	65 Cy Concurso televisivo	66 Cu Comedia costumbrista	67 C Constituiré	68 R Reino	69 En Extenuación	70 Sn Sustento	71 Ri Rio
90 Op Opinión	91 Cd Codpendencia	92 Sa Sangre	93 C Carbono	94 Pu Plutonio	95 Rw Rawind	96 Ab Altbajo	97 Hh Hurc hurbic	98 Et Estatus	99 Eg Ego	100 Ce Carne	101 Ad Androide	102 In Inmención	103 Rd Redención

INDICE DE ABREVIATURAS.

5-HT	5-Hidroxitriptamina
AA	Ácido Araquidónico
AAINE	Analgésico Anti-inflamatorio No Esteroideo
ABC	Área Bajo la Curva
ATP	Adenosil Trifosfato
BZD	Benzodiazepina
CMC	Carboximetilcelulosa
COX	Ciclooxigenasa
COX-1	Ciclooxigenasa-1
COX-2	Ciclooxigenasa-2
CRF	Factor Liberador de Corticotropina
CYP	Citocromo P450
DE ₅₀	Dosis Efectiva 50
DMSO	Dimetil Sulfoxido
FDA	Food & Drug Administration
GABA	Ácido Gamma-Amino Butírico
GMPc	Guanosin Monofosfato Cíclico
IASP	International Association for the Study of Pain
I.F.	Índice de funcionalidad
IL-1	Interleucina-1
IL-8	Interleucina-8
IP ₃	Inositol Trifosfato
HCl	Ácido Clorhídrico

NFκB	Factor Nuclear <i>kappa</i> B
NMDA	N-metil-D Aspartato
OMS	Organización Mundial de la Salud
ON	Óxido Nítrico
PG	Prostaglandina
PGG ₂	Prostaglandina G ₂
PGI ₂	Prostaglandina I ₂
PIFIR	Pain-Induced Functional Impairment in the Rat
PLA ₂	Fosfolipasa A ₂
PLC	Fosfolipasa C
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico
SIS	Superficie de Interacción Sinérgica
SSI	Solución Salina Isotónica
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral-α
TXB ₂	Tromboxano B ₂

1. RESUMEN.

El dolor es uno de los síntomas más frecuentes y con mayor reto terapéutico para la medicina. Actualmente, el manejo apropiado del dolor continúa siendo una de las más importantes preocupaciones de la sociedad en general y de la comunidad médica en particular, es un reto para el científico comprender los mecanismos fisiológicos y psicológicos que producen y mantienen este mecanismo de defensa que en algunos casos llega a ser un sufrimiento y para la sociedad que debe de encontrar los recursos médicos, científicos y financieros para tratar hasta donde sea posible de aliviar o prevenir el dolor y el sufrimiento.

Es de suma importancia contar con fármacos que además de producir una analgesia efectiva no generen reacciones adversas, pero hasta ahora no se ha demostrado que un solo fármaco produzca efectos analgésicos potentes y eficaces y que además no tenga efectos no deseados. La terapia combinada se ha sugerido ampliamente con el objeto de incrementar la eficacia analgésica y además reducir los efectos adversos. Para el tratamiento del dolor, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda el empleo de analgésicos de manera escalonada en el siguiente orden: analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), opioides débiles, opioides fuertes, combinaciones de AINEs con opioides débiles y finalmente combinaciones de AINEs con opioides fuertes.

En este trabajo se evaluó el efecto antinociceptivo producido por la administración individual de rofecoxib, inhibidor preferentemente selectivo de ciclooxigenasa-2 (COX-2), y tramadol (opioide débil) y el tipo de interacción sinérgica que produce la combinación de ambos fármacos en un modelo de dolor de tipo gotoso (Disfunción Inducida por Dolor). Los datos sugieren que la coadministración oral de rofecoxib y tramadol produce efectos menores a la adición de efectos individuales de cada uno de los fármacos en rata. Por el contrario, los efectos adversos gástricos de rofecoxib parecen ser potenciados al combinarse con tramadol. De acuerdo con los datos obtenidos podemos establecer que no todas las combinaciones de opioides con AINEs, y específicamente las combinaciones de opioides con inhibidores preferentemente selectivos de COX-2, generan efectos sinérgicos positivos.

2. ANTECEDENTES.

2.1 IMPORTANCIA DEL DOLOR EN MEDICINA.

El dolor es uno de los síntomas más frecuentes y con mayor reto terapéutico para la medicina, que en ocasiones se alivia por la simple sugestión y en otras es resistente incluso a la neurocirugía destructiva. El dolor es una experiencia emocional y sensorial desagradable y, como tal, personal e intransferible, aunque comunicable. El dolor es un problema multidimensional, psicofísico y sociocultural que trasciende al paciente y se proyecta a la familia y a toda la sociedad (Stanley y col., 1985).

El dolor se ha definido como “una experiencia sensorial y emocional no placentera y subjetiva, asociada a un daño tisular real o potencial (Merskey, 1979) que puede ser descrita en términos de dicho daño” (International Association for the Study of Pain, 1980). En el hombre se asocia a emociones y actitudes; en los animales se promueven reacciones motoras o vegetativas que modifican una conducta específica (Kavaliers, 1988).

Actualmente, el manejo apropiado del dolor continúa siendo uno de los más importantes temas de interés de la sociedad en general y de la comunidad médica en particular, es un reto para el científico comprender los mecanismos biológicos y psicológicos que producen y mantienen este sufrimiento y para la sociedad que debe de encontrar los recursos médicos, científicos y financieros para tratar hasta donde sea posible de aliviar o prevenir el dolor y el sufrimiento (Ceraso, 1995).

2.2 NOCICEPCIÓN.

La nocicepción es un término neurofisiológico que se refiere a los mecanismos neurales por los cuales se detectan y son transmitidos estímulos nocivos desde las fibras periféricas sensitivas hasta el sistema nervioso central (SNC). La nocicepción es en términos generales un sinónimo de dolor pero propiamente aplicado a la investigación preclínica. La conducción del proceso nociceptivo es mediante los nervios sensoriales periféricos los cuales se conocen con el nombre de nociceptores, los cuales están

rodeados principalmente por músculo liso, capilares sanguíneos y fibras nerviosas simpáticas eferentes. Los nociceptores son las terminaciones periféricas de las fibras aferentes sensoriales primarias, los cuales transducen estímulos mecánicos, térmicos y químicos en una serie de potenciales de acción que transmiten a lo largo de sus axones hasta el asta dorsal de la médula espinal. Estas fibras aferentes contienen uno de varios tipos diferentes de axones clasificados en tres grupos principales dependiendo de su diámetro y grado de mielinización. Las fibras A-β se encuentran mielinizadas y conducen a una velocidad de 30-120 m/s, por el contrario, las fibras A-δ se encuentran poco mielinizadas y conducen a una velocidad de 5-30 m/s. Las fibras C no están mielinizadas y su velocidad de conducción es menor de 2 m/s. A mayor grado de mielinización y diámetro, mayor es la velocidad de conducción. Las fibras A están asociadas a la nocicepción somatosensorial que se origina de la piel o del tejido conectivo, músculo, hueso y membranas articulares o sinoviales. Por otro lado, la nocicepción de tipo visceral se conduce por fibras de tipo C, estas fibras provienen de los órganos que se encuentran en vísceras y tórax (García y Herrero, 1998; Cervero y Laird, 1999).

2.3 TIPOS DE DOLOR.

El dolor puede clasificarse como agudo y crónico aunque su diferencia está basada, entre otras cosas, en los mecanismos neurofisiológicos que originan el dolor. De acuerdo con éstos mecanismos se definen tres tipos distintos de dolor, el fisiológico, el inflamatorio y el neuropático (Cervero y Laird, 1999).

El *dolor agudo* es la consecuencia inmediata de la activación de los sistemas nociceptivos; se manifiesta generalmente después de una lesión tisular somática o visceral, es autolimitado y desaparece habitualmente con la lesión que lo originó. Tiene una función de protección biológica al actuar como una señal de "alarma" a nivel del tejido lesionado y aparece por una estimulación química, mecánica o térmica de nociceptores específicos. Por otro lado, el *dolor crónico* no posee una función protectora, y más que un síntoma de una lesión, puede considerarse en sí mismo una enfermedad. Se ha definido como un dolor que persiste al menos un mes después de la lesión causal, pudiendo perpetuarse por un periodo de tiempo prolongado después de dicha lesión e incluso en ausencia lesión periférica.

El *dolor fisiológico* es también denominado dolor "somático" o "nociceptivo", se produce como consecuencia de una lesión somática o visceral. El dolor somático se origina por una lesión a nivel de la piel, los músculos, ligamentos, articulaciones o huesos. Se caracteriza por ser un dolor bien localizado, circunscrito a la zona dañada, y que no suele acompañarse de reacciones vegetativas (náuseas, vómitos, etc.). El dolor visceral se origina por la lesión de órganos internos, aunque en condiciones fisiológicas, no todas las vísceras manifiestan dolor en respuesta a estímulos nocivos.

El *dolor neuropático* es llamado también "patológico", es el resultado de una lesión y alteración de la transmisión de la información nociceptiva a nivel del Sistema Nervioso Periférico (SNP) o SNC. En este caso no existe relación causal entre la lesión tisular y el dolor. Una de sus principales características, es la presencia de alodinia, es decir la aparición de dolor frente a estímulos que habitualmente no son dolorosos.

Se define al *dolor inflamatorio* como el resultado de una respuesta vascular que ocurre alrededor de los tejidos que han sido dañados y consiste en la producción de numerosos mediadores químicos que provocan un aumento de la permeabilidad capilar, facilitan la salida de células desde los vasos sanguíneos y activan varios sistemas de proteínas pro-inflamatorias. Todos estos eventos restringen el área donde ocurre la inflamación, la cuál se caracteriza por la presencia de calor, rubor, edema, pérdida de la función celular e hiperalgesia (conducta dolorosa exagerada frente a estímulos nocivos) o alodinia (conducta dolorosa frente a estímulos que normalmente no son nocivos).

2.4 CONDUCCIÓN DEL ESTÍMULO DOLOROSO.

Como se mencionó anteriormente, el dolor puede surgir a partir de la estimulación de receptores de nociceptores en tres zonas principales del cuerpo: la piel, estructuras musculoesqueléticas y vísceras. Los receptores cutáneos son los menos diferenciados de las neuronas implicadas en la sensación somática. Estos receptores *transducen* estímulos térmicos mecánicos o químicos en una serie de potenciales de acción que se transmiten a lo largo de sus axones hasta la médula espinal (figura 1). Los nervios periféricos contienen uno o varios tipos diferentes de axones (fibras A y C). Las neuronas aferentes nociceptoras primarias poseen axones de fibras de las clases A y C.

Para poder *transmitir* información nociceptiva, las neuronas deben ser selectivas. Los nociceptores poseen dos características para realizar esta función: un umbral alto de estimulación y la capacidad de codificar la intensidad del estímulo en una frecuencia de impulsos. La información sensorial que proviene del organismo a través de los nervios espinales periféricos, es transmitida a las células del asta posterior y luego a las regiones superiores del neuroeje a través de los sistemas neuronales ascendentes. Tanto en la primera sinapsis, en el asta posterior como a todo lo largo del neuroeje, existe un notable grado de mielinización en la transmisión de los impulsos (Cassem, 1989).

Cuando el daño al tejido se ha establecido, el mismo tejido libera mediadores. Estas sustancias activan a los nociceptores y una vez activados, conducen la señal dolorosa desde la periferia a la médula espinal en la división lateral de la raíz dorsal. Estas señales se bifurcan, ascendiendo y descendiendo hacia los tres segmentos en el tracto de Lissauer antes de hacer sinapsis no sólo con neuronas localizadas en las láminas I, II y III, sino también sobre las neuronas cuyo soma se encuentra en otras láminas. De esta manera el mensaje pasa al núcleo lateral cervical, sustancia gris periacueductal, tálamo, hipotálamo, áreas límbicas, áreas sensoriales primarias, áreas corticales y corteza cerebral (Agnati y col., 1991). El flujo continuo de los mediadores hacia los nociceptores puede originar un estado de hiperalgesia. La hiperalgesia se caracteriza por la sensibilización extrema de los nociceptores a los mediadores que libera el tejido dañado (Ferreira, 1980).

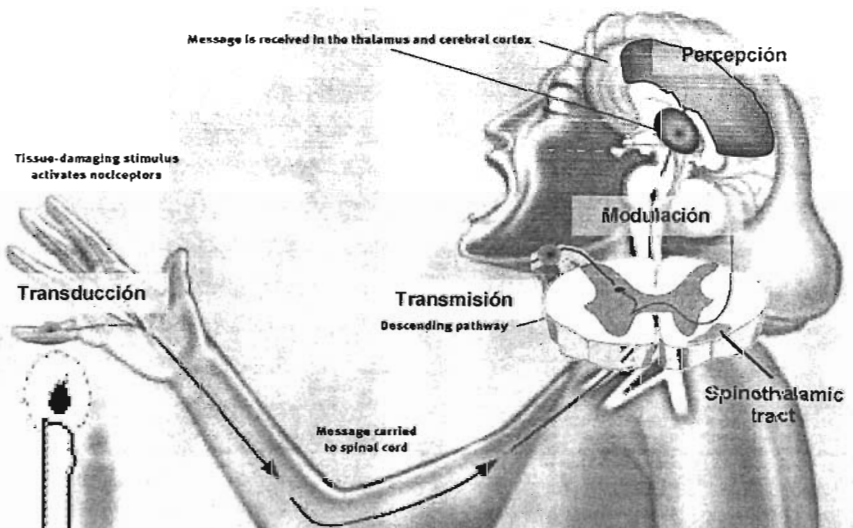


Figura 1. Conducción del estímulo doloroso (Brain facts, 2002).

2.5 MEDIADORES ENDÓGENOS.

El daño tisular causado por lesiones, inflamación o enfermedad produce la liberación de sustancias endógenas llamadas algésicas, algogénicas o sustancias productoras de dolor hacia el espacio extracelular cercano a los nociceptores. Dentro de éstas sustancias se encuentran la histamina, la serotonina, la bradicinina, el factor activador de plaquetas, la interleucina 1 (IL-1), las prostaglandinas, los tromboxanos, los leucotrienos, la acetilcolina, neuropéptidos, la dopamina, la adrenalina (epinefrina), la noradrenalina (norepinefrina), metabolitos del ácido araquidónico, sustancia P, encefalinas, ácido nítrico, monóxido de carbono, dinorfina, entre otros.

2.5.1 Histamina.

La histamina (figura 2) está presente en mastocitos, basófilos y plaquetas. Su liberación se produce por daño mecánico, calor excesivo, radiación y por algunas sustancias intracelulares como material lisosomal de los neutrófilos, trombina y epinefrina. Los receptores de membrana H_1 y H_2 están acoplados a proteínas G. Al activar receptores H_2 se estimula la secreción de ácido gástrico (HCl), pero al unirse a receptores H_1 , activa a la fosfolipasa C (PLC), la cual actúa sobre los fosfolípidos de membrana formando inositol trifosfato (IP_3), y la liberación rápida de iones calcio, los cuales estimulan la liberación de cininas (Besson y Chaouch, 1987) y la activación de la fosfolipasa A_2 (PLA_2). La fosfolipasa A_2 se encarga de la liberación de ácido araquidónico (AA), el cual es precursor de más mediadores inflamatorios, como las prostaglandinas. Además, la histamina dilata los vasos sanguíneos más delgados e intensifica la permeabilidad capilar, esto produce el dolor y el edema característico en la respuesta inflamatoria (Owen, 1987).

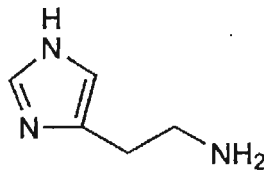


Figura 2. Histamina

2.5.2 Serotonina (5-HT).

La serotonina (figura 3) está presente en mastocitos y plaquetas. 5-HT es liberada generalmente por los mismos factores que estimulan la liberación de histamina. Existen evidencias de que en las neuronas, los receptores 5-HT₃ participan en funciones como son la regulación de temperatura, el control neuroendocrino y la actividad del sistema extrapiramidal. Diferentes fármacos con acción central pueden afectar los parámetros fisiológicos o bioquímicos de las distintas neuronas triptaminérgicas influyendo la respuesta directa a la 5-HT o su captación, síntesis, almacenamiento; liberación o catabolismo (Axelrod y Reisine, 1984).

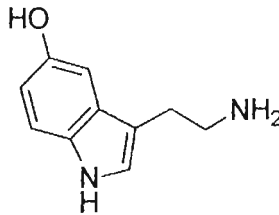


Figura 3. Serotonina

2.5.3 Bradicinina.

La bradicinina (figura 4) es una sustancia química mediadora del proceso de inflamación y una de las principales cininas producidas a partir del cininógeno del plasma por acción de las calicreínas, que se activan en forma repetitiva en el sitio de la lesión (Melmon y col., 1968). Esta sustancia es capaz de causar dolor (Ferreira, 1972) e hiperalgesia (Steranka y col., 1988). Es un derivado de la cascada de la coagulación. Su liberación produce incremento en la permeabilidad vascular, vasodilatación, induce quimiotaxis leucocitaria y activa nociceptores. Su acción es potenciada por las prostaglandinas.

