



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Facultad de Químico Farmacobiología



EVALUACIÓN PRECLÍNICA DE LA COMBINACIÓN DE  
METFORMINA-CARBAMAZEPINA VÍA ORAL Y LOCAL EN LA  
PRUEBA DE LA FORMALINA

T E S I S

**Para obtener el título de:**

Química Farmacobióloga

**Presenta:**

Elvia Benitez Fajardo

**Asesor:**

Dr. Luis Fernando Ortega Varela

**Co-asesora:**

Dra. Marcia Yvette Gauthereau Torres

Morelia Michoacán Octubre de 2021

## **Agradecimientos**

A Dios por permitirme llegar a este día y darme la oportunidad de cumplir un logro más en mi vida y darme la sabiduría de dirigirme con las personas correctas para realizar este proyecto de tesis.

A la facultad de Químico Farmacobiología de la universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por abrirme las puertas y estudiar mi carrera, así como a los diferentes docentes que me brindaron su conocimiento y fueron parte de mi formación académica.

A la División de Estudios de Postgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” por abrirme las puertas de su seno científico y poder realizar mi proyecto de tesis.

A mi asesor el Dr. Luis Fernando Ortega Varela por haberme dado la oportunidad de realizar este proyecto, por brindarme su conocimiento científico, así como por toda la paciencia para guiarme durante el desarrollo de mi tesis.

A la Dra. Marcia Yvette Gauthereau Torres por permitirme realizar los experimentos en su laboratorio, por su constante apoyo y orientaciones indispensables para el desarrollo de este trabajo.

A mi compañero de tesis Lupillo Torres Alvarado, por todo el apoyo sumamente importante, por conformar un gran equipo de trabajo y por brindarme su amistad.

## **Dedicatorias**

Dedico de manera especial a mi hermana Lupita Benitez Fajardo, pues fue ella el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sembró en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación, en ella tengo el espejo en el cual me quiero reflejar pues sus virtudes infinitas y su gran corazón me lleva a admirarla cada día más. Gracias a Dios por darme una de las mejores hermanas.

A mis padres Elvia Fajardo Maldonado y Nicolas Benitez Sesmas por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, por creer en mí en cada momento, por su apoyo y por el amor incondicional que siempre me brindan.

A mis amigos Luis Manuel Aguilar León, Santiago Bedolla Guzmán y Mariana Valeria Murillo Altamirano por hacer mi último año en la universidad el más bonito recuerdo, por permitirme aprender de la vida a su lado.

A Cristian Soria Aguirre por su amistad incondicional, por todos sus consejos. Eres uno de mis mejores amigos te quiero.

# ÍNDICE

Índice de figuras .....	7
Índice de tablas .....	8
Resumen .....	12
1. ANTECEDENTES .....	14
1.1 Dolor .....	15
1.2 Clasificación del dolor .....	16
1.2.1 Dolor nociceptivo .....	16
1.2.2 Dolor inflamatorio .....	17
1.2.3 Dolor patológico .....	18
1.2.3.1 Dolor neuropático .....	19
1.2.3.2 Dolor disfuncional .....	20
1.3 Mecanismos del dolor .....	21
1.3.1 Nocicepción .....	21
1.3.1.1 Tipos de nociceptores .....	22
1.3.1.1.1 Fibras A $\delta$ .....	24
1.3.1.1.2 Fibras C .....	24
1.3.1.2 Fases de la nocicepción .....	26
1.3.1.2.1 Transducción .....	26
1.3.1.2.2 Transmisión .....	27
1.3.1.2.3 Modulación .....	29
1.3.1.2.4 Percepción .....	31
1.3.2 Sensibilización periférica .....	32
1.3.3 Sensibilización central .....	33
1.4 Mediadores del dolor .....	35
1.4.1 Bradicininina .....	35
1.4.2 Sustancia P .....	36
1.4.3 Prostaglandinas .....	37
1.4.4 Glutamato .....	38
1.4.5 Óxido nítrico .....	39
1.4.6 Histamina .....	40

1.4.7	Serotonina.....	40
1.4.8	Opioides endógenos .....	41
1.5	Tratamiento del dolor.....	42
1.5.1	Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).....	44
1.5.2	Opioides .....	45
1.5.3	Adyuvantes .....	46
1.5.3.1	Fármacos anticonvulsivos.....	46
1.5.3.1.1	Carbamazepina.....	47
1.5.3.2	Fármacos antidiabéticos .....	50
1.5.3.2.1	Metformina .....	50
1.5.4	Combinaciones analgésicas.....	51
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	52
3.	JUSTIFICACIÓN.....	53
4.	HIPÓTESIS.....	54
5.	OBJETIVOS.....	54
5.1	Objetivo general .....	54
5.2	Objetivos específicos.....	54
6.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	55
6.1	Animales.....	55
6.2	Fármacos .....	55
6.3	Formalina .....	55
6.4	Prueba de la formalina .....	56
6.5	Prueba del Rota-rod .....	56
7.	DISEÑO DEL ESTUDIO .....	58
7.1	Tamaño de la muestra.....	58
7.2	Vía de administración .....	60
8.	ANÁLISIS DE DATOS .....	60
8.1	Análisis isoblográfico .....	61
8.2	Análisis estadístico .....	62
9.	RESULTADOS .....	62
9.1	Efecto antinociceptivo de la administración oral de la metformina, la carbamazepina y su combinación .....	62
9.2	Efecto antinociceptivo periférico local de la metformina .....	64

9.3	Efecto antinociceptivo periférico local de la carbamazepina .....	64
9.4	Efecto antinociceptivo periférico local de la combinación metformina-carbamazepina.....	65
9.5	Actividad motora.....	66
10.	DISCUSIÓN.....	69
10.1	Efecto antinociceptivo de la carbamazepina .....	69
10.2	Efecto antinociceptivo de la metformina .....	70
10.3	Efecto antinociceptivo de la combinación de medicamentos.....	71
11.	CONCLUSIONES.....	73
12.	REFERENCIAS.....	74

## Índice de figuras

<b>Fig. 1.</b> Dolor nociceptivo .....	17
<b>Fig. 2.</b> Dolor inflamatorio .....	18
<b>Fig. 3.</b> Dolor neuropático .....	20
<b>Fig. 4.</b> Dolor disfuncional.....	21
<b>Fig. 5.</b> Componentes funcionales del nociceptor .....	22
<b>Fig. 6.</b> Tipos de receptores .....	23
<b>Fig. 7.</b> Fibras sensoriales .....	25
<b>Fig. 8.</b> Productos químicos liberados por al daño de tejido .....	25
<b>Fig. 9.</b> Funciones sensoriales de los canales TRP .....	27
<b>Fig. 10.</b> Proyecciones de las fibras nerviosas .....	28
<b>Fig. 11.</b> Sensibilización periférica .....	33
<b>Fig. 12.</b> Sensibilización central inmediata y sostenida .....	34
<b>Fig. 13.</b> Sensibilización central.....	35
<b>Fig. 14.</b> Escala analgésica de la OMS .....	43
<b>Fig. 15.</b> Escalas análogas del dolor .....	43
<b>Fig. 16.</b> Estructura química de la carbamazepina .....	48
<b>Fig. 17.</b> Estructura química de la metformina .....	51
<b>Fig. 18.</b> Curso temporal del efecto antinociceptivo .....	63
<b>Fig. 19.</b> Efecto antinociceptivo después de la administración oral .....	67
<b>Fig. 20.</b> Efecto antinociceptivo después de la administración local periférica .....	68
<b>Fig. 21.</b> Isoblograma que muestra la interacción sinérgica.....	69

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Mecanismos de acción de la carbamazepina .....	49
<b>Tabla 2.</b> Tabla de distribución de dosis de carbamazepina y metformina.....	58
<b>Tabla 3.</b> Tabla de distribución de dosis de la combinación.....	59
<b>Tabla 4.</b> Tabla de distribución de dosis prueba de Rota-rod.....	59
<b>Tabla 5.</b> Parámetros del análisis isoblográfico.....	66
<b>Tabla 6.</b> Tiempo (s) obtenido en la prueba de Rota-rod .....	65

## Lista de abreviaturas

<b>ABC</b>	Área bajo la curva
<b>ACR</b>	Colegio Americano de reumatología
<b>AINE</b>	Antiinflamatorios no esteroideos
<b>AMPA</b>	Ácido $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
<b>AMPc</b>	Adenosín monofosfato cíclico
<b>AMPK</b>	Cuinasas activadas por adenosín monofosfato
<b>APS</b>	American Pain Society (Sociedad Americana del Dolor)
<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza
<b>CBZ</b>	Carbamazepina
<b>COX</b>	Ciclo-oxigenasa
<b>CGRP</b>	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
<b>DE<sub>30</sub></b>	Dosis efectiva 30
<b>DE<sub>50</sub></b>	Dosis efectiva 50
<b>DAG</b>	Diacilglicerol
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dosis letal 50
<b>DRG</b>	Ganglio de la raíz dorsal
<b>EE</b>	Error estándar
<b>EMP</b>	Efecto máximo posible
<b>FAD</b>	Fármacos antidepresivos
<b>FAE</b>	Fármacos antiepilépticos
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration

**GABA**    Ácido gamma aminobutírico

**IASP**    International Association for the Study of Pain (Sociedad Internacional para el Estudio del Dolor)

**IMSS**    Instituto Mexicano del Seguro Social

**INEGI**    Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática

**IP<sub>3</sub>**    Inositol trifosfato

**NK1R**    Neurocinina 1

**NMDA**    N-metil-D-aspartato

**NO**    Óxido Nítrico

**NOM**    Norma Oficial Mexicana

**OMS**    Organización Mundial de la Salud

**PG**    Prostaglandina

**PGE2**    Prostaglandina E2

**SNC**    Sistema nervioso central

**SNP**    Sistema nervioso periférico

**SP**    Sustancia P

**TRP**    Transient Receptor Potential (Receptor de Potencial Transitorio)

**TRPA**    Transient Receptor Potential Ankyrin (Receptor de Potencial Transitorio a Ankirina)

**TRPC**    Transient Receptor Potential Canonical (Receptor de Potencial Transitorio Canónico)

**TRPM**    Transient Receptor Potential Menthol (Receptor de Potencial Transitorio a Mentol)

**TRPML**    Transient Receptor Potential Mucolipin (Receptor de Potencial Transitorio Mucopilina)

**TRPP** Transient Receptor Potential Polycystin (Receptor de Potencial Transitorio Polisistina)

**TRPV** Transient Receptor Potential Vanilloid (Receptor de Potencial Transitorio Vanilloide)

**5-HT** 5- hidroxitriptamina

## Resumen

El dolor es la percepción sensorial asociada a un daño o posible daño tisular, mientras que a los mecanismos moleculares, celulares y sistémicos que se activan ante los estímulos nocivos se le conoce como nocicepción. Las respuestas nociceptivas pueden impactar en la calidad de vida de los pacientes, ya que pueden volverse patológicas, crónicas y debilitantes, es por ello que el desarrollo de nuevos fármacos analgésicos se basa en entenderlas, modificarlas y/o bloquearlas. En la actualidad, existen diversos fármacos analgésicos, sin embargo, muchos de estos compuestos, por ejemplo, los opioides tienen efectos secundarios como un alto grado de farmacodependencia, lo cual limita su uso. Debido a estos problemas, la búsqueda de alternativas para el manejo del dolor es indispensable. La combinación de fármacos se utiliza con frecuencia de forma terapéutica para conseguir un efecto mejorado sin utilizar una cantidad excesiva de ninguno de los agentes individuales y así reducir los efectos adversos. El presente estudio fue diseñado para evaluar la posible interacción antinociceptiva entre Metformina y Carbamazepina en la prueba de la formalina. Se utilizaron ratas Wistar hembras (230-340g) a las cuales se les administró 50  $\mu$ L de formalina al 1% en la superficie dorsal de la pata trasera derecha para inducir dolor caracterizado por la sacudida de la pata. El efecto antinociceptivo se determinó mediante la administración de Metformina (30, 100, 300 y 1000 mg/Kg), Carbamazepina (10, 30, 100 y 300mg/Kg) y su combinación por vía oral o Metformina (50, 100, 200 y 400  $\mu$ g/pata), Carbamazepina (25, 50, 100 y 200  $\mu$ g/pata) y su combinación por vía periférico local. Se utilizaron análisis isoblográficos para definir la interacción entre los fármacos y sus combinaciones, las cuales produjeron un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis cuando se administraron por ambas vías. Basados en la  $DE_{30}$  de Metformina ( $130.007 \pm 25.4792$   $\mu$ g/pata) y Carbamazepina ( $74.0180 \pm 19.4401$   $\mu$ g/pata) por vía periférico local o basados en la  $DE_{50}$  de Metformina ( $908.63 \pm 280.87$  mg/Kg) y Carmabazepina ( $198.9386 \pm 56.0154$  mg/Kg) vía oral. La combinación de estos fármacos redujo significativamente el número de sacudidas de la pata en la segunda fase de la prueba. La  $DE_{30}$  teórica ( $DE_{30T}$ ) de la combinación vía periférico local fue de  $102.012 \pm 16.0243$   $\mu$ g/pata, mientras que el valor de la  $DE_{30}$  experimental

(DE<sub>30</sub>E) fue  $21.727 \pm 1.1057$  µg/pata significativamente menor y un índice de interacción de  $0.213 \pm 0.0352$  que indica un efecto sinérgico en la combinación. Para la vía oral la DE<sub>50</sub>T de la combinación fue de  $553.789 \pm 143.2047$  mg/kg, y el valor de la DE<sub>50</sub> experimental (DE<sub>50</sub>E) de  $460.578 \pm 50.5715$  mg/kg y un índice de interacción de  $0.832 \pm 0.2337$ . Los resultados muestran que la administración oral y periférico local de la combinación interactúan sinérgicamente para reducir el dolor inflamatorio en la prueba de la formalina, lo que sugiere que dicha combinación podría ser útil en el tratamiento del dolor inflamatorio.

Las combinaciones produjeron efectos antinociceptivos sin deterioro motor en la prueba de varilla rotatoria, lo que indica interacciones sinérgicas con un buen perfil de efectos secundarios.

**Palabras clave:** Dolor, Carbamazepina, Metformina, Índice de interacción, Antinocicepción.

## 1. ANTECEDENTES

La experiencia del dolor es fundamental y ha sido parte del desarrollo cultural de todas las sociedades. Desde tiempos primitivos, se le ha buscado explicación al dolor; inicialmente se le atribuyó un origen divino con influencias mágicas, demoníacas, teológicas y filosóficas (Camargo & Villamizar, 2004). Para Hipócrates, Platón, Demócrito y Aristóteles (400-300 a. C.), el dolor era una sensación que estaba asentada en el corazón (Granados-Soto, 2020), esta antigua suposición fue abandonada gracias a la teoría del filósofo francés del siglo XVII René Descartes, quien describió el dolor como el resultado de la activación de un canal definido que va desde la piel hasta el cerebro (Kuner, 2010), de esta manera el cerebro tomó el lugar del corazón. La teoría de Descartes abrió la puerta para que la neurociencia explicara los mecanismos de dolor (Andreas & Nilesh, 2010).

Ahora se sabe que el dolor tiene un componente fisiológico y uno emocional. El componente fisiológico comprende la detección de un estímulo doloroso, así como su conducción a la médula espinal y posteriormente al cerebro. El componente emocional hace que el dolor sea una sensación desagradable que genera angustia y motiva al paciente a ir al médico (Granados-Soto, 2020). Por ello, el dolor tiene una función vital al ser un mecanismo de defensa, es decir, una señal de alarma para proteger al organismo y aumentar la supervivencia del individuo (Romera & Rodrigo, 2000).

Sin embargo, cuando el dolor supera su utilidad como sistema de advertencia se vuelve crónico y debilitante (Julius & Basbaum, 2001), hasta adquirir un carácter de enfermedad en estados patológicos como inflamación, neuropatía, cáncer, infecciones virales, quimioterapia y diabetes (Kuner, 2010), donde causa un impacto en la calidad de vida con consecuencias físicas, psicológicas y sociales (Diéguez & González, 2013). Puede conducir a una movilidad reducida y una consiguiente pérdida de fuerza, comprometer el sistema inmune e interferir en la capacidad de una persona para comer, concentrarse, dormir o interactuar con otros (Camargo & Villamizar, 2014).

La Organización mundial de la salud (OMS) encontró que las personas que viven con dolor crónico son cuatro veces más propensas a sufrir de depresión o ansiedad (Lohman & Amon, 2010). No obstante, con frecuencia no se recibe el tratamiento adecuado contra el dolor por razones culturales, religiosas, actitudes de la sociedad y de los profesionales sanitarios, así como por motivos políticos y económicos (Martínez-Caballero et al., 2015). Con base a lo anterior, la OMS determinó que el alivio del dolor es un derecho fundamental y que incurre en una falta de ética grave aquel profesional de la salud que impida el acceso al alivio del mismo (Lohman & Amon, 2010), y ha dictado los criterios indispensables para un buen control del dolor, entre los que incluye la adecuada formación de los profesionales de la salud y la disponibilidad de fármacos para el tratamiento del dolor (Martínez-Caballero et al., 2015).

Dependiendo de la intensidad, el dolor se puede manejar con diferentes analgésicos convencionales (antiinflamatorios no esteroideos [AINEs] o analgésicos opioides), así como con el uso de combinaciones de medicamentos para el manejo del dolor y la inflamación. La ventaja potencial del uso de combinaciones es que los efectos analgésicos se pueden maximizar, mientras que la incidencia de efectos secundarios adversos podría ser minimizada (Raffa, 2001). En el presente trabajo se abordarán aspectos de interés sobre el dolor, así como alternativas farmacológicas para cesar dicho padecimiento.

## **1.1 Dolor**

La palabra dolor proviene del verbo en latín *doleré* que significa sufrimiento, asociado a una enfermedad. El comité de taxonomía de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), lo definió en 1986 como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular real o potencial, o que puede ser descrito en términos de la magnitud del daño (Brook, 2005).

El dolor es considerado un enorme problema de salud global, ya que a nivel mundial, se estima que 1 de cada 5 adultos sufren de dolor y que 1 de cada 10 adultos son diagnosticados con dolor crónico cada año (Goldberg & Summer, 2011). Los

indicadores de incidencia y prevalencia muestran que es un problema de salud pública, pues más del 60% de la población ha sentido dolor al menos un día durante su vida (Camargo & Villamizar, 2014). En nuestro país, carecemos de información documental que caracterice la prevalencia de este fenómeno. Sin embargo, cifras del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) acerca de los 20 principales motivos de consulta, durante el período de 1991 a 2002, sugieren que por lo menos el 5% de los individuos que acudieron a los centros de medicina familiar presentaron una enfermedad dolorosa crónica claramente documentada (Covarrubias & Córdova, 2010).

## **1.2 Clasificación del dolor**

El dolor es una sensación subjetiva y de percepción muy variada, que puede clasificarse de acuerdo con la intensidad (leve, moderada o severa), la calidad (punzante o quemante), la duración (agudo o crónico) y su referencia (superficial o profunda, localizada o difusa) (Woolf, 2004). Desde el punto de vista de su mecanismo neurofisiológico, el dolor ha sido clasificado en las siguientes categorías: dolor nociceptivo, inflamatorio y patológico (neuropático y disfuncional) (Woolf, 2010).

### **1.2.1 Dolor nociceptivo**

Primero está el dolor que es un sistema de protección fisiológica de alerta temprana, esencial para detectar y minimizar el contacto con estímulos dañinos o nocivos. Debido a que este dolor está relacionado con la detección de estímulos nocivos, se denomina dolor nociceptivo a un dolor de umbral alto que sólo se activa en presencia de estímulos intensos, este es el dolor que sentimos al tocar algo demasiado caliente, frío o puntiagudo. (Woolf, 2010). El dolor nociceptivo se origina por la estimulación de nociceptores periféricos, que traducen esta señal en impulsos electroquímicos que se transmiten al sistema nervioso central (Fig. 1) (Pedrajas & Molino, 2008).

El dolor nociceptivo debe controlarse sólo en situaciones clínicas específicas, como durante una cirugía o procedimientos médicos que dañan el tejido y después de un trauma. Es importante que este sistema no se deshabilite crónicamente, porque la pérdida de su función protectora conduce inevitablemente a daños (Woolf, 2004), como en los trastornos hereditarios asociados con la insensibilidad congénita o indiferencia al dolor debido a las deleciones en el marco de SC9A, el gen que codifica el canal de sodio Nav 1.7 dependiente de voltaje, las mutaciones de la función en el receptor de tropomiosina cinasa A (TrkA) y en el factor de crecimiento nervioso (Woolf, 2010), que conduce a lesiones repetidas y automutilación inadvertida, lo que ilustra la función altamente adaptativa del dolor nociceptivo. (Costigan & Woolf, 2009)

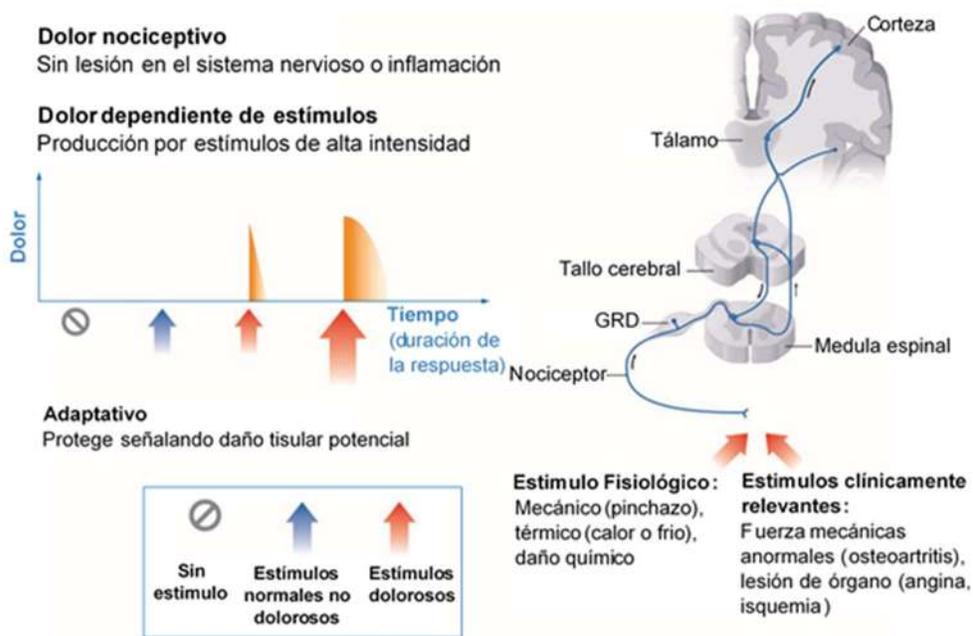


Fig. 1. Dolor nociceptivo (modificado de Costigan & Woolf, 2009).

