



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

“Efecto antinociceptivo de diacereína y topiramato como combinación para el tratamiento del dolor inflamatorio en rata”

TESIS QUE PRESENTA:

ÁNGEL ZÚÑIGA ROMERO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

Asesor: Dr. Luis Fernando Ortega Varela

Morelia, Mich. Julio del 2012

DEDICATORIA

A la vida que desde mi llegada me ha colmado de tantos buenos momentos, de tantas enseñanzas y tropiezos que solo han servido para ser quien soy hoy. Por darme el regalo de una estupenda familia que siempre me ha apoyado y me ha brindado su completa confianza.

Por concederme el beneficio de la duda en las ocasiones que la razón no entiende, donde debemos salir adelante por nuestro propio pie.

Para Nicolás y Nicolasa, Dimas y Esther, que aunque estén lejos, han rezado por mí y me han brindado todo su amor y apoyo.

“No es este el relato de hazañas impresionantes, es un trozo de una vida tomada en un momento, en que curso un determinado trecho, lleno de ilusiones e infinidad de sueños. Fue nuestra visión, ¿demasiado estrecha?, ¿demasiado parcial?, ¿demasiado apresurada?, ¿fueron nuestras conclusiones demasiado rígidas? Tal vez, pero ese vagar sin rumbo por nuestra mayúscula América, me ha cambiado más de lo que creí. Yo, ya no soy yo por lo menos no soy yo interior.

Ernesto Guevara de la Serna

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Fernando por tener confianza en mí y poner en mis manos uno de sus proyectos, por su comprensión, su atención y sus conocimientos, y sobre todo por enseñarme una gran lección de vida, “cualquier cosa es posible de lograr y siempre se puede sonreír”. Por darme la oportunidad de conocer el mundo y por mostrarme la importancia de la investigación. Agradezco profundamente todas las risas, las palabras de aliento, las felicitaciones y las correcciones, la pizca de confianza depositada en mí y la amistad entregada a cada momento. Por las pláticas tan interesantes y por siempre tener un tema de conversación.

A la MC Lety, por permitirme utilizar su laboratorio (que sin él, hubiera sido imposible comenzar con este trabajo) y perdonar mi vergüenza y mi poca educación, por su amistad y apoyo, y brindarme siempre un trato amable.

A la Doctora Marcia por permitir que realizara todos mis experimentos en su laboratorio. Por todas las enseñanzas, los buenos momentos académicos, culturales en los que coincidimos. Por entregarme su amistad sin reservas y por confiar completamente en nosotros para realizar este proyecto amabilidad.

Al Doctor Daniel por abrirme las puertas a la investigación, por encaminarme hacia el camino del estudio y la superación. Por brindarme siempre su apoyo y ayuda



incondicionalmente. Por abrirme las puertas de su hogar y conocer a su maravillosa familia.

A mi hermano Luis (mouse) que siempre ha estado a mi lado y me ha brindado su apoyo y cariño, por esas tardes inolvidables de Browni (cafecito) y galletas, con las interminables platicas del ayer y los grandes chistes que siempre nos alegraban el día.

A la mejor hermana que se pueda tener en esta vida, que siempre me ha cuidado, que me da lo mejor de sí y que nunca me ha dejado solo. Gracias por estar siempre conmigo y compartir tus buenos y malos momentos TE QUIERO MUCHO Dra.

A mi hermana Chel por entregarle todo su apoyo, amistad y cariño. Por confiar en mi compartirme sus sueños sus pesares y sus muy buenos momentos. Por cada día que me regalo su sonrisa aunque mis palabras no la merecieran, por reírse conmigo de los buenos momentos y llorar junto a mi caca una de mis penas.

A mis hermanos Fredy y Ana que a lo largo de tantos años me han acompañado en mis travesías, por preocuparse por mí y por levantarme cada vez que tropecé. Por llegar a entenderme y hacer de mi cada día una mejor persona.

A Karina por estar todo el tiempo que me ha regalado a su lado, tratando de sacar lo mejor de mi cada día, por ayudarme a pensar en las cosas que realmente



quiero y por tener siempre la confianza de que todo saldrá bien, por reglar sus sueños sin pedir nada a cambio, por ser esa gran mujer que nunca se da por vencida.

A mi mamá por todo su cariño incondicional y todas las sonrisas que hicieron de cada día un recuerdo inolvidable. Por cuidarme y preocuparse siempre por mí. Por dejarme sin palabras y solo poder exclamar Ay corazón!!!.

A los morrines: Les, Gabo, Susy y Naye, por su gran amistad, cariño, apoyo, honestidad, tolerancia y chispitas de chocolate. Por aguantar y reírse de mis desafortunados comentarios y por estar en pie de lucha de comprar más sillas para el laboratorio.

A la mujer que comparte su vida con la mía, que ha fundido sus sueños con los míos, que cada día me entrega su amor sin pedir nada a cambio, que ha sabido comprenderme completamente y llena mis días de felicidad. Por hacerme sentir orgulloso y afortunado de poder caminar a su lado cada día. Por creer y valorar mis palabras y por depositar en mí toda su confianza. Por sencillamente quererme.

A la vida, por permitirme estar aquí y ahora, cumpliendo todas mis metas y haciendo realidad mis sueños.

ÍNDICE GENERAL

ABREVIATURAS.....	IV
FIGURAS Y TABLAS	VII
RESUMEN	X
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. DOLOR.....	2
1.1.1. CLASIFICACIÓN DEL DOLOR	2
1.1.2. NOCICEPCIÓN	5
1.1.3. CLASIFICACIÓN DE LAS FIBRAS SENSORIALES	6
1.1.4. SENSIBILIZACIÓN PERIFÉRICA	7
1.1.5. SENSIBILIZACIÓN CENTRAL	9
1.1.6. MEDIADORES QUÍMICOS DEL DOLOR.....	10
1.1.7. MEDIADORES PRONOCICEPTIVOS.....	11
1.1.7.1. PROTONES	11
1.1.7.2. CININAS	12
1.1.7.3. PROSTANOIDES	13
1.1.7.4. ATP	14
1.1.7.5. SEROTONINA.....	14
1.1.7.6. HISTAMINA.....	15
1.1.7.7. ÓXIDO NÍTRICO (NO)	16
1.2. INFLAMACIÓN.....	16
1.2.1. DOLOR INFLAMATORIO.....	17
1.2.2. TRATAMIENTO DEL DOLOR INFLAMATORIO	20
1.2.2.1. AINES.....	21
1.2.2.2. OPIOIDES	23

1.3. DOLOR NEUROPÁTICO	23
1.4. COMBINACIONES ANALGÉSICAS.....	24
1.4.1. ISOBOLOGRAMA	26
1.5. DIACEREÍNA	27
1.5.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA DIACEREÍNA	29
1.5.2. METABOLITOS DE LA DIACEREÍNA.....	29
1.5.3. EFECTOS ADVERSOS DE LA DIACEREÍNA	30
1.5.4. INTERLEUCINA 1 BETA (IL-1 β)	31
1.6. UTILIZACIÓN DE ANTIEPILÉPTICOS EN EL TRATAMIENTO DEL DOLOR	32
1.7. TOPIRAMATO (TPM).....	33
1.7.1. MECANISMO DE ACCIÓN DEL TOPIRAMATO.....	34
1.7.2. EFECTOS ADVERSOS DEL TOPIRAMATO	36
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	39
III. HIPÓTESIS	41
IV. OBJETIVOS.....	42
1. OBJETIVO GENERAL	42
2. OBJETIVOS PARTICULARES.....	42
V. MATERIAL Y MÉTODOS.....	43
1. ANIMALES	43
2. FÁRMACOS:.....	43
3. EQUIPO	44
4. EVALUACIÓN DE LA CONDUCTA NOCICEPTIVA (MODELO DE LA FORMALINA).....	44
5. PROTOCOLOS EXPERIMENTALES.....	47
5.1 VÍA ORAL.....	47

5.2 VÍA LOCAL.....	47
6. ANÁLISIS DE DATOS.....	49
6.1 ANÁLISIS ISOBOLOGRÁFICO.....	49
VI. RESULTADOS.....	51
1. MODELO INFLAMATORIO.....	51
2. ADMINISTRACIÓN ORAL DE DIACEREÍNA.....	52
3. ADMINISTRACIÓN ORAL DE TOPIRAMATO.....	54
4. ADMINISTRACIÓN ORAL DE LA COMBINACIÓN DIACEREÍNA-TOPIRAMATO.....	56
5. ADMINISTRACIÓN LOCAL DE DIACEREÍNA.....	60
6. ADMINISTRACIÓN LOCAL DE TOPIRAMATO.....	63
7. COADMINISTRACIÓN LOCAL DE DIACEREÍNA-TOPIRAMATO.....	65
VII. DISCUSIÓN.....	69
1. PRUEBA DE LA FORMALINA.....	69
2. DIACEREÍNA.....	71
3. ADMINISTRACIÓN DE DIACEREÍNA.....	72
4. TOPIRAMATO (TPM).....	73
5. ADMINISTRACIÓN DE TOPIRAMATO.....	74
6. ADMINISTRACIÓN DE DIACEREÍNA-TOPIRAMATO.....	76
VIII. CONCLUSIONES.....	81
IX. REFERENCIAS.....	82

ABREVIATURAS

AINEs: ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS.

AMPA: ÁCIDO 2-AMINO 4-HIDROXIMETIL ISOOXAZOL PROPIÓNICO

ANOVA: ANÁLISIS DE VARIANZA

ASIC: CANAL DE SODIO SENSIBLE A ÁCIDO.

ATP: ADENOSÍN TRIFOSFATO.

B1: RECEPTOR UNO DE BRADICININA.

B2: RECEPTOR DOS DE BRADICININA.

CGRP. PÉPTIDO RELACIONADO AL GEN DE LA CALCITONINA.

COX: CICLOOXIGENASA.

COX 1: CICLOOXIGENASA 1.

COX 2: CICLOOXIGENASA 2.

COX 3: CICLOOXIGENASA 3.

DE₃₀: DOSIS EFECTIVA 30.

DE₃₀E: DOSIS EFECTIVA 30 EXPERIMENTAL.

DE₃₀T: DOSIS EFECTIVA 30 TEÓRICA.

EP: RECEPTOR DE PROSTAGLANDINA.

GABA: ÁCIDO GAMMA AMINO BUTÍRICO.

IL-1: INTERLEUCINA 1.

IL-1 α : INTERLEUCINA 1 α .

IL-1 β : INTERLEUCINA 1 β .

MDEG: RECEPTOR A DEGENERINA MAMIFERA.

mg: MILIGRAMOS.

ml: MILILITROS.

NGF: FACTOR DE CRECIMIENTO NEURONAL.

NMDA: N-METIL-D-ASPARTATO.

NO: ÓXIDO NÍTRICO.

NOS: ÓXIDO NÍTRICO SINTASA.

eNOS: ÓXIDO NÍTRICO SINTASA ENDOTELIAL.

iNOS: ÓXIDO NÍTRICO SINTASA INDUCIBLE.

ICC: CONSTRICCIÓN CRÓNICA DEL NERVIIO CIÁTICO.

nNOS: ÓXIDO NÍTRICO SINTASA NEURONAL.

OA: OSTEOARTRITIS.

OMS: ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.

P2X₃: RECEPTOR PURINÉRGICO 2X₃.

PGE₂: PROSTAGLANDINA E2.

PKA: PROTEÍNA CINASA A.

PKC: PROTEÍNA CINASA C.

POE: PÉPTIDOS OPIOIDES ENDÓGENOS.

RO: RECEPTORES OPIOIDES.

SNC: SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

SP: SUSTANCIA P.

TGF: FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE.

TNF: FACTOR DE CRECIMIENTO TUMORAL.

TPM: TOPIRAMATO.

TRPM8: RECEPTOR DE POTENCIAL TRANSITORIO SENSIBLE A MENTOL 8.

TRPV1: RECEPTORES DE POTENCIAL TRANSITORIO VAINILLOIDE 1.

TRPV2: RECEPTOR DE POTENCIAL TRANSITORIO VAINILLOIDE 2.

TRPV3: RECEPTOR DE POTENCIAL TRANSITORIO VAINILLOIDES 3.

γ : ÍNDICE DE INTERACCIÓN

μg : MICROGRAMOS

μl : MICROLITROS

5-HT-1: RECEPTOR 1 DE SEROTONINA.

5-HT-1A: RECEPTOR 1A DE SEROTONINA.