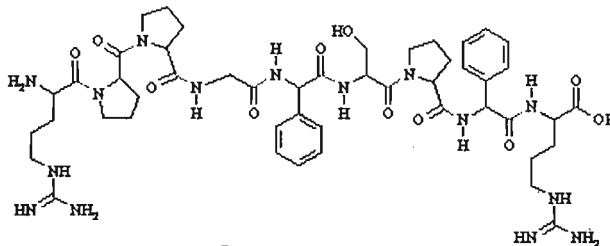


Figura 4. Bradicinina

2.5.4 Prostaglandinas (PGs).

Las PGs son un grupo complejo de ácidos grasos oxigenados que se han detectado en casi todos los tejidos examinados. Las PGs no se almacenan libremente en los tejidos, pero se sintetizan como resultado de perturbaciones membranales que causan la liberación de ácidos grasos libres, generalmente AA, a partir de fosfolípidos. La liberación de AA se puede provocar por una gran variedad de hormonas directa e indirectamente, así como por estímulos inmunológicos, ionóforos de calcio, promotores de cáncer y aún la agitación mecánica. El AA libre se une con la ciclooxigenasa, la primera enzima de la secuencia biosintética de las prostaglandinas. Esta enzima oxigena el ácido araquidónico para originar un intermediario endoperóxido, PGG₂, el cuál se convierte a una variedad de productos biológicos activos. Las prostaglandinas E₃ y E₁ son derivados de otros eicosanoides. Sin embargo, la prostaglandina E₂ (figura 5), derivada del AA, es la más abundante. Algunas variaciones sobre la estructura cíclica de las prostaglandinas caracterizan a las PGs de la serie D₂. Otros compuestos con anillos pero cadena similar son los endoperóxidos (Hamberg y col., 1974), tromboxanos (Hamberg y col., 1975) y PGI₂, los cuales también son fisiológicamente activos.

Las PGs y los leucotrienos son sintetizados a partir del AA a través de las vías de la COX y de la lipooxigenasa.

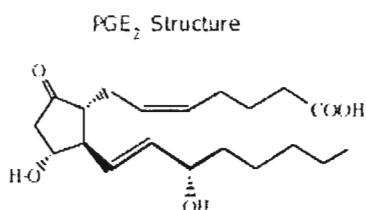


Figura 5. Prostaglandina E₂

2.5.5 Sustancia P.

La sustancia P (figura 6) posiblemente actúa como transmisor eferente primario. Se encuentra en neuronas primarias no mielinizadas y sus terminales. Dichas

terminales se encuentran en piel, glándulas sudoríparas, vasos coronarios y cerebrales, pulpa dental y ojo. Al liberarse, la sustancia P tiene efectos algogénicos y vasodilatadores. Dentro de sus efectos farmacológicos se incluyen: vasodilatación, estimulación del músculo liso intestinal, estimulación de secreción salival, diuresis y natriuresis.

Todas estas sustancias algogénicas están presentes en los procesos inflamatorios pueden producir dolor por 3 diferentes mecanismos (Hughes, 1975):

- a. Por medio de activación de fibras aferentes nociceptivas produciendo dolor por aplicación local (potasio, bradixinina y acetilcolina).
- b. Por medio de facilitación del dolor provocado por estímulos químicos o físicos, sensibilizando a los nociceptores. Sin embargo, son incapaces de producir dolor por ellas mismas.
- c. Por producción de extravasación (sustancia P).

2.6 EL PROCESO INFLAMATORIO.

El proceso inflamatorio está estrechamente relacionado con el dolor y se considera como una serie de eventos bioquímicos celulares que son activados en respuesta al daño sobre el tejido. El proceso inflamatorio tiene cuatro puntos cardinales que lo caracterizan y son: rubor, calor, tumor y dolor. Así como también por relajación, vasodilatación y migración celular. Se sabe que los procesos inflamatorios se producen por la acción de diversas citocinas y otros mediadores inflamatorios que son liberados por leucocitos y plaquetas circulantes (Leirisalo-Repo, 1994). El primer mediador inflamatorio que fue reconocido por sus propiedades hiperalgésicas es la bradixinina (Armstrong y col., 1953). Más tarde se encontró que las prostaglandinas, los leucotrienos, la serotonina, la adenosina, la histamina, la IL-1, la IL-8 y la sustancia P también contribuyen fuertemente en el proceso inflamatorio. Existen diversas patologías asociadas fuertemente a procesos inflamatorios, ejemplos de estas son la gota y la artritis reumatoide.

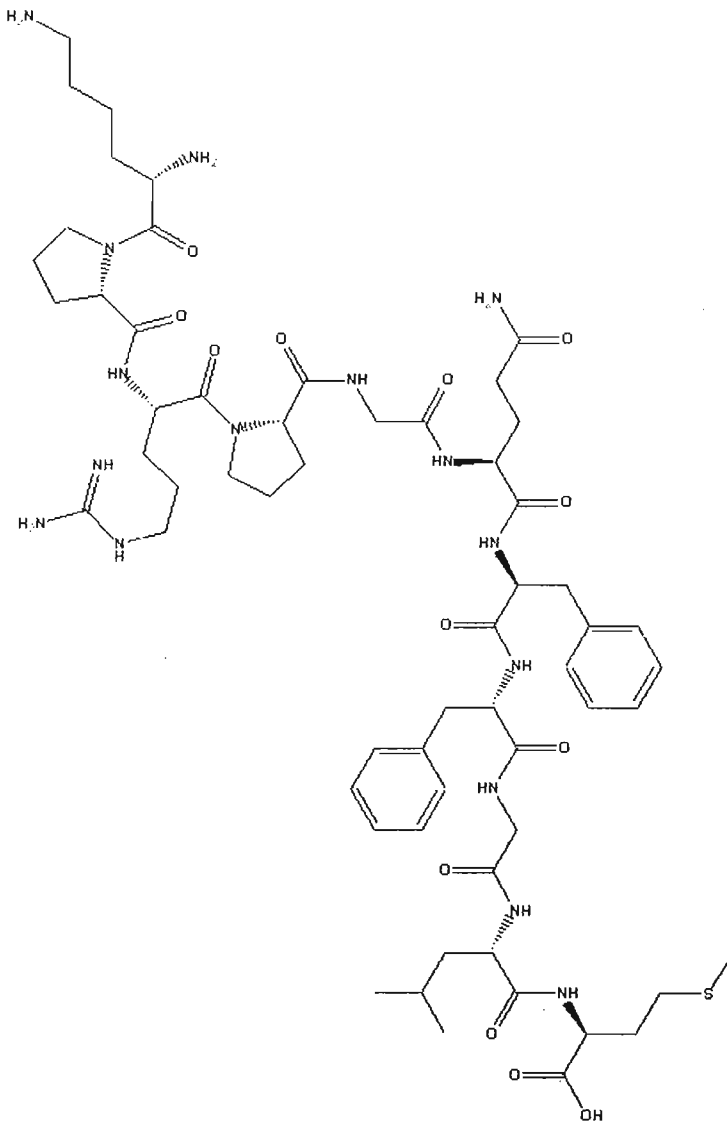


Figura 6. Sustancia P

2.7 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DEL DOLOR.

Las alternativas terapéuticas están en función de las diferentes sustancias que participan dentro del proceso doloroso. Entre ellos existen los agonistas opioides (que mimetizan a las sustancias endógenas: endorfinas), los AAINes, antagonistas neuropeptídicos, antagonistas de los aminoácidos excitatorios, anestésicos, corticoesteroides, antidepresivos, sales de litio, ansiolíticos y anticonvulsivantes.

2.7.1 Agonistas Opioides.

Existen diferentes formas de clasificar a los opioides. Una de ellas es dividirlos en opioides débiles con poco potencial adictivo y en opioides fuertes con alto potencial de adicción. De acuerdo con su origen se les puede dividir en sintéticos y semisintéticos. Los opioides sintéticos se subdividen según su estructura química (p.ej: morfínicos, fenilheptilaminas y fenilpendinas). De acuerdo con su actividad se les puede clasificar en agonistas, agonistas parciales, agonistas/antagonistas y antagonistas puros (Jaffé y Martín, 1990).

Los efectos de los opioides, destacan por sus acciones sobre:

- *Locus coeruleus*: Se sabe que éste tiene una gran cantidad de receptores para opiáceos y se postula que tiene un papel fundamental para la presencia de sentimientos de alarma, pánico, ansiedad y miedo. Dicha actividad, se inhibe con opioides exógenos y péptidos opioides endógenos. Asimismo, este centro nervioso tiene una función importante en la presencia del síndrome de abstinencia a opioides.
- Hipotálamo e hipófisis: Los opioides disminuyen la respuesta del hipotálamo a estímulos aferentes. Producen también inhibición de la liberación de factor liberador de corticotropina (CRF), con lo que disminuye la concentración de β -endorfina.
- Tallo cerebral y centros medulares: Los opioides, particularmente los que actúan sobre receptores μ , pueden provocar, en concentraciones elevadas, depresión respiratoria. Asimismo, pueden deprimir el reflejo tusígeno.

Existen 2 mecanismos diferentes por los cuales los opioides pueden disminuir la nocicepción. El primero se basa en la disminución de la inflamación a través de su interacción con leucocitos disminuyendo así la migración celular (Gyires y col., 1985); el segundo se da mediante la activación directa de receptores a opioides endógenos (β -endorfinas, metaencefalinas y dinorfinas) que se encuentran localizados en las neuronas aferentes primarias (Stein y col., 1988).

Las desventajas del uso de fármacos opioides se deben a los efectos colaterales que suelen ocasionar, es decir, depresión respiratoria, tolerancia y adicción. De ahí que el uso de opioides para disminuir el dolor es altamente selectivo, principalmente en pacientes con cáncer u otros casos de dolor severo.

2.7.2 Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).

Los AINEs también suelen denominarse analgésicos no opioides. Los AINEs alivian el dolor, disminuyen la inflamación y mejoran la función articular y son fármacos de prescripción muy común. El mecanismo de acción de este tipo de fármacos se lleva a cabo mediante la inhibición de la síntesis de prostaglandinas (Ferreira y col., 1971; Vane, 1971). Las prostaglandinas se sintetizan a partir del ácido araquidónico, el cual es un componente de los lípidos de membrana. El ácido araquidónico se libera de los fosfolípidos membranales por acción de la enzima fosfolipasa A_2 en todos los tejidos. Existen dos rutas principales para la síntesis de los derivados del ácido araquidónico, una de ellas se lleva a cabo mediante la participación de la enzima ciclooxigenasa (COX) y la otra mediante la acción de la lipooxigenasa. Las prostaglandinas, los tromboxanos y las prostaciclina son sintetizados por vía de acción de la COX. Los leucotrienos y el ácido hidroperoxieicosatetraenoico son productos de la lipooxigenasa. Las prostaglandinas (principalmente de la serie E_2) son sustancias que participan en la activación y sensibilización de los nociceptores al generarse un daño a los tejidos. Las prostaglandinas actúan localmente y son metabolizadas rápidamente a productos inactivos; esto quiere decir que las prostaglandinas no circulan en altos niveles en el torrente sanguíneo y es precisamente por esto que el blanco terapéutico de los AINEs es la enzima COX. Se han descrito dos isoformas de la COX: la COX-1 que se expresa de manera constitutiva y presenta propiedades

citoprotectoras cuando se activa en la mucosa gástrica. La COX-2 es una enzima inducible que se incrementa en células expuestas a sustancias proinflamatorias y presenta actividad antitrombogénica en células endoteliales.

Los AAINes pueden o no inhibir de manera específica a una de las dos isoformas existentes. Debido a ello es posible explicar el porque algunos de éstos fármacos son mayormente efectivos como analgésicos o bien como antiinflamatorios (Mitchell y col., 1993).

Además de la inhibición de la síntesis de prostaglandinas se han descrito algunos otros mecanismos por los cuales los AAINes ejercen su acción terapéutica. Estos mecanismos alternos pueden darse por la activación de la vía L-arginina-ON-GMPc (Déciga-Campos y López-Muñoz, 2004b), la activación de la vía opioide (Martini y col., 1984), la activación de la vía serotoninérgica (Lorenzetti y Ferreira, 1985; Pini y col., 1997b) y la inhibición del factor nuclear *kappa* B (NFκB) e inhibición en la producción de citocinas (Housby y col., 1999).

2.7.3 Antagonistas de los aminoácidos excitatorios.

Los neurotransmisores espinales son considerados uno de los más importantes mediadores de las respuesta nociceptivas. Tal es el caso específico del glutamato (Duggan, 1992) que actúa sobre receptores N-metil-D Aspartato (NMDA). Los receptores a NMDA se encuentran localizados a lo largo del cerebro, principalmente en regiones telencefálicas, de ahí su participación en la respuesta dolorosa. Para contrarrestar su efecto se emplean antagonistas específicos para el receptor a NMDA como por ejemplo, la dizocilpina y de manera similar se emplea la inhalación de ketamina como anestésico dado su capacidad para antagonizar este receptor.

2.7.4 Antagonistas neuropeptídicos.

La sustancia P es un undecapéptido que forma parte de la familia de la taquicinina y se considera un neurotransmisor asociado a procesos nociceptivos (Payan, 1989). Esta sustancia se libera de las terminales nerviosas por acción de diferentes estímulos. Entre ellos tenemos, la contracción del músculo liso y la vasodilatación, ambos eventos contribuyen a la generación de un proceso inflamatorio neurogénico. Los receptores relacionados con la sustancia P se han denominado NK₁, NK₂ y NK₃ que se han encontrado en músculo liso, endotelio vascular, mastocitos y otras células del sistema inmune (Duggan, 1992). El mecanismo de acción de esta sustancia se debe a la proliferación que se induce de células endoteliales y fibroblastos (Gimenez-Gallego y col., 1985). La sustancia P se incrementa en enfermedades tales como artritis reumatoide y espondilitis anquilosante. Hasta el momento no se emplean antagonistas de esta sustancia como fármacos terapéuticos debido a su naturaleza peptídica ya que al ingerirse por vía oral se degradan. Además al administrarse por vía parenteral no atraviesan la barrera hematoencefálica (Otsuka y Yanagisawa, 1990).

2.7.5 Anestésicos locales.

Se define a la anestesia local como la pérdida de sensación (ausencia de estímulos nociceptivos sobre el cuerpo), sin pérdida de la conciencia ni deterioro del control de las funciones vitales. Los anestésicos locales pueden utilizarse en procedimientos como:

- *Anestesia raquídea.* Tiene como objetivo bloquear fibras somáticas sensitivas y motoras
- *Anestesia por bloqueo nervioso.* Consiste en la inyección de un anestésico local en o alrededor de los nervios periféricos individuales o de los plexos nerviosos, produciendo áreas de anestesia grandes con una pequeña cantidad de medicamento.
- *Anestesia por bloqueo de campo.* Esta anestesia se produce por inyección subcutánea de un anestésico local, de forma tal que interrumpe la

transmisión nerviosa proximal al sitio anestesiado, es útil para anestesia de extremidades.

- *Anestesia epidural.* Consiste en la aplicación de un anestésico local en el espacio epidural, siendo los sitios más frecuentes las regiones lumbar y torácica y cervical. Al difundirse desde la duramadre hasta el espacio subaracnoideo, actúa sobre las raíces nerviosas y la médula espinal (Ritchie y Greene, 1996).

2.7.6 Corticoesteroides.

Los corticoesteroides se han utilizado particularmente en síndromes clínicos que son recalcitrantes a los AAINEs. Su mecanismo básicamente se debe a la capacidad para inhibir la fosfolipasa A₂ y consecuentemente se inhibe la liberación del ácido araquidónico así como de las PGs y los leucotrienos. Por otra parte, los corticoesteroides también afectan al sistema inmune, producen inhibición de citocinas por macrófagos y monocitos (Parker y Schimmer, 1994), y factores de crecimiento que a su vez promueven la síntesis de la enzima COX-2 asociada a la generación de procesos nociceptivos (Mitchell y col., 1993).

2.7.7 Antidepresivos.

Se sabe que la mayoría de los individuos con dolor crónico presentan algún grado de depresión y frecuentemente ambas patologías responden al uso de fármacos antidepresivos siendo la respuesta a estos fármacos mayor cuando la depresión precedió al inicio del dolor (Bradley, 1963).

2.7.8 Sales de litio.

El litio puede alterar la actividad de diferentes neurotransmisores que desempeñan una función en la transmisión del dolor, por ejemplo, incrementa la disponibilidad de 5-HT y altera la actividad de receptores adrenérgicos, dopaminérgicos, de

GABA, opioides y benzodiazepinas además de estabilizar la síntesis de PGs de la serie E1 (Monks, 1990).

2.7.9 Ansiolíticos.

Parte del efecto de las benzodiazepinas (BZD) se debe a la reducción de la ansiedad, insomnio y tensión muscular del paciente. La estimulación de los receptores de BZD afecta la neurotransmisión de noradrenalina, serotonina, dopamina y GABA, posiblemente influenciada por el sistema de analgesia mediado por endorfinas (Hamlin y Gold, 1984).

2.7.10 Anticonvulsivantes.

El mecanismo de acción de los anticonvulsivantes en la analgesia es por estabilización de la membrana neuronal, bloqueando el ingreso de sodio al citoplasma neuronal. Su efecto como analgésicos lo ejercen actuando principalmente sobre la formación reticular. Los más utilizados son la carbamazepina y la fenitoína (Swerdlow, 1984).

2.8 COMBINACIONES DE ANALGÉSICOS OPIOIDES Y AAINES.

Es de suma importancia contar con fármacos que además de producir una analgesia efectiva generen reacciones adversas mínimas o ninguna, pero hasta ahora no se ha demostrado que un solo fármaco produzca efectos analgésicos potentes y eficaces y que además no tenga efectos no deseados. La terapia combinada se ha sugerido ampliamente con el objeto de incrementar la eficacia analgésica y además reducir los efectos adversos.