### 1.2.2 Dolor inflamatorio

El segundo tipo de dolor también se considera adaptativo y protector, al aumentar la sensibilidad sensorial después del daño tisular y al liberar mediadores químicos que crean una 'sopa inflamatoria' (incluyendo mastocitos, basófilos, plaquetas,

macrófagos, neutrófilos, células endoteliales, queratinocitos y fibroblastos) y por consecuencia producir edematización para promover la curación de la parte del cuerpo lesionada al crear una situación que desalienta el contacto físico y el movimiento (Fig. 2) (Basbaum & Julius, 2009). El sistema nervioso sensorial experimenta un cambio profundo en su capacidad de respuesta; los estímulos normalmente inocuos ahora producen dolor y las respuestas a los estímulos nocivos son exageradas y prolongadas (Costigan & Woolf, 2009).

Es importante ser capaces de manejar activamente el dolor inflamatorio después de la cirugía o trauma, así como en pacientes con enfermedades inflamatorias, como la artritis reumatoide, sin eliminar o mitigar severamente el sistema de advertencia de dolor nociceptivo o perjudicar el proceso de curación al permitir un exceso de inflamación o daño del tejido (Woolf, 2004).

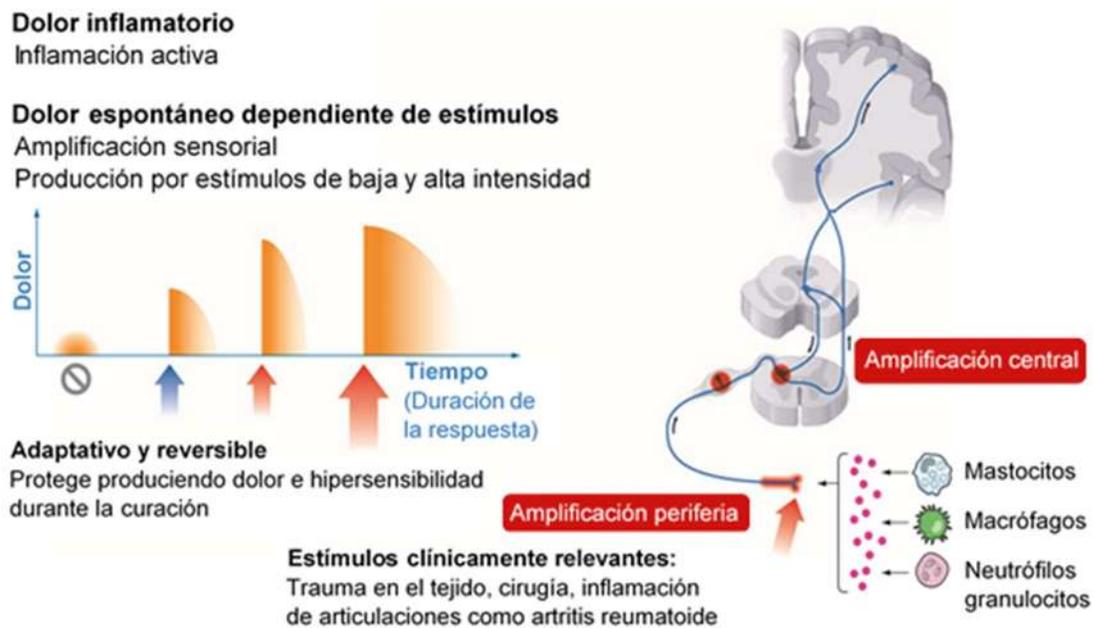


Fig. 2. Dolor inflamatorio (modificado de Costigan & Woolf, 2009).

### 1.2.3 Dolor patológico

Finalmente, está el dolor que no es protector, sino inadaptativo, como resultado del funcionamiento anormal del sistema nervioso. Este dolor patológico, que no es un síntoma de algún trastorno, sino más bien un estado de enfermedad del sistema

nervioso, puede ocurrir después del daño al sistema nervioso (dolor neuropático), pero también en condiciones en las que no existe dicho daño o inflamación (dolor disfuncional) (Woolf, 2010). El dolor neuropático y el dolor disfuncional son inadaptables en el sentido de que el dolor no protege ni apoya la curación y la reparación (Costigan & Woolf, 2009).

### **1.2.3.1 Dolor neuropático**

El dolor neuropático se refiere al dolor causado por una lesión o enfermedad del sistema somatosensorial (Fig. 3), representa una amplia categoría de síndromes de dolor (Bouhassira, 2018) que implica patologías, ya sea en sus elementos periféricos (dolor neuropático periférico) o en el SNC (dolor neuropático central) (Loeser & Treede, 2008). El dolor neuropático periférico es el resultado de lesiones en el sistema nervioso periférico (SNP) causadas por traumatismos mecánicos, enfermedades metabólicas, neurotoxicidad química, infección, invasión de un tumor e implica múltiples cambios fisiopatológicos tanto en el SNP como en el SNC. El dolor neuropático central es el resultado más común de una lesión de la médula espinal, un derrame cerebral o una esclerosis múltiple (Costigan & Woolf, 2009).

Dichos síndromes comprenden una combinación compleja de síntomas negativos o déficits sensoriales, como la pérdida parcial o completa de la sensación, y síntomas positivos que incluyen disestesia, parestesia y dolor (Woolf & Mannion, 1999). El dolor neuropático es a menudo descrito como una sensación ardiente acompañado de paroxismos de dolor, del tipo corriente eléctrica, asociado a cambios en la sensibilidad en forma de alodinia (dolor debido a un estímulo de baja intensidad que normalmente no provoca dolor) e hiperalgesia (una respuesta exagerada y prolongada a un estímulo nocivo) (Romera & Rodrigo, 2000).

No existe un tratamiento para prevenir el desarrollo del dolor neuropático, ni para controlar de manera adecuada, predecible y específica cuando esta establecido. Además de la neuralgia del trigémino, que responde bien a carbamazepina, la farmacoterapia para el dolor neuropático ha sido decepcionante. Los pacientes con

dolor neuropático no responden a los antiinflamatorios no esteroideos y es común la resistencia o la insensibilidad a los opioides (Woolf & Mannion, 1999).

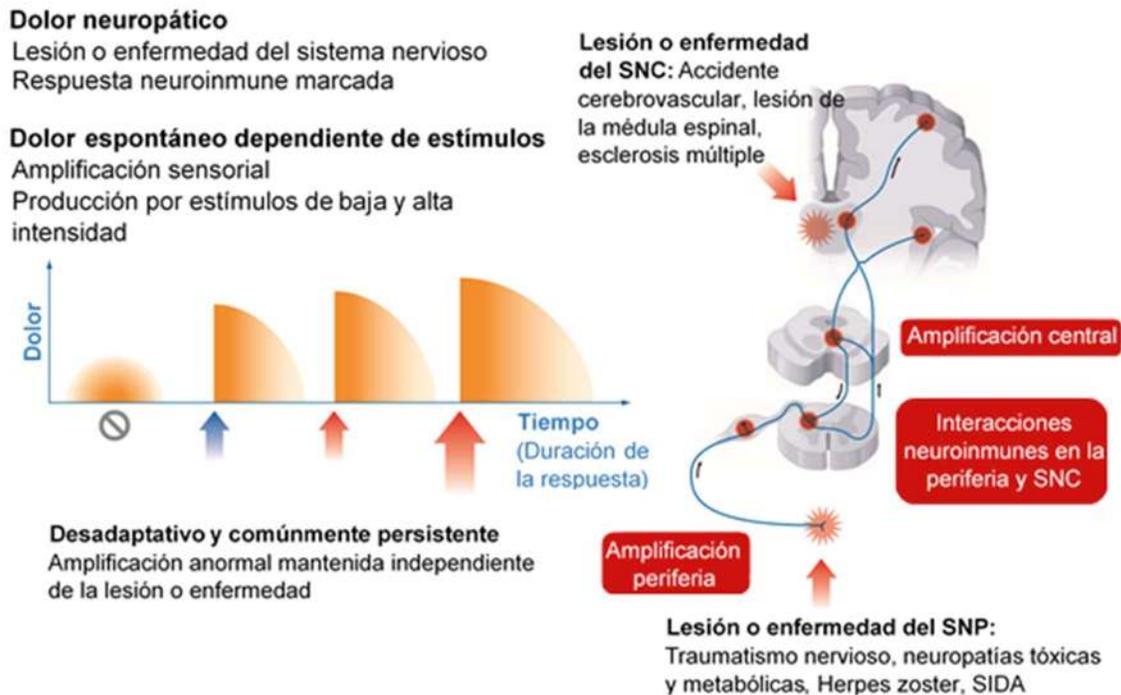


Fig. 3. Dolor neuropático (modificado de Costigan & Woolf, 2009).

### 1.2.3.2 Dolor disfuncional

El dolor disfuncional ocurre en situaciones en las que no hay un estímulo nocivo identificable ni ningún tipo de inflamación o daño detectable en el sistema nervioso (Fig. 4) (Costigan & Woolf, 2009). Las condiciones que provocan dolor disfuncional incluyen fibromialgia, síndrome del intestino irritable, cefalea tensional, enfermedad de la articulación temporomandibular, cistitis intersticial (Woolf, 2010).

Los síndromes de dolor disfuncional comparten algunas características del dolor neuropático: sumación temporal con una acumulación progresiva de dolor en respuesta a estímulos repetidos, difusiones espaciales y umbrales reducidos (Costigan & Woolf, 2009).

### Dolor disfuncional

No se conoce lesión del sistema nervioso estructural o inflamación periférica activa

### Dolor espontáneo y dependiente del estímulo

Amplificación sensorial

Producción por estímulos de baja y alta intensidad

Presente con falta de estímulo

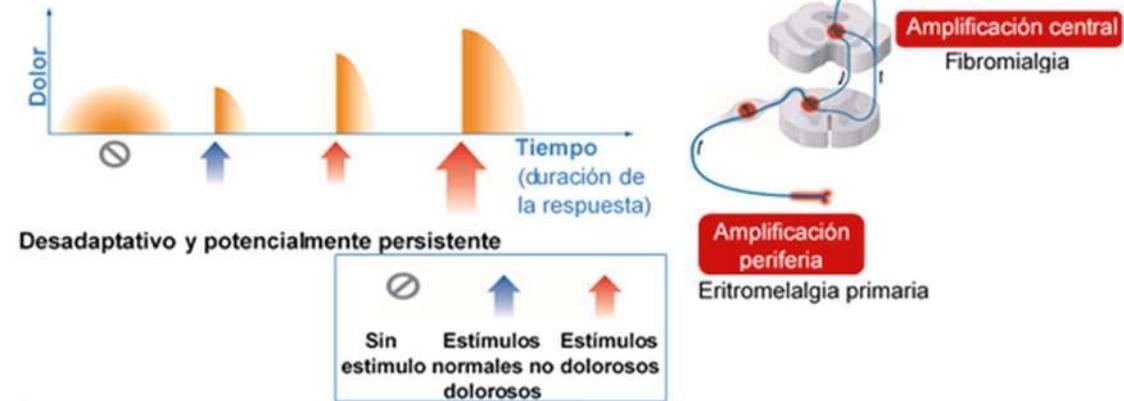


Fig. 4. Dolor disfuncional (modificado de Costigan & Woolf, 2009).

## 1.3 Mecanismos del dolor

Para el tratamiento del sufrimiento relacionado con el dolor se requiere el conocimiento de cómo las señales de dolor se interpretan inicialmente y luego se transmiten y perpetúan (Woolf & Ma, 2007). Se han identificado múltiples mecanismos que pueden producir dolor: incluyen nocicepción, sensibilización periférica y sensibilización central (Woolf, 2004)

### 1.3.1 Nocicepción

El término "nocicepción" (del latín *nocere*: daño) se refiere a los mecanismos fisiológicos por los cuales las neuronas sensoriales primarias detectan estímulos nocivos los cuales pueden ser térmicos, mecánicos, eléctricos y químicos, pero de intensidad suficiente para causar lesiones en el tejido y dolor (Machado & Haertel, 2006). Sherrington en 1906 acuñó el nombre de nociceptor para los receptores sensoriales que responden a estímulos nocivos, es decir, estímulos que amenazan con producir o producen daño real al organismo (Ariznavareta & Tamargo, 2005). Este tipo de sensación es tan importante que el 70% de las fibras aferentes que

forman un nervio espinal son fibras amielínicas y la mayoría tienen en sus terminaciones nociceptores (Aigé & Cruz, 2001). Dichos nociceptores se encuentran ampliamente distribuidos en la superficie del cuerpo, tejidos profundos y vísceras. (Ariznavareta & Tamargo, 2005).

El nociceptor tiene cuatro principales componentes funcionales (Fig. 5), el terminal periférico que transduce los estímulos externos e inicia potenciales acción, el axón que conduce dichos potenciales de acción, el cuerpo celular que controla la identidad e integridad de la neurona, y el terminal central que forma el elemento presináptico de la primera sinapsis en la vía sensorial en el sistema nervioso central (SNC) (Woolf & Ma, 2007). Los cuerpos celulares de los nociceptores se encuentran en el ganglio de la raíz dorsal (DRG) para el cuerpo y en el ganglio del trigémino para la cara, y tienen tanto una rama axonal periférica como central (Basbaum & Julius, 2009),



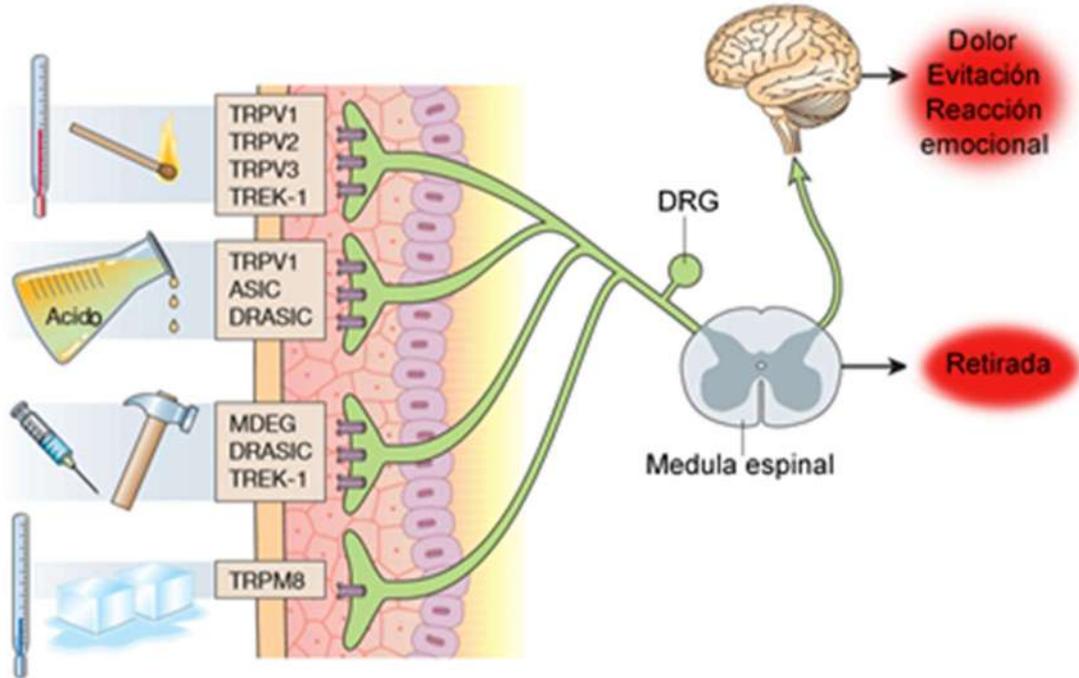
Fig. 5. Componentes funcionales del nociceptor (modificado de Woolf & Ma, 2007)

La característica esencial de un nociceptor es su capacidad para diferenciar entre estímulos inocuos y estímulos nocivos. Esto es debido al hecho de que los nociceptores son capaces de codificar la intensidad de un estímulo dentro del rango de intensidades nocivas, mientras que no responden o responden irregularmente a estímulos de intensidad baja (Cervero & Laird, 1999)

### 1.3.1.1 Tipos de nociceptores

Todos los nociceptores son terminaciones nerviosas libres que responden a múltiples estímulos pero que se especializan y reciben diferentes nombres: mecanorreceptores (sensibles a estímulos mecánicos), termorreceptores (capaces de detectar el frío o calor) y receptores polimodales, entre los que destacamos los

quimiorreceptores (sensibles a sustancias corrosivas) (Fig. 6) (Aigé & Cruz, 2001), dichos nociceptores tienen axones no mielinizados (fibra C) o muy mielinizados (fibras A $\delta$ ) (Woolf, 2004).



**Fig. 6.** Tipos de receptores (modificado de Scholz & Woolf, 2002)

La clasificación de los nociceptores también está basada en los tipos de fibra nerviosa de sus terminales: fibras A y C (Kopf & Patel, 2010).

Las fibras A se subdividen en los tipos alfa, beta, gamma y delta. (Fig.7) De estos subtipos, las fibras A $\delta$  son las que conducen los impulsos nociceptivos (Arbonés & Montes, 2009). Las fibras A $\beta$  detectan estímulos inocuos aplicados a la piel, los músculos y las articulaciones y, por lo tanto, no contribuyen al dolor, de hecho, la estimulación de fibras grandes puede reducir el dolor, como ocurre cuando las activas frotando la mano (Julius & Basbaum, 2001).

#### **1.3.1.1.1 Fibras A $\delta$**

Las fibras A $\delta$  son las terminaciones sensoriales de fibras mielínicas o mielinizadas, su diámetro es de 1-5  $\mu\text{m}$ , su velocidad de conducción es rápida, de entre 4 a 30 m/s, conducen señales de dolor de corta latencia que precisan de respuestas rápidas (Romera & Rodrigo, 2000). Algunas de ellas responden a la estimulación química o térmica en forma proporcional con el grado de lesión tisular; sin embargo, se activan principalmente por estimulación mecánica como pinchazos y pellizcos aplicados a la piel, o a penetraciones de objetos punzantes, por lo que son llamados mecanorreceptores de umbral alto (Arbonés & Montes, 2009).

#### **1.3.1.1.2 Fibras C**

Son las terminaciones nerviosas de fibras aferentes, estructuras no mielinizadas o amielínicas, su diámetro es de 0.3 a 1.5  $\mu\text{m}$ , su velocidad de conducción es lenta, entre 0.4 a 2 m/s. (Romera & Rodrigo, 2000). Son simples terminaciones libres en la piel y responden a estímulos nocivos mecánicos, térmicos o químicos. También se activan por sustancias liberadas por el daño tisular, como: bradicinina, histamina, acetilcolina e iones de potasio (Fig. 8). Por su capacidad de respuesta a una gran variedad de estímulos nocivos se les ha denominado “nociceptores polimodales” (Kopf & Patel, 2010). Se calcula que existen alrededor de 200 fibras tipo C por centímetro cuadrado de piel (Arbonés & Montes, 2009), representando el 80% de todos los nociceptores periféricos (Zegarra, 2007).

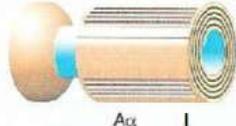
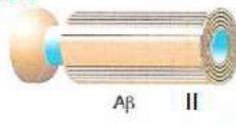
Receptores sensoriales	Axones sensoriales	Diámetro (mm)	Velocidad de conducción (m/seg)
<b>Propiocepción</b> Propioceptores del músculo esquelético	 A $\alpha$ I	13 -- 20	80 -- 120
<b>Tacto, presión, vibración</b> Mecanorreceptores de la piel	 A $\beta$ II	6 -- 12	35 -- 75
<b>Tacto, frío, dolor</b> Receptores para el dolor, la temperatura y parte de la sensibilidad táctil	 A $\delta$ III	1 -- 5	5 -- 30
<b>Calor, dolor</b> Receptores para el dolor y la temperatura	 C IV	.02 -- 1.5	0.5 -- 2

Fig. 7. Fibras sensoriales (Fernandez, 2013)

Existen un grupo particular de nociceptores llamados nociceptores "silenciosos" o "durmientes" que responden sólo cuando están sensibilizados por una lesión tisular (Julius & Basbaum, 2001).

En resumen, los nociceptores son receptores complejos activados por diversas sustancias endógenas que originan potenciales receptores que son traducidos en potenciales de acción, conducidos por fibras nerviosas en dirección central hasta contactar con las neuronas de segundo orden, cuyo soma se encuentra en el asta dorsal de la médula espinal. (Romera & Rodrigo, 2000).