5-HT-1B: RECEPTOR 1B DE SEROTONINA.

FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS	Página
Figura 1 Clasificación del dolor.....	4
Figura 2 Nocicepción.....	6
Figura 3 Sensibilización periférica.....	8
Figura 4 Sensibilización central.....	10
Figura 5 Dolor inflamatorio.....	18
Figura 6 Escalera analgésica de la OMS.....	20
Figura 7 Isoblograma.....	26
Figura 8 Estructura de la diacereína.....	27
Figura 9 Estructura del topiramato.....	32
Figura 10 Administración subcutánea de formalina.....	44
Figura 11 Modelo de la formalina.....	44
Figura 12 Curso temporal del modelo de la formalina.....	45
Figura 13 Grupos experimentales en el modelo inflamatorio.....	47
Figura 14 Curso temporal de la prueba de la formalina tras la administración oral de diacereína y topiramato.....	48
Figura 15 Curso temporal de la prueba de la formalina tras la administración local de diacereína y topiramato.....	49
Figura 16 Curva dosis respuesta de la fase I del modelo de la formalina tras la administración oral de diacereína.....	50
Figura 17 Curva dosis respuesta de la fase II del modelo de la formalina tras la administración oral de diacereína.....	51
Figura 18 Curva dosis respuesta de la fase I del modelo de la formalina tras la administración oral de topiramato.....	52

- Figura 19** Curva dosis respuesta de la fase II del modelo de la formalina tras la administración oral de topiramato.....53
- Figura 20** Curva dosis respuesta tras la administración de la combinación de diacereína-topiramato oral en la fase I del modelo inflamatorio.....55
- Figura 21** Curva dosis respuesta tras la administración de la combinación de diacereína-topiramato oral en la fase II del modelo inflamatorio.....56
- Figura 22** Análisis isoblográfico de la interacción de diacereína y topiramato administrados por vía oral en el modelo inflamatorio.....57
- Figura 23** Curva dosis respuesta de la fase I del modelo inflamatorio tras la administración local de diacereína.....58
- Figura 24** Curva dosis respuesta de la fase II del modelo de la formalina tras la administración local de diacereína.....59
- Figura 25** Curva dosis respuesta de la fase I del modelo de la formalina tras la administración local de topiramato.....60
- Figura 26** Curva dosis respuesta de la fase II del modelo de la formalina tras la administración local de topiramato.....61
- Figura 27** Curva dosis respuesta en la fase I del modelo de la formalina tras la administración local de diacereína-topiramato.....63
- Figura 28** Curva dosis respuesta en la fase II del modelo de la formalina tras la administración local de diacereína-topiramato.....64
- Figura 29** Análisis isoblográfico de la interacción de diacereína y topiramato administrados por vía local en la fase II Del modelo inflamatorio.....65

TABLAS

Tabla 1	Indicaciones del uso del topiramato.....	38
Tabla 2	Combinaciones de diacereína y topiramato oral para la construcción del isoblograma.....	55
Tabla 3	Combinaciones de diacereína y topiramato local para la construcción del isoblograma.....	63

RESUMEN

El dolor constituye un problema de salud pública, ya que tiene importantes implicaciones en la calidad de vida de los pacientes y el costo de su tratamiento es muy elevado. En los últimos años, con el avance en la investigación de distintas combinaciones analgésicas, su empleo ha aumentado con el afán de encontrar tratamientos más eficaces contra el dolor. Combinar analgésicos de eficacia probada es una estrategia adecuada para conseguir algunas ventajas terapéuticas como pueden ser el facilitar el apego al tratamiento, simplificar la prescripción, mejorar la eficacia sin elevar los efectos adversos o disminuir los efectos adversos sin pérdida de la efectividad. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antinociceptivo de la diacereína y el topiramato administrados de manera individual o en combinación en un modelo animal de dolor inflamatorio. La diacereína es un fármaco que previene el rompimiento de los cartílagos y que tiene como mecanismo de acción principal inhibir directamente la síntesis y liberación de la IL-1. El topiramato es un fármaco anticonvulsivo que ha mostrado ser eficaz en modelos de dolor neuropático, su mecanismo de acción se basa principalmente en la modulación de GABA y el bloqueo de canales de Na^+ y Ca^+ dependientes de voltaje. La conducta antinociceptiva de diacereína, topiramato y su combinación se evaluó utilizando las vías de administración oral y local en el modelo de la formalina. Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar que se dividieron en cuatro grupos (control, diacereína, topiramato y diacereína-topiramato) de 6 animales, para cada vía de administración. Por vía oral las ratas recibieron un volumen de 4 ml/kg, del fármaco, en las siguientes dosis: diacereína (25, 50, 100 y 200 mg/kg) o topiramato (25, 50, 100 y 200 mg/kg) en dosis crecientes o el mismo volumen de vehículo (salina). Para la vía local se administró un volumen de 50 μl en el siguiente patrón de dosis: diacereína (10, 30, 100 y 300 μg) o topiramato (10, 30, 100 y 300 μg), en la cara dorsal de la pata trasera derecha, por vía subcutánea. El análisis isoblográfico determinó las dosis de cada componente en las combinaciones en una proporción de uno a uno, para efectuar una curva dosis-respuesta experimental de cada combinación. En la segunda fase del modelo, la administración tanto oral como local de diacereína, topiramato y su combinación presentaron un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis. Se determinó el valor de la DE_{30} de cada fármaco y con ello se construyeron los isobogramas correspondientes. El valor de la dosis DE_{30} teórica para la combinación por vía oral que se obtuvo fue de 45.2 ± 7.1 y de 315.2 ± 37 en la vía local. Estos valores fueron significativamente distintos a los valores de la dosis obtenidos experimentalmente (9.5 ± 2.8 en la vía oral y 139.6 ± 12.6 en la vía local) lo que indica una interacción sinérgica. En la vía oral, el valor obtenido experimentalmente fue casi 5 veces menor al calculado de manera teórica y en la vía local solo se necesitó la mitad de la DE_{30} teórica para lograr el mismo efecto. La interacción sinérgica en la disminución de la conducta nociceptiva entre la diacereína y el topiramato evidenciada en este estudio, lo cual sugiere que podría ser utilizada para el tratamiento del dolor inflamatorio en humanos.

1. INTRODUCCIÓN

El dolor nos permite mantenernos con vida (Castañeda-Hernández, 2009), su definición y percepción, implica tanto emociones como sensaciones, ya que afecta la vida de las personas que lo sufren. En la actualidad, el alivio del dolor se considera un derecho humano, por lo que las nuevas investigaciones deben dirigirse a encontrar estrategias para su adecuado tratamiento y control (Brennan y Cousins, 2005). Mediante la comprensión de la fisiopatología del dolor y su importante papel en la vida del individuo, se pueden diseñar nuevas estrategias más adecuadas para mejorar la calidad de vida de los pacientes que sufren estas afecciones (Castañeda-Hernández, 2009).

El dolor, constituye un mecanismo fisiológico de alarma, que es activado por la presencia de estímulos nocivos. Promueve la reparación de los tejidos por medio de una región de hipersensibilidad donde se localiza la región dañada. Esta región aísla y minimiza el contacto de la zona dañada hasta su curación (Woolf, 1998).

A lo largo de la historia, ha existido controversia sobre cómo debe considerarse al dolor pero la realidad es que constituye un sistema de vigilancia, que permite la identificación de lesiones y enfermedades (Ortega-Varela, 2008), por lo que el tratamiento del dolor debe centrarse en su control y no en la eliminación de toda sensación dolorosa, ya que una falla en este sistema de alarma podría ser fatal, al no generarse una reacción adecuada (Castañeda-Hernández, 2009).

1.1. DOLOR

La International Association for the Study of Pain (IASP) en el consenso de expertos "Pain terms" en 1986, estableció el concepto actual de dolor, el cual, se define como una experiencia sensorial o emocional desagradable, asociada con daño tisular real o potencial que puede ser descrito en términos de tal daño (IASP, 1986). Esta definición, resalta que la presencia de daño tisular no es un factor determinante para la aparición del dolor, debido a que éste puede presentarse sin una evidencia somática aparente, ya que se trata de un fenómeno subjetivo. El componente emocional presente en el dolor, es de suma importancia ya que se convierte en un factor determinante en el desarrollo diario de la persona que lo sufre, y que puede afectar su entorno, ya que implica factores ambientales, sociales, culturales, psicológicos y espirituales.

1.1.1. CLASIFICACIÓN DEL DOLOR

A lo largo de la historia, han existido diversas clasificaciones del dolor, que toman en cuenta distintos aspectos como su duración, intensidad, localización y la cualidad de este. En el artículo "What is this thing called pain?" publicado en el 2010, Woolf propone una clasificación donde hace referencia a tres tipos de dolor, considerando su origen somático y su mecanismo fisiológico. Según la clasificación de Woolf los distintos tipos de dolor son: dolor nociceptivo, dolor inflamatorio y dolor patológico (figura 1).

A. **DOLOR NOCICEPTIVO:** es una sensación fisiológica vital y transitoria, en respuesta a la presencia de un estímulo nocivo, donde dicho estímulo, promueve la salud de la parte afectada.

B. **DOLOR INFLAMATORIO:** es adaptativo y protector, se presenta espontáneamente con un estado de hipersensibilidad como respuesta a la presencia de un daño tisular y de inflamación.

C. **DOLOR PATÓLOGICO.**

1) **DOLOR NEUROPÁTICO:** se presenta de manera espontánea con un estado de hipersensibilidad, como resultado de un daño o una lesión en el sistema nervioso.

2) **DOLOR PATOLÓGICO:** anormal y sin efecto protector, como resultado de un funcionamiento anormal del sistema nervioso. Aparece después de un daño al sistema nervioso (dolor neuropático) y en condiciones en las que no hay daño o inflamación (dolor disfuncional).

Es de gran importancia destacar que el dolor nociceptivo, es el único que tiene un papel fundamental como sistema de alarma por la presencia de estímulos dañinos, ya que permite su localización y de esta manera, emprender acciones para minimizar dicho estímulo. En el caso del dolor inflamatorio es protector y promueve la reparación de la zona dañada. El dolor neuropático y disfuncional, son dolores patológicos que no brindan ningún tipo de beneficio al paciente (Costigan y Woolf, 2000).

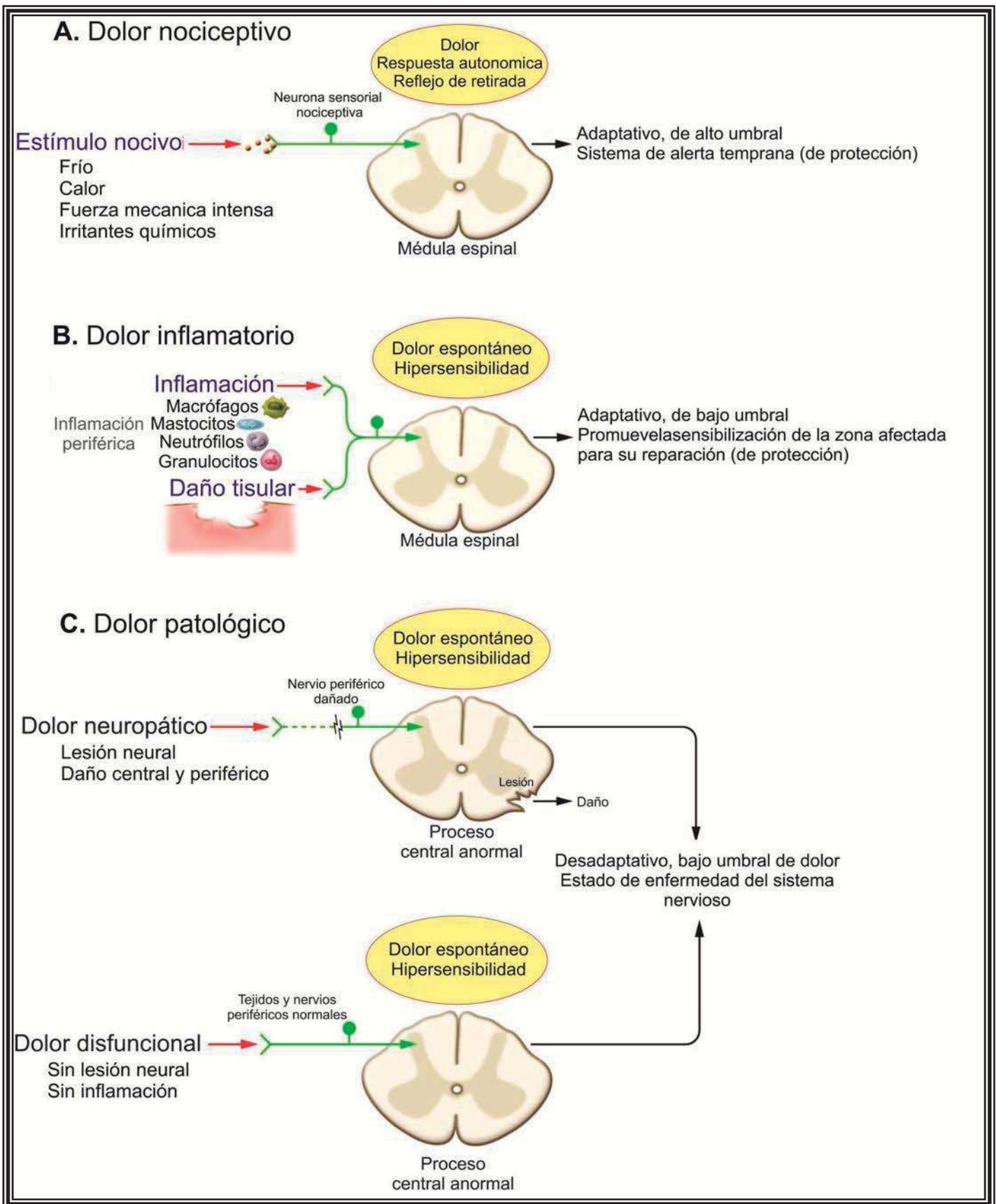


Figura 1. Clasificación del dolor de Woolf, según su origen fisiológico o somático: nociceptivo, inflamatorio y patológico (modificado de Woolf, 2010).