Recientemente, la investigación se ha enfocado en buscar combinaciones de fármacos que actúen tanto a nivel central como a nivel periférico para producir analgesia a dosis más bajas y por lo tanto dosis más tolerables. La combinación de fármacos con diferentes

tiempos de vida media o de duración del efecto, sitios diana y mecanismos de acción puede mejorar el tiempo del efecto analgésico, potenciar su capacidad para reducir el dolor, ser mejor tolerados y reducir el tiempo de recuperación (Mehlisch, 2002). Aquellas combinaciones que contienen cafeína y AAINes son las que más se utilizan. Sin embargo, los fundamentos de este tipo de combinaciones aún no han sido esclarecidos y es por eso que existe cierta controversia acerca de los beneficios que muestran estas combinaciones.

Los agentes opioides generalmente poseen alta eficacia analgésica, sin embargo sus propiedades no deseadas, como su potencial de adicción, restringe su uso en la terapéutica. Por el contrario, los AAINes presentan menos efectos indeseados pero sus propiedades analgésicas en el tratamiento del dolor, que va de moderado a severo, están limitadas (Cooper, 1981). Para el tratamiento del dolor, la Organización Mundial de la Salud recomienda el empleo de analgésicos de manera escalonada en el siguiente orden: AAINes, opioides débiles, opioides fuertes, combinaciones de AAINes con opioides débiles y finalmente combinaciones de AAINes con opioides fuertes.

El uso de estas combinaciones que actúan a diferentes niveles y tienen distintos mecanismos de acción puede generar una potenciación analgésica. Si este fuera el caso, se usarían dosis más pequeñas de cada uno de los componentes de la combinación y al reducir las dosis se reducen también los efectos no deseados. Así las combinaciones de fármacos opioides con AAINes pueden llegar a producir un beneficio importante. Las combinaciones de este tipo han sido probadas en humanos, tal es el caso de la combinación pentazocina-aspirina (Calimlim y col., 1977), la de nalbufina-acetaminofén (Forbes y col., 1984) y la de paracetamol-codeína (Sveen y Gilhuus-Moe, 1975). Es difícil demostrar esta potenciación analgésica en ensayos clínicos, de esta manera, los modelos animales se han convertido en una alternativa útil para la caracterización de las mezclas de agentes analgésicos y ensayos previos a los estudios clínicos.

2.9 TRAMADOL.

El tramadol es un agente analgésico central que está relacionado estructuralmente a la morfina y la codeína. Se encuentra como sal cuyo nombre químico es (+/-) cis-2-[(dimetilamino)metil]-1-(3-metoxifenil) clorhidrato de ciclohexanol (Figura 1).

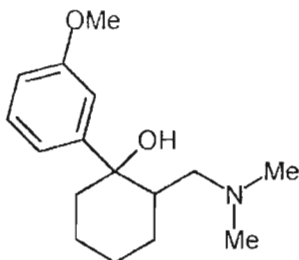


Figura 7. Tramadol

Tiene 2 mecanismos, sinérgicos, de acción. Es un agonista opioide con poca selectividad por los receptores μ (μ) y es un inhibidor débil de la recaptura de noradrenalina y 5-HT. Estos dos mecanismos de acción pueden ser atribuidos a los dos enantiómeros de la mezcla racémica del tramadol. El enantiómero (+)- posee una alta afinidad por el receptor μ y es mejor inhibidor de la recaptura de 5-HT, mientras que el enantiómero (-)- es mejor inhibidor de la recaptura de noradrenalina e incrementa su liberación por activación de receptores.

Este fármaco es metabolizado en gran parte por el hígado, el metabolito M_1 del tramadol (O – desmetil) posee una mayor afinidad por los receptores opioides que el mismo fármaco. La O-desmetilación del tramadol es dependiente de la enzima citocromo P450 CYP2D6 esparteína-oxigenasa (deficiente en aproximadamente 8% de los Caucásicos).

Diversos estudios comparativos, doble-ciego, tanto en adultos como en niños, han mostrado que a diferencia de otros opioides (como morfina, oxicodona y nalbufina) el tramadol administrado para dolor postoperatorio no estaba asociado con depresión respiratoria significativa. Tampoco se observaron efectos relevantes en la frecuencia cardíaca y se redujeron los escalofríos en pacientes con dolor postoperatorio.

Se ha demostrado que el tramadol se absorbe rápidamente después de su administración oral en voluntarios sanos (dosis múltiples o sencillas de 100 mg). Con una biodisponibilidad de 68% aproximadamente con un incremento a más del 90% con dosis múltiples aunadas a una administración intramuscular de éste. La concentración plasmática máxima es de 308 µg/L, 1.6 horas después de su administración; y con una dosis sencilla de 100 mg vía intramuscular se obtuvo una concentración plasmática de 193 µg/L, la cual se alcanzó 0.75 h después de la administración. La concentración máxima para el metabolito M1 después de una dosis sencilla oral de 100 mg fue de 55 µg/L alcanzada 3 horas después de la administración. La ingesta de alimentos no presenta efectos relevantes en la biodisponibilidad. El tramadol tiene una alta afinidad por los tejidos, con un volumen de distribución aparente de aproximadamente 260 L después de su administración parenteral.

A diferencia de otros opioides, el tramadol no tiene efectos clínicos relevantes sobre parámetros respiratorios y cardiovasculares. Este fármaco puede ser útil en pacientes que presentan una función cardiopulmonar pobre, pacientes de edad avanzada, pacientes con obesidad y fumadores, en pacientes con insuficiencia renal o hepática y en pacientes en los que los AAINes no están recomendados o se usan con mucha precaución.

Se ha probado que el tramadol además de ser eficaz, es tolerado satisfactoriamente en administraciones tanto parenterales como orales proporcionando analgesia efectiva en pacientes con dolor postoperatorio (Dayer y col., 1997).

2.10 ROFECOXIB.

Rofecoxib es un inhibidor preferentemente selectivo de la enzima ciclooxigenasa-2, su nombre químico es 4-[4-(metilsulfonil)fenil]-3-fenil-2(5H)-furanona (Figura 2).

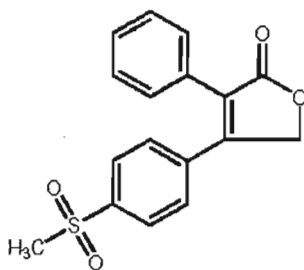


Figura 8. Rofecoxib

Rofecoxib inhibe la actividad de COX-2 y la inhibición es dependiente de la dosis. Comparado con otros AAINes convencionales, las dosis de 5 a 100 mg de rofecoxib por vía oral no inhiben otra isoforma de la enzima COX o TXB₂ y debido a esto no se afecta la producción de tromboxanos.

Rofecoxib presenta una importante actividad antipirética similar al ibuprofeno. Este fármaco presenta una menor potencia ulcerogénica comparada con otros AAINes puesto que no hay una alteración significativa en la síntesis de PGs a nivel gastrointestinal. En algunos estudios clínicos se ha demostrado que se presenta menor riesgo de hemorragia en pacientes que recibieron rofecoxib comparado con pacientes que recibieron otros AAINes.

La actividad terapéutica de rofecoxib es directamente proporcional a la dosis. Sin embargo, a dosis mayores de 50 mg se presenta una disminución del efecto. Esto, probablemente, se debe a la baja solubilidad de rofecoxib. Rofecoxib posee una buena biodisponibilidad de aproximadamente 93% tras su administración oral. Se une ampliamente a proteínas plasmáticas y tiene una vida media de 17 horas.

Éste fármaco es hidroxilado en el hígado para dar sus derivados cis-dihidro y trans-dihidro. Éstos derivados forman conjugados con el AA para ser metabolizados. Rofecoxib no presenta riesgo al administrarse en pacientes con disfunciones hepáticas leves; sin embargo, su administración debe ser controlada en pacientes con disfunciones hepáticas severas. Hay una recuperación menor del 1% de la dosis total del fármaco en orina (Rajadhyaksha y Dahanukar, 2001).

Rofecoxib era comúnmente recomendado en el tratamiento del dolor generado por condiciones tales como la osteoartritis y la artritis reumatoide, sin embargo, la compañía Merck & Co., Inc anunció el retiro del mercado de Vioxx® (Rofecoxib) de Estados Unidos y el resto del mundo en septiembre de 2004, debido a que su uso aumentaba el riesgo de efectos adversos cardiovasculares, incluyendo infarto al miocardio. Vioxx® es un analgésico antiinflamatorio no esteroideo e inhibidor preferentemente selectivo de COX-2 que fue aprobado por la FDA en mayo de 1999 para el tratamiento del dolor en casos de osteoartritis, síndrome premenstrual, artritis reumatoide y casos de dolor agudo en adultos (Merck & Co., 2004).

3. OBJETIVOS.

3.1 OBJETIVO GENERAL.

Evaluar la actividad antinociceptiva de la combinación de un opioide y un inhibidor preferentemente selectivo de COX-2 en un modelo de dolor de tipo artritis gotosa, así como los posibles efectos adversos gástricos de la combinación.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES.

- Evaluar el efecto antinociceptivo producido por la administración individual de tramadol y rofecoxib en el modelo de disfunción inducida por dolor en ratas.
- Determinar el tipo de interacción sinérgica que produce la combinación de un opioide y un inhibidor preferentemente selectivo de COX-2 en un modelo de dolor de tipo gotoso.
- Establecer si la coadministración oral de tramadol y rofecoxib genera erosiones y úlceras gástricas en comparación con un AINE no selectivo como la indometacina.

4. HIPÓTESIS.

La coadministración de un opioide (tramadol) y un inhibidor preferentemente selectivo de COX-2 (rofecoxib) genera un efecto antinociceptivo de tipo supraaditivo en ratas con artritis de tipo gota y disminuye los efectos adversos gástricos.

5 MATERIAL Y MÉTODO.

5.1 ANIMALES.

Se utilizaron ratas Wistar hembra (Cri(WI)BR), con un peso de entre 150 y 180 g , a las cuales se les retiró el alimento 12 h antes de iniciar los experimentos (período de ayuno) y se les permitió el libre acceso al agua. Todos los experimentos se realizaron siguiendo las recomendaciones del Comité de Investigación y Ética de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (Covino y col., 1980) y los Guías Éticos y Estándares para la Investigación de Dolor Experimental en Animales (Zimmerman, 1983); y llevados a cabo de acuerdo con el protocolo aprobado por el Comité Ético local. El número de experimentos realizados fue el mínimo requerido y los animales se resguardaron antes del experimento bajo condiciones controladas de temperatura y ciclos de luz/oscuridad de 12 h.

5.2 FÁRMACOS.

El ácido úrico (Sigma, St.Louis, MO, USA) se suspendió en aceite mineral; el clorhidrato de tramadol se obtuvo de Laboratorios RIMSA (México, D.F.) y se suspendió en solución salina isotónica (SSI, JTBaker). Rofecoxib (Vioxx) se obtuvo de Laboratorios Menarini (Barcelona, España) y se suspendió en dimetilsulfóxido (DMSO, JTBaker) y SSI. Indometacina (Sigma) se suspendió en carboximetilcelulosa. Los fármacos se administraron por vía oral (p.o.).

5.3 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA.

La actividad antinociceptiva se evaluó utilizando el modelo de Disfunción Inducida por Dolor (*Pain-Induced Functional Impairment in the Rat*; López-Muñoz y col., 1993b).

Los animales se introdujeron en una cámara de vidrio (Pyrex) saturada con vapor de éter para inducir anestesia. La nocicepción fue inducida por medio de una inyección intra-articular de 0.05 mL de ácido úrico al 30% suspendido en aceite mineral en la articulación fémur-tibio-rotular de la extremidad posterior derecha de la rata. La suspensión de ácido úrico fue preparada en una cápsula (Pyrex) adicionando 3.0 g de ácido úrico y 10 mL de aceite mineral y se mezclaron con mortero.

La inyección intra-articular se realizó utilizando una jeringa de vidrio de 1 mL (Becton Dickinson LTDA, Brasil) con una aguja de 5mm (Figura 9).

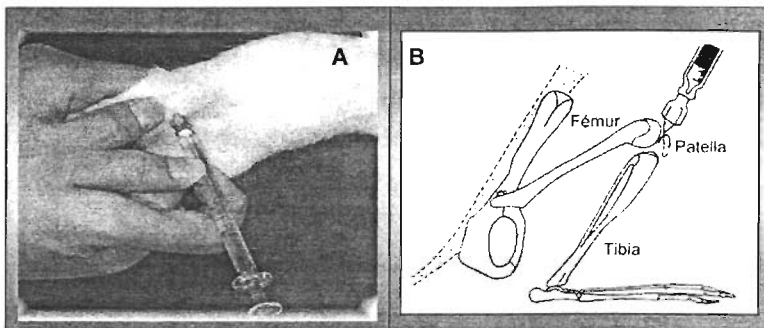


Figura 9. Modelo experimental para inducir dolor. En el panel A se muestra la inyección intra-articular en la extremidad posterior derecha de la rata en la cual se administró el ácido úrico al 30%. En el panel B se muestra la articulación fémur-tibio-rotular de la rata.

Inmediatamente después se colocó un electrodo en cada una de las extremidades posteriores de las ratas (Figura 10). Tras recuperarse de la anestesia, las ratas fueron colocadas en un cilindro de acero inoxidable de 30 centímetros de diámetro que gira a 4 rpm que hace que las ratas caminen sobre este por periodos de 2 minutos cada 30 minutos durante 6.5 horas (Figura 11). Para el caso de este modelo, no se requieren los periodos de entrenamiento previos puesto que los animales se adaptan en los primeros minutos a éste. El tiempo de contacto de cada electrodo con la superficie del cilindro se cuantifica en una computadora. Cuando el electrodo que se encuentra en la extremidad del animal hace contacto con la superficie del cilindro, un circuito permanece cerrado y de esta manera se determina el tiempo que dicho circuito permanece cerrado.

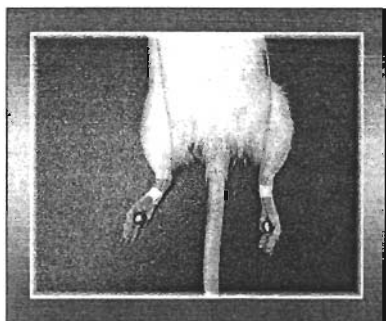


Figura 10. El electrodo se coloca en cada una de las extremidades posteriores.

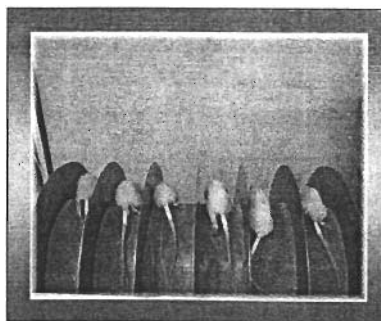


Figura 11. Cilindro rotatorio que gira a 4 rpm.

Después de la inyección de ácido úrico, las ratas desarrollaron una disfunción progresiva de la extremidad. Aproximadamente 2.5 horas después de la administración de ácido úrico, el tiempo de contacto de la extremidad lesionada es cero.

Una vez que la disfunción de la extremidad lesionada fue cero se administraron rofecoxib y tramadol de forma individual o en combinación (simultánea), al momento de administrar los fármacos se considera a éste el tiempo cero y se inicia la evaluación de la actividad antinociceptiva de los fármacos cada 30 minutos por un período total de 4 horas. Esto permite la realización de cursos temporales de los fármacos en el mismo animal de experimentación.

La antinocicepción se visualiza como una recuperación de la funcionalidad de la extremidad lesionada. Los datos se expresan como un porcentaje del índice de funcionalidad (% I.F.), el cual se obtiene dividiendo el tiempo de contacto de la extremidad lesionada (derecha) con la superficie del cilindro entre el tiempo de contacto de la extremidad control (izquierda) multiplicado por cien.

La inducción de la nocicepción fue inevitable para el propósito de este estudio pero se tuvieron todos los cuidados necesarios para evitar un sufrimiento innecesario en los animales. Todos los experimentos fueron realizados de 1:00 pm a 7:00 pm.

5.4 DISEÑO DE EXPERIMENTOS.

Se evaluaron los efectos antinociceptivos producidos por rofecoxib y tramadol administrados tanto individualmente como en combinación. Primero se evaluaron las dosis de 1.1, 1.8, 3.2, 5.6, 10.0, 17.8, 32.6 y 56.2 mg/Kg de rofecoxib y las de 1.8, 3.2, 5.6, 10.0, 17.8, 32.6 y 56.2 mg/Kg de tramadol que se administraron a un grupo de 6 animales por dosis para obtener las curvas dosis-respuesta correspondientes (tabla 1). Las dosis de 3.2, 5.6, 10.0, 17.8 mg/Kg de rofecoxib fueron combinadas con las dosis de 3.2, 5.6 y 10.0 mg/Kg de tramadol para obtener un total de 12 combinaciones (tabla 2).

Tabla 1. Diseño de experimentos para la elaboración de las curvas dosis respuesta de cada fármaco.

Curvas Dosis-Respuesta					
Rofecoxib			Tramadol		
Experimento	Dosis (mg/Kg)	No. animales	Experimento	Dosis (mg/Kg)	No. animales
1	1.1	6	9	1.8	6
2	1.8	6	10	3.2	6
3	3.2	6	11	5.6	6
4	5.6	6	12	10.0	6
5	10.0	6	13	17.8	6
6	17.8	6	14	32.6	6
7	32.6	6	15	56.2	6
8	56.2	6			

Tabla 2. Diseño de experimentos para la evaluación de las 12 combinaciones de rofecoxib + tramadol.

Combinaciones			
Experimento	Rofecoxib (mg/Kg)	Tramadol (mg/Kg)	No. animales
16	3.2	3.2	6
17	3.2	5.6	6
18	3.2	10.0	6
19	5.6	3.2	6
20	5.6	5.6	6
21	5.6	10.0	6
22	10.0	3.2	6
23	10.0	5.6	6
24	10.0	10.0	6
25	17.8	3.2	6
26	17.8	5.6	6
27	17.8	10.0	6

5.5 EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ADVERSOS GÁSTRICOS.

EROSIONES Y ÚLCERAS GÁSTRICAS INDUCIDAS POR LA COMBINACIÓN.