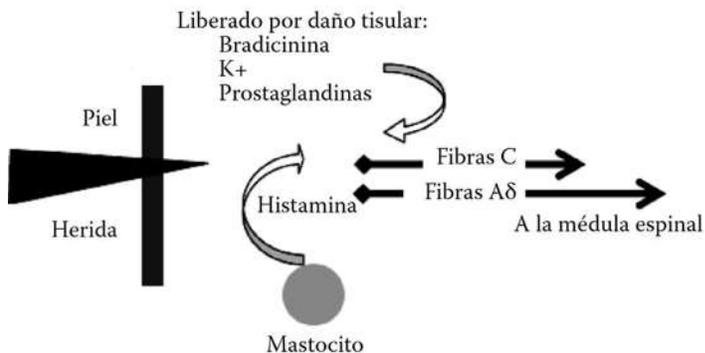


Fig. 8. Productos químicos liberados por al daño de tejido que estimulan los nociceptores (Kopf & Patel, 2010)

### **1.3.1.2 Fases de la nocicepción**

La nocicepción es la percepción de estímulos nocivos y comprende los procesos de transducción, transmisión, modulación y percepción (Woolf, 2004).

#### **1.3.1.2.1 Transducción**

La transducción es la conversión de un estímulo térmico, mecánico o químico nocivo en actividad eléctrica en las terminales periféricas de las fibras sensoriales de los nociceptores (Woolf, 2004). Estos receptores sensoriales al detectar variaciones energéticas en su entorno, las transforman en señales eléctricas, inteligibles para el sistema nervioso central (Ariznavareta & Tamargo, 2005).

Los nociceptores utilizan diferentes mecanismos de transducción de señales para detectar estímulos físicos y químicos (Julius & Basbaum, 2001), la activación de estos puede realizarse directamente, pero normalmente se realiza a través de diversos mediadores que ejercen una acción excitatoria o inhibitoria de las terminaciones nerviosas aferentes (Romera & Rodrigo, 2000). Estas neuronas nociceptoras expresan transductores especializados, receptores de canales iónicos, principalmente canales receptores de potencial transitorio (TRP), sintonizados para responder a intensos estímulos térmicos, mecánicos y mediadores químicos exógenos y endógenos (Costigan & Woolf, 2009).

La estructura primaria común de los canales TRP (Transient Receptor Potential) o receptor potencial transitorio se asemeja a la de los canales de  $K^+$ . En general constan de 6 subunidades transmembranales, estos canales poseen permeabilidad no selectiva a cationes, principalmente al  $Ca^{+2}$  (Herrera & Vargas, 2008). Existen seis familias diferentes de canales TRP con alrededor de 28 miembros, todos los cuales tienen una estructura similar a los poros no selectivos permeables a cationes: la TRPC (Transient Receptor Potential Canonical), TRPV (Transient Receptor Potential Vanilloid), TRPM (Transient Receptor Potential Melastatin), TRPA (Transient Receptor Potential Ankyrin), TRPP (Transient Receptor Potential Polycystin) y TRPML (Transient Receptor Potential Mucolipin), las cuales cumplen

funciones variadas (Fig.9), porque se distribuyen en diferentes tejidos (Binshtok, 2011). En el funcionamiento de los canales TRP está implícita la participación de segundos mensajeros que inducen la liberación de  $Ca^{+2}$ , dando como resultado final la modificación de la permeabilidad iónica y la génesis de impulsos nerviosos que viajan al SNC (Romera & Rodrigo, 2000).

<b>Subfamilia</b>	<b>Miembros</b>	<b>Funciones</b>
TRPC	TRPC1- TRPC7	Fotosensación, olfato y feromonas
TRPV	TRPV1- TRPV6	Termosensación, audición, nocicepción, mecanosensación
TRPM	TRPM1- TRPM8	Gusto, termosensación
TRPA	TRPA1	Termosensación, nocicepción
TRPML	TRPML1- TRPML3	Tráfico vesicular
TRPP	TRPP2, TRPP3, TRPP5	Mecanosensación

**Fig. 9.** Funciones sensoriales de los canales TRP (Herrera & Vargas, 2008)

En general, los canales TRP no son cationes selectivos o canales de sodio que están activados por voltaje, sino que se activan mediante la temperatura, ligandos químicos y fuerzas mecánicas. Una vez que se activan, los canales se abren y los iones de sodio y calcio fluyen hacia el nociceptor en la terminal periférica, produciendo una corriente interna que despolariza la membrana. Si la corriente de despolarización es suficiente para activar los canales de sodio activados por voltaje, también se abrirán, despolarizando aún más la membrana e iniciando una explosión de potenciales de acción, cuya frecuencia y duración reflejan la intensidad y la duración del estímulo nocivo (Woolf, 2004).

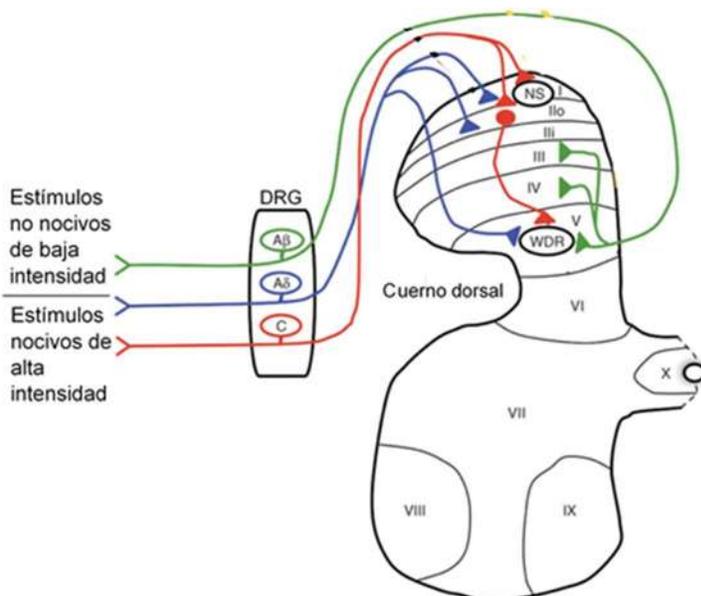
### **1.3.1.2.2 Transmisión**

El estímulo de la fibra nerviosa da inicio a la conducción o llamada también transmisión, el segundo estadio del proceso de la señal nociceptiva (Zegarra, 2007). Es el paso del impulso nervioso desde la fibra o neurona periférica hasta la segunda neurona que se encuentra en el asta dorsal (posterior) de la médula espinal, donde

se liberan neurotransmisores, principalmente el glutamato (Armero & González, 2004).

En la transducción y transmisión del impulso a la médula espinal, está implicada la activación de las fibras A $\delta$  (mielínicas) y las fibras C (amielínicas) polimodales (Romera & Rodrigo, 2000) por estímulos periféricos de alta intensidad, generando corrientes sinápticas rápidas en las neuronas del cuerno dorsal que son mediadas por los receptores a Ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA) / kainato y potencializadas por los receptores a N-metil-D-aspatato (NMDA), que duran decenas de milisegundos en codificar la información sobre el inicio, la intensidad, la calidad, la ubicación y la duración del estímulo nocivo (Ji & Woolf, 2001).

De acuerdo con estos estudios anatómicos, los análisis electrofisiológicos demuestran que las fibras nerviosas aferentes primarias se proyectan hacia el asta dorsal de la columna vertebral, donde se distribuyen en diez capas o láminas (láminas de Rexed), las láminas I a VI están en el asta posterior, las láminas VII a IX en la anterior y la X rodea al canal central (Pedrajas & Molino, 2008).



**Fig. 10.** Proyecciones de las fibras nerviosas aferentes en la lámina de Rexed (modificado de D'Mello & Dickenson, 2008)

Los nociceptores A $\delta$  se proyectan a la lámina I, así como a una capa más profunda del asta dorsal (lámina V). El umbral bajo, que conduce rápidamente a nociceptores A $\beta$ , que responden al toque ligero, proyectan a láminas profundas (III, IV y V). Por el contrario, los nociceptores C se proyectan más superficialmente a las láminas I y II (Fig.10). Es decir que las neuronas de la médula espinal dentro de la lámina I son generalmente sensibles a la estimulación nociva (vía fibras A $\delta$  y C), las neuronas en las láminas III y IV son principalmente sensibles a la estimulación inocua (vía A $\beta$ ), y las neuronas en la lámina V reciben entrada nociva a través de estímulos directos de fibras A $\delta$  y A $\beta$  e indirectos de fibra C (Basbaum & Julius, 2009).

Las fibras nerviosas del ganglio de la raíz dorsal entran en la médula espinal a través de la raíz dorsal y envían ramas de 1 – 2 segmentos arriba y abajo de la médula espinal (tracto dorsolateral de Lissauer) antes de entrar en la materia gris espinal, donde hacen contactos con las neuronas (inervadas) en la lámina I de Rexed (zona marginal) y en la lámina II (substancia gelatinosa). Esto compone la vía espinotalámica para la transmisión de la información sobre dolor (Kopf & Patel, 2010).

### **1.3.1.2.3 Modulación**

La modulación del dolor proporciona la ventaja de la supervivencia aumentada en todas las especies, mediante mecanismos endógenos (Kopf & Patel, 2010) permite que la señal nociceptiva recibida en el asta dorsal de la médula espinal sea selectivamente inhibida, de manera que la señal a los centros superiores es modificada (Zegarra, 2007). Se han descritos tres mecanismos endógenos importantes: inhibición segmentaria, el sistema opioide endógeno y el sistema nervioso inhibitorio descendente (Kopf & Patel, 2010).

Inhibición segmentaria: En 1965 Melzack y Wall postularon la teoría de “compuerta de control del dolor”, que se basa en la activación de las grandes fibras nerviosas mielinizadas (fibras A $\beta$ ) (Kopf & Patel, 2010). La transmisión del dolor en la médula espinal es modulada por un mecanismo de compuerta en las astas dorsales. El mecanismo de control está influenciado por la actividad de las fibras aferentes. La

actividad en las fibras A $\beta$  tiende a inhibir la transmisión (cierran la compuerta), mientras que la actividad de las fibras nociceptivas A $\delta$  y C facilita la transmisión (abren la compuerta) (Pedrajas & Molino, 2008). Esto es una posible explicación de por qué el frotamiento de un área herida reduce la sensación de dolor (Kopf & Patel, 2010).

El mecanismo de compuerta espinal está influenciado por estímulos que descienden de niveles superiores del sistema nervioso central, entre los que se incluyen procesos de origen cognoscitivo (Pedrajas & Molino, 2008).

Sistema opioide endógeno: Los receptores para los derivados del opio fueron encontrados en las células nerviosas de la materia gris periacueductal y la médula ventral, así como en la médula espinal. Este descubrimiento implicó que los productos químicos deben ser producidos por el sistema nervioso, y que son ligandos naturales de estos receptores. Tres grupos de compuestos endógenos (encefalinas, endorfinas y dinorfinas) han sido ligados a los receptores opioides y se mencionan como el sistema opioide endógeno (Kopf & Patel, 2010).

Los opioides endógenos y exógenos pueden actuar en los nociceptores aferentes primarios de las terminales presinápticas, por la vía del receptor opioide  $\mu$ , a través de un bloqueo indirecto de los canales de calcio y de la apertura de los canales de potasio. La inhibición de la entrada de calcio en las terminales presinápticas y la salida de potasio resulta en hiperpolarización con inhibición de la liberación de neurotransmisores del dolor, y por lo tanto, en analgesia (Zegarra, 2007).

Sistema nervioso inhibitorio descendente: De la sustancia gris periacueductal descienden tres vías que juegan un papel central en la inhibición del dolor: la que se dirige a la región rostromedial, una proyección al núcleo paragigantocellularis y, la más importante, la eferencia a los núcleos del rafe, sobre todo al núcleo magnus. La estimulación directa de este núcleo produce analgesia mediada por la acción de neuronas serotoninérgicas, cuyos axones descienden por la parte dorsal del cordón lateral hacia el asta dorsal de la médula espinal, donde hacen sinapsis con interneuronas inhibitorias (Pedrajas & Molino, 2008), lo que conduce a la hiposensibilidad o la falta de dolor, a pesar de las entradas procedentes de la

periferia. Dichos mecanismos inhibitorios tienen un valor evolutivo porque pueden permitir al organismo ignorar el dolor en situaciones críticas, como huir o luchar, y sirven como una base mecanicista para la analgesia inducida por placebo (Kuner, 2010).

Además, la liberación local de sustancias químicas por el proceso inflamatorio como la bradicinina, histamina, prostaglandinas, leucotrienos, acetilcolina, serotonina y sustancia P actúan sobre los nociceptores y modulan la transmisión de la sensación dolorosa (Armero & González, 2004). El umbral de excitación de una neurona va a depender de la suma de los efectos de estas sustancias; algunas sensibilizan mientras que otras desensibilizan. Si predominan los efectos sensibilizadores, un estímulo nociceptivo que llegue por vía sináptica a nivel espinal será capaz de generar una señal ascendente intensa. Por otro lado, si predominan los efectos desensibilizadores, el estímulo nociceptivo que llegue por vía sináptica a la médula se atenuará ahí. Este balance entre efectos sensibilizadores y desensibilizadores es lo que llamamos modulación (Castañeda-Hernández, 2020).

#### **1.3.1.2.4 Percepción**

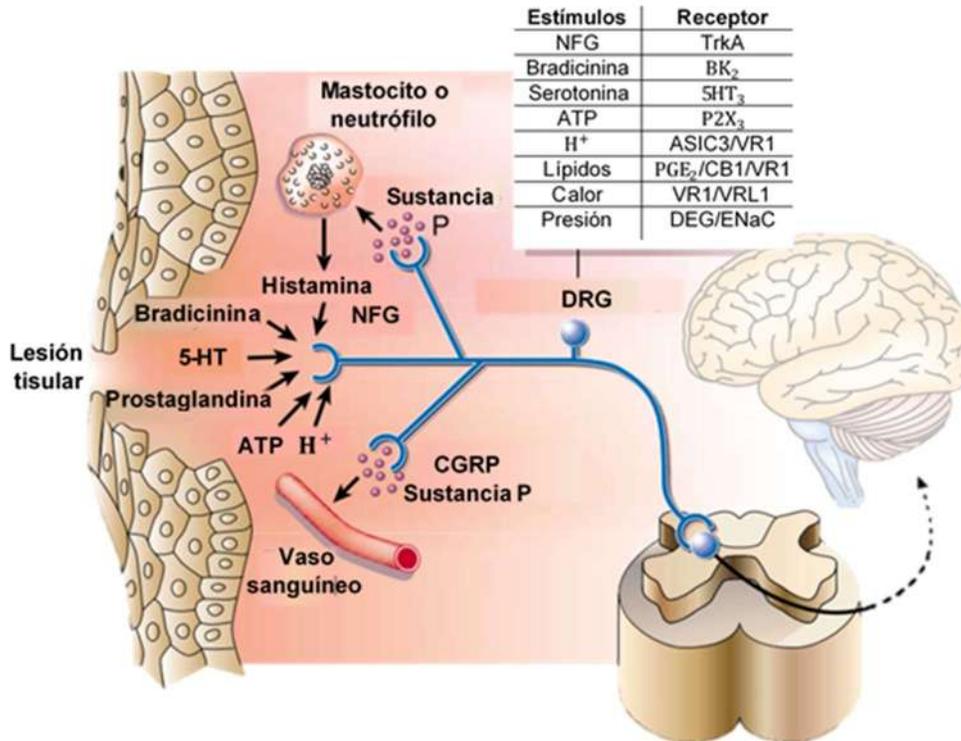
La percepción es el proceso por el cual se integran los impulsos nociceptivos en la corteza cerebral (con factores cognoscitivos y emocionales), para crear la experiencia subjetiva de dolor (Ortega-Varela L. F., 2014). Dicha experiencia se percibe en la corteza y, en consecuencia, se envía información a la médula espinal para permitir la retirada ante un estímulo nocivo (Kuner, 2010).

Los impulsos nociceptivos son transmitidos, modulados, e integrados en diferentes niveles del sistema nervioso, van desde la periferia por vía medular a centros superiores (Romera & Rodrigo, 2000), principalmente al tálamo, a través de la vía espino-talámica, aunque se ven involucradas otras estructuras como el retículo bulbar y el mesencefálico. Desde el tálamo, la información nociceptiva es transmitida a la corteza cerebral, donde se produce el procesamiento definitivo de la sensación dolorosa. La estimulación de los núcleos parabraquiales se proyecta

al núcleo amigdalino, implicado en el control de las emociones y se piensa que interviene en el componente afectivo del dolor (Armero & González, 2004).

### **1.3.2 Sensibilización periférica**

La sensibilización periférica representa una forma de plasticidad funcional provocada por estímulos del nociceptor. Dicho estímulo es un conjunto de mediadores inflamatorios liberados de las células lesionadas e inflamatorias reduciendo el umbral y aumentando la capacidad de respuesta, esencialmente en el sitio de la lesión / inflamación y como resultado del cambio producido por la rotura de las células; la desgranulación de los mastocitos, secreción por células inflamatorias e inducción de enzimas como la ciclooxygenasa-2 y en consecuencia los nociceptores cambian de ser detectores de estímulos exclusivamente nocivos para ser detectores también de estímulos de baja intensidad que ahora provocan dolor. Una amplia gama de sensibilizadores incluyen; cininas, aminas, prostanoïdes, factores de crecimiento, quimiocinas, y citoquinas, que con protones y ATP forman una "sopa inflamatoria" (Fig. 11) (Woolf & Ma, 2007). Algunos de estos factores actúan directamente sobre el nociceptor de la terminal para activarlo y producir dolor (activadores de nociceptor), y otros sensibilizan la terminal para que se vuelva hipersensible a los estímulos posteriores (sensibilizadores de nociceptor) (Woolf, 2004).



**Fig. 11.** Sensibilización periférica en respuesta a los mediadores inflamatorios liberados en el sitio de la lesión tisular. Se muestran algunos de los componentes principales de la "sopa inflamatoria", incluidos péptidos (bradicinina), lípidos (prostaglandinas), neurotransmisores (serotonina [5-HT] y ATP) y neurotrofinas (NGF). La naturaleza ácida de la sopa inflamatoria también está indicada. Cada uno de estos factores sensibiliza (baja el umbral) o excita los nociceptores de las terminales al interactuar con los receptores de la superficie celular expresados por estas neuronas. En el recuadro se indican ejemplos de estos factores y objetivos moleculares representativos (modificado de Julius & Basbaum, 2001).

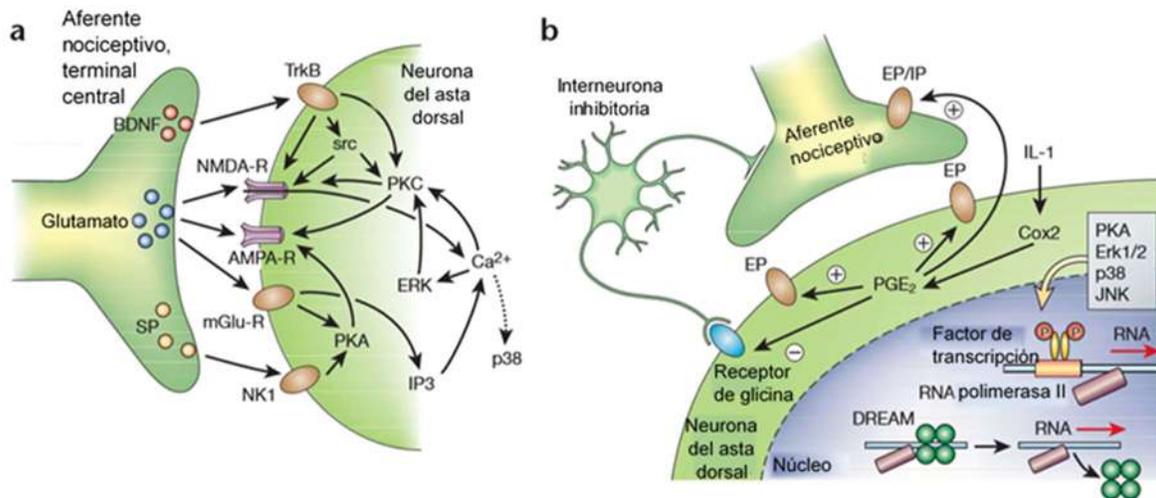
Los mediadores inflamatorios activan las vías de transducción de señales intracelulares en el nociceptor de la terminal, lo que provoca un aumento en la producción, el transporte y la inserción de los canales del transductor y los canales iónicos activados por voltaje en la membrana. El umbral para la activación se reduce y la excitabilidad de la membrana aumenta (Costigan & Woolf, 2009).

### 1.3.3 Sensibilización central

La sensibilización central (SC) es un incremento en la excitabilidad de las neuronas del SNC, especialmente en las neuronas medulares de segundo orden, encargadas de transmitir hacia el encéfalo información aferente que procede de los nociceptores periféricos. En un estado de SC, las neuronas hiperexcitables se activan con mayor facilidad, tienden a distorsionar o amplificar el dolor, aumentando su grado, duración

y extensión espacial ante la entrada de una señal nociceptiva periférica (Azkue & Aguilera, 2007).