1.1.2. NOCICEPCIÓN

Desde el punto de vista neurofisiológico, la nocicepción se define como todos aquellos mecanismos por los cuales se pueden detectar estímulos nocivos. La transducción, transmisión, percepción y modulación son los mecanismos que conllevan el proceso de nocicepción (D'Amours y Ferrante, 1997) (figura 2).

El proceso por el cual los estímulos nocivos son convertidos en señales eléctricas, en las terminaciones nerviosas periféricas, recibe el nombre de *transducción* (Woolf, 2004). La propagación de potenciales de acción a lo largo de las vías nociceptivas que estimulan la liberación de mediadores químicos se denomina *transmisión* (D'Amours y Ferrante, 1997). En el proceso de *percepción*, los impulsos nocivos se dirigen a centros cerebrales, lo que provoca que se asocien con factores emocionales y crear una experiencia subjetiva del dolor (Kelly et al., 2001). En la médula espinal se pueden modificar las señales nociceptivas, mediante la liberación de neurotransmisores que amplifican o inhiben la señal sensorial, este proceso es conocido como *modulación* (D'Amours y Ferrante, 1997) (Figura 2).

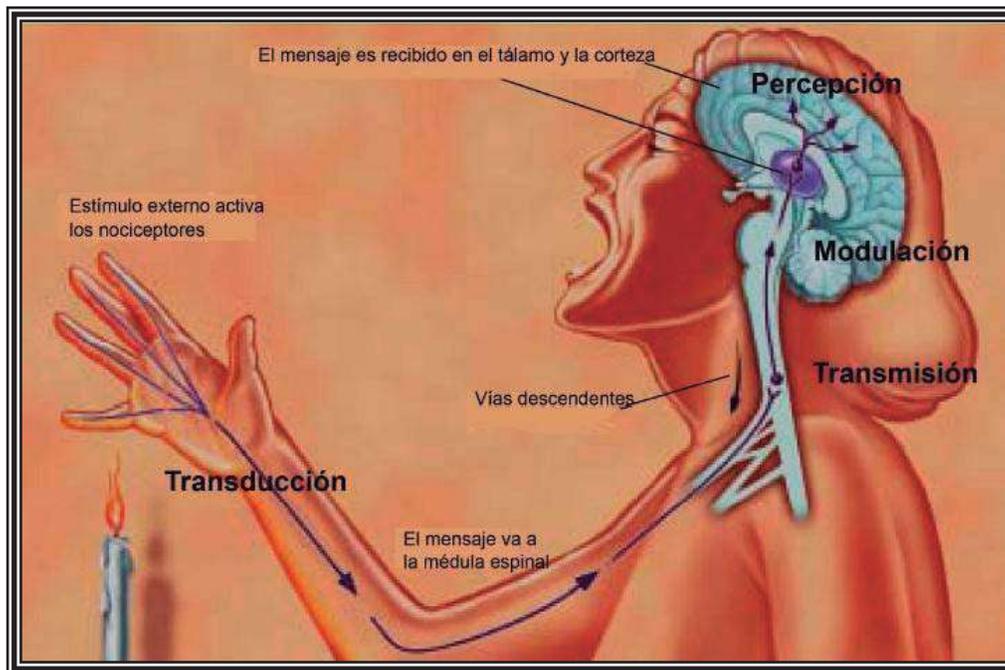


Figura 2. La nocicepción como componente sensorial del dolor, consta de 4 procesos fisiológicos distintos: transducción, transmisión, modulación y percepción (modificado de Ariniello et al., 2002).

1.1.3. CLASIFICACIÓN DE LAS FIBRAS SENSORIALES

Las fibras aferentes sensoriales del dolor o también denominadas como neuronas de primer orden, tienen ramificaciones que van del ganglio de la raíz dorsal hasta la periferia y la médula espinal, donde hay sinapsis con neuronas de segundo orden y de este modo, es como la información llega al tálamo y al tallo cerebral. Los nervios periféricos por los que son transmitidos los estímulos nociceptivos hacia la médula espinal, están compuestos por fibras que difieren en su velocidad de conducción y diámetro. Con base en estos criterios se clasifican en tres tipos A, B, C (Ortega-Varela, 2008).

- **Fibras A:** existen cuatro clases distintas α (alfa), β (beta), γ (gama) y δ (delta). Las fibras $A\beta$ son mielinizadas, de rápida conducción (30 a 100 m/s) y gruesas (de más de 10 μm de diámetro), detectan estímulos táctiles inocuos, pero

en ciertas condiciones patológicas dichos estímulos pueden interpretarse como dolorosos. Las de tipo A δ están mielinizadas parcialmente, son delgadas (2-6 μm), detectan y transmiten estímulos térmicos y mecánicos con una conducción intermedia (12 a 30 m/s).

- **Fibras B:** este tipo de fibras se relacionan con estímulos neurovegetativos (Ortega-Varela, 2008).
- **Fibras C:** estas fibras son amielínicas, responden a estímulos térmicos, químicos y mecánicos, son muy delgadas (0.4 a 1.2 μm) y su velocidad de conducción es lenta (0.5 a 2 m/s).

Las fibras que se encargan directamente de la neuroconducción del dolor son las de tipo A δ y C. En este proceso las fibras C tienen gran importancia ya que a pesar de su lenta velocidad de conducción, están presentes en gran número y pueden transmitir grandes cantidades de información nociceptiva (Diamond, 1992; Baba et al., 1999).

1.1.4. SENSIBILIZACIÓN PERIFÉRICA

Una lesión tisular produce cambios profundos en el ambiente químico de las terminales de los nociceptores periféricos (Woolf, 2004). Al activarse una reacción inflamatoria se liberan sustancias como la bradicidina, la histamina y la serotonina. En el sitio de la lesión también se encuentran presentes macrófagos, Mastocitos, Neutrófilos, que liberan citocinas y factores de crecimiento, lo que favorece la síntesis de Eicosanoides como prostaglandinas y ciclooxigenasas (COX) (Levine, 2003). Dichos factores propician la transcripción de canales de Na⁺ hiperexcitables, lo que se traduce en potenciales de acción espontáneos

(Cummins y Reeh, 2000). Esta “sopa inflamatoria” produce cambios de pH, liberación de ATP (adenosín trifosfato) de las células lesionadas, síntesis y liberación de óxido nítrico (NO), lo que amplifica la señal dolorosa hacia la médula espinal y los centros superiores. Todos estos cambios contribuyen a disminuir el umbral doloroso de los nociceptores y crean un aumento de la señal para pequeños estímulos (Chong, 2001) (figura 3).

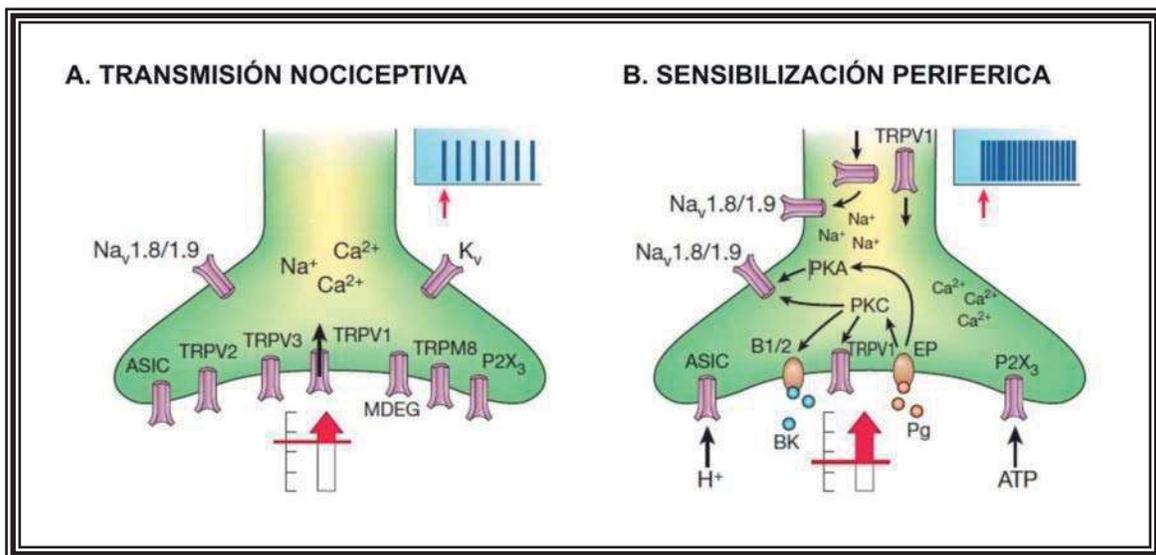


Figura 3. Proceso de sensibilización periférica. En la figura se muestran los distintos receptores de transducción de señales y canales iónicos situados en la terminal periférica de un nociceptor. En condiciones de dolor nociceptivo (A), estos receptores responden a estímulos térmicos, químicos y mecánicos de alto umbral. Cuando los estímulos persisten en intensidad y duración, aparte de los mediadores nociceptivos, existen sustancias sensibilizantes como la prostaglandina E2 (PGE2) o el factor de crecimiento neuronal (NGF) activan cinasas intracelulares que promueven fosforilaciones que producen la reducción del umbral de los receptores e incrementan su excitabilidad (B) (modificado de Scholz y Woolf, 2002).

1.1.5. SENSIBILIZACIÓN CENTRAL

La elevada concentración de impulsos nociceptivos que provienen de la periferia afecta a los nociceptores ubicados en las distintas láminas del asta dorsal, lo que da por resultado el fenómeno de sensibilización central (Baron, 2006; Besson, 1999; Bereiter y Bennetti, 1996). La generación de estos impulsos, activan otro tipo de receptores, como es el caso del N-metil-D-aspartato (NMDA), tanto a nivel presináptico como postsináptico (Bardoni et. al, 2004; Dickenson et al., 1997). Lo que origina impulsos anormales persistentes en la médula espinal y con ello se provoca un estado de hiperexcitabilidad y de dolor sostenido (Sun et al., 2005; Woolf y Ma, 2007) (Figura 4).