Para evaluar los posibles efectos adversos gastrointestinales generados por la coadministración de rofecoxib y tramadol, se utilizaron ratas Wistar hembra con un peso de entre 150 y 180 g. Se administró una dosis de 20 mg/Kg de indometacina a un grupo de seis animales para generar el 100% de úlceras gástricas (Lee y col., 1971; Déciga-Campos y col., 2003a). Se administraron por vía oral: tramadol (17.8 mg/Kg), rofecoxib (10 mg/Kg), solución salina isotónica (vehículo) y la combinación de tramadol + rofecoxib (17.8 mg/Kg y 10 mg/Kg respectivamente) a grupos de seis animales. Los experimentos se realizaron de la siguiente manera:

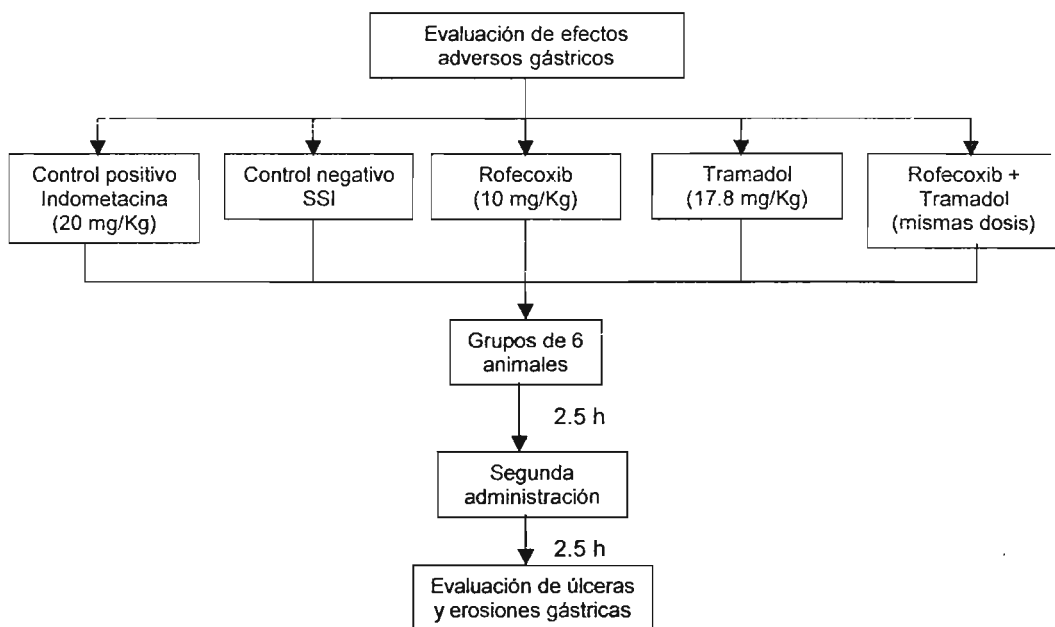


Figura 12. Diseño experimental para la evaluación de efectos adversos gastrointestinales.

Cada grupo experimental recibió una segunda administración del mismo fármaco, vehículo o combinación, a las mismas dosis, 2.5 horas después de la primera administración.

Cinco horas después de la primera administración, los animales fueron sacrificados y se les extrajeron los estómagos para su evaluación y determinación del daño gástrico. Cada estómago fue llenado con 4 mL de formol al 2% (con la finalidad de fijar las lesiones) y se abrió por la curvatura menor para observar las lesiones. Se cuantificó el número de úlceras que incluye tanto úlceras superficiales en la mucosa como úlceras profundas. Las erosiones se contaron como pliegues en la mucosa que presentaron daño en la superficie del tejido del estómago.

La severidad del daño gástrico inducido por cada uno de los tratamientos fue calculada como una relación del número de lesiones (úlceras o erosiones gástricas) generadas por cada tratamiento (fármaco administrado individualmente o en combinación) entre el número de lesiones producidas por indometacina (100% de daño gástrico). La suma del área de todas las lesiones se define como el índice de ulcerogenicidad. Se calculó el porcentaje de daño gástrico mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Daño gástrico} = \frac{\text{IUT}}{\text{IU!}} \times 100$$

Donde IUT es el índice ulcerogénico del tratamiento (mm²) e IU! es el índice ulcerogénico de indometacina (mm²) (Lee y col., 1971).

5.6 PRESENTACIÓN DE LOS DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

5.6.1 Cursos temporales y áreas bajo la curva.

Los datos de la evaluación de la actividad antinociceptiva son expresados como el porcentaje de índice de funcionalidad (% I.F.). La antinocicepción fue estimada como la recuperación del % I.F., el cual se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ I.F.} = \frac{\text{Tiempo de contacto de la pata con ác. úrico}}{\text{Tiempo de contacto de la pata control}} \times 100$$

El efecto antinociceptivo acumulado durante las 4 h de evaluación fue determinado como el área bajo la curva (ABC) del curso temporal para obtener la curva dosis-respuesta correspondiente y para analizar el efecto antinociceptivo total de cada

uno de los fármacos administrados individualmente o en combinación (López-Muñoz y col., 1993b). (Figura 13).

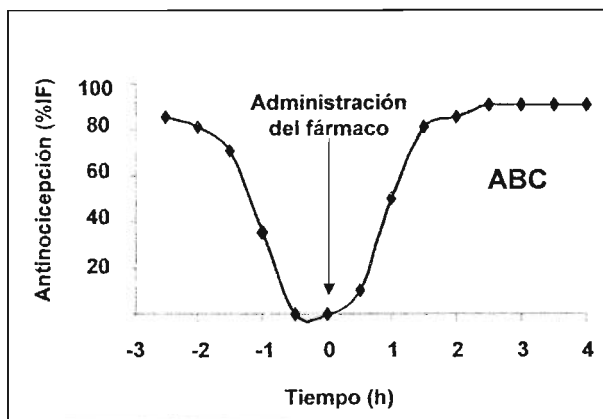


Figura 13. Determinación del ABC en un curso temporal en el modelo PIFIR. El ABC obtenida durante las 4 horas del experimento representa el efecto antinociceptivo total del fármaco. La antinocicepción se expresa como % I.F.

5.6.2 Sinergismo de las combinaciones de rofecoxib y tramadol.

El sinergismo entre rofecoxib y tramadol fue determinado mediante el empleo de el análisis de superficie de interacción sinérgica (López-Muñoz y col., 1994). El área bajo la curva (ABC) fue calculada para cada uno de los fármacos administrados individualmente y sus combinaciones. El ABC se obtuvo por el método trapezoidal (Rowland y Tozer, 1989).

Para realizar la gráfica que muestra la superficie de interacción sinérgica se calcularon los efectos esperados de las combinaciones debidos a la suma de los efectos individuales de cada fármaco (ABC esperado). Posteriormente se sustraen los valores de ABC esperado de los valores de ABC experimentales y se tienen los valores atribuibles únicamente a la combinación de éstos fármacos:

$$ABC_{\text{combinación}} = ABC_{\text{experimental}} - ABC_{\text{esperado}}$$

De ésta manera se grafican los valores de $ABC_{\text{combinación}}$ y al unir los puntos se tendrá la superficie de interacción sinérgica (SIS). Si la superficie se encuentra por

encima del plano, el sinergismo que presenta la combinación es una potenciación. Por el contrario, si la superficie está por debajo del plano el sinergismo que se tiene es un antagonismo, si la superficie se encuentra sobre el plano, esto nos indica que el sinergismo encontrado para la combinación es una sumación (Figura 14).

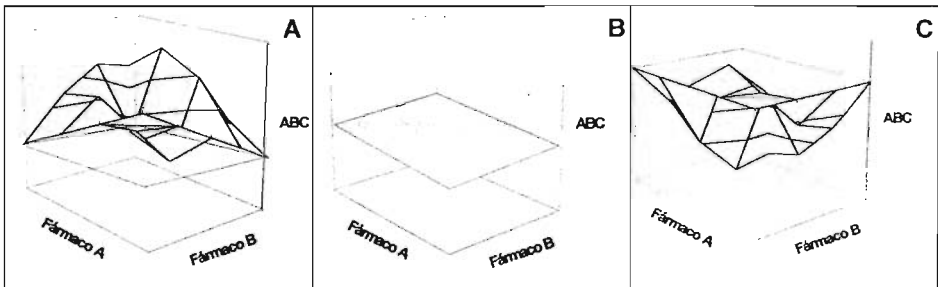


Figura 14. Superficie de interacción sinérgica para un efecto sinérgico de tipo potenciación (A), sumación (B) o antagonismo (C).

Se calculó la DE_{50} para cada fármaco mediante el análisis de regresión lineal de la porción recta de cada curva dosis-respuesta. Se construyó un isoblograma empleando las DE_{50} de los fármacos administrados individualmente o en combinación. Los valores de $DE_{50} \pm$ error estándar (e.e.) para rofecoxib administrado individualmente fueron graficados en el eje de las x mientras que, los valores de $DE_{50} \pm$ e.e. para tramadol fueron graficados en el eje de las y; el punto teórico de aditividad se calculó de acuerdo al método propuesto por Tallarida y col. (1989).

5.6.3 Análisis estadístico.

Los resultados se expresan como el promedio \pm el error estándar (e.e.) de la media aritmética de al menos 6 animales por cada grupo. La significancia entre dos grupos se determinó mediante una prueba de "t" de Student. Para determinar la significancia entre más de dos grupos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguida de una prueba de Dunnet. En todos los análisis estadísticos una $p < 0.05$ se consideró significativa (López-Muñoz, 1994).

6. RESULTADOS.

6.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO GENERADO POR LA ADMINISTRACIÓN INDIVIDUAL O EN COMBINACIÓN DE ROFECOXIB Y TRAMADOL.

6.1.1 EFECTO DEL ÁCIDO ÚRICO Y EL VEHÍCULO.

El ácido úrico induce una disfunción total de la extremidad posterior derecha (%I.F. = 0) en un período de 2.5 horas y ésta disfunción se mantiene durante todo el experimento (4 h), la administración intra-articular de aceite mineral no produce disfunción alguna en la extremidad administrada. Los vehículos, SSI y carboximetilcelulosa, se administraron por separado a dos grupos experimentales los cuales no mostraron recuperación alguna de la disfunción, es decir, el %I.F. se mantuvo en cero. La administración de rofecoxib y tramadol, a las dosis empleadas, no afectan la habilidad de las ratas para caminar al compararse con el grupo experimental que recibió solamente vehículo. La figura 15 muestra los cursos temporales obtenidos de los parámetros de control del modelo PIFIR para este estudio.

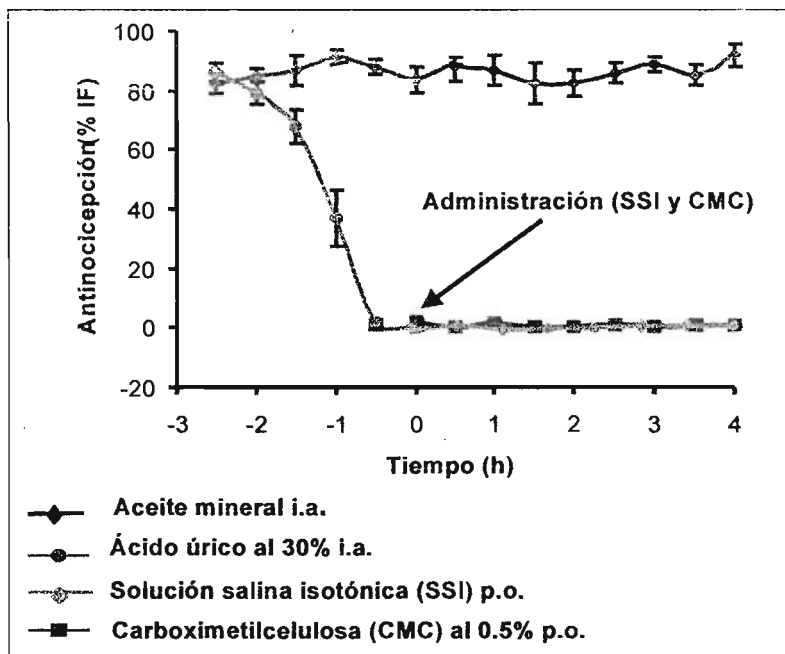


Figura 15. Parámetros control en el modelo PIFIR. Los datos se expresan como el promedio de 6 animales \pm e.e.

6.1.2 EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE LOS FÁRMACOS ADMINISTRADOS DE FORMA INDIVIDUAL.

6.1.2.1. EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE ROFECOXIB.

En la figura 16 se muestra el curso temporal del efecto antinociceptivo de rofecoxib (p.o.) a dosis de 1.8, 3.2, 5.6, 10.0, 17.8, 32.6 y 56.2 mg/kg evaluado en un modelo de dolor de tipo artritis gotosa. El efecto máximo, para las dosis, se alcanzó entre 3 y 3.5 horas después de la administración. Se observa claramente que rofecoxib produce un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis.

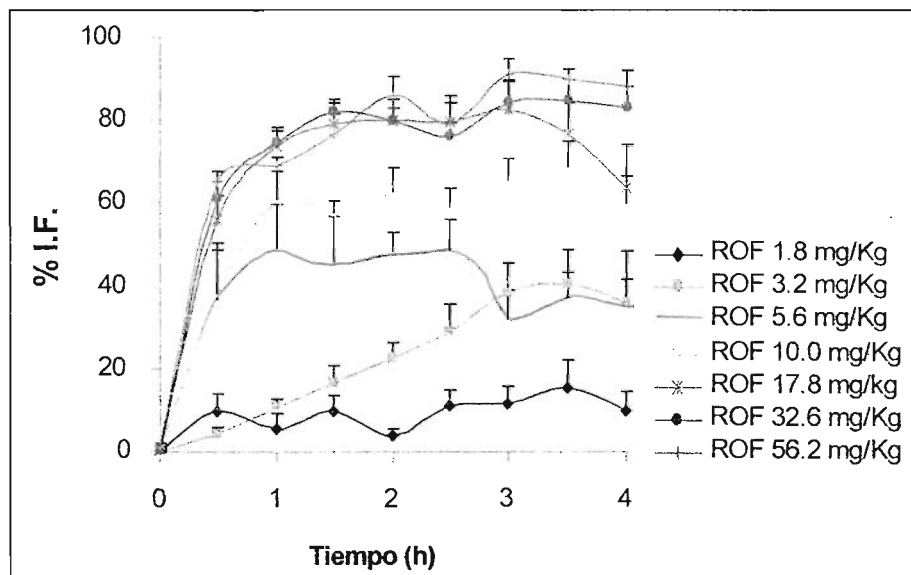


Figura 16. Curso temporal del efecto antinociceptivo de rofecoxib. La antinocicepción se visualiza como el porcentaje de índice de funcionalidad (%I.F.). Los datos se expresan como el promedio de 6 ratas \pm e.e. ROF = Rofecoxib.

6.1.2.2. EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE TRAMADOL.

La figura 17 muestra el curso temporal del efecto antinociceptivo de tramadol (p.o.) a dosis de 1.8, 3.2, 5.6, 10.0, 17.8, 32.6 y 56.2 mg/kg evaluado en un modelo de dolor de tipo artritis gotosa. Se observa que la dosis más alta administrada de éste fármaco genera la mitad del efecto total que puede alcanzarse en este modelo. Tramadol produce un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis.

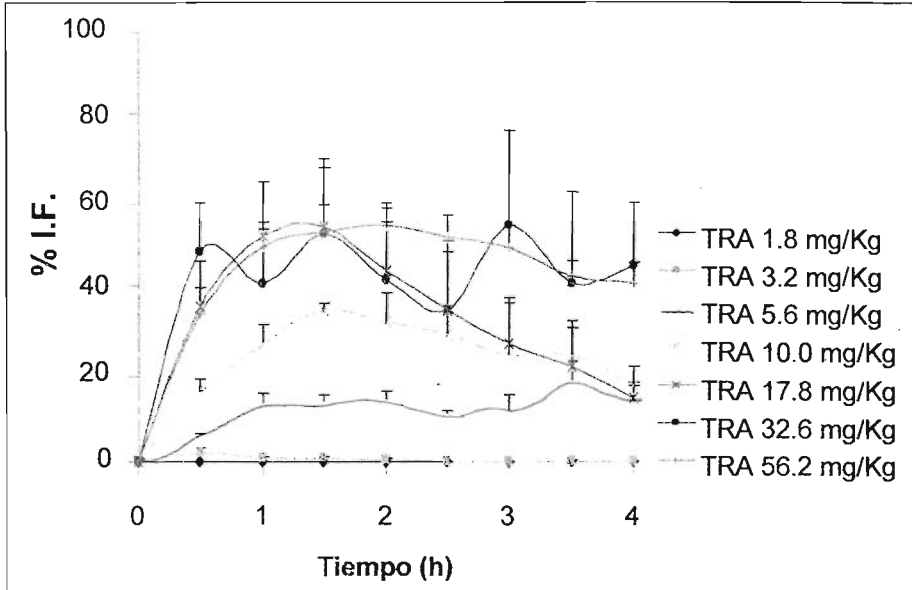


Figura 17. Curso temporal del efecto antinociceptivo de tramadol. La antinocicepción se visualiza como el porcentaje de índice de funcionalidad (% I.F.). Los datos se expresan como el promedio de 6 ratas \pm e.e. TRA = Tramadol.