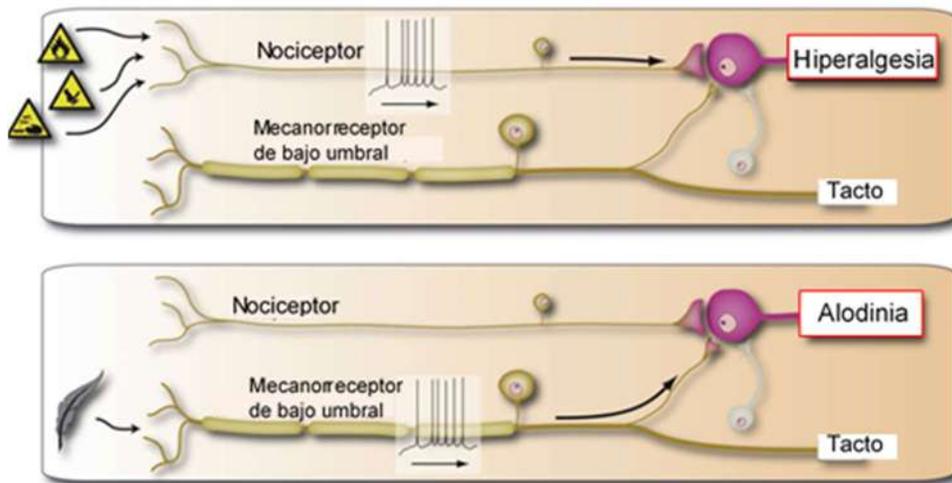
El aumento de la transmisión sináptica en el asta dorsal puede empezar casi de inmediato como resultado de la fosforilación y el tráfico de receptores o canales iónicos dependientes de voltaje. La SC puede ser sostenida por algún tiempo por los cambios transcripcionales, incluyendo la inducción de genes tales como COX2 para generar PGE 2, que altera la excitabilidad de las neuronas (Fig. 12) (Scholz & Woolf, 2002).



**Fig. 12.** Sensibilización central inmediata (a) Un incremento inmediato y relativamente de corta duración en la excitabilidad y la capacidad de respuesta de las neuronas del asta dorsal en la transmisión de dolor, debido a la fosforilación de los canales iónicos, receptores y la liberación y la activación de cinasas intracelulares. Finalmente, se aumenta la respuesta a las entradas normalmente inocuas. Sensibilización central sostenida (b). Aumento de la expresión de genes debido a la activación de factores de transcripción tales como COX2 para generar PGE 2, resulta en cambios de larga duración en la función de las neuronas del asta dorsal para facilitar y reducir la transmisión inhibitoria (modificado de Scholz & Woolf, 2002).

El dolor nociceptivo refleja la percepción de estímulos nocivos. Sin embargo, después del descubrimiento de la SC se hizo evidente que un estímulo nocivo, aunque suficiente, no es necesario para producir dolor. Si la ganancia de neuronas en el SNC aumenta, podrían activarse mediante entradas inocuas, y contribuir a la generación de estados clínicos de dolor patológico, como un aumento en la capacidad de respuesta y efectos secundarios prolongados a estímulos nocivos (hiperalgesia), una reducción en el umbral (alodinia), (Fig. 13) y una expansión del

campo receptivo, donde áreas fuera del sitio lesionado se vuelven sensibles (hiperalgesia secundaria) (Woolf, 2004).



**Fig. 13.** Sensibilización central. Aumenta la eficacia sináptica y se reduce la inhibición, de modo que las entradas sensoriales de umbral bajo ahora pueden activar el circuito de dolor (modificado de Woolf, 2011).

La SC es un mecanismo fisiopatológico importante común al dolor inflamatorio, neuropático y disfuncional. La actividad generada por los nociceptores durante la inflamación produce una facilitación homo y heterosináptica de inicio rápido en la médula espinal. En el dolor neuropático, la actividad continua que se origina en los nervios lesionados es el activador de la sensibilización central. En el dolor disfuncional, el desencadenante no está claro (Costigan & Woolf, 2009).

## 1.4 Mediadores del dolor

El daño tisular causa la liberación de numerosos agentes químicos como: mediadores (bradicinina, citocinas, eicosanoides), neurotransmisores (serotonina, histamina), iones potasio ( $K^+$ ) e hidrógeno ( $H^+$ ), diversos péptidos (sustancia P, opioides), y ciertas sustancias como las prostaglandinas y los leucotrienos que disminuyen la activación de los nociceptores (Romera & Rodrigo, 2000).

### 1.4.1 Bradicinina

El daño tisular promueve la liberación o producción de péptidos bioactivos de células no neurales y proteínas plasmáticas en el sitio de la lesión. El principal de ellos es

la bradicinina no peptídica, la cual produce despolarización inmediata de membrana, causando excitación y/o sensibilización de los nociceptores aferentes primarios que provocan dolor e hiperalgesia, así como sensibilización a estímulos nocivos o incluso inocuos (Julius & Basbaum, 2001), en exudados inflamatorios y en tejidos lesionados con gran capacidad de producir dolor. Activa los nociceptores a través de la fosfolipasa C (aumenta el calcio intracelular y los despolariza), y los sensibiliza mediante la fosfolipasa A2 por medio de la síntesis de prostaglandinas E2 (PGE2). (Romera & Rodrigo, 2000).

Durante muchos años, la bradicinina ha sido un objetivo terapéutico de elección, debido a su función prominente en la patogénesis del dolor inflamatorio (Rang & Urban, 1995). Hasta hace poco, la mayoría de los antagonistas del receptor de bradicinina eran péptidos y, en consecuencia, mostraban una difusión pobre hacia los objetivos terapéuticos. El desarrollo de antagonistas no peptídicos es prometedor como fuente de agentes terapéuticos para una amplia gama de afecciones (inflamación, asma y dolor) (Coutaux & Bars, 2005).

### **1.4.2 Sustancia P**

La sustancia P (SP) es un neuropéptido de 11 aminoácidos que forma parte de la familia de las taquiquininas. Fue descubierta por Von Euler y Gaddum en 1931, aislada del cerebro equino y los extractos intestinales, se purificó y se secó en forma de polvo (Harrison & Geppetti, 2001). Se secreta principalmente por neuronas sensoriales y está involucrada en muchos procesos biológicos, incluidos la nocicepción y la inflamación.

La expresión de la sustancia P se limita al sistema nervioso central (SNC) y al sistema nervioso periférico (SNP), funciona como un neurotransmisor o neuromodulador estimulante cuando es liberado centralmente y como un mediador proinflamatorio cuando se libera periféricamente (Kopf & Patel, 2010). Media las interacciones entre las neuronas y las células inmunes, lo que sugiere un papel integral de la sustancia P en la respuesta inmune (Mashaghi & Dana, 2016).

La sustancia P ejerce su actividad inmunológica a través de receptores de neurocinina acoplados a proteína G (NKR), llamados receptor de neurocinina 1 (NK1R), NK2R y NK3R. La apertura de estos receptores permite el paso de  $\text{Ca}^{+2}$  extracelular al citosol. Esta entrada de calcio provoca la activación de la fosfolipasa C, que causa la formación de inositol trifosfato ( $\text{IP}_3$ ) y diacilglicerol (DAG). El  $\text{IP}_3$  aumenta el aporte de  $\text{Ca}^{+2}$  citosólico, el resultado final es una enorme concentración de calcio, hasta cien veces mayor que la concentración basal, lo que produce un evidente efecto despolarizante. Entre los tres, NK1R tiene la mayor afinidad por la SP, la interacción SP-NK1R regulan la función de las células en el sistema inmune (Suvas, 2017).

La sustancia P causa liberación de la histamina de los mastocitos, incrementando por consiguiente la vasodilatación e hinchazón (Rang & Urban, 1995). Esta compleja señalización química protege el área herida produciendo comportamientos que mantienen aislada esta área promoviendo la curación y protección contra la infección, y le ayudan el aumento del flujo sanguíneo y la inflamación (“función protectora del dolor”) (Kopf & Patel, 2010).

Los opioides bloquean o anulan la liberación de esta sustancia P (Romera & Rodrigo, 2000).

### **1.4.3 Prostaglandinas**

Los mediadores inflamatorios desencadenan la producción de ácido araquidónico (AA) en una amplia gama de células, lo que resulta en la formación de prostanoïdes a través de la vía de la ciclooxigenasa (COX) (Rang & Urban, 1995). La prostaglandina E2 (PGE2) y la prostaciclina (PG12) se producen en exceso durante la inflamación y aun que no activan directamente los nociceptores, juegan un papel importante en la sensibilización de otros mediadores químicos como la bradicinina (Dray & Dickenson, 1994), es decir, son potenciadoras del dolor secundario, sensibilizan los receptores y contribuyen al desarrollo de la hiperalgesia periférica (Romera & Rodrigo, 2000).

Hasta la fecha, se han identificado dos isoformas de la enzima COX, la isoforma COX-1, que está constantemente expresada en los tejidos (ciclooxigenasa constitutiva), se encuentra de manera normal en el estómago, los vasos sanguíneos y los riñones, asociándose a los procesos fisiológicos de protección del epitelio gástrico, el funcionamiento renal y la agregación plaquetaria (Coutaux & Bars, 2005). En contraste la COX-2 generalmente se considera inducible porque aparece en los tejidos inflamados, siendo estimulada por mediadores asociados a los procesos de inflamación (citocinas, factor de crecimiento, liposácaridos, entre otros) (Martínez-Omaira, 2011). Sin embargo, la COX-2 también se expresa constitutivamente en áreas no asociadas con inflamación, incluido el cerebro, el timo, el intestino y el riñón (Kirkby & Gomez, 2016).

Las prostaglandinas sintetizadas por la COX-2 sensibilizan a las terminales nerviosas de las neuronas que modulan el dolor (nociceptivas), por lo que el tratamiento con fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) tiene un efecto analgésico, debido a que disminuye la producción de estas sustancias, al inhibir la enzima COX (Granados-Soto, 2020).

#### **1.4.4 Glutamato**

El glutamato es el principal aminoácido excitatorio en el SNC, puede participar en los procesos de transmisión nociceptiva a nivel de la médula espinal, siendo el principal responsable de la transmisión sináptica rápida (Danbolt, 2001). La activación de las fibras aferentes nociceptivas tipo-C produce la liberación de glutamato y SP en la primera sinapsis, por lo que estos son los dos principales neurotransmisores en las vías del dolor (Neira & Ortega, 2004).

La acción del glutamato en las vías del dolor está mediada en su mayor parte a través de receptores ionotrópicos (AMPA, NMDA y kainato), los cuales se encuentran ligados a canales de calcio, y en menor medida por receptores

metabotrópicos (mGluR), acoplados a la proteína G (Bleakman & Nisenbaum, 2006).

Los receptores NMDA se localizan en las células del asta posterior de la médula espinal (ME). Su activación se relaciona con la transmisión en fibras aferentes nociceptivas, posiblemente fibras A $\delta$  y C (Neira & Ortega, 2004). El glutamato produce un influjo de sodio/calcio al unirse al receptor NMDA y consecutivamente la despolarización de la membrana en la neurona postsináptica (Romera & Rodrigo, 2000). Por su parte, los receptores AMPA están presentes en todo el cerebro, tras la unión del glutamato, el receptor abre el canal de iones y conduce a un cambio de potencial en la membrana, conocido como potencial postsináptico excitatorio (Platt, 2007). Los receptores de kainato generalmente juegan un papel excitador, en las membranas de las neuronas postsinápticas, también pueden modular la liberación de GABA de neuronas inhibitorias, se han identificado en los ganglios sensoriales y dentro del asta dorsal de la médula espinal (Bleakman & Nisenbaum, 2006).

La transmisión mediada por glutamato es de fundamental importancia en la hiperexcitabilidad que se induce en la médula espinal y otras vías centrales en el dolor crónico. De hecho, los antagonistas de los receptores NMDA son inhibidores potentes del aumento sostenido de la excitabilidad en las células del asta dorsal, y tanto los antagonistas competitivos como los antagonistas no competitivos inhiben tanto el dolor de la inflamación como el de las lesiones isquémicas y neuropáticas (Dray & Dickenson, 1994).

#### **1.4.5 Óxido nítrico**

El óxido nítrico (NO) es uno de los neurotransmisores más abundantes en los procesos de regulación del estímulo nociceptivo. La estimulación de las neuronas nociceptivas aferentes produce la activación de los receptores NMDA y desencadena la producción de NO a nivel de la médula espinal (Armero & González, 2004). Las células endoteliales lo sintetizan a partir de la L-arginina ante la

presencia de múltiples agonistas como el ATP, la trombina, la bradicinina, la serotonina, etc. (F Tresguerres, 2005)

El NO es importante para la comunicación intercelular en el tejido periférico y en el SNC, incluidas las vías nociceptivas. Esto generalmente se logra mediante la activación de la guanilato ciclasa y la producción de cGMP. Las neuronas sensoriales sintetizan NO y aumentan las concentraciones de cGMP (Dray & Dickenson, 1994)

### **1.4.6 Histamina**

Durante la lesión del tejido y la activación del nociceptor, los mastocitos pueden liberar histamina cuando son estimulados por la sustancia P que se libera de los terminales del nociceptor, lo que ayuda en la producción de una serie de respuestas inflamatorias como la vasodilatación y el edema. Además, la aplicación de histamina provoca excitación en los nociceptores. La histamina es uno de los mediadores inflamatorios más conocidos, evoca las sensaciones de picazón a bajas concentraciones y dolor a concentraciones más altas. La activación de los receptores de histamina puede aumentar la permeabilidad de  $Ca^{+2}$  de la membrana y la liberación de taquicinas y del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), lo que resulta en interacciones complejas adicionales, incluidos cambios vasculares y desgranulación de mastocitos. (Dray & Dickenson, 1994)

La histamina potencia las respuestas de los nociceptores a la bradicinina y al calor, lo que sugiere que, en condiciones de inflamación, la histamina puede desempeñar un papel en la producción de hiperalgesia (Johanek & Meyer, 2006).

### **1.4.7 Serotonina**

La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) es principalmente conocida por su función como neurotransmisor dentro del SNC, está involucrada en muchos procesos, incluida la cognición, la memoria (Nau Jr & Nichols, 2013) y el procesamiento y la modulación del dolor. Por otra parte, la acción de la 5-HT a nivel periférico es

diferente de las acciones centrales, se considera un mediador inflamatorio (Sommer, 2004) ya que media procesos importantes en la función del sistema inmune, lo que puede conducir a un aumento o disminución de las citocinas proinflamatorias (Nau Jr & Nichols, 2013). La liberación de 5-HT en tejidos inflamados o lesionados contribuye a la sensibilización periférica de las fibras nerviosas.

Los receptores 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub> y 5-HT<sub>3</sub> son los implicados en este proceso. El receptor 5-HT<sub>3</sub> se ha identificado como un receptor importante para las acciones de la 5-HT en la periferia, y difiere de los demás porque es el único canal iónico dependiente de voltaje.

La 5-HT se libera de plaquetas y mastocitos después de una lesión tisular y ejerce acciones directas sobre las fibras C produciendo dolor leve y transitorio por la activación directa de las neuronas sensoriales a través de los receptores 5-HT<sub>3</sub> (Dray & Dickenson, 1994). La activación del receptor 5-HT<sub>2</sub> está asociada con aumento de la liberación de Ca<sup>+2</sup> intracelular, por su parte, la activación del receptor 5-HT<sub>1</sub> regula negativamente el adenosín monofosfato cíclico (AMPC), generando una reducción de la corriente inhibitoria de K<sup>+</sup> (Shajib & Khan, 2015).

### **1.4.8 Opioides endógenos**

Como ya hemos señalado, el sistema opioide desempeña un papel central en el control de la sensación dolorosa (Armero & González, 2004), está presente en las terminaciones de neuronas postganglionares simpáticas y bloquea la síntesis de prostaglandinas E<sub>2</sub>, reduciendo la hiperalgesia en áreas inflamatorias y en tejidos lesionados (Romera & Rodrigo, 2000).

Se han identificado tres tipos de receptores de opioides: mu, delta y kappa. Los opioides endógenos que se unen a estos receptores son las encefalinas, la beta-endorfina y las dinorfinas. La estimulación eléctrica de la región anterior del hipotálamo y de varias zonas de la sustancia gris periacueductal produce analgesia mediada por endorfinas (Pedrajas & Molino, 2008).

## 1.5 Tratamiento del dolor

El objetivo del tratamiento farmacológico debe perseguir el control del síntoma o su alivio, entendiendo por control su desaparición, y por alivio la mejoría en la percepción del mismo. (Tabares & Silva, 2013). Los fármacos que alivian y actúan sobre el dolor y no sobre otro tipo de sensaciones, se denominan analgésicos. La palabra analgesia significa «sin dolor» (Medina & Domínguez, 2007).

Hace ya más de veinte años que la OMS recomendó una estrategia de tres escalones para el tratamiento del dolor, a los que sucesivamente se asciende al no obtener el objetivo de alivio (Pedrajas & Molino, 2008). Parece estar demostrado que siguiendo el orden analgésico de dicha escalera, algunos de los fármacos propuestos para tratamiento del dolor neuropático tienen escaso valor terapéutico. De hecho, los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos, así como los opioides, a menudo fracasan frente al dolor neuropático, siendo los fármacos más efectivos para este dolor, y que los especialistas recomiendan, los estabilizadores de membrana, los antiepilépticos (FAE) y los antidepresivos (AD), desarrollados inicialmente para otros cuadros clínicos y que luego han encontrado su sitio en el manejo del dolor (Gálvez & Romero, 2006).

La estructura básica de la escalera analgésica de la OMS es la siguiente:

- En el primer escalón o inferior (en caso de dolor leve): analgésicos no opioides con o sin adyuvantes.
- Segundo escalón o intermedio (dolor moderado): opioides menores con o sin fármacos no opioides y adyuvantes.
- Tercer escalón o superior (dolor severo): opioides mayores con o sin fármacos no opioides y adyuvantes (Pedrajas & Molino, 2008).

Actualmente, la escalera analgésica sufre algunas modificaciones al considerarse que puede alcanzar hasta cuatro escalones que integran el uso de vías alternativas y técnicas invasivas y considerando, además, fármacos coanalgésicos, intervención psicológica y de apoyo emocional (Fig. 14) (Tabares & Silva, 2013).

Escala analgésica de la O.M.S.			
Escalón I	Escalón II	Escalón III	Escalón IV
Analgésicos no opioides ± Coanalgésicos	Opioides débiles ± Coanalgésicos	Opioides potentes ± Coanalgésicos ± Escalón I	Métodos Invasivos ± Coanalgésicos
-----	Escalón I	-----	
Paracetamol AINE Metamizol	- Codeína Tramadol	Morfina Oxicodona Fentanilo Metadona Buprenorfina	

Fig. 14. Escala analgésica de la OMS (modificación de Puebla, 2005)

Por otra parte, para conocer la intensidad del dolor se utiliza una escala análoga con al menos dos opciones: la escala verbal análoga (5 puntos) y la escala visual análoga (regla de 0 a 10). En la primera se le pide al paciente que describa la intensidad de su dolor mediante 5 puntos: 1) ausencia de dolor; 2) leve; 3) moderado; 4) fuerte, y 5) muy fuerte. En la segunda medición, se le pide al paciente que señale en una escala de 0 a 10 su nivel de dolor, donde 0 es ausencia de dolor y 10 es el máximo dolor que una persona puede tolerar (Fig. 15) (Granados-Soto, 2020). El objetivo de dichas escalas es evaluar, reevaluar y comparar el dolor, su aplicación fundamental es la valoración de la respuesta al tratamiento, más que el diagnóstico (Tabares & Silva, 2013).

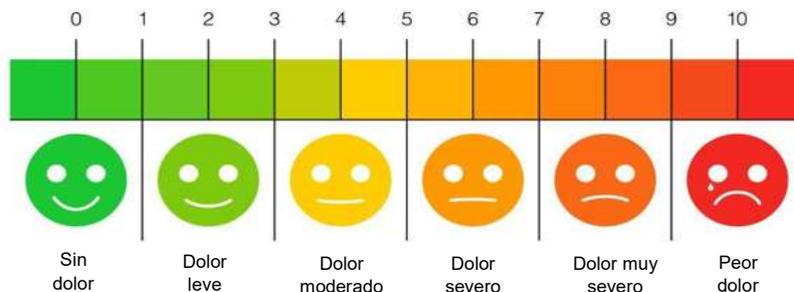


Fig. 15. Escalas análogas del dolor (modificado de Herrera, 2019)

### **1.5.1 Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)**

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), son uno de los tipos de medicamentos para el dolor más comúnmente recetados. Son responsables de aproximadamente el 5-10% de todos los medicamentos prescritos cada año (Wongrakpanich & Rangaswami, 2018). Son un grupo con propiedades analgésicas, antipiréticas, antiagregantes y antiinflamatorias, indicados en el dolor leve o moderado de tipo nociceptivo (Tabares & Silva, 2013), y constituyen el primer escalón en la escalera analgésica de la OMS.

Los AINEs inhiben a la enzima ciclo-oxigenasa (COX), responsable de la síntesis de las prostaglandinas (PGs) a partir de ácido araquidónico. A la fecha, se han descrito al menos dos isoformas: COX-1 y COX-2 (Torres-López & Granados-Soto, 2001). La COX-1 produce prostaglandinas y tromboxano A<sub>2</sub>, que controlan la barrera de la mucosa en el tracto gastrointestinal, la homeostasis renal, la agregación plaquetaria y otras funciones fisiológicas. La COX-2 produce PGs relacionadas con inflamación, dolor y fiebre (Wongrakpanich & Rangaswami, 2018).

Las prostaglandinas sintetizadas por la COX-2 sensibilizan a las terminales nerviosas de las neuronas que modulan el dolor (nociceptivas), por lo que el tratamiento con AINEs tiene un efecto analgésico debido a que disminuye la producción de estas sustancias (Granados-Soto, 2020). Recientemente han sido sintetizados compuestos inhibidores selectivos de la COX-2, conocidos como la familia de los coxibs (rofecoxib, parecoxib, celecoxib, valdecoxib, etc.) (Medina & Domínguez, 2007). La inhibición de la producción de PGs por la inhibición de la COX-2 reduce la excitabilidad por la transmisión mediante glutamatos y, por lo tanto, ejerce un efecto antihiperálgico (Andreas & Nilesh, 2010).