Existe un mecanismo espinal denominado “Wind up”, donde se experimenta un aumento del dolor debido a la estimulación intensa y sostenida asociada con un daño tisular que provoca una suma temporal de despolarizaciones postsinápticas (Gracely et al, 2003; Meeus, 2007). Está mediado por la liberación de glutamato y Sustancia P (SP) y que actúan sobre receptores NMDA y neurocinina 1 (NK1). La activación de estos, tienen en común el incremento de calcio intracelular, que podría explicar hiperexcitabilidad neuronal persistente. Al estar activos estos receptores promueven la síntesis de prostaglandinas y de óxido nítrico (Sukiennik, 1995; Sorkin, 1997; Baron, 1998; Linden, 1999)

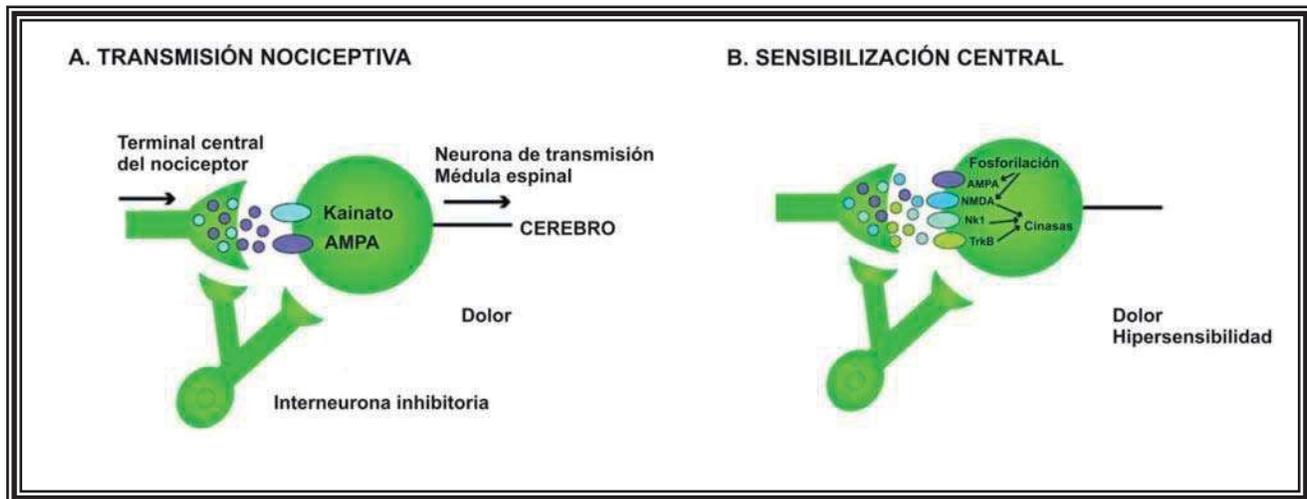


Figura 4. Proceso de sensibilización central. En condiciones de dolor nociceptivo (A) la terminal central de los nociceptores libera aminoácidos excitatorios hacia las neuronas de transmisión de la médula espinal. Los potenciales de acción generados por glutamato en los receptores AMPA y KAINATO se conducen a centros superiores. Si la estimulación nociceptiva se mantiene (B) aumenta la concentración de los aminoácidos excitatorios y se agrega la liberación de sustancias sensibilizantes (como sustancia P y el factor neurotrófico derivado del cerebro) al medio promoviendo la actividad de cinasas que permiten la activación de los receptores NMDA y cambios en la transcripción. Esto permite amplificar las señales nociceptivas de tal forma que los pulsos que en condiciones nociceptivas tienen duración de segundos, pueden tener efectos por horas cuando la terminal central está sensibilizada (modificado de Woolf, 2004).

1.1.6. MEDIADORES QUÍMICOS DEL DOLOR

Cuando ocurre una lesión y se produce daño tisular, se liberan diversos mediadores químicos, en la zona de la lesión, entre los que se incluyen el ATP, el Glutamato, la serotonina, la histamina, la galanina, la bradicidina y los H^+ . Dichos mediadores pueden alterar la excitabilidad neuronal directamente a través de modular canales iónicos en la superficie de las neuronas que perciben el dolor (nociceptores), donde otros mediadores (bradicidina) se unen a receptores metabotrópicos y sus efectos son mediados por medio de cascadas de señalización de segundos mensajeros (Julius y Basbaum, 2001). Las prostaglandinas son mediadores liberados en los tejidos lesionados, no generan dolor por sí mismas pero que pueden amplificar las señales eléctricas generadas

en los nociceptores. En el sitio de la lesión también existe la presencia de leucocitos, como una respuesta defensiva contra agentes infecciosos que pudiesen haber penetrado en los tejidos dañados y que también liberan mediadores que producen dolor (González, 2009). La intensidad de la señal nociceptiva dependerá de la interacción de todos los mediadores presentes en la sopa inflamatoria y no de la magnitud aparente de la herida (Castañeda-Hernández, 2009).

1.1.7. MEDIADORES PRONOCICEPTIVOS

Al existir daño tisular, se libera una mezcla de distintos mediadores químicos como resultado de la inflamación, viéndose afectada la actividad y el metabolismo de las fibras sensoriales. Estos mediadores incluyen citocinas y sustancias neurotransmisoras que son liberadas por las células inflamatorias, las fibras aferentes, las fibras simpáticas y las células no inflamatorias que están presentes en el sitio de la lesión. La función que cumplen estos agentes es la de activar o sensibilizar las terminaciones periféricas de los nociceptores produciendo cambios en los canales iónicos. Estos cambios tienen como repercusión alterar la bioquímica de las neuronas sensoriales y un gran impacto tanto cuantitativo como cualitativo en la producción de la inflamación (Dray, 1995; Ma y Quirion, 2007).

1.1.7.1. PROTONES

En condiciones tisulares ácidas como la isquemia, la hipoxia y la inflamación la producción de protones aumenta, produciéndose dolor, espasmos musculares e hiperalgesia ya que pueden aumentar la permeabilidad de la

membrana. Este proceso ocurre principalmente en nociceptores polimodales (Dray, 1995). Por medio de receptores activados por capsaicina de tipo TRPV1 (receptores de potencial transitorio V1) que se encuentra específicamente en los nociceptores, los protones pueden inducir la activación de neuronas sensoriales. En algunos estudios se ha evidenciado la importancia de este tipo de receptores en la nocicepción, ya que se ha demostrado que son esenciales para originar hiperalgesia térmica. La sensibilización de dichos receptores se produce al iniciarse la inflamación por la existencia de daño tisular (Numazaki y Tominaga, 2004).

1.1.7.2. CININAS

Las cininas son enzimas peptídicas que están implicadas en procesos fisiológicos como el aumento de la permeabilidad vascular, la activación de nociceptores polimodales de tipo C y la estimulación en la síntesis de prostaglandinas (Bevan y Geppetti, 1994). Destacan como cininas la bradicidina, Calidina y la T-cinina que actúan a nivel de receptores específicos B1 y B2, acoplados a proteínas G. Los receptores B1 son inducibles por lesiones tisulares y los B2 se expresan de manera constitutiva y en ausencia de inflamación, median los efectos de la bradicidina y de la Calidina por medio de las fosfolipasas A2 y C (Petho et al., 2001). La bradicidina lleva a cabo distintas funciones; entre las cuales se incluye la despolarización de terminaciones periféricas nociceptivas, lo que estimula la liberación de taquicininas, que producen nocicepción e incrementan la permeabilidad vascular (Geppeti, 1993; Gilligan et al., 1994).

También favorece la liberación de óxido nítrico de las células endoteliales, el cual produce vasodilatación (Bevan y Geppetti, 1994).

1.1.7.3. PROSTANOIDES

Los prostanoïdes incluyen prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, son mediadores lipídicos que modulan una gran variedad de procesos fisiológicos. Su biosíntesis es inducida por distintas situaciones patológicas como cáncer, fiebre e inflamación. Se sintetizan a partir del ácido araquidónico (AA) por la acción de las enzimas ciclooxigenasas (COX) y lipoxigenasa.

Las prostaglandinas juegan un papel muy importante en el inicio del proceso inflamatorio que está asociado con neuropatía, pero no en el mantenimiento de éste (Hewett et al., 2006). En los años 70's, varias investigaciones demostraron que las prostaglandinas, según su tiempo de liberación y su concentración durante la inflamación, inducen diversos efectos proinflamatorios. Algunos de estos efectos son: aumento del flujo sanguíneo en la microcirculación provocada por la vasodilatación, promueven la formación de edema y la sensibilización de los nociceptores (Yoshikai, 2001). Tras el rompimiento del ATP por acción de las prostaglandinas se generan alteraciones en el potencial de la membrana, lo que disminuye el umbral de excitación de los nociceptores y la sensibilización de terminaciones nerviosas aferentes, ante la presencia de estímulos químicos o mecánicos. La prostaglandina E (PGE), en conjunto con la bradicidina, ejercen una acción directa sobre los nociceptores y modifican la circulación de leucocitos, al estimular la circulación sanguínea en la región inflamada (Ortega, 1995). Los tromboxanos, sintetizados por los monocitos,

los macrófagos y las plaquetas, tienen una acción vasoconstrictora y favorecen la agregación de plaquetas. Los leucotrienos favorecen la adherencia de las células inflamatorias a las paredes de las vénulas postcapilares (Casale y Abbas, 1990).

1.1.7.4. ATP

Como consecuencia de un daño tisular, inflamación, tumores, migraña o una distensión visceral, pueden liberarse cantidades importantes de ATP. Éste se ha relacionado con la nocicepción por su acción sobre los receptores P2X, la activación de estos receptores sugiere que contribuyen al dolor causado por las situaciones antes mencionadas (Galindo y Flores 2006).

Distintos estudios han revelado que el ATP puede activar neuronas sensoriales primarias. A finales de la década de los 70's, Bleehen et al. (1977), observaron que la administración de dosis bajas de ATP producía dolor y, en otro estudio realizado tiempo después, se demostró que, al igual que las neuronas sensoriales, las neuronas del asta dorsal de la médula espinal podían ser despolarizadas por el ATP (Jahr, 1985). Con respecto a estudios realizados en humanos, éstos revelaron que la inyección intracutánea de ATP en concentraciones elevadas, provocó la activación de fibras nociceptivas tipo C, incluidas sus unidades mecanosensibles (Hilliges, 2002).

1.1.7.5. SEROTONINA

La serotonina es un neurotransmisor muy importante a nivel del sistema nervioso central (SNC). Esta sustancia es liberada por las plaquetas y los Mastocitos cuando se produce daño tisular. Los cuerpos celulares

serotoninérgicos, son importantes en la detección y respuesta de estímulos externos ya que la mayoría de ellos se encuentran en los núcleos del rafé, donde sus axones son proyectados hacia distintas estructuras corticales y diencefálicas, así como hacia la médula espinal (Gancedo, 2008). Existen doce tipos de receptores serotoninérgicos, están implicados algunos en la transmisión del dolor y otros tienen una función antinociceptiva (Montes, 2003). La serotonina ejerce su acción nociceptiva por medio de la apertura de canales de sodio. A nivel periférico, su liberación provocada por un daño tisular facilita la activación de nociceptores periféricos. A nivel del SNC, las neuronas serotoninérgicas están implicadas en la transmisión de estímulos nociceptivos y en la inhibición del dolor en presencia de agonistas opioides. En la médula espinal se tiene también un efecto inhibitorio en la transmisión del dolor, al igual que en el cerebro, gran parte de este efecto se relaciona con la activación de receptores 5HT-1 (5-hidroxi triptamina), y más específicamente de los receptores 5HT-1B, ya que al parecer los receptores 5HT-1A facilitan la respuesta nociceptiva (Gancedo, 2008).

1.1.7.6. HISTAMINA

Cuando los Mastocitos son estimulados por la sustancia P liberan histamina (Grubb, 1998). Al activarse los receptores H_1 por acción de esta, se produce un aumento en la entrada de calcio que conlleva a una liberación de neuropéptidos y cininas provocando que la señal dolorosa se amplifique (Besson y Chaouch, 1987). La histamina produce cambios tanto en la microcirculación así como en la vasodilatación y un aumento en la permeabilidad vascular, permitiendo así que los leucocitos puedan llegar a la zona del trauma.

1.1.7.7. ÓXIDO NÍTRICO (NO)

El NO es uno de los neurotransmisores que tienen un papel muy importante en distintos procesos fisiológicos y en la regulación de los procesos nociceptivos (Hai-Ying y Graham, 2002). A nivel de la médula espinal, la producción de NO se lleva a cabo por la estimulación de las neuronas nociceptivas aferentes que activan receptores NMDA. La enzima óxido nítrico sintasa (NOS) es la encargada de sintetizar NO, se han descrito tres isoformas distintas de esta enzima: nNOS (óxido nítrico sintasa neuronal), eNOS (óxido nítrico sintasa endotelial), e iNOS (óxido nítrico sintasa inducible). En el año de 1992, Meller utilizando modelos animales de dolor neuropático e inflamatorio, demostró que los inhibidores selectivos de la NOS, producen analgesia (Meller, 1992).