6.1.2.3. CURVAS DOSIS-RESPUESTA DE ROFECOXIB Y TRAMADOL.

En la figura 18 se muestran las correspondientes curvas dosis-respuesta tanto para rofecoxib (p.o.) como para tramadol (p.o.). Ambos fármacos incrementan su efecto antinociceptivo de manera dosis-dependiente. Rofecoxib presenta un efecto máximo de 301.08 ± 6.64 unidades de ABC mientras que tramadol presenta un efecto máximo de 179.21 ± 15.99 unidades de ABC, esto indica que rofecoxib presenta mayor eficacia antinociceptiva que tramadol en las condiciones experimentales establecidas en este modelo pues el efecto antinociceptivo generado por rofecoxib es casi el doble del que genera tramadol. La DE_{50} para rofecoxib fue de 6.4 mg/Kg lo que indica que éste es casi dos veces más potente que tramadol cuya DE_{50} fue de 11.2 mg/Kg.

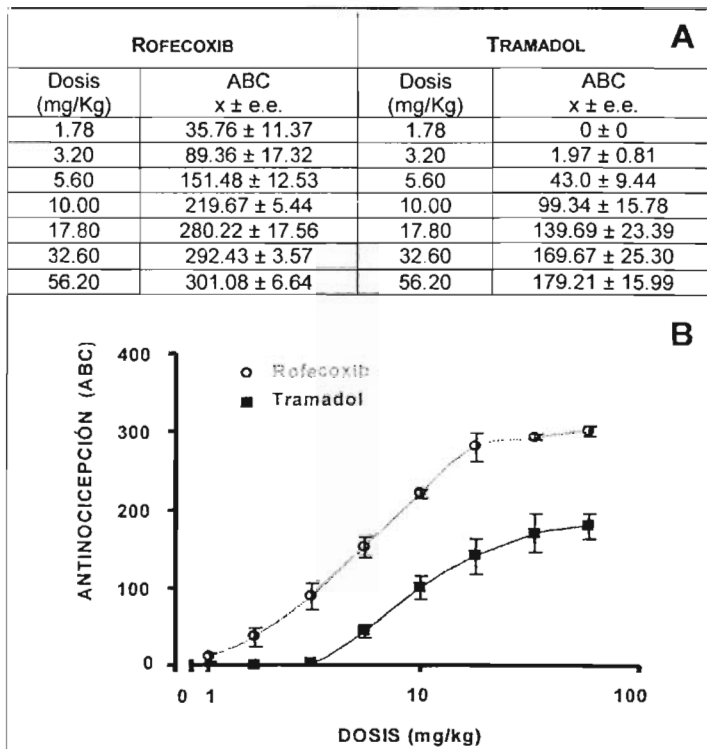


Figura 18. En el panel A se muestran los datos obtenidos tras la administración oral de rofecoxib y tramadol para la realización de las curvas dosis-respuesta correspondientes. En el panel B se muestra el efecto antinociceptivo de rofecoxib y tramadol en el modelo PíFIR. La respuesta es expresada en el eje y como el área bajo la curva producida durante las 4 horas del experimento, es decir el ABC total. Los datos se expresan como el promedio de 6 animales \pm error estándar.

6.1.3 EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE LAS COMBINACIONES.

La figura 19 muestra el efecto antinociceptivo de las doce combinaciones de rofecoxib y tramadol. En todas las figuras se puede observar que el efecto de rofecoxib no varía en gran medida al coadministrarlo con las dosis crecientes de tramadol.

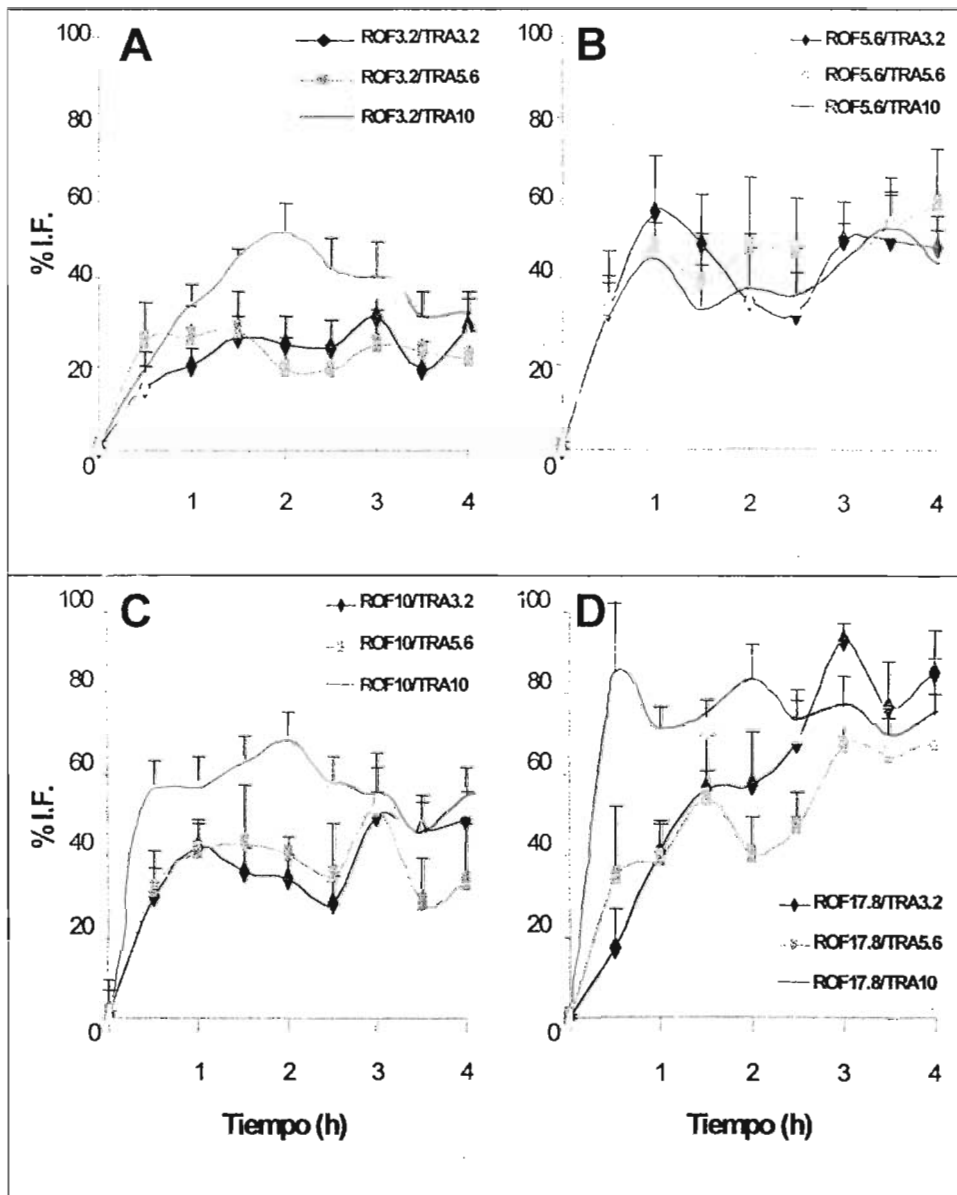


Figura 19. Cursos temporales del efecto antinociceptivo de la coadministración de rofecoxib a una dosis de 3.2 mg/Kg + 3.2, 5.6 y 10.0 mg/Kg de tramadol (panel A). El panel B muestra la combinación de rofecoxib 5.6 mg/Kg + 3.2, 5.6 y 10.0 mg/Kg de tramadol. El curso temporal de la coadministración de rofecoxib 10.0 mg/Kg con las mismas tres dosis de tramadol utilizadas en los dos casos anteriores está indicado en el panel C mientras que en el panel D se observa el curso temporal de rofecoxib 17.78 mg/Kg siguiendo el mismo patrón de combinación con las tres dosis de tramadol empleadas. La antinocicepción se indica como el porcentaje de índice de funcionalidad (%I.F.). Los datos se expresan como el promedio de 6 ratas \pm e.e.

En la tabla 3 se muestran los valores de ABC obtenidos para cada una de las 12 combinaciones de rofecoxib y tramadol evaluadas en el modelo PIFIR.

Tabla 3. Diseño experimental y valores de área bajo la curva obtenidos para las 12 combinaciones de rofecoxib y tramadol. Los datos se expresan como el promedio de 6 animales + error estándar.

Combinación	Rofecoxib	Tramadol	ABC \pm e.e.
1	3.2	3.2	87.22 \pm 15.47
2	3.2	5.6	87.54 \pm 18.07
3	3.2	10.0	131.40 \pm 19.85
4	5.6	3.2	167.21 \pm 26.46
5	5.6	5.6	173.32 \pm 30.12
6	5.6	10.0	151.52 \pm 30.70
7	10.0	3.2	144.65 \pm 18.29
8	10.0	5.6	143.82 \pm 12.66
9	10.0	10.0	208.68 \pm 32.66
10	17.8	3.2	235.48 \pm 28.94
11	17.8	5.6	190.88 \pm 27.61
12	17.8	10.0	275.38 \pm 33.17

6.1.3.1 COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE LA COADMINISTRACIÓN DE ROFECOXIB Y TRAMADOL CON RESPECTO AL VALOR ESPERADO.

La tabla 4 muestra los valores teóricos de los efectos aditivos esperados y los valores obtenidos experimentalmente de las doce diferentes combinaciones de rofecoxib y tramadol. En todos los casos se observa que los efectos antinociceptivos obtenidos son menores o similares a los esperados propios de la suma de los efectos individuales tanto de rofecoxib como de tramadol. En ninguno de los casos el valor experimental supera al valor teórico de la suma de ambos efectos individuales.

Tabla 4. Comparación del efecto aditivo esperado (ABC teórico) y el efecto obtenido experimentalmente de las doce combinaciones de rofecoxib y tramadol.

Dosis de rofecoxib (mg/Kg)	Dosis de tramadol (mg/Kg)	ABC teórico	ABC experimental ± error experimental
3.2	3.2	91.33	87.22 ± 15.47
3.2	5.6	132.36	87.54 ± 18.07
3.2	10	188.7	131.40 ± 19.85
5.6	3.2	153.45	167.21 ± 26.46
5.6	5.6	194.48	173.32 ± 30.12
5.6	10	250.82	151.52 ± 30.70
10	3.2	221.64	144.65 ± 18.29
10	5.6	262.67	143.82 ± 12.66
10	10	319.01	208.68 ± 32.66
17.8	3.2	282.19	235.48 ± 28.94
17.8	5.6	323.22	190.88 ± 27.61
17.8	10	379.56	275.38 ± 33.17

En las figuras 20 y 21 se muestra el ABC de dos de las combinaciones (8 y 11) que presentan una diferencia estadísticamente significativa mayor con respecto a los valores de ABC esperados, así como los respectivos cursos temporales. El efecto antinociceptivo de estas dos combinaciones es menor a la suma teórica de efectos individuales e inclusive menor al efecto antinociceptivo individual de rofecoxib.

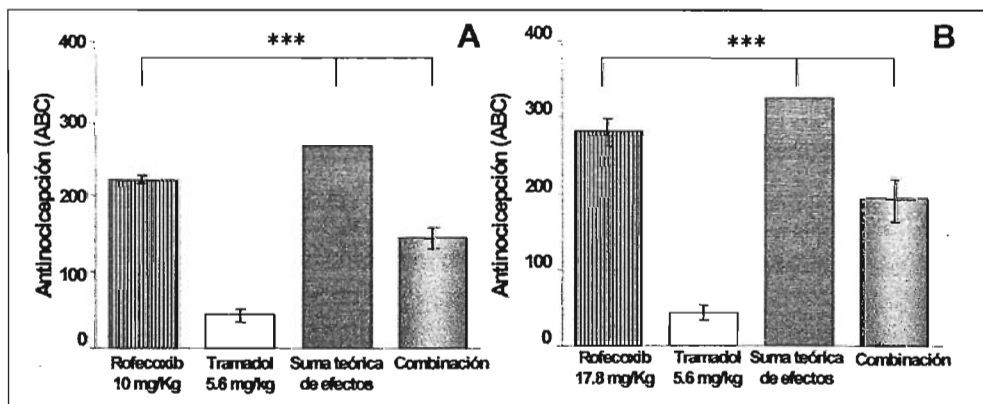


Figura 20. Valores de ABC experimental para rofecoxib, tramadol, la combinación de ambos y la suma teórica de efectos individuales de cada fármaco. En el panel A se muestra la combinación de rofecoxib 10 mg/Kg y tramadol 5.6 mg/Kg mientras que en el panel B se muestra la combinación de rofecoxib 17.78 mg/Kg y tramadol 5.6 mg/kg. Los datos se expresan como el promedio de 6 animales ± error estándar. Diferencia estadísticamente significativa, ANOVA de una vía, $p < 0.001$.

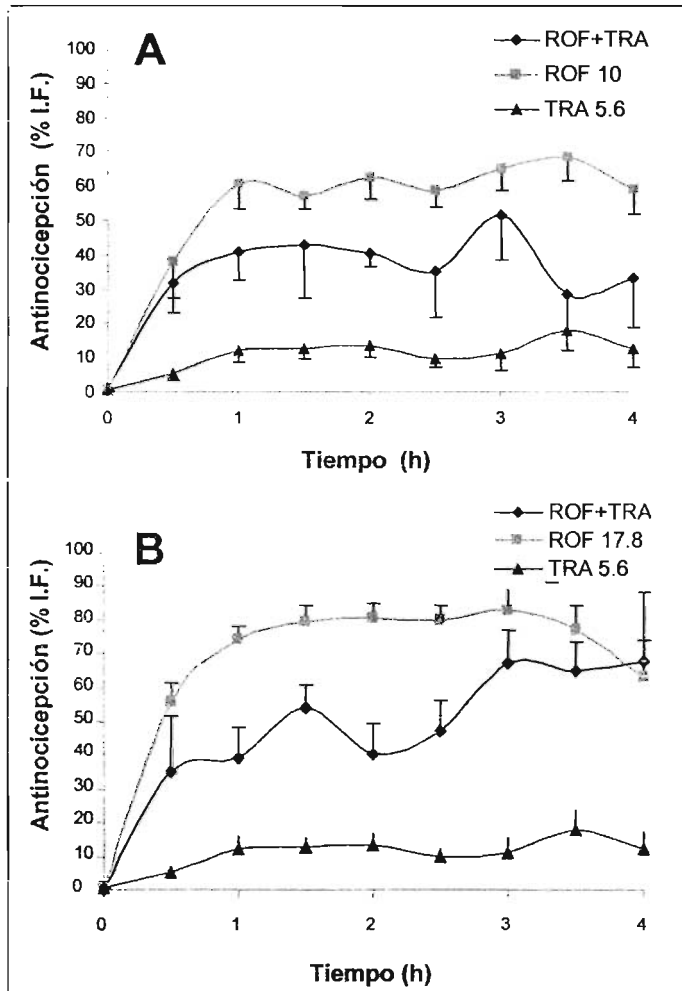


Figura 21. Cursos temporales de dos combinaciones de rofecoxib + tramadol, en el panel A se muestra la combinación de rofecoxib 10 mg/Kg + tramadol 5.6 mg/Kg, mientras que en el panel B se observa la combinación de rofecoxib 17.8 mg/Kg + tramadol 5.6 mg/Kg. En ambos casos el % I.F. generado por la combinación es menor que el % I.F. que presenta rofecoxib administrado individualmente durante las 4 horas del experimento. La diferencia entre ambos cursos temporales es estadísticamente significativa, $p < 0.05$.

6.1.3.2 ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE INTERACCIÓN SINÉRGICA.

La figura 16 muestra el efecto antinociceptivo generado por las doce combinaciones y por los fármacos administrados individualmente, en una gráfica tridimensional. El eje y representa el ABC total obtenido de cada curso temporal, el eje x muestra las dosis de tramadol administradas simultáneamente con las dosis de rofecoxib (eje z).

El efecto del rofecoxib disminuyó, en la mayoría de los casos, a medida que se aumentó la dosis de tramadol. En la figura 22 se observan los valores de $ABC_{combinación}$ que resultaron de la sustracción de los efectos antinociceptivos generados por cada fármaco administrado individualmente ($ABC_{esperado}$) a los efectos antinociceptivos que produjeron las combinaciones de rofecoxib y tramadol a las dosis evaluadas ($ABC_{experimental}$).

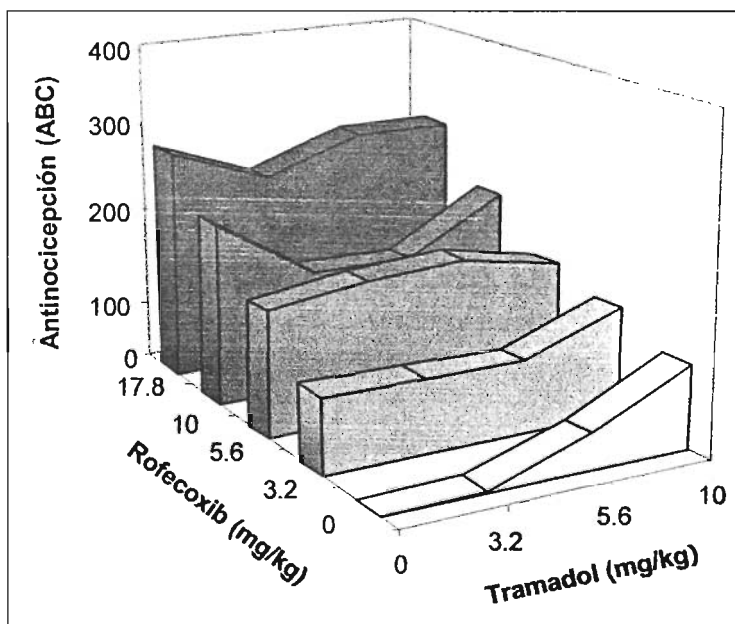


Figura 22. Efecto antinociceptivo de las dosis administradas de rofecoxib, tramadol y las combinaciones de éstos. Los datos se muestran como la media de 6 animales \pm e.e.