Loa AINEs sin embargo, se utilizan indiscriminadamente provocando la inhibición de la agregación plaquetaria y prolongan el tiempo de sangrado debido a la inhibición de la síntesis de tromboxanos A<sub>2</sub> en las plaquetas (Flores, 2011). También poseen efectos indeseables a nivel del tracto gastrointestinal, como

dispepsia, ulceraciones, sangrado o perforación; cuando se administran por largos periodos de tiempo y en grandes cantidades conducen a insuficiencia renal (Armenta, 2000).

### **1.5.2 Opioides**

La molécula prototipo de los opioides es la morfina, un compuesto natural que se extrae de la flor de amapola, conocida como adormidera o *Papaver somniferum* (Granados-Soto, 2020). Este tipo de opioides es conocido desde la antigüedad y fue cosechado no sólo por su efecto eufórico, sino también por su potente efecto analgésico (Schäfer, 2010).

El término opioide se refiere a todos compuestos, tanto naturales como sintéticos, semisintéticos y endógenos (como las endorfinas), que tienen acciones similares a la morfina, mientras que los opiáceos se refieren a compuestos que son derivados del *Papaver somniferum*, como la morfina y la codeína (Somogyi & Coller, 2007).

En contraste con muchos otros analgésicos, los opioides siguen siendo los medicamentos analgésicos más potentes capaces de controlar estados de dolor severo. Su mecanismo de acción está mediado por unión a diversos receptores, siendo los principales los receptores mu del sistema nervioso central. Se suele distinguir entre opioides menores, aquellos adscritos al segundo escalón de la OMS, de los que prácticamente hoy sólo se usan el tramadol y la codeína; y opioides mayores, en el tercer escalón analgésico, como la morfina (Pedrajas & Molino, 2008).

Los analgésicos opioides son altamente eficaces, pero como es bien sabido los pacientes que consumen opioides pueden desarrollar en cualquiera de sus combinaciones tolerancia, dependencia y adicción (Pedrajas & Molino, 2008), además de que no poseen efectos antiinflamatorios y presentan numerosos efectos indeseables, como la depresión respiratoria, lo cual limita su utilidad terapéutica, sobre todo en situaciones de dolor crónico (Armenta, 2000).

### **1.5.3 Adyuvantes**

Desde hace varias décadas, el descubrimiento de la efectividad para el tratamiento del dolor con medicamentos cuya creación tenía otros fines, abrió la puerta a nuevas oportunidades para disminuir el sufrimiento de los pacientes y mejorar su calidad de vida (Dávila, 2010). Estos adyuvantes son recomendados en cada etapa de la escala propuesta por la OMS y, a veces, incluso podrían ser un medicamento de primera línea antes de comenzar con analgésicos no opioides u opioides (Andreas & Nilesh, 2010). Los más prescritos corresponden a antidepresivos (amitriptilina), anticonvulsivantes (carbamazepina, fenitoína, gabapentina, pregabalina), neurolépticos (haloperidol, clorpromazina), anestésicos locales orales, antihistamínicos, benzodiazepinas (diazepam, tetracepam), calcitonina, bifosfonatos, corticoides y otros (Pedrajas & Molino, 2008).

#### **1.5.3.1 Fármacos anticonvulsivos**

Los fármacos anticonvulsivos se han utilizado en el tratamiento del dolor desde la década de 1960 (Wiffen & Moore, 2005), y se han convertido en la base del tratamiento del dolor neuropático crónico, ya que la farmacoterapia de este tipo de dolor ha sido decepcionante (Mixcoatl-Zecuatl & Granados-Soto, 2008). De hecho, varios de estos agentes están aprobados por la Agencia de Medicamentos y Alimentación (FDA) para el tratamiento de síndromes de dolor específicos (Ettinger & Argoff, 2007).

Los anticonvulsivos trabajan interactuando con diferentes mecanismos, por ejemplo, a través de los canales de sodio dependiente de voltaje o por los canales de calcio de alto umbral. Los anticonvulsivos bloquean el canal de sodio, como la carbamazepina, oxcarbazepina o lamotrigina, muestran los mejores resultados en el dolor punzante, en pacientes donde el cáncer se ha infiltrado al plexo nervioso o en la neuralgia del trigémino (Kopf & Patel, 2010). También se ha descubierto que los anticonvulsivos con efectos psicotrópicos establecidos (por ejemplo, carbamazepina, valproato y lamotrigina) causan un aumento de 5 hidroxitriptamina

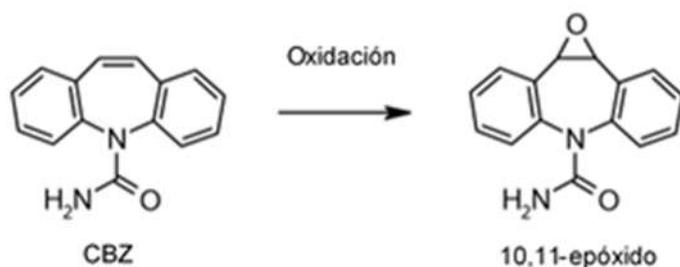
(5HT) (Ettinger & Argoff, 2007), misma que participa en las vías descendentes y que sirve para inhibir la entrada de estímulos dolorosos (Aoki & Harada, 2006).

Si bien los mecanismos analgésicos específicos de los anticonvulsivos no se conoce completamente, es intuitivo que puedan amortiguar muchas de las causas propuestas para el dolor crónico, como la sensibilización periférica, la sensibilización central, la hiperexcitabilidad, la desinhibición neuronal y el impulso ectópico (Zúñiga-Romero, et al., 2014).

### **1.5.3.1.1 Carbamazepina**

En los últimos años, se ha hecho un uso cada vez mayor del efecto analgésico de los antidepresivos tricíclicos, agentes que bloquean la transmisión simpática y que reducen la excitabilidad de la membrana (Rang & Urban, 1995). La carbamazepina (CBZ) es un derivado de iminoestilbeno, estructuralmente similar a los antidepresivos tricíclicos (Ambrósio & Carvalho, 2002). La CBZ es un compuesto neutro y liposoluble que puede pasar fácilmente la barrera hematoencefálica y otras membranas del cuerpo (Albani & Baruzzi, 1995). Fue descubierta por el químico Walter Schindler en 1953, y quien logró sintetizarla en 1960 y fue hasta 1962 que comenzó a comercializarse para el tratamiento de la neuralgia del trigémino y en 1965 como antiepiléptico (Cuéllar, 2013). La CBZ es usada principalmente en el tratamiento de la epilepsia, el trastorno bipolar y en el tratamiento de crisis maniaca aguda (Okuma & Kishimoto, 1998). Sin embargo, la CBZ ha demostrado ser útil para el tratamiento de dolor neuropático, especialmente la neuralgia del trigémino,

la neuralgia postherpética y las neuropatías diabética e isquémica (Aoki & Harada, 2006).



**Fig. 16.** Estructura química de la carbamazepina (CBZ) y su metabolito CBZ 10,11-epóxido (Beydoun & Kutluay, 2002)

Las características farmacocinéticas de la CBZ son complejas debido a su baja solubilidad en agua y porque auto-induce su metabolismo. Administrada por vía oral se absorbe lenta y erráticamente (Campiglia & Rodríguez, 2006), tiene una biodisponibilidad del 80% y una absorción lenta y variable en el sistema gastrointestinal, con una alta unión a proteínas plasmáticas (Wiffen & McQuay, 2011), se metaboliza ampliamente en el hígado generando el metabolito CBZ 10,11-epóxido (Fig. 16). Solo el 1% de la dosis administrada se excreta en forma inalterada (Ambrósio & Carvalho, 2002).

Recientemente, los cambios en los canales iónicos han llamado la atención como una posible etiología del dolor neuropático. Los tratamientos que modulan los canales iónicos dirigidos se basan en las reorganizaciones conocidas de los canales iónicos en los neuromas, los ganglios de la raíz dorsal, la médula espinal y el cerebro después de una lesión nerviosa. Se sabe que los canales de Na<sup>+</sup> y de Ca<sup>2+</sup> se activan de forma anormal, se regulan positivamente o ambos y, por lo tanto, bloquear estos canales ofrece la posibilidad de reducir el dolor neuropático (Hahm & Yu, 2012).

Existe evidencia que indica que la CBZ puede interactuar con diferentes tipos de canales y receptores, como se resume en la Tabla 1. Sin embargo, el principal objetivo de la CBZ son los canales de Na<sup>+</sup> dependientes de voltaje de la membrana neuronal (Ambrósio & Carvalho, 2002). La CBZ tiene la capacidad de unirse a canales de Na<sup>+</sup> dependientes de voltaje cuando están en el estado inactivo,

disminuyendo la velocidad de la reactivación y, por tanto (Albani & Baruzzi, 1995), disminuyendo las descargas de alta frecuencia de los potenciales de acción, lo que significa que hay menos canales de Na<sup>+</sup> dependientes de voltaje disponibles para abrir, lo que hace que las células cerebrales sean menos excitables (Wiffen & McQuay, 2011). Dicha capacidad de bloquear la conductancia iónica permite que la CBZ suprima las fibras A $\delta$  y C espontáneamente activas, responsables del dolor, sin afectar la conducción nerviosa normal (Backonja, 2002).

<b>Tabla 1. Mecanismos de acción de la carbamazepina (Modificado de Ambrósio &amp; Carvalho, 2002)</b>	
<b>Canales/ Receptores</b>	<b>Mecanismo</b>
Canales de Na <sup>+</sup> dependientes de voltaje	Inhibición
Canales de Ca <sup>+2</sup> dependientes de voltaje	Inhibición
Canales de K <sup>+</sup> dependientes de voltaje	Inhibición de potenciación
Receptor de adenosina	Antagonismo del receptor A <sub>1</sub> Antagonismo del receptor A <sub>2</sub> Agonismo A <sub>2</sub>
Sistema serotoninérgico	Aumento de la concentración de serotonina extracelular
Sistema dopaminérgico	Aumento de la transmisión dopaminérgica
Sistema glutamatérgico	Inhibición de la liberación de glutamato
Receptores de benzodiazepinas de tipo periférico (PBRs)	Interacción con los PBRs
cAMP	Disminución del nivel de AMPc basal y estimulado

La CBZ es muy efectiva en el tratamiento del dolor neuropático; sin embargo, sus efectos secundarios a dosis terapéuticas afectan el sistema nervioso central y el sistema gastrointestinal, causando sedación, ataxia, mareos, náuseas, vómitos, estreñimiento y diarrea (Ambrósio & Carvalho, 2002), así como síndrome de Steven Johnson, agranulocitosis, anemia aplásica y toxicidad hepática (Dávila, 2010). Por ello la necesidad de alternativas que permitan disminuir dichos efectos adversos.

### **1.5.3.2 Fármacos antidiabéticos**

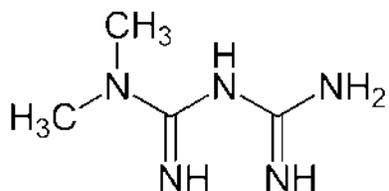
Se estima que 285 millones de personas viven con diabetes mellitus (DM) y el 90% tiene diabetes tipo 2. La neuropatía ocurre en el 50-60% de los pacientes y el dolor se manifiesta en alrededor del 30% de los pacientes diabéticos con neuropatía (Byrne & Chapman, 2015).

El manejo clínico del dolor neuropático periférico diabético es desafiante, y la respuesta a los tratamientos existentes a menudo es inadecuada (Tesfaye & Freynhagen, 2013). Por lo tanto, se necesitan nuevos enfoques de tratamientos novedosos, eficientes y seguros, dirigidos a los mecanismos moleculares en la patología inducida por la lesión nerviosa periférica, nuevas vías de transducción de señales y proteínas involucradas en el procesamiento del dolor.

Los fármacos antidiabéticos con mecanismo de acción sobre la activación de la proteína cinasa activada por monofosfato de adenosina (AMPK), se han asociado con efectos beneficiosos en estados hiperglucémicos en diabetes, con la reducción de la obesidad, los procesos inflamatorios y recientemente se descubrió un papel adicional de la AMPK en modelos de dolor agudo y neuropático (Hundal & Inzucchi, 2003).

#### **1.5.3.2.1 Metformina**

La metformina, una biguanida es un fármaco antidiabético ampliamente prescrito y seguro que se usa en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (Fig.17). La metformina suprime la gluconeogénesis hepática y aumenta la sensibilidad a la insulina de los tejidos periféricos (Ortiz, 2013). Su eficacia en la reducción de la hiperglucemia es similar a la de las sulfonilureas, las tiazolidinedionas y la insulina (Kirpichnikov & Sowers, 2002).



**Fig. 17.** Estructura química de la metformina (Amini & Gazerani, 2005)

Debido a que varios trastornos inflamatorios artríticos son altamente prevalentes en pacientes diabéticos, recientemente, se demostró que la metformina posee propiedades analgésicas en los modelos de dolor inflamatorio y neuropático (Pecikoza & Stepanović-Petrović, 2016).

Si bien la metformina tiene muchos mecanismos de acción, la mayoría de estos convergen en la proteína cinasa activada por AMP (AMPK) (Inyang & Price, 2019), La AMPK es una enzima presente en todos los mamíferos para regular los procesos anabólicos, actúa como un "sensor de energía" que se activa en estados de déficit de adenosina trifosfato (ATP). La AMPK se expresa en varios tejidos como el hígado, el corazón, el esqueleto, el músculo y el cerebro (Russe & Niederberger, 2013). Además del mantenimiento del equilibrio energético, la AMPK está involucrada en la inflamación, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas y juega un papel clave en el manejo del dolor (Ge & Yan, 2018). Estudios han demostrado que la activación de la AMPK en el ganglio de la raíz dorsal, conduce a una disminución de mTORC1 (enzima que actúa como transductor de señales) y señalización de AMPK, lo que en consecuencia lleva a una disminución de la excitabilidad de las neuronas nociceptivas (Inyang & Price, 2019), por lo que la AMPK juega un papel crucial en los efectos analgésicos de la metformina (Ge & Yan, 2018).

#### **1.5.4 Combinaciones analgésicas**

La combinación de fármacos con diferentes mecanismos de acción puede proporcionar cobertura multimodal de un amplio espectro de dolor, además, permite que los agentes individuales actúen de forma sinérgica (Raffa, 2001). Cuando se combinan fármacos con diferentes mecanismos de acción, se logra la eficacia

analgésica usando dosis más pequeñas y se reducen los efectos secundarios (Hahm & Yu, 2012). Si los dos fármacos actúan juntos, producen un efecto combinado que es consistente con sus potencias individuales, denominado efecto aditivo, si el efecto es mayor que aditivo, se denomina efecto sinérgico y si es menor que aditivo, el efecto se denomina subaditivo (Tallarida, 2016).

El análisis isoblográfico es una herramienta útil para determinar la interacción que se presenta cuando se combinan fármacos conocidos. Dicho análisis implica el cálculo donde la dosis del fármaco A que es efectivamente equivalente a la dosis del fármaco B y permite una comparación con efectos de combinación real, para determinar si la interacción es sinérgica, aditiva, o subaditiva.

La terapia de combinación es muy adecuada para el manejo del dolor, dadas las múltiples vías de señalización implicadas, además, ha sido recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la American Pain Society (APS) y el Colegio Americano de Reumatología (ACR) (Raffa, 2001).

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El estudio de la carga mundial de enfermedades 2016, reafirmó que el alto protagonismo del dolor y las enfermedades relacionadas con el dolor es la principal causa de discapacidad y carga de morbilidad a nivel mundial (Mills & Smith, 2019). Gran parte del tratamiento clínico disponible en la actualidad es sólo parcialmente eficaz y puede estar acompañado de efectos secundarios angustiantes o tiene potencial de abuso (Scholz & Woolf, 2002).

México en particular tiene una disponibilidad muy baja de medicamentos para el dolor, a pesar de tener un sistema de salud más avanzado y una legislación sobre cuidados paliativos más desarrollada que la mayoría de los países latinoamericanos (Lincoln & Goss, 2019). Los opioides son herramientas invaluable para el tratamiento del dolor oncológico y terminal, pero en México hay poco acceso a estas sustancias (Granados-Soto, 2020).

Otro de los problemas a los que se enfrenta nuestro país es a la automedicación con analgésicos. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) constituyen el 68% de los medicamentos que se adquieren sin receta médica. En este grupo se incluyen fármacos muy comunes, como ácido acetilsalicílico (aspirina), ibuprofeno, diclofenaco, ketorolaco, indometacina, naproxeno y paracetamol, entre otros (Granados-Soto, 2020).

Asimismo, se piensa que los anticonvulsivos y los antidepresivos (fármacos que se utilizan en el tratamiento del dolor neuropático) sólo son para los tratamientos psiquiátricos (Granados-Soto, 2020).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

En la actualidad, se cuenta con una gran cantidad de fármacos para el tratamiento del dolor, sin embargo, estos pueden causar efectos adversos en los pacientes o ser ineficaces ante dicho padecimiento. La terapia analgésica está dominada actualmente por dos clases principales de fármacos, los opioides y los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), para lo cual los AINE llegan a ser ineficaces y el uso repetido de opioides lleva al desarrollo de tolerancia a sus efectos analgésicos, además de que pueden producir adicción. Si a esto se suma que en nuestro país hay poca disponibilidad de opioides para el tratamiento del dolor, la necesidad de buscar alternativas farmacológicas para el manejo del dolor es mayor. Una de las alternativas terapéuticas que se usan con frecuencia es la combinación de fármacos con diferentes mecanismos de acción, esto con el fin de lograr un efecto mejorado sin usar una cantidad en exceso de ninguno de los agentes y así reducir los efectos adversos.

Por ello, se decidió investigar la interacción de la combinación entre la carbamazepina, un fármaco antiepiléptico que ha demostrado ser eficaz en el tratamiento del dolor neuropático, mediante el bloqueo de los canales de  $\text{Na}^+$  dependientes del voltaje y la metformina, un fármaco antidiabético ampliamente utilizado, quien posee efectos benéficos sobre el sistema nervioso, ya que en estudios recientes se ha demostrado que posee propiedades analgésicas en

modelos de dolor inflamatorio, además podría inhibir la neuropatía diabética dolorosa, a través de la vía de la AMPK. Como se mencionó anteriormente, son fármacos con distintos mecanismos de acción, y de los cuales no hay estudios farmacológicos que demuestren el efecto analgésico sinérgico entre la combinación metformina-carbamazepina.

## **4. HIPÓTESIS**

La combinación metformina-carbamazepina produce un efecto analgésico superior al inducido por los fármacos administrados individualmente, en la prueba de la formalina por vía periférico local y vía oral.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto analgésico de la combinación metformina –carbamazepina por dos vías de administración, en el modelo de la formalina en ratas, como alternativa potencial en el tratamiento de dolor inflamatorio.

### **5.2 Objetivos específicos**

1. Determinar el efecto antinociceptivo de metformina y carbamazepina de manera individual y en combinación por vía oral y por vía periférico local, en el modelo de la formalina.
2. Evaluar las interacciones de la combinación mediante el análisis isobolográfico.
3. Determinar el grado de sinergismo de la combinación por ambas vías de administración.

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 Animales**

Los experimentos se realizaron con ratas Wistar hembras de 230-340g de peso, que tuvieron libre acceso a alimento y agua antes de la experimentación. Las pruebas se realizaron entre las 11:00 a.m. y las 4:00 p.m. Los animales se aclimataron en cámaras de observación de acrílico individuales durante al menos 1 h antes del ensayo. Cada rata se utilizó solamente una vez y fueron sacrificadas en una cámara saturada con CO<sub>2</sub> (Torres-López & Granados-Soto, 2001). Todos los experimentos se realizaron tomando en cuenta los diferentes lineamientos éticos y guías establecidas para la investigación en animales (Bugarín & Saenz, 2003) y siguiendo las regulaciones establecidas en la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones, técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

### **6.2 Fármacos**

La carbamazepina se adquirió de Novag Infancia, S.A. de C.V. y la metformina de Laboratorios Pisa, S.A. de C.V. La metformina se diluyó en 1ml de solución salina como vehículo, mientras que la carbamazepina fue suspendida en un vehículo de 800µl de propilenglicol y 200 µl de solución salina con tween 80 al 3% (Naseri & Saghaei, 2012), por su baja solubilidad en agua.

### **6.3 Formalina**

La formalina es una solución de formaldehído al 37% disuelta en agua, la cual inicialmente fue introducida dentro del campo del estudio del dolor por Dubuisson y Dennis, hace 30 años, cuando describieron los efectos conductuales tras la inyección de una solución diluida de formalina al 5% en las patas delanteras de gatos y ratas (Dubuisson & Dennis, 1977). En el presente estudio la formalina se utilizó al 1% basándose en estudios más recientes (León-Reyes & Ortiz, 2008 ; Zúñiga-Romero et al., 2014).

## 6.4 Prueba de la formalina

La utilización de los modelos experimentales de sensibilidad al dolor (nocicepción) se justifica para el ensayo de nuevos tratamientos farmacológicos para el alivio del mismo (Ortega & Micó, 2002). Dichos modelos incluyen pruebas de umbrales, de respuesta a estímulos de alta intensidad (pruebas de dolor agudo) y de cambios espontáneos o que evocan respuestas conductuales en animales con lesión periférica o inflamación (modelos de dolor persistente) (Bannon & Malmberg, 2007).