El óxido nítrico es capaz de producir efectos nociceptivos y pronociceptivos, tanto a nivel central como periférico (López-Muñoz, 1994). A nivel periférico su papel no está bien definido, se cree que durante procesos inflamatorios favorece la transmisión nociceptiva. En tanto que está comprobado que él NO modula la liberación de Ácido gamma amino butírico (GABA), serotonina, acetilcolina y noradrenalina a nivel del SNC y podría estar implicado en procesos de plasticidad y sensibilización neuronal (Janicki et al., 1998).

1.2. INFLAMACIÓN

Al presentarse daño tisular por causa de una infección bacteriana, golpes, quemaduras, irritación con agentes químicos o por cualquier otra causa, los tejidos dañados secretan sustancias que provocan cambios en la apariencia y estructura de la zona afectada. Estos cambios son responsables tanto de la lesión, como de los mecanismos que son activados para la reparación y recuperación de la homeostasis (González, 2009). A este proceso que comprende desde que ocurre el daño hasta que el tejido se recupera, se le conoce con el nombre de inflamación (Abbas y Lichtman, 2005). La inflamación presenta cuatro signos cardinales que permiten reconocerla: rubor (enrojecimiento de la zona), calor (aumento de la temperatura local), tumor (edema), dolor (hiperalgesia), dichos signos fueron descritos por Celso (Nathan, 2002).

La inflamación es el proceso fisiológico que el organismo pone en marcha para la remoción de estímulos dañinos y para poder iniciar con el proceso de recuperación del tejido dañado. Este proceso está regulado muy específicamente por medio de células, moléculas y eventos que le dan inicio, la mantienen y por último la eliminan cuando el tejido ha sanado. Sin la inflamación, las heridas e infecciones no podrían sanar y se podría ver comprometida la vida del organismo. Sin embargo, si hay una aparición descontrolada y constante de la inflamación pueden producirse enfermedades tales como artritis reumatoide y aterosclerosis. La inflamación se puede presentar de manera aguda, subaguda y crónica (González, 2009).

1.2.1. DOLOR INFLAMATORIO

El dolor inflamatorio de significancia clínica se desencadena por lesiones tisulares que dan lugar a una respuesta inflamatoria que, a su vez, estimula directamente a los nociceptores (figura 5). Las rupturas tisulares (heridas, fracturas, desgarros musculares), presiones intensas que ocasionan isquemia o daños tisulares, quemaduras, frío intenso y prolongado y lesiones químicas, dan lugar a la aparición del dolor inflamatorio. Las células dañadas liberan una gran variedad de sustancias y otras más se sintetizan durante los eventos que siguen a la lesión (Moreno y Prada, 2004). Estas sustancias sensibilizan los nociceptores mientras que otras los activan directamente. Los iones K^+ , la serotonina, la bradicidina y la histamina, por su parte, son activadores. Además la lesión tisular provoca cambios vasculares locales:

A. Vasoconstricción refleja en la piel del área afectada, seguida por una vasodilatación compensatoria y una extravasación de líquidos y un edema local.

B. Inflamación neurógena, producida por la liberación de sustancias proinflamatorias en la terminal nerviosa que ha sido estimulada, produciendo respuestas prolongadas y progresivas (Moreno y Prada, 2004).

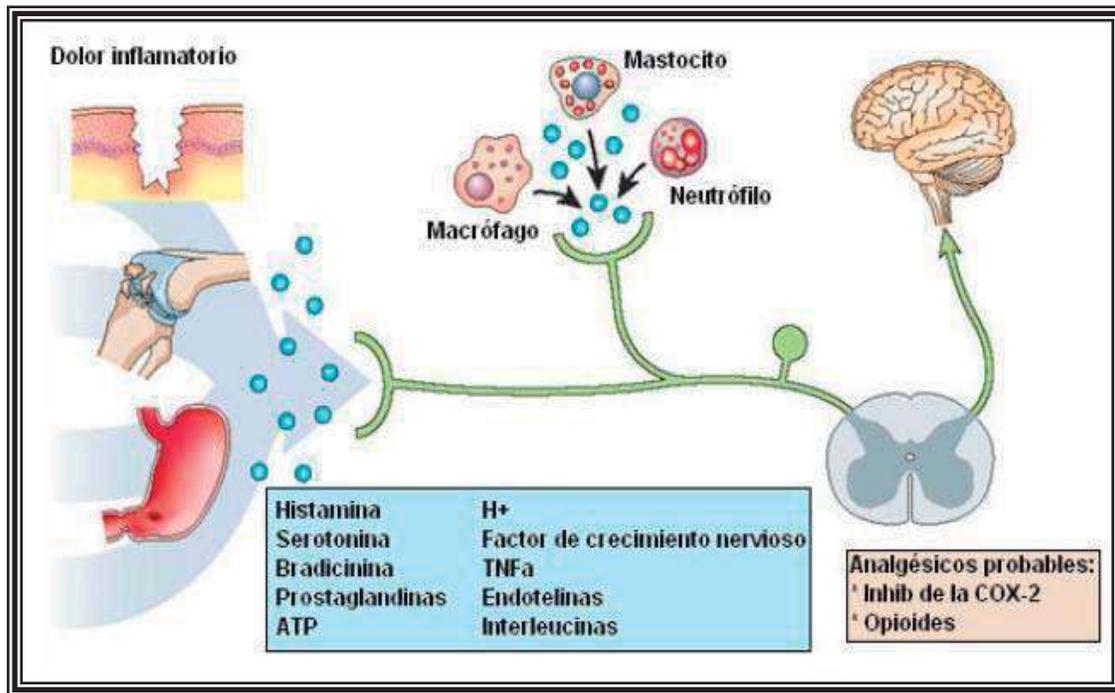


Figura 5. El dolor inflamatorio se presenta como consecuencia de daño tisular. Algunos mediadores que se liberan tras la lesión son: histamina, Bradicidina, serotonina, prostaglandinas, entre otros. Tanto los opioides como los inhibidores de la COX-2 son utilizados para su tratamiento (Modificado de Scholz y Woolf, 2002).

Después de una lesión cutánea, la piel lesionada es hipersensible a estímulos dolorosos, lo cual se conoce como hiperalgesia primaria o local. En el área dañada existe vasodilatación, el umbral a estímulos dolorosos está disminuido (Moreno y Prada, 2004). Esta modificación en los umbrales hace que se incremente la sensibilidad del tejido, haciendo que estímulos no nocivos sean dolorosos, lo que inhibe cualquier contacto con el tejido dañado o incluso el movimiento de dicho tejido, lo que conlleva al proceso de recuperación (Woolf, 2004). Los estímulos térmicos de baja intensidad producen dolor, debido a que tras la lesión se desarrolla sensibilización en los receptores a dichos estímulos.

Las funciones de las neuronas aferentes primarias son la detección de estímulos nocivos y la transmisión de información codificada al cerebro. En los

tejidos cutáneos y somáticos existen en inervaciones de este tipo de neuronas que hacen sinapsis en la médula espinal (Costigan y Woolf, 2000; Meunier, 2004). La aparición del dolor es una consecuencia de que las neuronas aferentes primarias están realizando su función. Al existir daño tisular, el organismo activa distintos mecanismos para la reparación de la lesión y la resolución del proceso inflamatorio. Se desencadenan cascadas de transducción mediadas por los receptores activados, para modular las moléculas efectoras que están implicadas en alteraciones de los sistemas neuronales encargados de la transmisión nociceptiva (Costigan y Woolf, 2000; Meunier, 2004).

1.2.2. TRATAMIENTO DEL DOLOR INFLAMATORIO

En 1982 un grupo de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), establecieron el término “escalera del dolor” (figura 6), la cual es un método de fácil aplicación para el tratamiento del dolor inflamatorio. Cada escalón del modelo representa el proceso de selección de un fármaco específico para un determinado tipo de dolor en función de su intensidad y se centra en el enfoque farmacológico del control del dolor (WHO, 1990; De Lima, 2004).

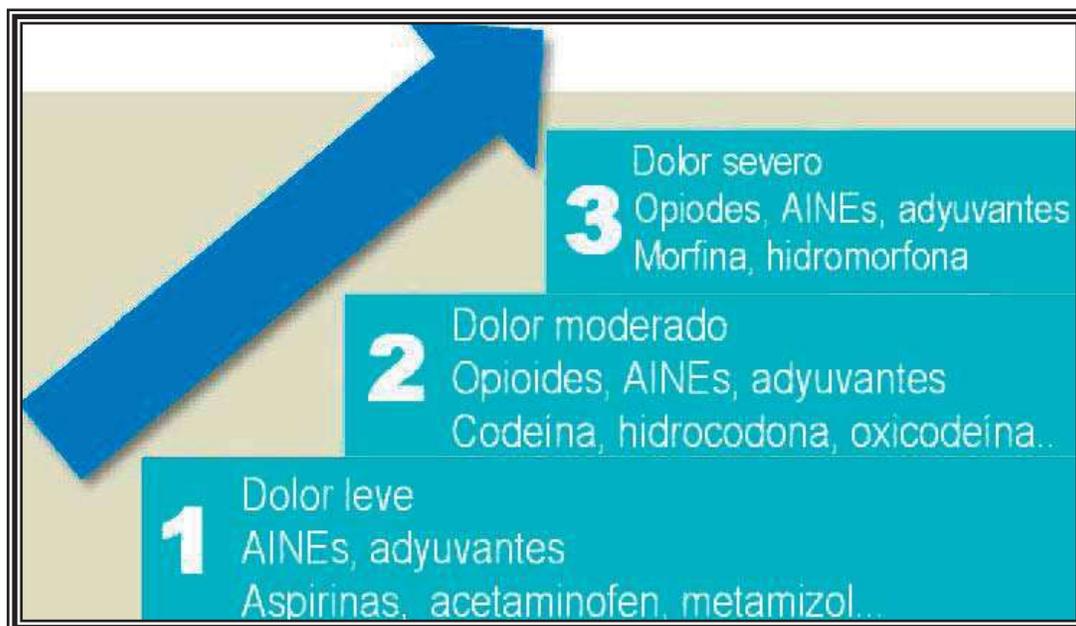


Figura 6. Escalera analgésica de la OMS (modificado de De Lima, 2004).

En ella, los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) constituyen el primer peldaño de los medicamentos utilizados en el tratamiento del dolor inflamatorio y asciende hasta el último peldaño con los opioides potentes (Colleau, 2006). Cada analgésico puede combinarse con fármacos coadyuvantes, éstos son agentes que, aunque no fueron creados principalmente para el tratamiento del dolor, presentan efectos analgésicos en ciertas categorías. Entre los medicamentos coadyuvantes se engloban diversos fármacos que potencian la acción de los AINES y opioides, disminuyendo sus efectos indeseables y aliviando síntomas asociados a la propia enfermedad, los más utilizados son los fármacos psicótopos, antiepilépticos y corticosteroides.

1.2.2.1. AINES

En la actualidad, los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) son uno de los grupos farmacológicos más utilizados en el mundo como tratamiento

analgésico y en el control del dolor leve (que no afecta las actividades habituales) a moderado (que interrumpe las actividades habituales) en pacientes que presentan dolor agudo, como consecuencia de una intervención quirúrgica o en casos de dolor crónico. Estos medicamentos que ejercen sus efectos terapéuticos antiinflamatorios y analgésicos, así como sus efectos secundarios, a través de la inhibición de la enzima Ciclooxygenasa (COX), que convierte el ácido araquidónico en prostaglandinas y tromboxanos (Ashburn, 2002). Existen tres isoformas de esta enzima COX 1, COX 2 y COX 3. La COX-1: es constitutiva, es responsable de sintetizar prostaglandinas, participa en las homeostasis y otras funciones fisiológicas, como la citoprotección del tubo gastrointestinal y la regulación sanguínea en los riñones. La isoforma COX-2 es inducible, es responsable de la catálisis de la producción local de prostaglandinas y aparece como respuesta a daño tisular o la presencia de mediadores inflamatorios (Torres-López y Granados-Soto, 2001). La COX-3, aparece 48 horas después de haberse iniciado el proceso inflamatorio y está involucrada en la biosíntesis de mediadores pro-inflamatorios endógenos como los prostanoïdes (González et al., 2002). La inactivación de estas enzimas bloquea la sensibilización y activación de fibras nerviosas periféricas, disminuyendo el número de impulsos hacia el sistema nervioso central.