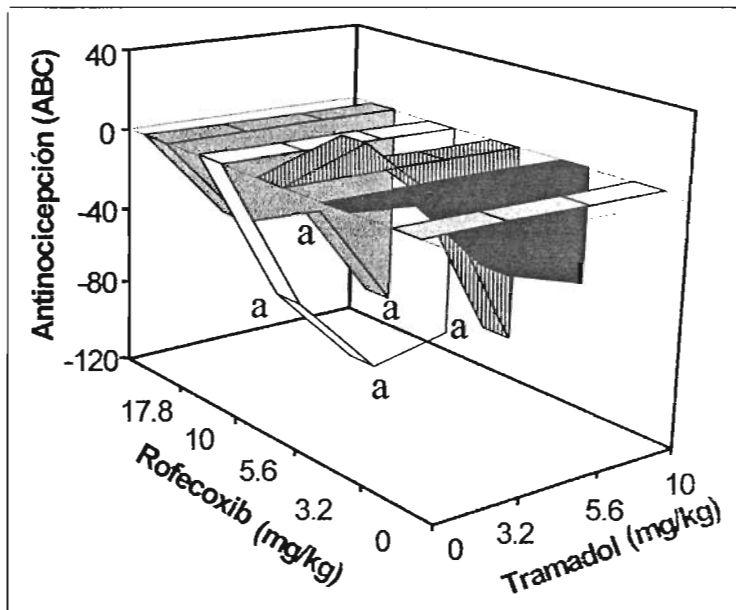


Figura 23. Valores de ABC de las combinaciones que surgen como resultado de la sustracción del $ABC_{esperado}$ al $ABC_{experimental}$. Los datos se muestran como la media de 6 animales \pm e.e.

a. Combinaciones que generan antagonismo, diferencia estadísticamente significativa (ANOVA de una vía, $p < 0.05$).

Tras la unión de los puntos de la figura 17 se obtiene la superficie de interacción sinérgica (SIS) entre rofecoxib y tramadol (Figura 18). Mediante el empleo de ésta gráfica se puede visualizar el tipo de interacción de los fármacos. Si los valores obtenidos son mayores a cero se considera como una potenciación del efecto, si los valores obtenidos son iguales a cero se considera únicamente una suma de los efectos individuales. La superficie obtenida se desplaza por debajo del plano lo que sugiere que la combinación de éstos fármacos genera efectos antinociceptivos menores a los propios de la adición. Aunque existen dos combinaciones que presentan efectos de tipo aditivo.

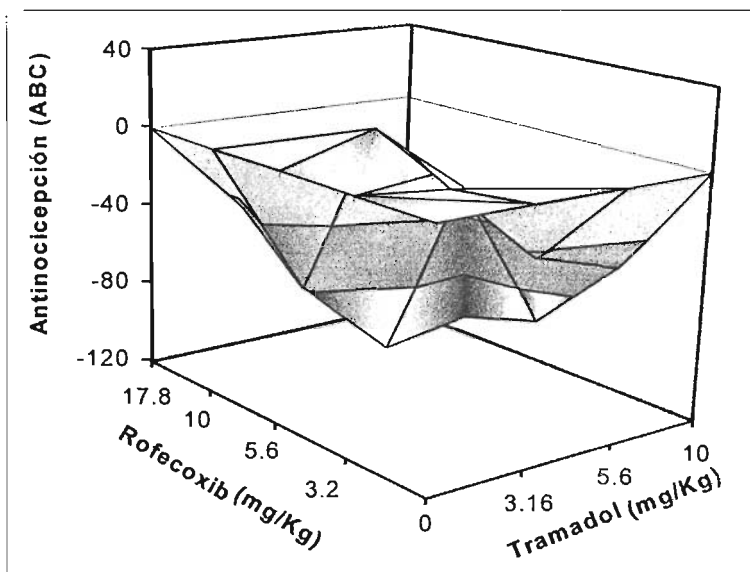


Figura 24. Superficie de Interacción Sinérgica (SIS) entre rofecoxib y tramadol.

6.1.3.3 COMBINACIONES QUE PRESENTAN EFECTOS ANTINOCICEPTIVOS DE TIPO ADITIVO.

De las doce combinaciones evaluadas, se encontraron tres de ellas (3, 4 y 5) que presentan efectos antinociceptivos de tipo aditivo. Los datos experimentales generados de dichas combinaciones se indican en la siguiente tabla 5:

Tabla 5. Tres de las combinaciones de rofecoxib + tramadol que generan efectos antinociceptivos de tipo aditivo. ^aABC del curso temporal (efecto antinociceptivo total durante el periodo de evaluación. ^bDiferencia estadísticamente significativa, ANOVA de 1 vía, $p < 0.05$.

Fármaco	Dosis (mg/Kg)	ABC ($x \pm e.e.$) ^a	Emáx (%I.F.)
Rofecoxib	3.2	89.36 \pm 17.32	40.28 \pm 8.30
Tramadol	10.0	99.34 \pm 15.78	35.14 \pm 1.84
Rofecoxib + Tramadol	3.2 + 10.0	131.40 \pm 19.85 ^b	49.36 \pm 9.54
Rofecoxib	5.6	151.48 \pm 12.53	47.51 \pm 12.07
Tramadol	3.2	1.97 \pm 0.81	1.99 \pm 1.24
Rofecoxib + Tramadol	5.6 + 3.2	167.21 \pm 26.46 ^b	57.29 \pm 13.51
Rofecoxib	5.6	151.48 \pm 12.53	47.51 \pm 12.07
Tramadol	5.6	43 \pm 9.44	17.76 \pm 5.92
Rofecoxib + Tramadol	5.6 + 5.6	173.32 \pm 30.12 ^b	52.89 \pm 9.24

6.1.3.4 ISOBOLOGRAMA DE LA COADMINISTRACIÓN DE ROFECOXIB Y TRAMADOL.

Otro de los métodos utilizados para identificar el tipo de sinergismo que existe entre los dos fármacos seleccionados es el isobolográfico. El isobolograma (Figura 25) muestra la interacción antinociceptiva entre rofecoxib y tramadol en el modelo de disfunción inducida por dolor (PIFIR). Las líneas horizontal y vertical indican las dosis de rofecoxib y tramadol respectivamente. La línea transversal que une el eje x con el eje y es la línea aditiva teórica. El punto que está en medio de ésta línea es la suma teórica calculada a partir de las DE_{50} de cada fármaco. El punto experimental localizado por encima de la línea aditiva indica una interacción de tipo antagónico.

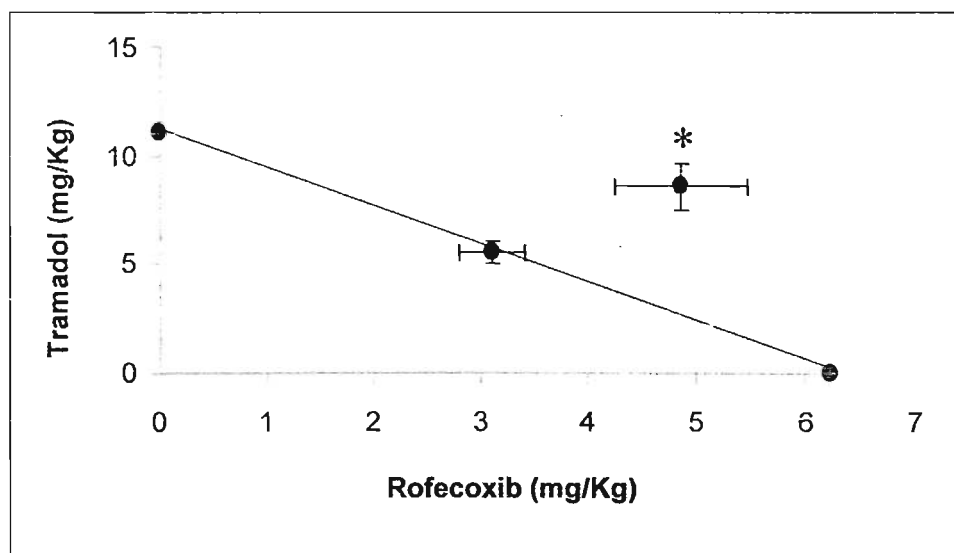


Figura 25. Isobolograma que muestra la interacción analgésica de rofecoxib y tramadol en el modelo PIFIR. Las líneas horizontal y vertical muestran las dosis de cada fármaco. La línea oblicua entre ambos ejes (DE_{50} de cada fármaco) representa la suma teórica. El punto que está a la mitad de la línea es la suma teórica calculada a partir de las DE_{50} de cada fármaco. *El punto experimental localizado por encima de la línea aditiva indica una interacción de tipo antagónico ($p > 0.05$)

6.2 EVALUACIÓN DE EFECTOS ADVERSOS GÁSTRICOS PRODUCIDOS POR LA COADMINISTRACIÓN DE ROFECOXIB Y TRAMADOL.

6.2.1 ÚLCERAS GÁSTRICAS Y EROSIONES INDUCIDAS POR INDOMETACINA.

La indometacina es considerada como el compuesto con mayor potencia ulcerógena y es por eso que la administración oral de éste fármaco es tomado como control positivo del ensayo. Los efectos adversos causados por indometacina se consideraron como el 100% del daño gástrico en términos de erosiones y úlceras gástricas. Las erosiones se observan como ligeros pliegues ocasionados por la destrucción de la barrera de mucosa. Las úlceras se observan como lesiones en forma de cráter, superficiales y profundas circunscritas en la mucosa del estómago, incluso algunas de ellas perforaron la mucosa. Con la administración de indometacina también se observó la presencia de hemorragia gástrica.

Por otro lado, la administración de SSI p.o. no produjo ningún efecto adverso gástrico por lo que se consideró como control negativo (Figura 26).

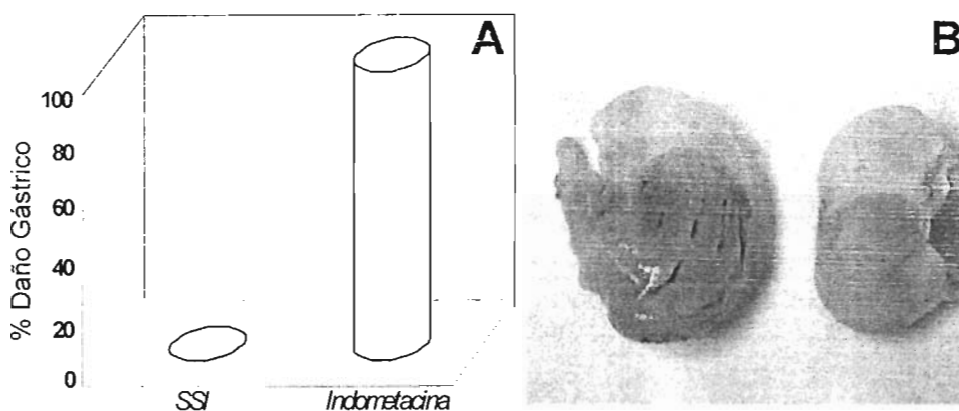


Figura 26. El panel A muestra el daño gástrico de los controles del experimento. En el panel B (izquierda) se muestra el estómago que corresponde a una rata a la cual se le administre recibió indometacina, el estómago que se muestra en el panel B (derecha) corresponde a una rata a la cual se le administró SSI (vehículo en el cual se disolvieron los fármacos evaluados). Nótese que no se observan lesiones en éste último con respecto al de indometacina.

6.2.2 DAÑO GÁSTRICO GENERADO POR LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE ROFECOXIB, TRAMADOL Y LA COMBINACIÓN DE ÉSTOS.

Se eligieron tres parámetros para hacer la evaluación de los efectos adversos gástricos generados por la administración individual y en combinación de los fármacos, estos parámetros fueron el número de erosiones gástricas, número de úlceras gástricas y el área total de las úlceras en todo el estómago. Los datos experimentales se presentan en la figura 27 y se comparan con los respectivos controles.

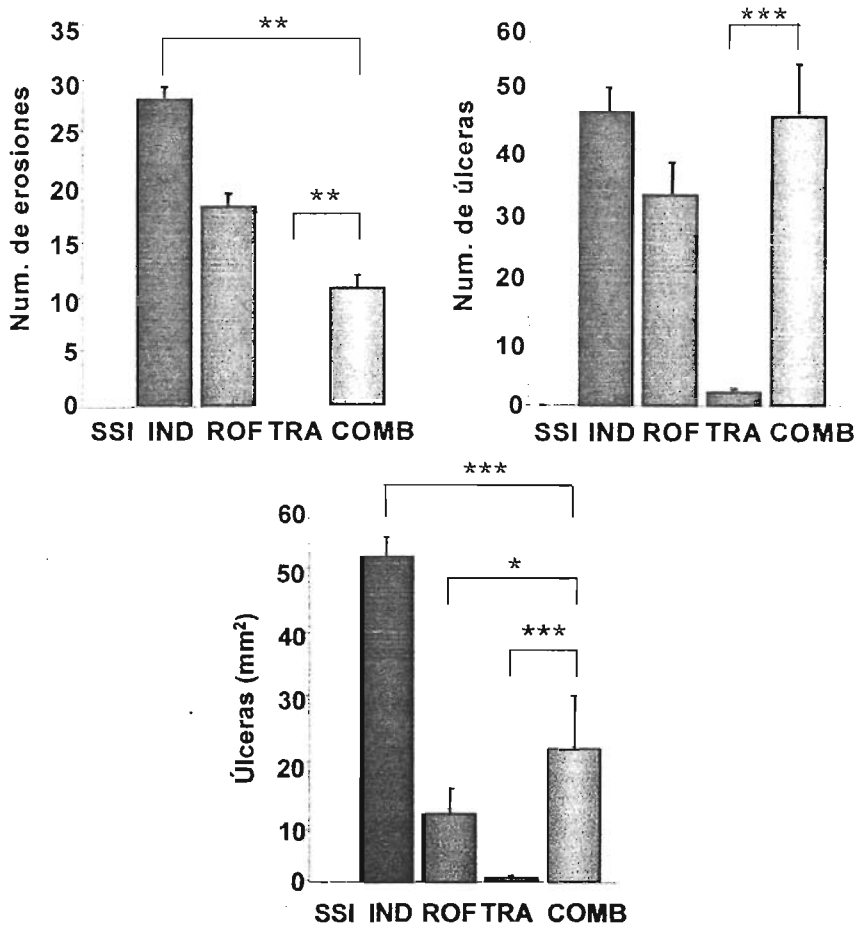


Figura 27. Gráficas que representan el daño gástrico generado por dos administraciones de rofecoxib (17.8 mg/Kg) p.o., tramadol (10 mg/Kg) p.o. o la combinación de rofecoxib y tramadol. Se administró también el vehículo (SSI) e indometacina (20 mg/Kg) p.o. que fueron tomados como controles negativo y positivo respectivamente. Análisis estadístico, ANOVA de 1 vía seguida de una prueba de Dunnet. $p < 0.05$ representa una diferencia estadísticamente significativa.

Por último se muestran los porcentajes de daño gástrico para cada tratamiento, los datos sugieren que la coadministración de rofecoxib y tramadol potencia los efectos adversos gástricos que produce rofecoxib por vía oral (Figura 28).

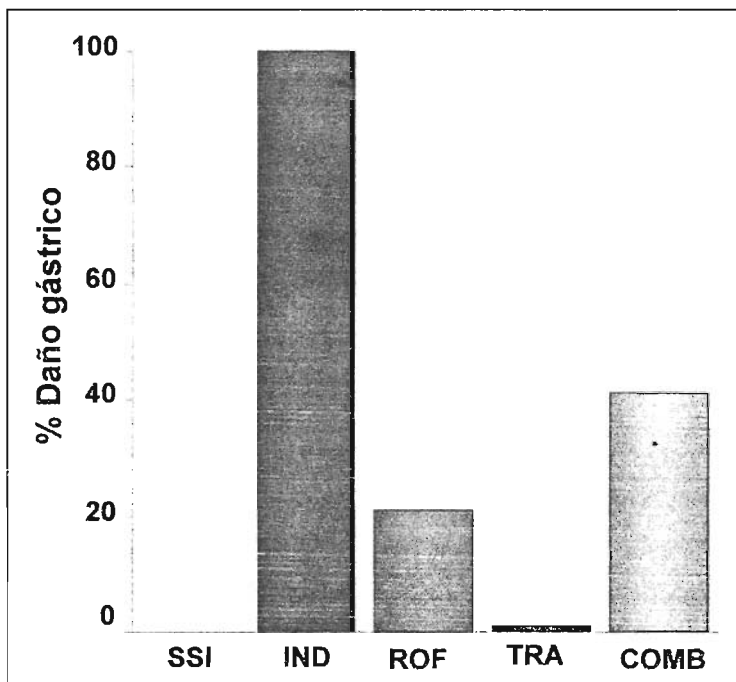


Figura 28. Porcentajes de daño gástrico relativos al control positivo de indometacina el cual se tomó como 100%, mientras que el control negativo de SSI se tomó como 0%.

7. DISCUSIÓN.

7.1 EL MODELO EXPERIMENTAL PIFIR.

El modelo de nocicepción experimental llamado "Disfunción Inducida por Dolor en Rata" (PIFIR, por sus siglas en inglés) produce un tipo de dolor similar al provocado por una patología en el humano que está relacionada con el metabolismo de las purinas y se debe a la acumulación de ácido úrico en las articulaciones por un incremento en la producción de ácido úrico y/o a una disminución en su excreción, que trae como consecuencia una deposición de cristales de urato en las articulaciones (Insel, 1996). Se ha demostrado que los cristales de urato inducen una respuesta inflamatoria asociada al dolor (Rang y col., 1995). También se induce la infiltración de granulocitos que fagocitan a dichos cristales. Además, de la liberación de bradicinina, histamina, leucotrienos, PGs y citocinas como TNF- α , algunas interleucinas y otros mediadores del dolor y la inflamación (Terkeltaub, 1992).