Las pruebas más tradicionales de nocicepción, como las pruebas de movimiento de la cola y de placa caliente se basan en una sola fase con estímulo de alta intensidad y la experiencia nociceptiva es de corta duración. La prueba de la formalina es diferente de la mayoría de los modelos de dolor porque es posible evaluar la forma en que un animal responde al dolor moderado y continuo generado por el tejido lesionado (Tjølsen & Hole, 1992), y se considera un modelo de dolor inflamatorio que produce dos fases bien identificadas de comportamiento nociceptivo (Ambriz-Tututi & Granados-Soto, 2011). La primera fase está relacionada con la activación directa de los nociceptores por la formalina, se cree que esta respuesta es causada por una explosión de actividad de las fibras del dolor (particularmente las fibras C) y dura de 0-10 min (Tomić & Stepanović-Petrović, Antiepileptic drugs as analgesics/adjuvants in inflammatory pain: current preclinical evidence, 2018 ), mientras que la segunda fase generalmente comienza de 15 a 20 min después de la inyección de formalina y continúa aproximadamente 1 hora (Dubuisson & Dennis, 1977); esta fase, llamada tónica, es consecuencia de una reacción inflamatoria y de la sensibilización de las vías del dolor, también se cree que la respuesta conductual de la segunda fase está mediada por la llamada sensibilización central (Bannon & Malmberg, 2007).

En el presente estudio, la antinocicepción se evaluó mediante la prueba de la formalina (Dubuisson & Dennis, 1977). Se utilizaron ratas Wistar hembras de 230-340g de peso, las cuales tuvieron libre acceso a alimento y agua antes de la experimentación. Se colocó la rata en una cámara de observación transparente de acrílico de 20 cm de diámetro y 30 cm de altura durante 1 hora, para permitirle

acostumbrarse al nuevo ambiente. En la parte trasera de estos cilindros previamente se colocaron dos espejos de 30 x 30 cm cada uno, formando un ángulo de 45° entre ellos para facilitar la observación de la pata inyectada (Torres-López & Granados-Soto, 2001). Pasado el tiempo de aclimatación y 20 minutos antes de la prueba de la formalina, con ayuda de una cánula se administraron vía oral las diferentes dosis de la metformina (30-1000 mg/Kg), carbamazepina (10-300 mg/Kg) y su combinación como se muestra en la tabla 2. Posteriormente las ratas fueron envueltas en una manta cuidadosamente para una mejor manipulación y así poder administrar por vía subcutánea 50 µL de formalina al 1% en el dorso de la pata derecha trasera, utilizando una aguja de calibre 27 G. Posterior, se realizó la observación inmediata en la que se cuantificó la conducta nociceptiva con base en el número de sacudidas de la pata inyectada durante un minuto y se repitió el proceso cada 5 minutos hasta completar una hora (Wheeler-Aceto & Cowan, 1990). Para la vía periférico local se administró la metformina (50-400 µg/pata), carbamazepina (25-200 µg/pata) y su combinación como se muestra en la tabla 3 en el dorso de la pata derecha trasera. Se utilizó un grupo control con una n=6 para cada vía. Para la vía oral se administró solución salina de acuerdo al peso 1mL/Kg y para la vía periférico local se administró 50 µL/pata de solución salina en el dorso de la pata derecha trasera. Al final del experimento las ratas fueron sacrificadas en una cámara saturada con CO<sub>2</sub>.

## **6.5 Prueba del Rota-rod**

La prueba de la varilla giratoria, desarrollada por primera vez por Dunham y Miya (1957), es una prueba de detección de uso frecuente para evaluar los efectos neurológicos de varios fármacos (Hamm & Jenkins, 1994). Se usa ampliamente para evaluar la coordinación motora de roedores (Shiotsuki & Hattori, 2010). Como se usó originalmente, el procedimiento requería que la rata mantuviera su equilibrio en una varilla que gira a una velocidad constante. Jones y Roberts en 1968 aumentaron la sensibilidad de la tarea aumentando gradualmente la velocidad a la que giraba la barra mientras el animal caminaba sobre la misma. Varios informes han investigado los efectos de los depresores del SNC en el rendimiento sobre la

varilla giratoria y han encontrado que el dispositivo es una herramienta útil para evaluar la función motora (Hamm & Jenkins, 1994).

En el presente estudio se evaluó la coordinación motora de las ratas utilizando la prueba del Rota-rod para descartar la posibilidad de que las acciones antinociceptivas de la combinación metformina-carbamazepina, se deban a alteraciones no específicas de la actividad locomotora de los animales y para evaluar la sedación/ataxia inducida por los fármacos involucrados (Pecikoza & Stepanović-Petrović, 2016). Dos días antes de la prueba los animales fueron pre-entrenados en un aparato rotativo de aceleración (Panlab 8500, Cornellá BCN, España) a 7 rpm y solo los animales capaces de permanecer en la barra giratoria durante un período de 180 segundos como tiempo de corte fueron seleccionados (Naseri & Saghaei, 2012). Los animales entrenados se dosificaron oralmente con la combinación más alta de metformina-carbamazepina (454.3195 mg/kg-99.4693 mg/kg) y en el caso del grupo control negativo con solución salina 1mL/Kg en grupos con n=6 como se indica en la tabla 4. La prueba se repitió 30 min después de la inyección de la combinación o el vehículo en el grupo de control negativo (Stepanovic-Petrovic & Boškovic, 2008). Para el control positivo se utilizó un grupo con una n=6 al que se le administró Diazepam 10 mg/Kg vía oral, ya que es un fármaco que provoca alteraciones de la actividad locomotora (Zúñiga-Romero, et al., 2014).

## 7. DISEÑO DEL ESTUDIO

### 7.1 Tamaño de la muestra

Se usaron un total de 174 ratas Wistar, las cuales fueron divididas en un total de 7 grupos experimentales.

<b>Tabla 2.</b> Tabla de distribución de dosis de carbamazepina y metformina vía oral y periférico local				
<b>Grupo experimental n=6 por dosis</b>				
<b>Fármacos vía oral</b>				
Metformina	30 mg/Kg	100 mg/Kg	300 mg/Kg	1000 mg/Kg
Carbamazepina	10 mg/Kg	30 mg/Kg	100 mg/Kg	300 mg/Kg

<b>Fármacos vía local</b>				
Metformina	50 µg/pata	100 µg/pata	200 µg/pata	400 µg/pata
Carbamazepina	25 µg/pata	50 µg/pata	100 µg/pata	200 µg/pata
<b>Grupos control n=6</b>				
Control vía oral		Solución salina 1mL/Kg		

Las dosis de la combinación metformina-carbamazepina fueron determinadas mediante análisis isoblográfico.

<b>Tabla 3.</b> Tabla de distribución de dosis de la combinación metformina-carbamazepina vía oral y periférico local		
<b>Grupo experimental de la combinación oral n=6 por dosis</b>		
<b>Combinación vía oral</b>	Metformina	Carbamazepina
1	56.7899 mg/Kg	12.4337 mg/Kg
2	113.5799 mg/Kg	24.8673 mg/Kg
3	227.1597 mg/Kg	49.7347 mg/Kg
4	454.3195 mg/Kg	99.4693 mg/Kg
<b>Grupo experimental de la combinación periférico local n=6 por dosis</b>		
<b>Combinación vía local</b>	Metformina	Carbamazepina
1	8.1254 µg/pata	4.6261 µg/pata
2	16.2509 µg/pata	9.2522 µg/pata
3	32.5017 µg/pata	18.5045 µg/pata
4	65.0034 µg/pata	37.0090 µg/pata
<b>Grupos control n=6</b>		
Control vía periférico local		Solución salina 50 µL/pata

<b>Tabla 4.</b> Tabla de distribución de dosis para la prueba del Rota-rod		
<b>Prueba de Rota-rod n=6</b>		
Combinación oral	Metformina	Carbamazepina
		454.3195 mg/Kg
<b>Control positivo Rota-rod vía oral n=6</b>		
Diazepam 10 mg/Kg		
<b>Control negativo Rota-rod n=6</b>		
Solución salina 1mL/Kg		

## 7.2 Vía de administración

Para la administración oral, los animales recibieron vehículo en el caso de los controles o dosis crecientes de metformina (30–1000 mg/Kg), carbamazepina (10–300 mg/Kg), o la combinación metformina-carbamazepina, 20 minutos antes de la inyección de formalina. En la administración local, las ratas recibieron una inyección subcutánea (50 µL) de vehículo o dosis crecientes de metformina (50–400 µg/pata), carbamazepina (25–200 µg/pata), o la combinación metformina-carbamazepina en la superficie dorsal de la pata trasera derecha, 20 minutos antes de la inyección de formalina en la misma pata (ipsilateral). Para ambas rutas de administración, las dosis se seleccionaron sobre la base de un estudio piloto, así como estudios previos (Zúñiga-Romero et al., 2014; Pecikozá et al., 2016).

## 8. ANÁLISIS DE DATOS

Todos los resultados se presentan como el promedio  $\pm$  el error estándar (E.E.) de al menos 6 animales por grupo. Se construyeron cursos temporales de la respuesta antinociceptiva de fármacos individuales y sus combinaciones trazando el número medio de sacudidas de la pata en función del tiempo (Fig. 18). El área bajo el número de sacudidas de la pata contra el tiempo (ABC) para las fases 1 y 2 se calculó mediante el método de los trapezoides. Los datos de dosis-respuesta se presentan como el porcentaje de antinocicepción calculado a partir del ABC de la fase 2 de la prueba de la formalina. Aunque se observó un efecto antinociceptivo significativo durante la fase 1, se omitió porque no se encontró una respuesta dependiente de la dosis administrada. Después, el porcentaje de antinocicepción en la fase 2 se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación (Ortega-Varela et al., 2007).

$$\% \text{ Antinocicepción} = (ABC_{\text{grupo control}} - ABC_{\text{tratamiento}} / ABC_{\text{grupo control}}) \times 100$$

## 8.1 Análisis isoblográfico

Se ha demostrado previamente que, para evaluar la interacción farmacológica entre dos o más fármacos conocidos, el análisis isoblográfico es una herramienta crítica (Tallarida, 2016). Este método está basado en la selección particular de un nivel de efecto que usualmente es del 50% del efecto máximo ( $E_{max}$ ), aun que pueden emplearse distintos niveles de efecto si son obtenidos por cada fármaco (Grabovsky & Tallarida, 2004). En el presente estudio utilizamos este método para determinar la naturaleza de las interacciones farmacológicas entre la metformina y la carbamazepina. Considerando un efecto máximo del 100% como la supresión total de sacudidas inducidas por formalina. La metformina y la carbamazepina administrados localmente no pudieron lograr una respuesta del 50% y, por lo tanto, no fue posible calcular el valor de la dosis efectiva 50 ( $DE_{50}$ ), por lo que estimamos el valor  $DE_{30}$  para la vía local y el valor de  $DE_{50}$  para la vía oral. Posteriormente, se obtuvo una curva dosis-respuesta mediante la administración simultánea de los dos fármacos en una proporción de dosis constante, basada en los valores  $DE_{30}$  y  $DE_{50}$  de cada agente individual (Zúñiga-Romero et al., 2014).

Para determinar si la interacción entre la metformina y la carbamazepina administrados en combinación fue sinérgica, aditiva o antagónica, el valor teórico del aditivo  $DE_{50}$  se estimó a partir de la curva dosis-respuesta de cada fármaco administrado individualmente, es decir, considerando que el efecto observado con la combinación da como resultado la suma de los efectos individuales de cada componente. Este valor teórico de  $DE_{50}$  se comparó luego con el valor experimental de  $DE_{50}$  para determinar si hay una diferencia estadísticamente significativa. Los valores teóricos y experimentales de las dosis efectivas de las combinaciones estudiadas también se contrastaron calculando el índice de interacción ( $\gamma$ ) (Jiménez-Andrade et al., 2003) donde:

$$\gamma = DE_{50} (\text{experimental}) / DE_{50} (\text{teórica})$$

El índice de interacción indica qué porción de la  $DE_{50}$  de los medicamentos individuales representa la  $DE_{50}$  correspondiente en la combinación, es decir, valores

cercanos a 1 corresponden a una interacción aditiva, valores superiores a 1 implican una interacción antagonista, y valores inferiores a 1 indican una interacción sinérgica (Ortega-Varela et al., 2007).

## **8.2 Análisis estadístico**

Los datos de las curvas dosis-respuesta se analizaron mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) con la prueba de Tuckey para la comparación post-hoc. Las diferencias se consideraron significativas cuando se obtuvo un valor de  $P < 0.05$ .

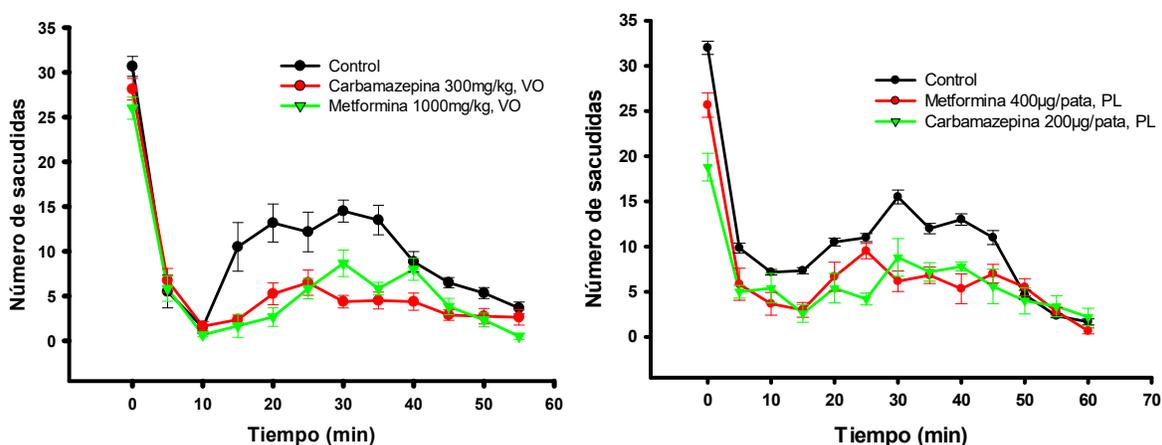
## **9. RESULTADOS**

### **9.1 Efecto antinociceptivo de la administración oral de la metformina, la carbamazepina y su combinación**

La inyección de formalina produjo un patrón típico de comportamiento de sacudida de la pata administrada. La primera fase comenzó inmediatamente después de la administración de formalina y luego disminuyó gradualmente en aproximadamente 10 minutos, el final de esta fase es marcado casi por la ausencia de la sacudida de la pata. La segunda fase comenzó a los 15 min y duró hasta 1 h. La administración vía oral de metformina y carbamazepina produjeron una reducción del comportamiento de retroceso en ratas inducido por formalina al 1% (Fig. 18). Ninguno de los vehículos analizados (solución salina o solución de propilenglicol con Tween 80 al 3%) fue significativamente diferente entre sí en ambas fases de la prueba (Zúñiga-Romero et al., 2014).

Cuando los datos se presentan como ABC, se puede ver claramente que la metformina, la carbamazepina y su combinación administrados por vía oral presentaron un efecto analgésico significativo dependiente de la dosis en la fase 2, pero no en la fase 1 (Fig. 19). Cabe mencionar la diferencia significativa entre el control y las diferentes dosis de metformina y de carbamazepina respectivamente

durante ambas fases. Estos resultados están de acuerdo con datos informados previamente (León-Reyes & Ortiz, 2008).



**Fig. 18.** Curso temporal del efecto antinociceptivo de la metformina y la carbamazepina en ratas sometidas a la estimulación nociva con formalina (1%) después de la administración oral y periférico local de los fármacos. Los datos se expresan como la media de sacudidas  $\pm$  E.E. de 6 animales observados con las mayores dosis probadas. Se observaron diferencias significativas en todos los tratamientos durante las fases 1 y 2 (fase 1: de 0-10 min; fase 2: 15 $\geq$ 60min) por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Tukey. Se omitieron los asteriscos en visto de la claridad.

Los valores de  $DE_{50}$  para la vía oral, se calcularon a partir de las curvas de dosis-respuesta, los cuales se sometieron a un análisis isoblográfico el cual proporciona una base para evaluar si la respuesta inducida por la combinación de los fármacos son mayores, iguales o menores de lo teóricamente esperado de sus efectos individuales. La  $DE_{50}$  de metformina fue de  $908.63 \pm 280.87$  mg/Kg y de carbamazepina fue de  $198.9386 \pm 56.0154$  mg/Kg. La dosis efectiva 50 teórica ( $DE_{50T}$ ) de la combinación carbamazepina-metformina se calculó en  $553.789 \pm 143.2047$  mg/Kg, pero experimentalmente dicho efecto se observó con  $460.578 \pm 50.5715$  mg/Kg, que corresponden a la dosis efectiva 50 experimental ( $DE_{50E}$ ). Los valores experimentales fueron más bajos que los esperados de una interacción puramente aditiva. La línea de dosis teóricamente aditiva representa todos los puntos de las dosis de metformina-carbamazepina (Fig. 21). La comparación de los valores experimentales y teóricos de  $DE_{50}$  usando la prueba t de Student arrojó diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ). El índice de interacción ( $\gamma$ ) fue

de 0.832 lo cual indica un efecto sinérgico en la combinación, ya que fue inferior a 1 (Tabla 5).

## **9.2 Efecto antinociceptivo periférico local de la metformina**

Mediante graficas de curso temporal se observa el comportamiento de la metformina administrada vía periférico local durante las dos fases, la cual tuvo efecto significativo respecto al control, ya que hubo una reducción del comportamiento de sacudida de la pata en las ratas, inducido por formalina al 1% (Fig. 18) (Guzmán-Priego & Torres-López, 2017).

En un segundo estudio, en la fase 2 la metformina indujo un aumento dependiente de la dosis en el porcentaje de antinocicepción (Fig. 20), sin embargo, no mostró un efecto dosis dependiente durante la fase 1. La administración periférica local de la metformina produjo efectos significativos durante ambas fases respecto al control. La DE30 de la metformina vía periférico local fue de  $130.007 \pm 25.4792$  mg/Kg.

## **9.3 Efecto antinociceptivo periférico local de la carbamazepina**

La administración periférico local de la carbamazepina durante la fase 2 (15min-60min) indujo un aumento dependiente de la dosis en el porcentaje de antinocicepción (Guzmán-Priego & Torres-López, 2017). Sin embargo, la inhibición en la fase 1 no estuvo relacionada con la dosis. Cabe mencionar que al igual que la metformina, la carbamazepina vía periférico local también presento efectos significativos tanto en la fase 1 como en la fase 2 respecto al control (Fig. 20). La DE30 para la carbamazepina administrada vía periférico local fue de  $74.0180 \pm 19.4401$  mg/Kg.

En un segundo conjunto de análisis, investigamos la evolución temporal de la carbamazepina en la nocicepción inducida por formalina al 1%, mostrando efecto significativo, provocando una reducción del número de sacudidas respecto al control (Fig.18).

## 9.4 Efecto antinociceptivo periférico local de la combinación metformina-carbamazepina

La administración de la combinación metformina-carbamazepina vía periférico local indujo un aumento dependiente de la dosis en el porcentaje de antinocicepción durante la fase 2 (Fig. 20) (Guzmán-Priego & Torres-López, 2017).

Se calcularon los valores de  $DE_{30T}$  ( $102.012 \pm 16.0243 \mu\text{g/pata}$ ) de la combinación carbamazepina-metformina administrada vía local periférico y los de la  $DE_{30E}$  ( $21.727 \pm 1.1057 \mu\text{g/pata}$ ) la cual se sitúa claramente por debajo de la línea de dosis teóricamente aditiva, lo que indica interacciones sinérgicas entre metformina y carbamazepina después de la administración local (Fig. 21). La comparación de los valores experimentales y teóricos de  $DE_{50}$  usando la prueba t de Student arrojó diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ). El índice de interacción ( $\gamma$ ) fue de 0.213 lo cual indica un efecto sinérgico en la combinación, ya que fue inferior a 1 (Tabla 5).