Dado que los Eicosanoides presentes en el proceso inflamatorio participan en varios procesos fisiológicos, la inhibición de la síntesis de éstos es la causa de las reacciones adversas que pueden llegar a presentarse con el uso de los AINEs (Florez et al., 2003). A pesar de su gran eficacia los AINES, presentan un perfil de efectos secundarios relativamente frecuentes (Pablos, 2005). Uno de los

principales efectos adversos es el desarrollo de alteraciones gastrointestinales, siendo las más importantes la producción de úlceras o perforaciones.

1.2.2.2. OPIOIDES

Estudios preclínicos realizados en los años 80's demostraron que los opioides no sólo son efectivos como analgésicos, sino también como antiinflamatorios. La morfina, en modelos de inflamación por agentes químicos, como el Dextrano (Zeitune et al., 1991) y la Carragenina (Joris et al., 1990), redujo el edema entre un 50% y 30%, respectivamente. Algunos estudios *in vitro* mostraron que los péptidos opioides endógenos (POE) interaccionan con los granulocitos, especialmente con Neutrófilos, induciendo cambios en dichas células (Falke y Fischer, 1985; Fischer y Falke, 1987), modificando su adherencia al endotelio vascular y modulando la migración celular de la respuesta inflamatoria.

Hasta ahora, los mecanismos mediante los cuales los opioides inducen estos efectos, no se conocen con exactitud. Sin embargo, se conoce la importante implicación de algunos neurotransmisores como la SP y el péptido relacionado al gen de la calcitonina (CGRP), así como la histamina en el efecto antiinflamatorio de estos fármacos. La activación de los receptores opioides (RO) induce una disminución en la liberación de dichos neurotransmisores desde las terminaciones sensoriales nociceptivas (Khalil y Helme, 1990).

1.3. DOLOR NEUROPÁTICO

El dolor neuropático es una consecuencia de varios tipos de procesos patológicos que afectan a las neuronas del SNC o periférico (Zhuo, 2007). El

“Special Interest Group on Neuropathic Pain” de la IASP, define al dolor neuropático como el dolor causado por una lesión directa o como una enfermedad que afecta al sistema somatosensorial (Treede et. al, 2008). En este estado, el dolor ya no es una señal fisiológica asociada con protección y pierde su condición adaptativa, convirtiéndose en un estado patológico, donde intervienen distintos elementos que facilitan su generación y persistencia (Gómez-Barrios y Tortorici 2009). En la práctica clínica es un síndrome de difícil manejo, produce modificaciones en la fisiología normal de las neuronas que integran la vía de transmisión nociceptiva, que operan tanto a nivel periférico como central.

1.4. COMBINACIONES ANALGÉSICAS

Al utilizar una combinación de analgésicos se puede llegar a obtener varios beneficios potenciales, en comparación con la utilización de un agente individual. Al incluir analgésicos combinados en una misma formulación farmacéutica se puede llegar a facilitar la prescripción y el apego al tratamiento, al minimizar el número de los medicamentos que son necesarios consumir para el manejo del dolor (Raffa, 2001). La combinación de fármacos es una práctica bien conocida y muy extendida, gracias a que ha demostrado su rentabilidad terapéutica y habitualmente se utiliza tanto en anestesia como en analgesia. Debe tenerse en cuenta que debe existir un balance adecuado entre los conceptos de efectividad y seguridad. La calidad del tratamiento se mide con base al alivio conseguido y el confort del paciente es evaluado teniendo en cuenta la combinación entre la eficacia analgésica conseguida con el tratamiento y la disminución de efectos

secundarios. Al elegir una determinada combinación farmacológica, se deben tomar en cuenta aspectos tales como: las características individuales de cada fármaco, que no haya una competencia metabólica entre los dos fármacos, que sean farmacodinámicamente compatibles y que la acción analgésica de ambos se pueda sumar. Durante el proceso de diseño de combinaciones analgésicas, es necesario buscar beneficios que aseguren que el tratamiento será satisfactorio y mejorará la calidad de vida del paciente (González, 2009).

Las combinaciones analgésicas presentan la ventaja de emplear dosis más pequeñas de cada analgésico que constituye la combinación, lo que puede llevar a la disminución de los efectos adversos que se puedan presentar individualmente, mejorando así su nivel de seguridad. Además, ofrecen la posibilidad de que la acción de los fármacos se presente de manera sinérgica, lo cual ha quedado demostrado con la interacción entre analgésicos diferentes, como por ejemplo; el Tramadol y Gabapentina (Granados-Soto y Argüelles, 2005) o enantiómeros del mismo fármaco (Tramadol) (Raffa et al., 1993) y de este modo se logra una mayor cobertura en el tratamiento y control del dolor. De estos estudios se deriva el hecho que el sinergismo es una propiedad que depende tanto de la actividad intrínseca de los fármacos que constituyen la combinación, como de la proporción de cada uno de ellos en ésta. Es de destacar el hecho de que también el sinergismo puede ocurrir en combinaciones en las que uno de los constituyentes carece de eficacia como agente individual (Ortega-Varela, 2008).

1.4.1. ISOBOLOGRAMA

Para discernir el tipo de interacción presente en las combinaciones farmacológicas, una herramienta importante es el isoblograma (Tallarida, 2000). Es un método gráfico que emplea pares de dosis equiefectivas para obtener un determinado nivel de efecto (isobolas) y ofrece una evaluación visual del comportamiento de la combinación al establecer una línea de aditividad, que es el resultado del nivel de efecto determinado para cada fármaco individual (DE_{50} , DE_{30} , etc.), como puntos axiales de un plano cartesiano (figura 7). La citada línea formada entre estos dos puntos corresponde a todas las posibles combinaciones entre los dos fármacos, que teóricamente presentarían ese efecto en forma aditiva. Esta línea teórica de aditividad permite la comparación con datos obtenidos al evaluar esos pares de dosis de manera experimental, determinando si la combinación se comporta de manera aditiva, antagónica o sinérgica.

La idea del isoblograma fue introducida por Loewe en 1953, pero no se le dio importancia hasta que se empleó en 1970 en un estudio de la combinación de alcohol etílico e hidrato de cloral, en el que se demostró que al analizar varias combinaciones de estos agentes en distintos cocientes fijos (proporciones diferentes) en algunos casos se observaron efectos aditivos, en otros subaditivos (antagónicos) y en ciertas ocasiones superaditivos (sinérgicos) (Gessner y Cabana, 1970).

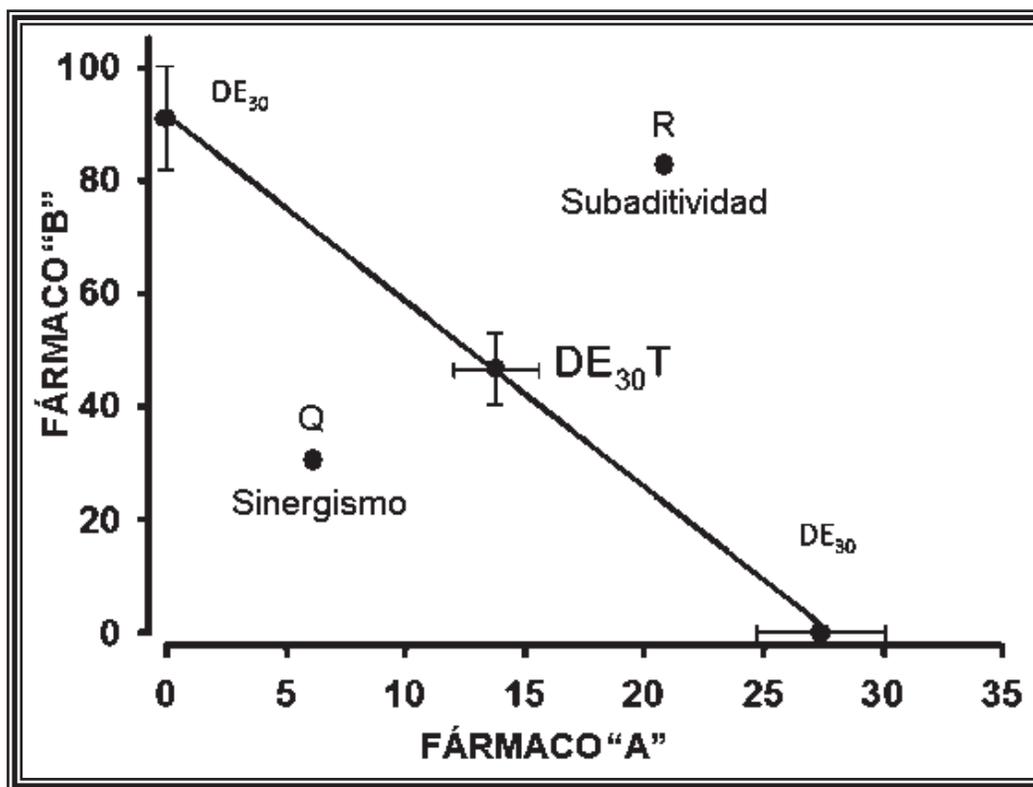


Figura 7. Isoblograma. Para una determinada combinación de fármacos, se traza una línea entre la DE_{30} del fármaco individual A (27.5 unidades) y la DE_{30} del fármaco individual B (90 unidades), esta línea corresponderá a todas las combinaciones posibles (pares de dosis) de A y B, que teóricamente son capaces de obtener el mismo efecto ($DE_{30}T$). Si experimentalmente se obtiene un par de dosis como el punto Q, que requiere menor cantidad que la teórica de cada fármaco para obtener ese efecto, la combinación será sinérgica (superaditiva). Pares de dosis denotados por puntos como el R implican mayores cantidades que las que teóricamente son requeridas, mostrando antagonismo (subactividad) (Tomado de Tallarida, 2001).

1.5. DIACEREÍNA

La diacereína (ácido 5,5 Bis (acetilóxido)-9,10-dihidro-9,10-dioxo-2-antraceno), es un derivado carboxílico del antraceno (Leblan, 2000) (figura 8). Está demostrado que previene el rompimiento de los cartílagos al reducir los niveles de citocinas proinflamatorias e inhibe la producción de óxido nítrico inducida por la elevada producción de interleucina I-Beta (Pelletier et al., 1998; Quintao et al., 2005). Desde 1982 se han realizado ensayos para mostrar los

efectos de este fármaco en la osteoartritis (OA). En 1992, en Francia, la diacereína recibió aprobación para el tratamiento sintomático de la osteoartritis y se ha comercializado desde 1994 (Lingetti, 1982). La osteoartritis es una patología degenerativa que afecta a los tejidos cartilagosos de las articulaciones (Pelletier et al., 2000).

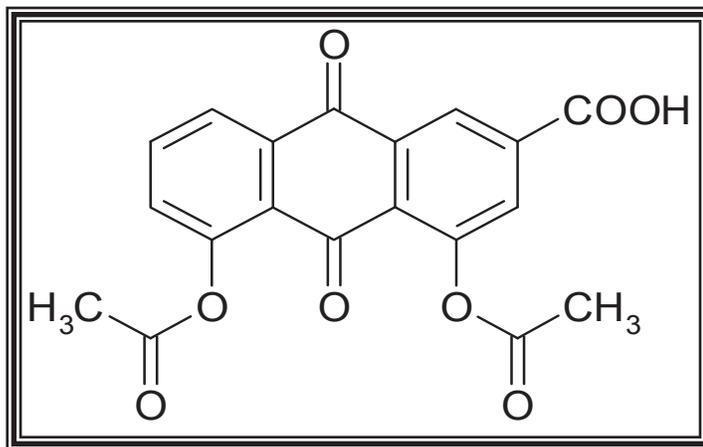


Figura 8. Estructura de la diacereína.

Recientemente, se ha sugerido que la diacereína puede tener propiedades antiinflamatorias distintas a la de los AINEs, ya que se ha probado su capacidad de reducir la inflamación en distintos modelos animales. Tiene un efecto protector sobre el granuloma inducido por la degradación del cartílago, al reducir las concentraciones de citocinas proinflamatorias (Moore 1998). Estudios *in vitro* han demostrado que la diacereína estimula la producción de factores de crecimiento del cartílago, así como su transformación, aún en presencia de la interleucina 1 (IL-1) (Felisaz et al., 1999).