El modelo PIFIR se utilizó porque permite la evaluación de un curso temporal de los efectos antinociceptivos en el mismo animal y en ninguna de las condiciones dadas para los experimentos se genera condicionamiento en el animal por aprendizaje además de que el modelo posee alta sensibilidad (López-Muñoz y col., 1993b).

7.2 SELECCIÓN DE LOS FÁRMACOS Y LAS DOSIS.

La razón por la cual se empleó tramadol es porque es un opioide atípico que puede generar efectos sinérgicos positivos al combinarse con rofecoxib, un inhibidor preferentemente selectivo de COX-2 que el año pasado era ampliamente utilizado en el tratamiento del dolor en nuestro país.

Las dosis utilizadas para la elaboración de las curvas dosis-respuesta de cada uno de los fármacos (rofecoxib y tramadol) se calcularon en incrementos de 0.25 unidades en la escala logarítmica. Las dosis utilizadas para obtener el perfil de combinaciones para su posterior análisis (superficie de interacción sinérgica) se seleccionaron de las curvas dosis-respuesta respectivas. La dosis máxima empleada para rofecoxib fue de 17.78

mg/Kg. Ésta dosis puede parecer alta ya que los efectos anti-inflamatorios de rofecoxib se presentan a la dosis de 10 mg/Kg (Wallace y cols., 1999; Wallace, 2001), sin embargo, la dosis de 17.78 mg/Kg produjo aproximadamente el 75% de antinocicepción para este modelo. Para el caso de tramadol, la dosis máxima empleada fue de 10.0 mg/Kg que genera el 25% del efecto antinociceptivo total que puede alcanzarse en este modelo.

7.3 INTERACCIÓN SINÉRGICA DE ROFECOXIB Y TRAMADOL.

Los resultados mostraron que la combinación de rofecoxib y tramadol produce una interacción sinérgica que, en la mayoría de las combinaciones, se visualiza como un antagonismo.

Se han realizado pocos estudios en cuanto a combinaciones de fármacos analgésicos y muy pocas de éstas han demostrado efectos sinérgicos de tipo potenciación, como es el caso de fármacos opioides, principalmente morfina, con algunos AAINes (López-Muñoz y col., 1993a, 1994; López-Muñoz, 1994; Salazar y col., 1995; Maves y col., 1994; Sandrini y col., 1998; Taylor y col., 1998; Déciga-Campos y col., 2003a; López-Muñoz y col., 2003).

Recientemente se demostró que la combinación de morfina, un opioide, y el inhibidor preferentemente selectivo de COX-2, rofecoxib, genera una potenciación del efecto antinociceptivo. Además la combinación de morfina + rofecoxib redujo de forma significativa, los efectos adversos gastrointestinales que genera rofecoxib administrado individualmente (Déciga-Campos y col., 2003a), lo cual está de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo.

En este modelo el rofecoxib produjo un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis. De esta manera, los datos obtenidos en este estudio concuerdan con los reportados para otros AAINes (Ventura y cols., 2000), que demuestran la contribución local de COX-2 en el modelo PIFIR y que sugieren que las PGs sintetizadas por COX-2 tienen un papel muy importante en el proceso nociceptivo inducido por ácido úrico en la articulación fémur-tibio-rotular.

Se sabe que los AAINes, como el rofecoxib, actúan inhibiendo la actividad de la enzima COX (Vane, 1971) y de ésta manera, la síntesis de PGs. La administración sistémica de AAINes tales como paracetamol, ácido acetilsalicílico o dipirona generan efectos antinociceptivos contundentes en el modelo PIFIR. Así mismo, se ha demostrado que al utilizar éste tipo de inhibidores no selectivos de COX, las PGs involucradas en este modelo de nocicepción se encuentran tanto a nivel central como a nivel periférico (Ventura y col., 2000). Existen dos isoformas de la enzima COX: la primera es la isoforma constitutiva y distribuida en todos los tejidos llamada COX-1. La segunda, COX-2, es la isoforma inducible y se encuentra de forma predominante en los sitios de inflamación (Jouzeau y col., 1997; Vane y col., 1998).

Los AAINes preferentemente selectivos de COX-2 producen efectos analgésicos y anti-inflamatorios similares a los AAINes tradicionales (Jackson y Hawkey, 2000). Uno de éstos fármacos que inhiben COX-2 de manera preferente más no selectiva es el rofecoxib, aprobado en 1999 por FDA. Las concentraciones requeridas para inhibir la actividad de COX-2 en un 50% (CI_{50}) son de 0.018-0.046 $\mu\text{mol/L}$ mientras que, las CI_{50} para inhibir la actividad de COX-1 son mayores a 50 mol/L . Rofecoxib tiene una selectividad por COX-2 1000 veces mayor que por COX-1 (Ehrich y col., 1999; Chan y col., 1999).

Para el caso del tramadol también se observó un efecto antinociceptivo dosis-dependiente aunque, menor que el que produce rofecoxib para este modelo. Tramadol produjo un efecto antinociceptivo de aproximadamente 48% para este modelo y a la dosis más alta evaluada en éste trabajo. Éstos datos concuerdan con estudios previos realizados para tramadol en el modelo PIFIR (López-Muñoz y col., 2004).

Uno de los propósitos de este estudio fue el identificar las posibles interacciones entre rofecoxib y tramadol en el modelo PIFIR, puesto que algunas de las combinaciones de opioides con AAINes han demostrado generar efectos antinociceptivos superiores a los efectos aditivos. Más allá de este hecho, la combinación de rofecoxib con morfina demostró tener expectativas para su aplicación en la clínica debido a la potenciación del efecto antinociceptivo que genera (Déciga-Campos y col., 2003a). Así, al plantear este estudio se buscó encontrar una posible potenciación del efecto de la combinación de

rofecoxib y tramadol y lograr reducir los efectos adversos al disminuir las dosis de cada uno de los fármacos.

De las doce combinaciones que se analizaron, cinco presentaron un claro antagonismo del efecto antinociceptivo (gráfica de superficie de interacción sinérgica). Mientras que sólo tres de las doce combinaciones mostraron efectos aditivos y las combinaciones restantes generaron un efecto similar al efecto producido por rofecoxib solo. Además el tiempo en el cual se alcanzó el efecto antinociceptivo máximo de éstas combinaciones fue similar al tiempo del efecto máximo para rofecoxib solo. Esto indica que no se obtuvo un efecto de sumación sino solo el efecto de rofecoxib *per se*. Éstos resultados se analizaron por medio de la gráfica de superficie de interacción sinérgica puesto que nuestro grupo de investigación es pionero en la utilización de éste método y permite analizar las posibles interacciones sinérgicas, negativas o positivas, entre dos fármacos de una manera muy clara. El análisis de superficie de interacción sinérgica en gráfica de superficie es un método muy utilizado en nuestro grupo y con el cual se han evaluado varias combinaciones de fármacos analgésicos tales como morfina + dipirona (López-Muñoz, 1994), morfina + aspirina (López-Muñoz y col., 1995b), D-propoxifeno + aspirina (López-Muñoz, 1995a), morfina + rofecoxib (Déciga-Campos y col., 2003a) y ketorolaco + tramadol (López-Muñoz y col., 2004). En todos los casos, las interacciones sinérgicas encontradas fueron potenciaciones de los efectos antinociceptivos. Éste análisis permite la evaluación y determinación de las dosis en las que deben combinarse dos fármacos para generar los efectos de potenciación máximos y otorgar a las combinaciones un alto potencial en su aplicación en el tratamiento del dolor. Sin embargo, para el caso de este estudio los resultados obtenidos no proporcionaron una posible aplicación de ésta combinación en la clínica, por el contrario se advierte un efecto negativo al coadministrar rofecoxib y tramadol en las dosis utilizadas y para este modelo de nocicepción. Aunque cabe señalar que no todos los ensayos preclínicos reflejan los posibles resultados en el humano. Se indica que no es posible generalizar y postular que todas las combinaciones de AAINes, y más específicamente inhibidores preferentemente selectivos, con opioides generan efectos sinérgicos positivos lo cual también tiene una gran relevancia en el tratamiento del dolor.

Asimismo, como se observa en los resultados, la magnitud del antagonismo del efecto antinociceptivo se incrementó a medida que se incrementó la dosis de tramadol, de

manera que este sinergismo fue dependiente de la dosis. El antagonismo del efecto antinociceptivo que se produce al combinar rofecoxib y tramadol se confirmó por un análisis isoblográfico. En un estudio previo, la evaluación de ésta misma combinación produjo similares resultados en el modelo de estiramiento abdominal donde se induce nocicepción por la administración de ácido acético i.p. (Satyanarayana y col., 2004), lo cual concuerda con los datos obtenidos en este trabajo.

7.4 EFECTOS ADVERSOS.

Un segundo objetivo en este trabajo fue establecer si los efectos adversos gástricos de rofecoxib se modificaban al coadministrarlo con tramadol que no posee un potencial ulcerogénico.

Las dosis empleadas de ambos fármacos para la evaluación de daño gástrico fueron de 17.78 mg/Kg para el caso de rofecoxib y de 10 mg/Kg para tramadol, la razón por la cual se eligieron éstas dosis es porque dicha combinación presentó el efecto antinociceptivo mayor del perfil de combinaciones evaluado. Los datos muestran que los efectos adversos pueden verse incrementados al coadministrar rofecoxib y tramadol por vía oral. El área total de úlceras gástricas fue mayor para el caso de la combinación de rofecoxib y tramadol que la administración individual de rofecoxib que se sabe tiene potencial como ulcerogénico (Déciga-Campos y col., 2003a), aunque es menor que el que presentan los AAINes tradicionales. Para todos los casos, el daño gástrico generado por la combinación de rofecoxib y tramadol se observó ligeramente mayor que el daño generado por rofecoxib solo, aunque no existió una diferencia estadísticamente significativa entre ambos. Incluso, el número de úlceras que generó ésta combinación no fue diferente estadísticamente del número de úlceras generado por indometacina (control positivo). Los resultados sugieren que los efectos adversos gástricos de rofecoxib se potencian al coadministrarlo con tramadol p.o.

El objetivo de la terapia combinada es optimizar los regímenes de dosificación de manera que pueda obtenerse una buena eficacia y además reducir los efectos adversos. Los efectos adversos más comunes en pacientes a los que se les administra tramadol son constipación, náusea, mareo, vómito, sudoración y cansancio. A diferencia de morfina,

tramadol no causa depresión respiratoria relevante en la clínica a las dosis recomendadas (Dayer y col., 1997).

Algunos estudios han demostrado que las combinaciones de opioides con AAINes reducen los efectos adversos gástricos que genera el AAINe administrado individualmente. Las combinaciones de morfina + rofecoxib y de ketorolaco + tramadol han demostrado reducir dichos efectos adversos (Déciga-Campos y col., 2003a; López-Muñoz y cols., 2004).

En el futuro se requerirá de experimentos posteriores para evaluar el mecanismo por el cual tramadol, que no genera daño gástrico al administrarse p.o., potencia los efectos adversos gástricos que genera rofecoxib en combinación. Es interesante señalar que, algunos estudios previos han demostrado el efecto protector gástrico de naloxona, antagonista de los receptores opioides, sobre la inducción de úlceras gástricas por indometacina lo que nos podría indicar que la activación del sistema opioide podría estar involucrada en la generación de úlceras gástricas por la administración de AAINes (Waisman y col., 1985). Se ha propuesto que la activación de receptores opioides produce analgesia al inhibir el sistema GABA en las interneuronas que participan en la vía descendente del dolor (Tortonici y Vanegas, 1995). Se cree que existe una modulación, que se produce en las interneuronas GABA, de los metabolitos del AA (Vaughan y col., 1997), los autores proponen que los receptores opioides podrían estar acoplados a un canal de potasio dependiente del voltaje que involucra también al AA, PLA₂ y 12-lipooxigenasa. Así, al disminuir los niveles de PGs que generan dolor o nocicepción, la activación opioide podría disminuir también los niveles de PGs que tienen una función citoprotectora a nivel gastrointestinal.

8. CONCLUSIÓN.

Los datos de este trabajo muestran que la coadministración oral de rofecoxib y tramadol produce efectos menores a la adición de los efectos individuales de los fármacos en la rata. Además, existe la posibilidad de que los efectos adversos gástricos de rofecoxib se potencien al combinarse con tramadol. De acuerdo con los datos obtenidos podemos sugerir que no todas las combinaciones de opioides con AAINes, y específicamente las combinaciones de opioides con inhibidores preferentemente selectivos de COX-2, generan efectos sinérgicos positivos.

9. PERSPECTIVAS.

El mecanismo por el cual rofecoxib y tramadol tienen una interacción sinérgica aún no ha sido demostrado. Algunos estudios han demostrado que las combinaciones de morfina, un opioide, con algunos AAINes pueden activar el sistema serotoninérgico (Sandrini y col., 1998) y el sistema opioide (Maves y col., 1994). El efecto analgésico de tramadol se genera principalmente por activación de receptores opioides (μ , κ y δ) y en menor parte a la inhibición de la recaptura de 5-HT y noradrenalina (Dayer y col., 1997). Rofecoxib produce su efecto analgésico a través de la inhibición de la enzima COX pero recientemente se demostró que existen otros mecanismos que en conjunto generan el efecto antinociceptivo total de rofecoxib como la participación de la vía L-arginina-óxido nítrico-GMPc-canal de K^+ sensible a ATP (Déciga-Campos y col., 2003b; 2004b) y además activa el sistema serotoninérgico (Déciga-Campos y col., 2004a). De lo anterior queda por establecer si algunos de éstos mecanismos están involucrados en el efecto de la combinación rofecoxib-tramadol pues, al saturar uno de los mecanismos pueden darse efectos negativos, lo que podría estar sucediendo en ésta interacción. Sin embargo aún se tienen que realizar estudios posteriores para conocer claramente el mecanismo por el cual ambos fármacos presentan ésta interacción sinérgica negativa, sin descartar algunos otros mecanismos de tipo farmacocinético y/o farmacodinámico que estén involucrados en dicha interacción.

Como productos de este trabajo de tesis, ya se presentaron en forma parcial dos trabajos en eventos especializados nacionales y ya fue enviado un artículo a publicación que está en proceso de evaluación (European Journal of Pharmacology).

10. REFERENCIAS.

Agnati LF, Tiengo M, Ferraguti F, Biagini G, Benfenati C, Benedetti C, Rigoli M, Fuxe K. Pain, analgesia, and stress: an integrated view. *Clin J Pain.* 1991. 7 Suppl 1:S23-37.

Armstrong D, Dry RM, Keele CA, Markham JW. Observations on chemical excitants of cutaneous pain in man. *J Physiol.* 1953. 28;120(3):326-351.

Axelrod J, Reisine TD. Stress Hormones: Their interactions and regulations. *Science.* 1984. 224: 452-459.

Besson JM, Chaouch A. Descending Serotonergic Systems; Neurotransmitters and pain control. En: *Pain Headache.* Ed. H. Akil, JW Lewis. 1987. 9:64-100.

Bradley JJ. Severe localized pain associated with the depressive syndrome. *Br J Psychiatry.* 1963. 109:741-745.

Brain Facts. A primer on the brain and nervous system. The Society for Neuroscience, 4th edition, Washington 2002, pp. 17.

Calimlim JF, Wardell WM, Davis HT, Lasagna L, Gillies, AJ. Analgesic efficacy of an orally administered combination of pentazocine and aspirin. With observations on the use and statistical efficiency of GLOBAL subjective efficacy ratings. *Clin Pharmacol Ther.* 1977. 21(1):34-43.

Cassem NH. Dolor. En: *Tópicos Actuales en Medicina de Scientific American.* Vol. I, 1989. Editora Científica Médica Latinoamericana, México: pp. 1-21.

Como productos de este trabajo de tesis, ya se presentaron en forma parcial dos trabajos en eventos especializados nacionales y ya fue enviado un artículo a publicación que está en proceso de evaluación (European Journal of Pharmacology).

10. REFERENCIAS.

Agnati LF, Tiengo M, Ferraguti F, Biagini G, Benfenati C, Benedetti C, Rigoli M, Fuxe K. Pain, analgesia, and stress: an integrated view. *Clin J Pain*. 1991. 7 Suppl 1:S23-37.

Armstrong D, Dry RM, Keele CA, Markham JW. Observations on chemical excitants of cutaneous pain in man. *J Physiol*. 1953. 28;120(3):326-351.

Axelrod J, Reisine TD. Stress Hormones: Their interactions and regulations. *Science*. 1984. 224: 452-459.

Besson JM, Chaouch A. Descending Serotonergic Systems; Neurotransmitters and pain control. En: *Pain Headache*. Ed. H. Akil, JW Lewis. 1987. 9:64-100.

Bradley JJ. Severe localized pain associated with the depressive syndrome. *Br J Psychiatry*. 1963. 109:741-745.

Brain Facts. A primer on the brain and nervous system. The Society for Neuroscience, 4th edition, Washington 2002, pp. 17.

Calimlim JF, Wardell WM, Davis HT, Lasagna L, Gillies, AJ. Analgesic efficacy of an orally administered combination of pentazocine and aspirin. With observations on the use and statistical efficiency of GLOBAL subjective efficacy ratings. *Clin Pharmacol Ther*. 1977. 21(1):34-43.

Cassem NH. Dolor. En: *Tópicos Actuales en Medicina de Scientific American*. Vol. I, 1989. Editora Científica Médica Latinoamericana, México: pp. 1-21.