<b>Tabla 5.</b> Parámetros del análisis isoblográfico para metformina y carbamazepina vía oral y periférico local				
<b>Fármacos administrados vía oral</b>				
<b><math>DE_{50} \pm E.E.</math> Metformina (mg/Kg)</b>	<b><math>DE_{50} \pm E.E.</math> Carbamazepina (mg/Kg)</b>	<b><math>DE_{50} \pm E.E.</math> Teórica (mg/Kg)</b>	<b><math>DE_{50} \pm E.E.</math> Experimental (mg/Kg)</b>	<b>Índice de interacción (<math>\gamma</math>) <math>\pm E.E.</math></b>
908.63 $\pm$ 280.87	198.9386 $\pm$ 56.0154	553.789 $\pm$ 143.2047	460.578 $\pm$ 50.5715	0.832 $\pm$ 0.2337
<b>Fármacos administrados vía periférico local</b>				
<b><math>DE_{30} \pm E.E.</math> Metformina (<math>\mu\text{g/pata}</math>)</b>	<b><math>DE_{30} \pm E.E.</math> Carbamazepina (<math>\mu\text{g/pata}</math>)</b>	<b><math>DE_{30} \pm E.E.</math> Teórica (<math>\mu\text{g/pata}</math>)</b>	<b><math>DE_{30} \pm E.E.</math> Experimental (<math>\mu\text{g/pata}</math>)</b>	<b>Índice de interacción (<math>\gamma</math>) <math>\pm E.E.</math></b>
130.007 $\pm$ 25.4792	74.0180 $\pm$ 19.4401	102.012 $\pm$ 16.0243	21.727 $\pm$ 1.1057	0.213 $\pm$ 0.0352
<b>E.E.</b> = Error estándar <b><math>DE_{50}</math></b> = Dosis efectiva 50 <b><math>DE_{30}</math></b> = Dosis efectiva 30				

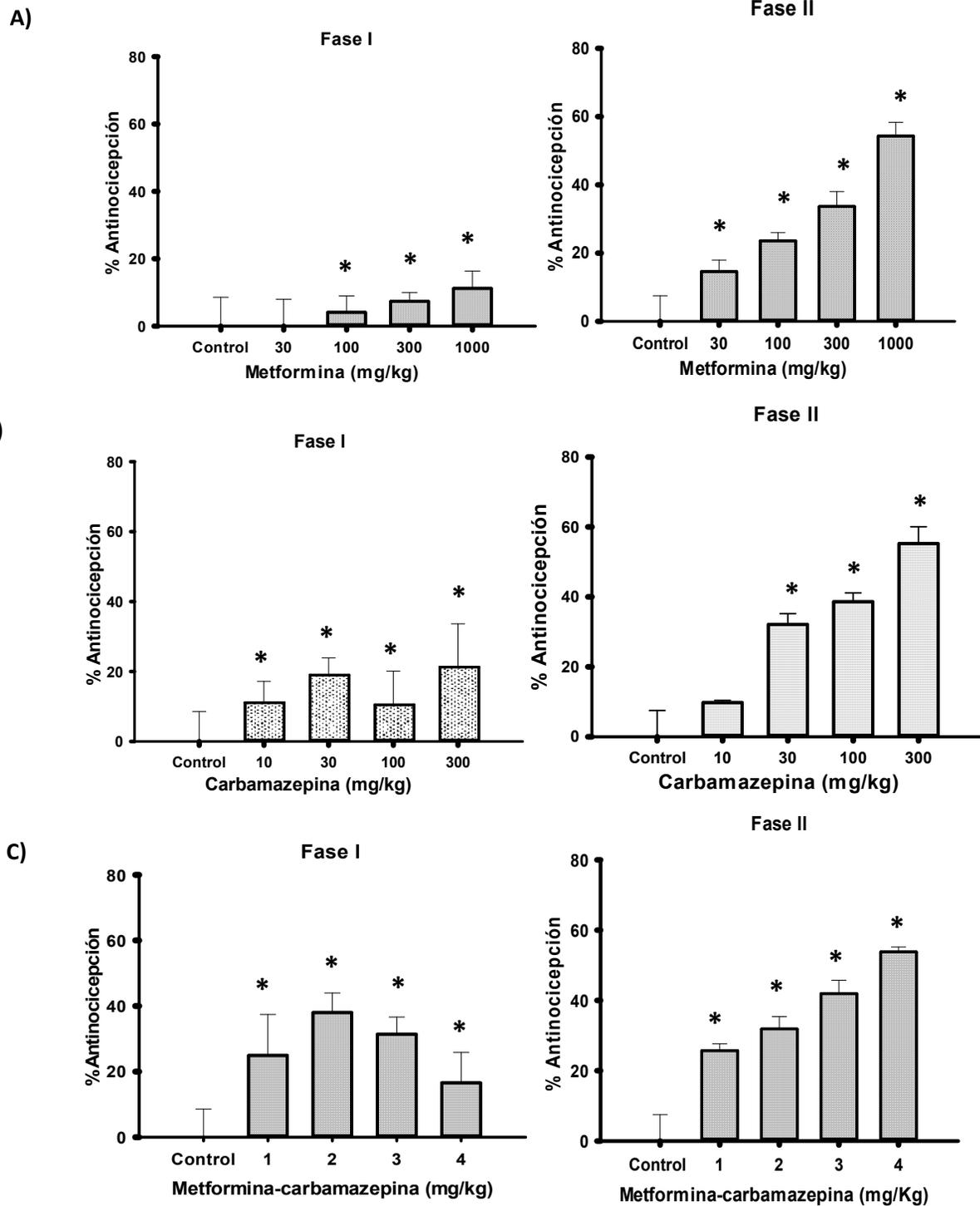
## 9.5 Actividad motora

En lo que respecta a los resultados obtenidos en la prueba para la evaluación de la actividad motora, la dosis máxima de la combinación metformina-carbamazepina no presentó ninguna influencia significativa sobre el tiempo de mantenimiento sobre la varilla giratoria en el Rota-rod en comparación con su control positivo, el Diazepam (Tabla 6).

<b>Tabla 6.</b> Tiempo (s) obtenido en la prueba de Rota-rod en ratas control y la combinación metformina-carbamazepina (control positivo Diazepam)		
<b>Grupo</b>	<b>Tiempo (s)</b>	<b>E.E.</b>
Control	180	0.0
Diazepam	55.8	10.2
Metformina-Carbamazepina	178.3*	1.7

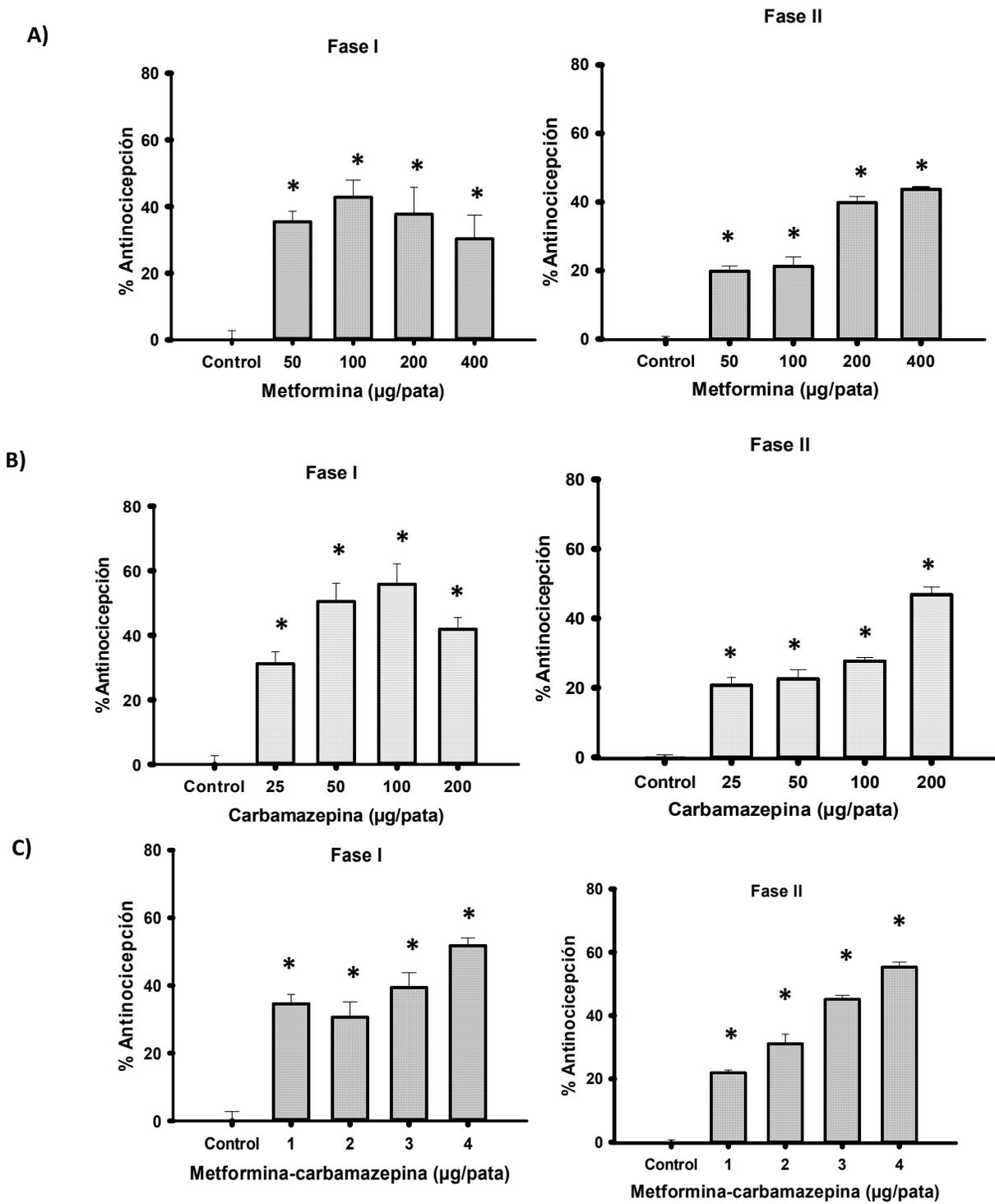
La respuesta motora o sedación se registró 30 minutos después de la administración de la combinación con un tiempo de corte de 180s.

METFORMINA Y CARBAMAZEPINA VÍA ORAL EN LA PRUEBA DE LA FORMALINA

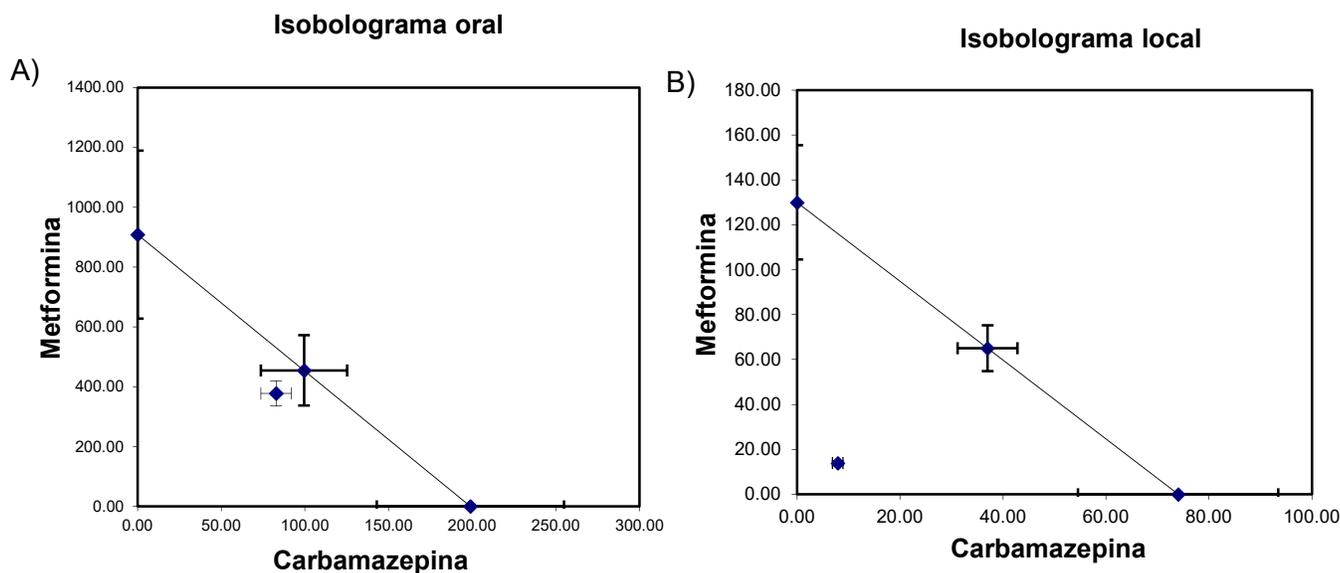


**Fig. 19.** Efecto antinociceptivo observado después de la administración oral de (A) metformina, (B) carbamazepina y (C) metformina-carbamazepina durante la primera y segunda fase de la prueba de la formalina (1%). Los datos se expresan como el porcentaje de antinocicepción del máximo efecto posible. Las barras representan la media  $\pm$  SEM de seis animales. \* Significativamente diferente del grupo control (vehículo) ( $P < 0.05$ ) según lo determinado por ANOVA unidireccional seguido por la prueba de Tukey.

METFORMINA Y CARBAMAZEPINA VÍA LOCAL EN LA PRUEBA DE LA FORMALINA



**Fig. 20.** Efecto antinociceptivo observado después de la administración local periférica de (A) metformina, (B) carbamazepina y (C) metformina-carbamazepina durante la primera y segunda fase de la prueba de la formalina (1%). Los datos se expresan como el porcentaje de antinocicepción del máximo efecto posible. Las barras representan la media  $\pm$  SEM de seis animales. \* Significativamente diferente del grupo control (vehículo) ( $P < 0.05$ ) según lo determinado por ANOVA unidireccional seguido por la prueba de Tukey.



**Fig. 21.** Isobolograma que muestra la interacción sinérgica A) oral y B) local periférica de la metformina y la carbamazepina en la prueba de la formalina. Las barras horizontales y verticales indican E.E. La línea oblicua entre el eje xy el eje y es la línea aditiva teórica. El punto en el medio de esta línea es el punto aditivo teórico calculado a partir de los valores de DE<sub>30</sub> o DE<sub>50</sub> por separado. El punto experimental se encuentra muy por debajo de la línea aditiva, lo que indica una sinergia significativa.

## 10. DISCUSIÓN

### 10.1 Efecto antinociceptivo de la carbamazepina

La carbamazepina administrada por vía oral y periférico local produjo una antinocicepción relacionada con la dosis, en ratas sometidas a estimulación nociva con formalina al 1%. Dicha conducta nociceptiva se traduce en una disminución en el número de sacudidas de la pata que recibió la formalina. Cabe mencionar que existen reportes que evidencian la eficacia de la carbamazepina, como analgésico en el tratamiento del dolor neuropático, así como de su actividad antinociceptiva en la inflamación (Bianchi & Berti, 1995; Tomić & Stepanović-Petrović, 2018). De acuerdo algunos autores, la acción antinociceptiva de la carbamazepina se debe a que actúa sobre los mecanismos neurales de transmisión/modulación del dolor, ya que bloquea los canales de sodio sensibles al voltaje, lo que significa que hay menos canales disponibles para abrir, por lo que las células cerebrales son menos

excitadas, además de produce la activación de receptores de adenosina centrales y periféricos (receptores A1) y de receptores adrenérgicos  $\alpha 2$  (Stepanovic-Petrovic & Boškovic, 2008; Wiffen & McQuay, 2011).

Nuestros resultados son similares a los reportados por Zúñiga-Romero et al. en 2014 ya que se observó que la administración local periférica u oral de carbamazepina causó una antinocicepción relacionada con la dosis en ratas administradas con formalina al 1%, de acuerdo con la información obtenida.

## **10.2 Efecto antinociceptivo de la metformina**

En este estudio, la metformina produjo una reducción significativa y dependiente de la dosis de la nocicepción inflamatoria inducida por formalina al 1%. La metformina actúa como un activador de AMPK, una cinasa ubicua involucrada en múltiples funciones celulares. En las células neurales del sistema de transmisión / modulación del dolor, sirve como un regulador negativo de las proteínas cinasas activadas por AMP y las vías de señalización de la cinasa diana de los mamíferos (mTOR), que se sabe que juegan un papel importante en la plasticidad del dolor, es decir, en el desarrollo de la hipersensibilidad al dolor (Inyang et al., 2019). En consecuencia, se ha demostrado que la metformina tiene propiedades antinociceptivas en diferentes modelos de dolor inflamatorio (Russe et al., 2013; Pecikoza et al., 2016) y dolor neuropático diabético (Ma et al., 2015; Huang et al., 2016). El efecto analgésico de metformina también se ha descrito en humanos (Taylor et al., 2013; Kiałka et al., 2016) Nuestros resultados son consistentes con los hallazgos recientes de Pecikoza et al., (2016) que demostraron que la metformina es capaz de reducir la hiperalgesia inflamatoria inducida por carragenina y el comportamiento nociceptivo en la segunda fase (inflamatoria) en la prueba de la formalina en ratas.

La metformina mostró una eficacia comparable a la de los otros analgésicos no esteroideos probados para reducir la hiperalgesia inflamatoria y fue más potente que la aspirina. En nuestro estudio, observamos un efecto antinociceptivo de la metformina después de la administración local (400  $\mu$ g/pata) y oral (1000mg/Kg). Nuestros datos sugieren que la metformina puede tener valor clínico en el

tratamiento del dolor neuropático, inflamatorio y otras formas de dolor (Guzmán-Priego & Torres-López, 2017). En contraste a los resultados obtenidos, otros estudios no atribuyen actividad analgésica significativa a la metformina (Ortiz, 2011). Es necesario continuar la investigación respecto de los efectos sobre el cuadro agudo de dolor e inflamación de metformina, ya que podrían significar una alternativa para su control efectivo.

### **10.3 Efecto antinociceptivo de la combinación de medicamentos**

La combinación de analgésicos es una estrategia destinada a lograr algunos objetivos terapéuticos, como facilitar el cumplimiento de normas, simplificar la prescripción y mejorar la eficacia sin aumentar los efectos adversos o disminuir los efectos adversos sin pérdida de eficacia (Raffa, 2001). El presente estudio se centró en la naturaleza de la interacción entre la metformina y la carbamazepina en varios niveles. Conceptualmente, un efecto aditivo se refiere a la interacción entre dos drogas de tal manera que, cuando se coadministra, el efecto resultante se aproxima al efecto máximo o a la suma de los efectos de las dos drogas administradas individualmente. La sinergia describe la interacción entre dos medicamentos de tal manera que, cuando se administra simultáneamente, la eficacia o potencia resultante respalda una interacción mayor que aditiva o multiplicativa en comparación con cada medicamento administrado individualmente (Grabovsky & Tallarida, 2004). El análisis isoblográfico demostró una sinergia significativa entre la metformina y la carbamazepina a niveles periféricos y sistémicos. La interacción de estos medicamentos no se ha examinado previamente, sin embargo, la carbamazepina ha sido probada en combinaciones analgésicas con paracetamol (Tomic´ et al., 2010), diacereína (Zúñiga-Romero et al., 2014), morfina (Naseri et al., 2012) y pregabalina (Hahm et al., 2012). Mientras que la metformina ha sido probada en combinación con tramadol (Pecikoza et al., 2016), ketorolaco, indometacina y metamizol (Guzmán-Priego et al., 2017) en varios modelos experimentales de dolor, produciendo efectos sinérgicos. El mecanismo de esta interacción antinociceptiva entre la metformina y la carbamazepina queda por

dilucidarse. Sin embargo, el mecanismo de la sinergia podría deberse a las diferentes acciones y sitios de acción de ambos fármacos (Ortega-Varela et al., 2007). En realidad, los sitios y mecanismos en los que actúan ambos medicamentos parecen ser complementarios, ya que los dos fármacos actúan sobre los mecanismos neurales de transmisión/ modulación del dolor. La metformina en las células neurales sirve como un regulador negativo de las proteínas cinasas activadas por AMP y las vías de señalización de mTOR; por su parte, la carbamazepina bloquea los canales de sodio sensibles al voltaje (Tomić & Stepanović-Petrović, 2018; Pecikoza & Stepanović-Petrović, 2016). Sin embargo, se sugiere continuar con el estudio para determinar el posible mecanismo de acción analgésico de dicha combinación y posteriormente proseguir con los estudios preclínicos para obtener más evidencias de su efecto antinociceptivo.

La dosis más alta de la combinación no tuvo ninguna influencia significativa en el rendimiento del rota-rod, lo que indica que los efectos antinociceptivos observados no se debieron al deterioro motor de las ratas. Se han informado acciones de deterioro motor de la carbamazepina, a dosis más altas (Stepanovic-Petrovic et al., 2008), sin embargo, no se observaron efectos secundarios durante los presentes experimentos, lo que sugiere que esta combinación tiene un perfil seguro de efectos secundarios.

Al realizar este estudio farmacológico se observaron efectos significativos en la nocicepción cuando se administró la combinación por vía periférico local, inclusive mayores a los obtenidos con la administración por vía oral. Ambos fármacos actúan de manera local en la inhibición de los efectos nociceptivos inducidos por la formalina, sin embargo, la carbamazepina también mostró un efecto significativo que confirma lo dicho en varios informes, ya que la carbamazepina tiene efectos analgésicos por sí sola y tiene un mayor efecto cuando es administrada localmente, ya que por vía oral se absorbe lenta y erráticamente (Campiglia & Rodríguez, 2006). Es de destacar el hecho de que el nivel de sinergia observado para las combinaciones de la vía oral y de la vía periférico local fue diferente, ya que el índice de interacción fue de 0.832 y 0.213, respectivamente. El índice de interacción ( $\gamma$ ) proporciona una

medida del grado de sinergia. Por lo tanto, el hecho de que se haya observado la mejor sinergia después de la administración local sugiere una posible ventaja en su uso en comparación con la administración oral. Los hallazgos anteriores sugieren que esta combinación podría ser útil para tratar el dolor inflamatorio en humanos.

## **11. CONCLUSIONES**

La administración de la combinación de metformina-carbamazepina por vía oral y por vía periférico local produjo una reducción significativa y dependiente de la dosis de la nocicepción inflamatoria inducida por formalina al 1% en ratas durante la fase 2 del modelo.

La administración de la combinación por vía periférico local presenta una mayor eficacia de en comparación con administración oral en la prueba de la formalina. Su índice de interacción ( $\gamma$ ) fue de 0.213 lo cual indica un efecto sinérgico en la combinación (5 veces más potente que lo teóricamente esperado). Se sugiere continuar con la investigación de los efectos de dicha combinación para que en un futuro se lleve a investigaciones clínicas.

La dosis máxima de la combinación metformina-carbamazepina no presentó ningún efecto significativo en el rendimiento del rota-rod, por lo que los efectos antinociceptivos observados no se deben al deterioro motor de las ratas, y se puede decir que dicha combinación es relativamente segura.