1.5.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA DIACEREÍNA

En modelos experimentales y en modelos humanos de osteoartritis se han comprobado los distintos mecanismos por los cuáles la diacereína ejerce su acción (Verbruggen, 2006). Inhibe directamente la síntesis y liberación de la IL-1 (Verbruggen, 2005) y la secreción de metaloproteasas como estromielisina y colagenasa (Pelletier et al., 1998, Boittin, 1993). Inhibe la expresión de enzimas que degradan el cartílago. Induce la expresión del factor de crecimiento transformante (TGF) β -1 y β -2 favoreciendo así, la síntesis y recambio de condrocitos articulares (Felisaz, 1999). *In vitro*, no presenta ningún efecto inhibitorio sobre la fosfolipasa A₂, COX o lipoxigenasa, por el contrario estimula la síntesis de prostaglandinas E₂ en los cultivos de condrocitos (Pelletier et al., 1998). De igual manera, inhibe la producción de superóxido, la quimiotaxis y la actividad fagocítica de los Neutrófilos, además de efectos sobre la migración de macrófagos y la fagocitosis (Spencer, 1997). Está demostrado que la diacereína participa en la prevención de la pérdida de hidroxiprolina y proteoglicanos en el cartílago articular, efecto que no se observa con los AINEs o inhibidores de la COX-2 convencionales.

1.5.2. METABOLITOS DE LA DIACEREÍNA

La reína es el metabolito activo de la diacereína, el cual ha demostrado que reduce la inducción de la IL-1 β al inducir la óxido nítrico sintasa y aumentar la producción e inhibe la actividad de COX-2 en condrocitos humanos normales y con artrosis (Pelletier et al., 1998).

La eficacia de la reína en la terapia de enfermedades degenerativas de articulaciones y de los huesos se ha demostrado en varios estudios clínicos (Fioravanti, 1988; Nguyen, 1994), donde se encontró que puede estar mediada por la capacidad de la reína para restringir la migración de los leucocitos en los tejidos inflamados y reducir la producción de aniones superóxido de los neutrófilos humanos (Mian, 1987), para inhibir varias actividades de las proteasas (Raimondi, 1992) y para aumentar la síntesis de hialuronato (Schöngen, 1988), así como para aumentar la fluidez de la membrana de los linfocitos (Beccerica, 1990).

1.5.3. EFECTOS ADVERSOS DE LA DIACEREÍNA

El principal problema de este fármaco utilizado en tratamientos prolongados es la elevada frecuencia en la aparición de efectos adversos gastrointestinales (Dougados, 2001). Hay estudios que han mostrado un efecto laxante de la diacereína asociado con diarreas y heces blandas que se presentan en un 20-30% de los casos después de las primeras dosis. Este efecto parece estar relacionado con la estructura química del fármaco y su degradación bacteriana en el colon (Nicolas, 1998). El segundo efecto adverso más frecuente que presenta este fármaco es el cambio de color de la orina, adquiriendo ésta un color amarillo-marrón, pero este efecto carece de importancia clínica. Otros efectos secundarios que pueden presentarse con menor frecuencia e intensidad son prurito, exantema y eccema (Mongil et al, 2006).

1.5.4. INTERLEUCINA 1 BETA (IL-1 β)

La interleucina 1 β es producida principalmente por monocitos y por macrófagos, así como por células no inmunológicas como fibroblastos y células endoteliales activadas durante la lesión celular, la infección y la inflamación. La IL-1 β produce dos clases de efectos. El primero es a través de la estimulación celular del sistema inmune y el segundo mediante una respuesta inflamatoria a través de la producción de prostaglandinas y proteínas plasmáticas (Abbas, 2002). Los efectos biológicos de la IL-1 β dependen de la cantidad de citocina producida, cuando se secretan bajas concentraciones de la interleucina, ésta actúa como mediador de la inflamación local y sobre células endoteliales, aumentando la expresión de moléculas de superficie que median la adhesión leucocitaria (Luster, 1998). Cuando son secretadas cantidades mayores, después de entrar en la circulación, la IL-1 β ejerce efectos endocrinos (Mantovani, 1997).

Existe dos isoformas conocidas: IL-1 α y IL-1 β , que actúan sobre los mismos receptores. La IL-1 α está relacionada estrechamente con las membranas celulares, ejerciendo sus acciones por medio de contactos celulares. La IL-1 β se sintetiza como una proteína precursora (Pro- IL-1 β), que es segregada en su forma activa después de metabolizarse por la enzima caspasa-1. Descubrimientos recientes indican que IL-1 β se expresa en neuronas nociceptivas del ganglio de la raíz dorsal (Lin, 2000; Raeburn, 2002; Zhang, 2007).

La IL-1 β produce una inflamación sistémica por medio de la activación de la Ciclooxygenasa-2, con la formación de prostaglandina E₂ (PGE₂) en el hipotálamo anterior causando fiebre. También produce sustancia-P (SP), óxido

nítrico (activando la enzima óxido nítrico sintasa) y moléculas de adherencia endotelial. Además, posee una importante función en el desarrollo y en el mantenimiento del dolor postoperatorio (Raeburn, 2002; Zhang, 2007; Wolf, 2008).

1.6. UTILIZACIÓN DE ANTIEPILÉPTICOS EN EL TRATAMIENTO DEL DOLOR

En el tratamiento del dolor neuropático, una gran dificultad con la que se debe lidiar es el efecto terapéutico limitado que ofrecen los analgésicos convencionales, opioides y AINEs, lo que ha llevado a la utilización de distintos tipos de fármacos, entre los cuales se encuentran los antidepresivos y los anticonvulsivos. Con estos se ha obtenido un relativo éxito en el tratamiento y manejo de este tipo de dolor (King, 2007).

Los fenómenos de epilepsia y de nocicepción tienen como común denominador que los dos son causados por hiperexcitabilidad neural. Debido a esto, es un hecho comprobado, tanto en la práctica clínica como en la investigación, que algunos antiepilépticos presentan propiedades analgésicas.

Actualmente se ha descrito un algoritmo de atención básica para el tratamiento del dolor neuropático (Gilron et al., 2006), en el que se recomienda extensamente el uso de anticonvulsivos y uno de los tratamientos de primera elección, lo constituye la gabapentina, topiramato y carbamazepina.

1.7. TOPIRAMATO (TPM)

El topiramato es un fármaco ampliamente utilizado para el tratamiento de la epilepsia (Sachdeo, 1997). Es útil para varios tipos de crisis parciales y crisis generalizadas, por lo que se le considera de amplio espectro, su estructura química consiste en un sulfamato sustituido, derivado del monosacárido D-fructosa (figura 9). Inicialmente se investigó su uso como antidiabético, ya que presumiblemente inhibía la enzima Fructosa-1,6-bisfosfatasa y por lo tanto la gluconeogénesis. Más adelante fueron observados sus efectos antiepilépticos y en el año de 1996 fue aprobado por la "Food and Drug Administration" (FDA) en Estados Unidos para el tratamiento de crisis convulsivas (Markind, 1998).

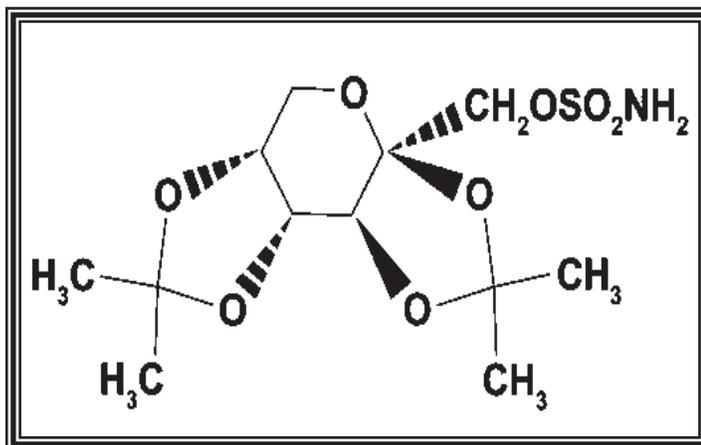


Figura 9. Estructura del topiramato.

En ensayos clínicos aleatorios, el TPM ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la neuralgia del trigémino (Gilron, 2001) y en el tratamiento del dolor neuropático, con una duración superior a 6 semanas en un ensayo abierto (Chong, 2003). En un estudio aleatorio se evaluó la eficacia del TPM en algunos tipos de dolor neuropático distintos a la neuralgia trigeminal y neuropatía diabética

dolorosa, donde se obtuvieron puntuaciones globales del alivio del dolor significativas (Khoromi et al., 2005).

1.7.1. MECANISMO DE ACCIÓN DEL TOPIRAMATO

En distintos estudios experimentales se han demostrado los múltiples mecanismos de acción que posee el TPM y que contribuyen a su amplio espectro terapéutico (tabla 1).

A. Bloquea canales de Na⁺ dependientes de voltaje, reduciendo así la duración de las descargas epileptiformes y la frecuencia y el número de potenciales de acción generados en cada descarga (De Lorenzo y Mc Lean, 2000).

B. Refuerza la actividad del GABA, ya que modula positivamente la acción de este sobre receptores GABA_A e incrementa el flujo de iones Cl⁻ a las neuronas (White, 1997). El GABA inhibe la neurotransmisión, actuando sobre dos subtipos de receptores: A y B. El receptor GABA_A es un receptor pentamérico transmembranal al cual se unen GABA, barbitúricos, benzodiazepinas, neuroesteroides y etanol. El receptor GABA_B es un regulador de los canales de calcio y potasio. Cuando los GABA_A o GABA_B están activados, permiten la entrada de cloruro y la salida de potasio de la célula, resultando en una inhibición del impulso de transmisión doloroso a la neurona postsináptica (Oneshuck, 1997).

C. Inhibición glutamatérgica, ya que tiene efectos antagonistas sobre los receptores glutamatérgicos AMPA y kainato (Biggs y Skaradski, 2000). Este bloqueo ocasiona una reducción en la excitabilidad neuronal.

D. Bloquea los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje (Zhang, 2000), y reduce la amplitud de las corrientes en los canales de tipo L, N y P, éste podría ser uno de los principales mecanismos por el cual el topiramato ejerce su acción anticonvulsiva, ya que los canales de Ca^{2+} tienen una gran importancia en el control de la excitabilidad neuronal y dendrítica que se desencadena por la entrada de Ca^{2+} .

E. Inhibe (de una manera muy eficaz) las isoenzimas II y IV de la anhidrasa carbónica, (Shank, 2000), que es la enzima encargada de catalizar la conversión del CO_2 en bicarbonato. Esta acción no se considera muy importante en la explicación de su efecto anticonvulsivo, pero existe evidencia de que la activación masiva de receptores GABA_A que se encuentran localizados en las dendritas de muchos tipos de neuronas, produce una despolarización que se debe a la salida de aniones de bicarbonato por canales de cloruro. Se cree que esta despolarización puede estar involucrada en la génesis de los fenómenos de hiperexcitabilidad.

Los efectos del TPM sobre estos complejos proteicos son variables y sus efectos pueden observarse de manera inmediata o diferida. La teoría más aceptada del efecto modulador del TPM sobre estos complejos, es la que propone que esto ocurre por medio de un mecanismo unificado que actúa alterando la fosforilación de una unidad o varias de cada complejo proteico. Las proteínas de dichos complejos son activadas o desactivadas por medio de procesos de fosforilación que están mediados por enzimas como la proteincinasa A y C, entre otras cinasas activadas por Ca^{2+} .

1.7.2. EFECTOS ADVERSOS DEL TOPIRAMATO

Los efectos adversos que presenta con más frecuencia TPM, conciernen al sistema nervioso y la pérdida de peso, según se ha comprobado en ensayos clínicos (Elterman et., 1999) y en estudios abiertos de de los mismos pacientes (Ritter et., 2000). El fármaco tiene efectos en el sistema nervioso como: inestabilidad, dolores de cabeza, nistagmos, temblor, trastornos de la palabra o disartria y trastornos del lenguaje. Otros efectos que suelen presentarse son: somnolencia, fatiga, dificultad para la concentración, confusión e irritabilidad (Rosenfeld, 1997). Se produce somnolencia en el 15-35% de los pacientes al inicio del tratamiento, pero generalmente ésta desaparece (Tassinari et al., 1996). Pueden presentarse efectos cognitivos en ausencia de sedación. En ensayos clínicos, en niños y adultos, se observó fatiga en el 13-16% de los pacientes (Waugh y Goa, 2003). La terapia con TPM causa una disminución del peso corporal de 4.6%. Este parece ser el resultado de la anorexia y el peso, lo cual tiende a estabilizarse a los 18 meses de tratamiento (Rosenfeld y Slater, 2002; Ben-Menachem et al., 2003). Los pacientes obesos pueden perder más peso, esto es a menudo un beneficio, pero puede limitar la terapia en los niños y en los pacientes que voluntariamente no pueden aumentar su consumo de calorías.