Ceraso OL. Enfoque general del paciente con dolor. En: Ceraso OL. Anuario Analgesia. AC Marketing & Comunicación, 1995.

Cervero F, Laird J. Visceral Pain. *Lancet*, 1999. 353: 2145-2148.

Chan CC, Boyce S, Brideau C, Charleson S, Cromlish W, Ethier D, Evans J, Ford-Hutchinson AW, Forrest MJ, Gauthier JY, Gordon R, Gresser M, Guay J, Kargman S, Kennedy B, Leblanc Y, Leger S, Mancini J, O'Neill GP, Oullet M, Patrick D, Percival D, Perrier H, Prasit P, Rodger L, Tagari P, Therien M, Vickers P, Visco D, Wang Z, Webb J, Wong E, Xu JL, Young RN, Zamboni R, Riendeau D. Rofecoxib [Vioxx; MK-0966; 4-[4'-methylsulfonylphenyl]3-phenyl-2-(5H)-furanone]; a potent and orally active cyclooxygenase-2-inhibitor. Pharmacological and biochemical profiles. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999. 290: 551-560.

Cooper SA. Comparative analgesic efficacies of aspirin and acetaminophen. *Arch Intern Med*. 1981. 141: 282-285.

Covino BG, Dubner R, Gybels J, Kosterlitz HW, Liebeskind JC, Sternbach RA, Vyclicky L, Yamamura H, Zimmermann M. Ethical standards for investigations of experimental pain in animals. *Pain*. 1980. 9:141-143.

Dayer P, Desmeules J, Collart L. Pharmacology of tramadol. *Drugs*. 1997;53 Suppl 2: 18-24.

Déciga-Campos M, Guevara U, Díaz MI, López-Muñoz FJ. Enhancement of antinociception by co-administration of an opioid drug (morphine) and a preferential cyclooxygenase-2 inhibitor (rofecoxib) in rats. *Eur J Pharmacol*. 2003a. 460: 99-107.

Déciga-Campos M, López-Muñoz FJ. Participation of the NO-cyclic GMP pathway in rofecoxib-induced antinociception. *Proc West Pharmacol Soc*. 2003b. 46b: 165-167.

Déciga-Campos M, Díaz-Reval MI, Ventura-Martínez R, López-Muñoz FJ. Participation of the serotonin system in rofecoxib-induced antinociception. *Proc West Pharmacol Soc*. 2004a. 47: 100-102.

Déciga-Campos M, López-Muñoz FJ. Participation of the L-arginine-nitric oxide-cyclic GMP-ATP-sensitive K⁺ channel cascade in the antinociceptive effect of rofecoxib. *Eur J Pharmacol.* 2004b. 484: 193-199.

Duggan AW. Neuropharmacology of pain. *Curr Opin Neurol Neurosurg.* 1992. 5(4): 503-507.

Ehrich EW, Dallob A, De Lepeleire I. Characterization of rofecoxib as a cyclooxygenase-2 isoform inhibitor and demonstration of analgesia in the dental pain model. *Clin Pharmacol Ther.* 1999. 65: 336-347.

Ferreira SH, Moncada S, Vane JR. Indomethacin and aspirin abolish prostaglandin release from the spleen. *Nat New Biol.* 1971. 23;231(25):237-239.

Ferreira SH. Prostaglandins, aspirin-like drugs and analgesia. *Nat New Biol.* 1972. 13;240(102): 200-203.

Ferreira SH. Local analgesic effect of morphine on the hyperalgesia induced by cAMP, Ca²⁺, isoprenaline, and PGE₂. *Adv Prostaglandin Thromboxane Res.* 1980. 8: 1207-1215.

Forbes JA, Kolodny AL, Chachich BM, Beaver WT, Nalbuphine, acetaminophen, and their combination in postoperative pain. *Clin Pharmacol Ther.* 1984. 35(6): 843-851.

García JA, Herrero JF. Somestesia: mecanorrecepción, termorrecepción y nocicepción. En: *Manual de neurociencia. Síntesis (Ed).* España, 1998. 18: 457-481.

Gimenez-Gallego G, Rodkey J, Bennett C, Rijos-Candelore M, DiSalvo J, Thomas K. Brain-derived acidic fibroblast growth factor: complete amino acid sequence and homologies. *Science.* 1985. 20;230(4732):1385-1388.

Gyires K, Furst S, Miklya I, Budavari I, Knoll J. Analysis of the analgesic and anti-inflammatory effects of rimazolium, a pyrido-pyrimidine derivative, compared with that of prostaglandin synthesis inhibitors and morphine. *Drugs Exp Clin Res.* 1985. 11(8): 493-500.

Hamberg M, Svensson J, Samuelsson B, Prostaglandin endoperoxides. A new concept concerning the mode of action and release of prostaglandins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1974. 71(10): 3824-3828.

Hamberg M, Svensson J, Samuelsson B, Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1975. 72(8): 2994-2998.

Hamlin C, Gold MS. Anxiolytics: predicting response/maximizing efficacy. En: Gold MS, Lydiard RB, Carman JS. *Advances in Psycho-pharmacology: predicting and improving treatment response*. CRC Press, Florida 1984.

Housby JN, Cahill CM, Chu B, Prevelige R, Bickford K, Stevenson MA, Calderwood SK. Non-steroidal anti-inflammatory drugs inhibit the expression of cytokines and induce HSP70 in human monocytes. *Cytokine*. 1999. 11(5): 347-358.

Hughes J. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate, against activity. *Nature*. 1975. 258: 577-583

Insel PA. Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. En: Harman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW and Gilman AG. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw-Hill, New York, 1996; 617-634.

Kavaliers M. Evolutionary and comparative aspects of nociception. *Brain Res Bull*. 1988. 21(6): 923-931.

Jackson LM, Hawkey CJ. COX-2 selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. Do they really offer any advantages?. 2000. *Drugs*. 59 (6): 1207-1216.

Jaffé JH, Martin WR. Opioid analgesics and antagonists. En: Goodman Gilman A, Raw TW, Nies AS, Taylor P: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8a. Ed. Elmsford, NY: Pergamon Press, 1990, pp 485-521.

Jouzeau JY, Terlain B, Abid A, Nédélec E, Netter P. Cyclooxygenase isoenzymes. How recent findings affect thinking about non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Drugs*. 1997. 53 (4): 563-582.

Lee YH, Mollison KW, Cheng WD. The effects of anti-ulcer agents on indomethacin-induced gastric ulceration in the rat. *Arch Int Pharmacodyn*. 1971. 191: 370-377.

Leirisalo-Repo. The present knowledge of the inflammatory process and the inflammatory mediators. *Pharmacol Toxicol*. 1994. 75 Suppl 2: 1-3.

Lorenzetti BB, Ferreira SH. Mode of analgesic action of dipyron: direct antagonism of inflammatory hyperalgesia. *Eur J Pharmacol*. 1985. 114(3): 375-81.

López-Muñoz FJ, Salazar LA, Castañeda-Hernández G, Villalón CM, Terrón JA, Salazar LA. Analgesic effects of combinations contain opioid drugs with either aspirin or acetaminophen in the rat. *Drug Dev Res*. 1993a. 29: 229-304.

López-Muñoz FJ, Salazar LA, Castañeda-Hernández G, Villareal JF. A new model to asses analgesic activity: pain-induced functional impairment in the rat (PIFIR). *Drug Dev Res*. 1993b. 28: 169-175.

López-Muñoz FJ. Surface of synergistic interaction between dipyron and morphine in the PIFIR model. *Drug Dev Res*. 1994. 33: 26-32.

López-Muñoz FJ, Villalón CM, Terrón JA, Salazar LA. Analgesic interactions produced by combinations of dipyron and morphine in the rat. *Proc West Pharmacol Soc*. 1994. 37: 17-19.

López-Muñoz FJ. Profile of analgesic interaction between aspirin and D-propoxyphene obtained by means of the surface of synergistic interaction. *Drug Dev Res*. 1995a. 35 (1): 13-19.

López-Muñoz FJ, Villalón CM, Terrón JA, Salazar LA. Doses of acetylsalicylic acid and morphine in combination which provided either maximal levels of analgesia or the highest potentiation effect in the rat. *Drug Dev Res.* 1995b. 35 (2): 94-101.

López-Muñoz FJ, Díaz-Reval MI, Terrón JA, Déciga-Campos. Analysis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rat. *Eur J Pharmacol.* 2004. 26; 484(2-3): 157-165.

Maves TJ, Pechman PS, Meller ST, Gebhart GF. Ketorolac potentiates morphine antinociception during visceral nociception in the rat. *Anesthesiology.* 1994. 80(5): 1094-1101.

Martini A, Bondiolotti GP, Sacerdote P, Pierro L, Picotti GB, Panerai AE, Restelli L, Zancaner F, Monza G. Diclofenac increases beta-endorphin plasma concentrations. *J Int Med Res.* 1984;12(2): 92-95.

Mehlich D, The efficacy of combination analgesic therapy in relieving dental pain. *Clinical Pharmacology.* 2002. 133: 861-71.

Melmon KL, Nies AS, Cline MJ, Hughes T. Kinins: Possible Mediators of Neonatal Circulatory Changes in man. *J Clin Invest.* 1968; 47(6): 1295-1302.

Merck, Vioxx Timeline: Key Dates for VIGOR and Long-term, Placebo-controlled Studies Implemented to Provide Cardiovascular Safety Data, 2004.

Merker Phipip C. Inflammation-Histamine and 5-Hydroxytryptamine. *Br Med Bull,* 1987; 43: 256-269.

Merskey H. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP sub-committee on taxonomy. *Pain.* 1979; 6: 249-252.

Mitchell JA, Akarasereenont P, Thiemermann C, Flower RJ, Vane JR. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993. 15; 90(24): 11693-11697.

Monks R. Psychotropic Drugs. En: Bonica JJ. The management of pain. 2a ed., Lea & Febiger, Philadelphia 1990, 1676-1689.

Otsuka M, Yanagisawa M. Pain and neurotransmitters. Cell Mol Neurobiol. 1990;10(3): 293-302.

Owen DA. Inflammation-Histamine and 5-Hydroxytryptamine. Br Med Bull, 1987; 43(2): 256-269.

Parker KL, Schimmer BP. The role of nuclear receptors in steroid hormone production. Semin Cancer Biol. 1994; 5(5): 317-325.

Payan DG. Substance P: a modulator of neuroendocrine-immune function. Hosp Pract. 1989. 15; 24(2):67-73, 76, 78-80.

Pini LA, Vitale G, Sandrini M. Serotonin and opiate involvement in the antinociceptive effect of acetylsalicylic acid. Pharmacology. 1997b. 54(2): 84-91.

Rajadhyaksha VD, Dahanukar SA. Rofecoxib: a new selective COX-2 inhibitor. J Postgrad Med. 2001. 47: 77-78.

Rang HP, Dale MM, Ritter JM and Gardner P. Anti-inflammatory and immunosuppressant drugs. En: Pharmacology. Churchill Livingstone, 1a. Edición, 1995. 146-261.

Ritchie JM, Greene NM. Anestésicos locales. En: Goodman LS, Gilman AG. Las bases farmacológicas de la terapéutica, 7a. Ed. México, Editorial Panamericana, 1996, pp. 300-317.

Rowland M, Tozer TN. Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications. 2a. Edición, 1989. Lea y Febiger, Filadelfia, pp. 255-257, 459-463.

Salazar LA, Ventura-Martínez R, López-Muñoz FJ. Synergistic antinociceptive interaction between aspirin and tramadol, the atypical opioid analgesic, in the rat. Drug Dev Res. 1995. 36: 119-124.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Sandrini M, Ottani A, Vitale G, Pini LA. Acetylsalicylic acid potentiates the antinociceptive effect of morphine in the rat: involvement of the central serotonergic system. *Eur J Pharmacol.* 1998. 355 (2-3): 133-140.

Satyanarayana PS, Jain NK, Singh A, Kulkarni SK. Isobolographic analysis of interaction between cyclooxygenase inhibitors and tramadol in acetic acid-induced writhing in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2004. 28(4): 641-649.

Stanley TH, Allen S, Brown CW. What is Pain?. En: Stanley TH *et al.* Management of pain and pain related problems in the critically ill patient. *Critical Care* 1985. 6B: 1-80.

Stein C, Millan MJ, Yassouridis A, Herz A. Antinociceptive effects of mu- and kappa-agonists in inflammation are enhanced by a peripheral opioid receptor-specific mechanism. *Eur J Pharmacol.* 1988. 18; 155(3): 255-64.

Steranka LR, Manning DC, DeHaas CJ, Ferkany JW, Borosky SA, Connor JR, Vavrek RJ, Stewart JM, Snyder SH. Bradykinin as a pain mediator: receptors are localized to sensory neurons, and antagonists have analgesic actions. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988; 85(9): 3245-3249.

Sveen K, Gilhuus-Moe O. Paracetamol/codeine in relieving pain following removal of impacted mandibular third molars. *Int J Oral Surg.* 1975. 4(6): 258-266.

Swerdlow M. Anticonvulsant drugs and chronic pain. *Clin Neuropharmacol.* 1984. 7; 51-82.

Tallarida RJ, Porreca F, Cowan A. Statistical analysis of drug-drug and site-site interactions with isobolograms. *Life Sci.* 1989. 45: 947-971.

Taylor J, Mellstrom B, Fernaud I, Naranjo JR. Metamizol potentiates morphine effects on visceral pain and evoked c-fos immunoreactivity in spinal cord. *Eur J Pharmacol.* 1998. 351: 39-47.

Terkeltaub R. Crystal-induced inflammation. En: *Inflammation: basic principles and clinical correlates*. Gallin JI, Goldstein IM and Snyderman R. Raven Press (Ed), New York, 2da. Edición, 1992; 977-981.

Tortorici V, Vanegas H. Anti-nociception induced by systemic or PAG-microinjected lysine-acetylsalicylate in rats. Effects on tail-flick related activity of medullary off- and on-cells. *Eur J Neurosci*. 1995. 7: 1857-1865.

Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol*. 1971. 23:231(25): 232-235.

Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Rev Pharmacol Toxicol*. 1998. 38: 97-120.

Vaughan CW, Ingram SL, Connor MA, Christie MJ. How opioids inhibit GABA-mediated neurotransmission. *Nature*. 1997. 390 (11): 611-614.

Ventura MR, Díaz RI, Hernández GP, Domínguez RA, Salazar LA, Cabré F, López-Muñoz FJ. Role of COX-1 and COX-2 synthesized prostaglandins in a rat model of arthritic pain. *Drug Dev Res*. 2000. 51: 253-259.

Waisman Y, Dinari G, Marcus H, Ligumsky M, Rosenbach Y, Zahavi I, Nitzan M. Naloxone is protective against indomethacin-induced intestinal ulceration in the rat. *Gastroenterology*. 1985. 89(1): 86-91.

Wallace JL, Chapman K, McKnight W. Limited anti-inflammatory efficacy of cyclooxygenase-2 inhibition in carrageenan-airpouch inflammation. *Br J Pharmacol*. 1999. 126: 1200-1204.

Wallace JL. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. *Am J Med*. 2001. 110: 19S-23S.

Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983. 16, 109-110.

1 S Sol																2 L Luna						
3 Fg Fuego	4 Av Aves	LOS ELEMENTOS															5 Ar Árboles	6 Gr Guerrero	7 Pr Presidente	8 Ra Reina	9 Pc Ordenador Personal	10 Tv Televisión
11 Fl Flores	12 Bi Matrimonio																13 Jt Jet	14 Pe Príncipe	15 Pa Princesa	16 Ic Pez	17 Aq Agua	18 Vh Coches
19 Ai Aire	20 Te Tierra	21 Cf California	22 Pt Dinero	23 Fe Gato	24 Rr Perro	25 Tg Tecnología	26 Cz Cabello	27 Sx Sexo	28 Ov Ovni	29 A Amor	30 Mu Música	31 Ps El Pasado	32 Ft El Futuro	33 Eñ Eñaños	34 Ac Ambición	35 Mm Madre	36 Pp Padre					
37 Ha Hermana	38 Ho Hermano	39 Ez Esperanza	40 Fm Fame	41 Zz Pizza	42 Do Divorcio	43 Tr Trabajo	44 E Energía	45 Ln Láser	46 Ms Microondas	47 z Zodiaco	48 De Dios	49 Cc Centro comercial	50 Li Libertad	51 Ve Vegetarianismo	52 Rl Reciclado	53 Sd Soledad	54 Wh Andy Warhol					
55 Hw Hollywood	56 Aa Arma	57 Md Moda	72 Hg Hogar	73 Dt Dieta	74 Vj Viaje	75 Rp Reputación	76 Pl Planeta	77 Cx Computación	78 Jv Juventud	79 Pi Pérdida	80 Sh Champú	81 To Teléfono	82 Gn Genética	83 Dd Disco duro	84 Sñ Sueño	85 Fs Fantasma	86 Di Difuntos					
87 Dv Diversión	88 Sb Subdivisión	89 Hr Héroe	104 Ño Niño	105 Ña Niña	106 Vd Verdad																	

58 Ss Los Sesenta	59 St Los Setenta	60 Os Los Ochenta	61 Ns Los Noventa	62 Mt Monstruos	63 Gm Gimnasia	64 Rt Residuos tóxicos	65 Cl Cielo	66 X Explosión	67 K Confusión	68 Rb Robot	69 Sw Software	70 Li Lluvia	71 Tx Transformación
90 Oz Ozono	91 Rc Reconstrucción	92 Nt Noticias	93 Un Espacio	94 Cs Cielos	95 Tc Tarjeta de crédito	96 Mn Memoria	97 Eu Europa	98 Dm Democracia	99 Vr Via rápida	100 No Nuevo Orden	101 Cp Corporación	102 Ck Cóctel	103 Ob Obsesión