## 12. REFERENCIAS

- Aigé, V., & Cruz, J. I. (2001). El dolor en los pequeños animales. *Bases neuroanatómicas, reconocimiento y tratamiento*, 63.
- Albani, F., Riva, R., & Baruzzi, A. (1995). Carbamazepine clinical pharmacology: a review. *Pharmacopsychiatry*, 235-244.
- Ambriz-Tututi, M., Cruz, S. L., Urquiza-Marín, H., & Granados-Soto, V. (2011). Formalin-induced long-term secondary allodynia and hyperalgesia are maintained by descending facilitation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 417-424.
- Ambrósio, A. F., Soares-da-Silva, P., Carvalho, C. M., & Carvalho, A. P. (2002). Mechanisms of action of carbamazepine and its derivatives, oxcarbazepine, BIA 2-093, and BIA 2-024. *Neurochemical research*, 121-130.
- Amini, H., Ahmadiani, A., & Gazerani, P. (2005). Determination of metformin in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 319-322.
- Aoki, M., Tsuji, M., Takeda, H., Harada, Y., Nohara, J., Matsumiya, T., & Chiba, H. (2006). Antidepressants enhance the antinociceptive effects of carbamazepine in the acetic acid-induced writhing test in mice. *European journal of pharmacology*, 78-83.
- Arbonés, E., & Montes, A. (2009). Guía de evaluación y tratamiento del dolor del IMAS. *MEDA L, editor* 3-124.
- Tamargo, J., & Delpón, E. E. (2005). Fisiología Humana. Ed. Tresguerres J, Ariznavarreta C, Cachafeiro V, Cardinali D, Escrich E, Gil-Loyzaga P, Lahera V, Mora F, Romano M, Tamargo J. Ed. McGraw Hill-Interamericana. 3ª Edición. Madrid, 485-506.

- Armero, P., Muriel, C., Santos, J., Sánchez-Montero, F. J., Rodríguez, R. E., & González-Sarmiento, R. (2004). Bases genéticas del dolor. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 64-71.
- Azkue, J. J., Ortiz, V., Torre, F., & Aguilera, L. (2007). La Sensibilización Central en la fisiopatología del dolor. *Gaceta Médica de Bilbao*, 136-140.
- Backonja, M. M. (2002). Use of anticonvulsants for treatment of neuropathic pain. *Neurology*, 59(5 suppl 2), S14-S17.
- Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., & Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 267-284.
- Beydoun, A., & Kutluay, E. (2002). Oxcarbazepine. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 59-71.
- Bhave, G., & Gereau IV, R. W. (2004). Posttranslational mechanisms of peripheral sensitization. *Journal of neurobiology*, 88-106.
- Bianchi, M., Rossoni, G., Sacerdote, P., Panerai, A. E., & Berti, F. (1995). Carbamazepine exerts anti-inflammatory effects in the rat. *European journal of pharmacology*, 71-74.
- Binshtok, A. M. (2011). Mechanisms of nociceptive transduction and transmission: a machinery for pain sensation and tools for selective analgesia. *International review of neurobiology*, 97, 143-177.
- Bleakman, D., Alt, A., & Nisenbaum, E. S. (2006, October). Glutamate receptors and pain. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 17, No. 5, pp. 592-604). Academic Press.
- Bouhassira, D. (2019). Neuropathic pain: definition, assessment and epidemiology. *Revue Neurologique*, 16-25.
- Brooks, J., & Tracey, I. (2005). From nociception to pain perception: imaging the spinal and supraspinal pathways. *Journal of anatomy*, 19-33.

- Byrne, F. M., Cheetham, S., Vickers, S., & Chapman, V. (2015). Characterisation of pain responses in the high fat diet/streptozotocin model of diabetes and the analgesic effects of antidiabetic treatments. *Journal of diabetes research*, 1-13.
- Camargo, D. M., Jiménez, J. B., Archila, E., & Villamizar, M. S. (2004). El dolor: una perspectiva epidemiológica. *Salud UIS*, 40-51.
- Castañeda-Hernández, G. (2020). Perspectiva biopsicosocial del dolor. Ciencia. *Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*, 11-25.
- Cervero, F., & Laird, J. M. (1999). Visceral pain. *The Lancet*, 2145-2148.
- Costigan, M., Scholz, J., & Woolf, C. J. (2009). Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annual review of neuroscience*, 32, 1-32.
- Coutaux, A., Adam, F., Willer, J. C., & Le Bars, D. (2005). Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms. *Joint Bone Spine*, 359-371.
- Covarrubias-Gómez, A., Guevara-López, U., Gutiérrez-Salmerón, C., Betancourt-Sandoval, J. A., & Córdova-Domínguez, J. A. (2010). Epidemiología del dolor crónico en México. *Revista mexicana de anestesiología*, 207-213.
- Diéguez, S. C., Palacio, L. Y. R., de la Cruz Sandó, I., & González, M. C. (2013). Postoperative analgesia with the use of lyophilized morphine. *Revista Cubana de Anestesiología y Reanimación*, 129-138.
- Cuéllar, J. (2013). Dolor y anticonvulsivantes . *Revista boliviana del dolor*, 86-92.
- D'Mello, R., & Dickenson, A. H. (2008). Spinal cord mechanisms of pain. *British journal of anaesthesia*, 8-16.
- Danbolt, N. C. (2001). Glutamate uptake. *Progress in neurobiology*, 1-105.
- Dray, A., Urban, L., & Dickenson, A. (1994). Pharmacology of chronic pain. *Trends in pharmacological sciences*, 190-197.

- Dubuisson, D., & Dennis, S. G. (1977). The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, 161-174.
- F Tresguerres, J. A. (2005). Fisiología humana. In *Fisiología humana*, 1178-1178.
- Flores, O. (2011). Fármacos analgésico, antipiréticos y antiinflamatorios no esteroideos- AINES. *Médico de familia*, 42-52.
- Dávila, N. O. F. (2010). Analgésicos coadyuvantes para el tratamiento del dolor crónico. *Revista Colombiana de Medicina Física y Rehabilitación*, 33-44.
- Gálvez, R., Ruiz, S., & Romero, J. (2006). Propuesta de nueva Escalera Analgésica para el dolor neuropático. *Revista de la sociedad española del dolor*, 377-380.
- Armenta, M. E. G. (2000). Uso de combinaciones de medicamentos para el manejo del dolor y la inflamación. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 209-211.
- Ge, A., Wang, S., Miao, B., & Yan, M. (2018). Effects of metformin on the expression of AMPK and STAT3 in the spinal dorsal horn of rats with neuropathic pain. *Molecular medicine reports*, 5229-5237.
- Goldberg, D. S., & McGee, S. J. (2011). Pain as a global public health priority. *BMC public health*, 1-5.
- Grabovsky, Y., & Tallarida, R. J. (2004). Isobolographic analysis for combinations of a full and partial agonist: curved isoboles. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 981-986.
- Granados-Soto, V. (2020). El dolor. Ciencia. *Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*, 1-77.
- Guzmán-Priego, C. G., Méndez-Mena, R., Baños-González, M. A., Araiza-Saldaña, C. I., Castañeda-Corral, G., & Torres-López, J. E. (2017). Antihyperalgesic

- effects of indomethacin, ketorolac, and metamizole in rats: effects of metformin. *Drug development research*, 98-104.
- Hahm, T. S., Ahn, H. J., Ryu, S., Gwak, M. S., Choi, S. J., Kim, J. K., & Yu, J. M. (2012). Combined carbamazepine and pregabalin therapy in a rat model of neuropathic pain. *British journal of anaesthesia*, 968-974.
- Hamm, R. J., Pike, B. R., O'DELL, D. M., Lyeth, B. G., & Jenkins, L. W. (1994). The rotarod test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury. *Journal of neurotrauma*, 187-196.
- Harrison, S., & Geppetti, P. (2001). Substance p. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 555-576.
- Herrera, E., Galindo, R., Díaz, I. J., & Vargas, L. (2008). Los canales TRP y su participación en la termotransducción. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 110-119.
- Herrera, F. (2019). Qué es la escalera analgésica del dolor y por qué es importante conocerla. Prensa Libre.
- Hewett, S. J., Shi, J., Gong, Y., Dhandapani, K., Pilbeam, C., & Hewett, J. A. (2016). Spontaneous Glutamatergic Synaptic Activity Regulates Constitutive cox-2 expression in neurons opposing roles for the transcription factors creb (camp response element binding) protein and sp1 (stimulatory protein-1). *Journal of Biological Chemistry*, 27279-27288.
- Huang, Q., Chen, Y., Gong, N., & Wang, Y. X. (2016). Methylglyoxal mediates streptozotocin-induced diabetic neuropathic pain via activation of the peripheral TRPA1 and Nav1. 8 channels. *Metabolism*, 463-474.
- Hundal, R. S., & Inzucchi, S. E. (2003). Metformin. *Drugs*, 1879-1894.
- Inyang, K. E., Szabo-Pardi, T., Wentworth, E., McDougal, T. A., Dussor, G., Burton, M. D., & Price, T. J. (2019). The antidiabetic drug metformin prevents and reverses neuropathic pain and spinal cord microglial activation in male but not female mice. *Pharmacological research*, 1-16.

- Ji, R. R., & Woolf, C. J. (2001). Neuronal plasticity and signal transduction in nociceptive neurons: implications for the initiation and maintenance of pathological pain. *Neurobiology of disease*, 1-10.
- Jiménez-Andrade, J. M., Ortiz, M. I., Pérez-Urizar, J., Aguirre-Bañuelos, P., Granados-Soto, V., & Castañeda-Hernández, G. (2003). Synergistic effects between codeine and diclofenac after local, spinal and systemic administration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 463-471.
- Johanek, L., Shim, B., & Meyer, R. A. (2006). Primary hyperalgesia and nociceptor sensitization. In *Handbook of clinical neurology*, 35-47.
- Julius, D., & Basbaum, A. I. (2001). Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, 203-210.
- Kiałka, M., Milewicz, T., Sztefko, K., Rogatko, I., & Majewska, R. (2016). Metformin increases pressure pain threshold in lean women with polycystic ovary syndrome. *Drug design, development and therapy*, 10, 2483.
- Kirkby, N. S., Chan, M. V., Zaiss, A. K., Garcia-Vaz, E., Jiao, J., Berglund, L. M. & Mitchell, J. A. (2016). Systematic study of constitutive cyclooxygenase-2 expression: role of NF- $\kappa$ B and NFAT transcriptional pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 434-439.
- Kirpichnikov, D., McFarlane, S. I., & Sowers, J. R. (2002). Metformin: an update. *Annals of internal medicine*, 25-33.
- Andreas, K., & Nilesh, B. P. (2010). Guía para el manejo del dolor en condiciones de bajos recursos. *Washington, DC: International Association for the Study of Pain (IASP)*.
- Kuner, R. (2010). Central mechanisms of pathological pain. *Nature medicine*, 1258-1266.
- León-Reyes, M. R., Castañeda-Hernández, G., & Ortiz, M. I. (2008). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of diclofenac in the presence and

absence of glibenclamide in the rat. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 68-76.

Lincoln, S. S., & Goss, P. (2019). Cancer pain management in Mexico. *BMJ Supportive & Palliative Care*, 1-6.

Loeser, J. D., & Treede, R. D. (2008). The Kyoto protocol of IASP basic pain Terminology☆. *Pain*, 473-477.

Lohman, D., Schleifer, R., & Amon, J. J. (2010). Access to pain treatment as a human right. *BMC medicine*, 1-9.

Machado, A., & Haertel, L. (2006). *Neuroanatomia funcional*. São Paulo: Atheneu.

Bannon, A. W., & Malmberg, A. B. (2007). Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Current protocols in neuroscience*, 41(1), 8-9.

Martínez Caballero, C., Collado Collado, F., Rodríguez Quintosa, J., & Moya Riera, J. (2015). El alivio del dolor: un derecho humano universal. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 224-230.

Martínez-Omaira, F. (2011). Farmacos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios no esteroideos- AINE. *Medico de familia*, 42-52.

Mashaghi, A., Marmalidou, A., Tehrani, M., Grace, P. M., Pothoulakis, C., & Dana, R. (2016). Neuropeptide substance P and the immune response. *Cellular and molecular life sciences*, 4249-4264.

Medina-López, J. R., Domínguez-Ramírez, A. M., & López-Muñoz, F. J. (2007). Utilidad de las interacciones farmacocinéticas/farmacodinámicas de analgésicos. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 114-121.

Melemedjian, O. K., Asiedu, M. N., Tillu, D. V., Sanoja, R., Yan, J., Lark, A., & Price, T. J. (2011). Targeting adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) in preclinical models reveals a potential mechanism for the treatment of neuropathic pain. *Molecular pain*, 1744-8069.

- Mills, S. E., Nicolson, K. P., & Smith, B. H. (2019). Chronic pain: a review of its epidemiology and associated factors in population-based studies. *British journal of anaesthesia*, e273-e283.
- Mixcoatl-Zecuatl, T., Quiñónez-Bastidas, G. N., Caram-Salas, N. L., Ambriz-Tututi, M., Araiza-Saldaña, C. I., Rocha-González, H. I., & Granados-Soto, V. (2008). Synergistic antiallodynic interaction between gabapentin or carbamazepine and either benfotiamine or cyanocobalamin in neuropathic rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 431-441.
- Montes, A. (2002). Fisiopatología del dolor crónico. *Hospital Mar-Esperanza. IMAS.*, 1-27.
- Naseri, K., Sabetkasaei, M., Zanjani, T. M., & Saghaei, E. (2012). Carbamazepine potentiates morphine analgesia on postoperative pain in morphine-dependent rats. *European journal of pharmacology*, 332-336.
- Nau Jr, F., Yu, B., Martin, D., & Nichols, C. D. (2013). Serotonin 5-HT 2A receptor activation blocks TNF- $\alpha$  mediated inflammation in vivo. *PloS one*, e75426.
- Neira, F., & Ortega, J. L. (2004). Antagonistas de los receptores glutamatérgicos NMDA en el tratamiento del dolor crónico. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 48-60.
- Núñez, J. (2013). Respuesta celular de la hiperalgesia en el dolor crónico. *Revista Boliviana del dolor*, 86-92.
- OKUMA, T., & KISHIMOTO, A. (1998). A history of investigation on the mood stabilizing effect of carbamazepine in Japan. *Psychiatry and clinical neurosciences*, 3-12.
- Ortega, A., Roca, A., & Micó, J. A. (2002). Modelos animales de dolor. Una visión crítica. *Rev. Soc. Esp. Dolor*, 447-453.
- Ortega-Varela, L. F. (2014). Ay dolor, ya me volviste a dar. En M. E. Rivera, & L. M. Villaseñor, *¿Ya te enteraste? Investigación científica 1*. Morelia: Academia Michoacana de Ciencias, A. C., 61-73

- Ortega-Varela, L. F., Herrera, J. E., Caram-Salas, N. L., Rocha-González, H. I., & Granados-Soto, V. (2007). Isobolographic analyses of the gabapentin-metamizol combination after local peripheral, intrathecal and oral administration in the rat. *Pharmacology*, 214-222.
- Ortiz, M. I. (2011). Blockade of the antinociception induced by diclofenac, but not of indomethacin, by sulfonylureas and biguanides. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1-6.
- Ossipov, M. H., Dussor, G. O., & Porreca, F. (2010). Central modulation of pain. *The Journal of clinical investigation*, 3779-3787.
- Campiglia, S. P., Cedrés, M., & Rodríguez, J. B. (2006). Biodisponibilidad oral y de formulaciones farmacéuticas de Carbamazepina y su metabolito en voluntarios sanos. *Biomedicina*, 56-63.
- Pecikoza, U. B., Tomić, M. A., Micov, A. M., & Stepanović-Petrović, R. M. (2017). Metformin synergizes with conventional and adjuvant analgesic drugs to reduce inflammatory hyperalgesia in rats. *Anesthesia & Analgesia*, 1317-1329.
- Pedrajas Navas, J. M., & Molino González, Á. M. (2008). Bases neuromédicas del dolor. *Clínica y salud*, 277-293.
- Platt, S. R. (2007). The role of glutamate in central nervous system health and disease—a review. *The Veterinary Journal*, 278-286.
- Price, T. J., & Dussor, G. (2013). AMPK: An emerging target for modification of injury-induced pain plasticity. *Neuroscience letters*, 557, 9-18.
- Raffa, R. B. (2001). Pharmacology of oral combination analgesics: rational therapy for pain. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 257-264.
- Rang, H. P., & Urban, L. (1995). New molecules in analgesia. *British journal of anaesthesia*, 145-156.

- Romera, E., Perena, M. J., Perena, M. F., & Rodrigo, M. D. (2000). Neurophysiology of pain. *Rev Soc Esp Dolor*, 7(II), 11-17.
- Russe, O. Q., Möser, C. V., Kynast, K. L., King, T. S., Stephan, H., Geisslinger, G., & Niederberger, E. (2013). Activation of the AMP-activated protein kinase reduces inflammatory nociception. *The Journal of Pain*, 1330-1340.
- Schäfer, M. (2010). Los opioides en la medicina del dolor. A. Kopf, & NB Patel, *Guía para el manejo del dolor en condiciones de bajos recursos. Washington, DC: Asociación Internacional para el Estudio de Dolor*, 39-45.
- Scholz, J., & Woolf, C. J. (2002). Can we conquer pain? *Nature neuroscience*, 1062-1067.
- Shajib, M. S., & Khan, W. I. (2015). The role of serotonin and its receptors in activation of immune responses and inflammation. *Acta physiologica*, 561-574.
- Shibata, M., Ohkubo, T., Takahashi, H., & Inoki, R. (1989). Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain*, 347-352.
- Shiotsuki, H., Yoshimi, K., Shimo, Y., Funayama, M., Takamatsu, Y., Ikeda, K., & Hattori, N. (2010). A rotarod test for evaluation of motor skill learning. *Journal of neuroscience methods*, 180-185.
- Sommer, C. (2004). Serotonin in pain and analgesia. *Molecular neurobiology*, 117-125.
- Somogyi, A. A., Barratt, D. T., & Collier, J. K. (2007). Pharmacogenetics of opioids. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 429-444.
- Stepanovic-Petrovic, R. M., Tomic, M. A., Vuckovic, S. M., Paranos, S., Ugrešić, N. D., Prostran, M. Š., & Boškovic, B. (2008). The antinociceptive effects of anticonvulsants in a mouse visceral pain model. *Anesthesia & analgesia*, 1897-1903.

- Suvas, S. (2017). Role of substance P neuropeptide in inflammation, wound healing, and tissue homeostasis. *The Journal of Immunology*, 1543-1552.
- Tabares, V. Z., Rodríguez, J. R., & Jiménez, E. S. (2014). El dolor y su manejo en los cuidados paliativos. *Panorama. Cuba y Salud*, 41-48.
- Tallarida, R. J. (2016). Drug combinations: tests and analysis with isoboles. *Current protocols in pharmacology*, 9-19.
- Taylor, A., Westveld, A. H., Szkudlinska, M., Guruguri, P., Annabi, E., Patwardhan, A. & Yassine, H. N. (2013). The use of metformin is associated with decreased lumbar radiculopathy pain. *Journal of pain research*, 6, 755.
- Tesfaye, S., Wilhelm, S., Lledo, A., Schacht, A., Tölle, T., Bouhassira, D. & Freynhagen, R. (2013). Duloxetine and pregabalin: high-dose monotherapy or their combination? The “COMBO-DN study”—a multinational, randomized, double-blind, parallel-group study in patients with diabetic peripheral neuropathic pain. *PAIN*, 2616-2625.
- Tjølsen, A., Berge, O. G., Hunskaar, S., Rosland, J. H., & Hole, K. (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 5-17.
- Tomić, M., Pecikoza, U., Micov, A., Vučković, S., & Stepanović-Petrović, R. (2018). Antiepileptic drugs as analgesics/adjuvants in inflammatory pain: current preclinical evidence. *Pharmacology & therapeutics*, 42-64.
- Bugarín, O. T., Ibarra, M. L. R., Pérez, A. L. Z., & Saenz, A. (2003). Consideraciones bioéticas en la investigación del dolor en animales de experimentación. *Investigación en Salud*, 0.
- Torres-López, J. E., & Granados-Soto, V. (2001). Participación de la ciclooxigenasa-1 en el dolor inflamatorio. *Universidad y Ciencia*, 73-81.
- Wheeler-Aceto, H., Porreca, F., & Cowan, A. (1990). The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. *Pain*, 229-238.

- Wheeler-Aceto, H., & Cowan, A. (1991). Standardization of the rat paw formalin test for the evaluation of analgesics. *Psychopharmacology*, 35-44.
- Wiffen, P. J., Derry, S., Moore, R. A., & McQuay, H. J. (2011). Carbamazepine for acute and chronic pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1-41.
- Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., & Rangaswami, J. (2018). A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging and disease*, 143-150.
- Woolf, C. J. (2004). Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Annals of internal medicine*, 441-451.
- Woolf, C. J. (2010). What is this thing called pain? *The Journal of clinical investigation*, 3742-3744.
- Woolf, C. J., & Ma, Q. (2007). Nociceptors—noxious stimulus detectors. *Neuron*, 353-364.
- Woolf, C. J., & Mannion, R. J. (1999). Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *The lancet*, 1959-1964.
- Zegarra, P. (2007). Physiopathological bases of the pain. *Acta Med Per*, 105-108.
- Ziegler, D., & Fonseca, V. (2015). From guideline to patient: a review of recent recommendations for pharmacotherapy of painful diabetic neuropathy. *Journal of Diabetes and its Complications*, 146-156.
- Zúñiga-Romero, A., Ponce-Chávez, M. K., Gauthereau-Torres, M. Y., & Ortega-Varela, L. F. (2014). Combination of diacerhein and antiepileptic drugs after local peripheral, and oral administration in the rat formalin test. *Drug development research*, 510-520.