Los efectos adversos se han relacionado con la inhibición de la anhidrasa carbónica la formación de cálculos renales, presentes en menos del 2% de la población expuesta a TPM (Schdeo, 1998), afecta más a los varones que a las mujeres con una historia previa de cálculos renales o con antecedentes familiares de nefrolitiasis e hipercalciuria. El origen de los cálculos renales es por la alcalinización de la orina, que provoca una disminución de la excreción de citratos,

uratos y fosfatos. La acidemia metabólica es una consecuencia de los niveles séricos bajos de bicarbonato, un efecto dependiente de la dosis del topiramato (Garris y Oles, 2005).

Tabla 1. Indicaciones del uso del topiramato (modificado de Nieto-Barrera, 2002).

Estructura química	2,3:4,5-bis-O-(1metiletilideno) B-D- fructopiranosulfamato: C ₁₂ H ₂₁ NO ₈ S
Mecanismos de acción	Bloqueo de los canales de Na ⁺ dependientes de voltaje Incremento de la actividad gabérgica Inhibición de los receptores cainato/AMPA glutanérgicos Bloqueo de los canales de Ca ⁺⁺ tipo L, N y P Inhibición de las isoenzimas II y IV de la anhidrasa carbónica
Farmacocinética	Absorción oral completa y rápida. Biodisponibilidad 80-90% Concentración máxima 2 horas Unión a proteínas plasmáticas <15% Metabolismo hepático <20%. 6 metabolitos inactivos 80% eliminación renal sin modificar Tiempo de vida media 20-30 horas Nivel estable 48 días
Interacciones	TPM incrementa ligeramente los niveles de PHT y disminuye los de VPA PHT y CBZ disminuyen los niveles de TPM TPM disminuye los niveles de digoxina y de estradiol
Efectos adversos	Sistema nervioso: inestabilidad, nistagmo, temblor, trastornos de la palabra, trastornos del lenguaje, somnolencia, lentitud mental, parestesias Otros: pérdida de peso, anorexia, cálculos renales, anhidrosis
Indicaciones clínicas	Epilepsia: crisis parciales, síndrome de Lennox-Gastaut. síndrome de West, epilepsias generalizadas. Migraña, cefaleas crónicas, dolor neuropático, trastornos bipolares, neuroprotección
TPM: topiramato; PHT: fenitoína; VPA: valproato; CBZ: carbamacepina.	

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El tratamiento y el control del dolor, constituyen un problema de salud pública e implican aspectos sociales en los pacientes que presentan dolor crónico, ya que este hecho repercute en su calidad de vida y tiene elevados costos en el ámbito asistencial (Bolten, 1998). Actualmente, las enfermedades asociadas a padecimientos crónicos están en permanente aumento, lo que exige una búsqueda exhaustiva de mejores recursos terapéuticos para obtener resultados más eficaces.

En el alivio del dolor, los opioides tienen gran relevancia clínica, pero presentan diversas desventajas, como su falta de efectividad contra el dolor neuropático, depresión respiratoria, potencial desarrollo de tolerancia y el riesgo de adicción (McQuay, 2001). El empleo de “Terapias de combinación” (Shimoyama et al, 1997), donde se co-administran dos o más fármacos, es el resultado del replanteamiento analgésico en el tratamiento del dolor. Estas terapias consisten en la co-administración de fármacos para obtener un balance más favorable entre el efecto analgésico y la presencia de efectos colaterales, de esta manera se podría contar con tratamientos con una mayor eficacia (Raffa et al., 1993).

El principio bajo el cual son utilizadas ampliamente las combinaciones farmacológicas en el tratamiento del dolor agudo y crónico, es que se puede obtener una analgesia más efectiva y al mismo tiempo minimizar la incidencia y la intensidad de los efectos colaterales (Montes, 2000; Tallarida, 2001). Al administrarse dos o más fármacos, el efecto puede manifestarse de manera

independiente sin ninguna interacción (aditividad), pero en algunos casos los efectos que se observan son sinérgicos o antagónicos. Para establecer su importancia clínica con base en la interacción, es necesario que se estime la presencia de efectos deseables e indeseables. El isoblograma es un método convencional que consiste en establecer la relación dosis-respuesta de cada fármaco de manera individual y de la combinación en proporciones fijas para determinar la presencia de antagonismo, aditividad o sinergismo (Tallarida, 2000).

La diacereína es un fármaco que se usa regularmente contra la osteoartritis y otras inflamaciones de tipo crónico, ya que tiene un efecto muy potente contra la inflamación.

Cada vez es más frecuente el empleo de anticonvulsivantes para el manejo del dolor neuropático, con éxito relativo debido a su alta incidencia de efectos adversos. TPM ha despertado expectativas favorables para el manejo de las neuropatías de origen diabético, ya que en varios estudios piloto ha arrojado resultados positivos, además de cómo ha mostrado eficacia en el tratamiento del dolor neuropático, en casos de neuralgia trigémina (Edwards et al, 2000).

Hasta donde sabemos, no se tienen reportes de una terapia de combinación entre la diacereína y el topiramato, por lo que explorar el efecto de su co-administración por diferentes vías de administración podría implicar un novedoso recurso terapéutico contra el dolor inflamatorio.

III. HIPÓTESIS

Con el empleo de la combinación de diacereína-topiramato por vía oral y local, se obtendrá un efecto analgésico superior al de los componentes individuales en el modelo animal de dolor inflamatorio de la prueba de la formalina.

IV. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antinociceptivo de la diacereína y el topiramato administrados de manera individual y en combinación en un modelo animal de dolor inflamatorio.

2. OBJETIVOS PARTICULARES

I. Evaluar la efectividad antinociceptiva de la diacereína y el topiramato de manera individual y en combinación por vía oral y local periférica en el modelo preclínico de dolor inflamatorio **de la prueba de la formalina**.

II. Determinar la posible interacción sinérgica entre la diacereína y el topiramato en el modelo de dolor inflamatorio, **mediante el análisis isoblográfico**.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

1. ANIMALES

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar de 180 a 350 g de peso corporal, las cuales tuvieron libre acceso a agua y alimento antes de realizar el proceso experimental. Cada rata fue utilizada una vez para el experimento y después sacrificada en una cámara con CO₂. Los experimentos se realizaron basados en los lineamientos éticos para la investigación del dolor en animales (IASP, 1986).

2. FÁRMACOS:

Se emplearon como fármacos antinociceptivos:

A. Diacereína (Sigma St. Louis MO, EUA).

B. Topiramato (Sigma St. Louis MO, EUA).

Los dos fármacos se disolvieron en solución salina 0.9%.

C. Se empleó formalina al 1% como agente irritante (formaldehído al 1% en solución salina).

3. EQUIPO

- Cilindros transparentes de acrílico.
- Dos espejos para cada cilindro.
- Contador para la medición de las sacudidas de la pata inyectada.
- Jeringas y agujas de insulina número 30.
- Calentador para mantener la temperatura adecuada durante el experimento.
- Cánula metálica para la administración oral de los fármacos.
- Cronómetro para medir el tiempo del experimento.

4. EVALUACIÓN DE LA CONDUCTA NOCICEPTIVA (MODELO DE LA FORMALINA)

Se empleó la prueba de la formalina en rata (Wheeler-Aceto y Cowan, 1991). Inicialmente, los animales se colocaron en una cámara de acrílico durante 30 minutos para su ambientación antes de cada experimento. Transcurridos los 30 minutos, la rata fue inyectada subcutáneamente con 50 μ l de formalina al 1% (figura 10), en la superficie dorsal de la pata trasera derecha (Ortega-Varela et al., 2007). El comportamiento nociceptivo se cuantificó por el número de sacudidas de la pata inyectada por periodos de 1 minuto cada 5 minutos hasta completar 1 hora. En este modelo, la disminución en el número de sacudidas se interpretó como efecto analgésico o antinociceptivo (figura 11).

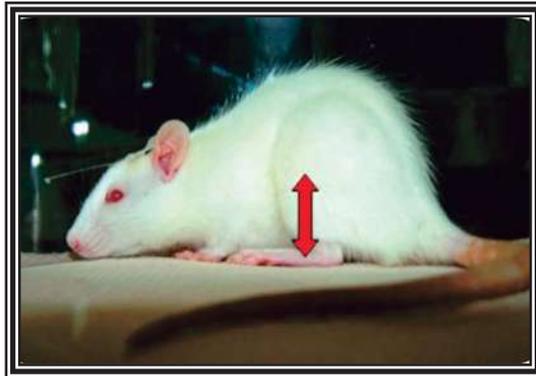


Figura 10. Administración subcutánea de formalina al 1% en la cara dorsal de la pata posterior derecha de la rata.

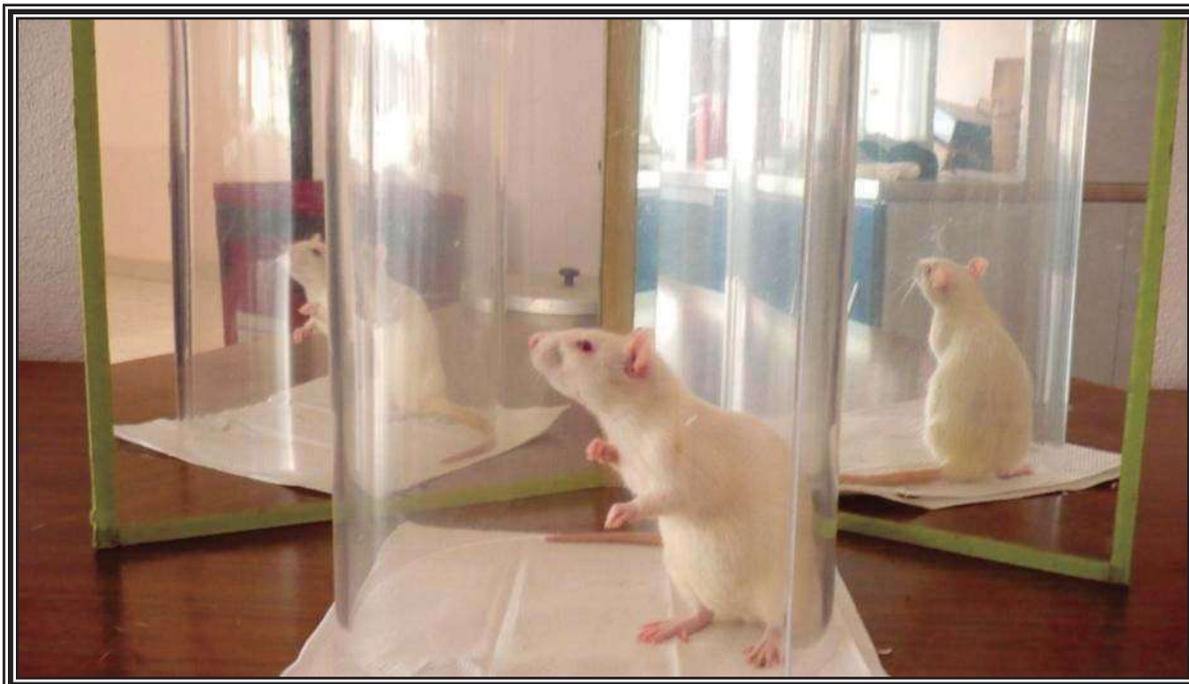


Figura 11. Modelo de la formalina. Las ratas inducen una conducta de sacudidas que son evaluadas por periodos de 1 minuto cada 5 minutos hasta completar una hora. La disminución del número de sacudidas tras la previa administración de un analgésico, se interpreta como antinocicepción.

Esta reportado que el comportamiento inducido por la formalina es de carácter bifásico (Wheeler-Aceto y Cowan, 1991). Comprende una fase aguda (0-10 min), un breve periodo de quiescencia y una respuesta tónica prolongada (15-60 min). La fase inicial se relaciona al estímulo nociceptivo directo y se conoce como neurogénica, la segunda fase se denomina inflamatoria pues responde al proceso inflamatorio subsecuente (figura 12).

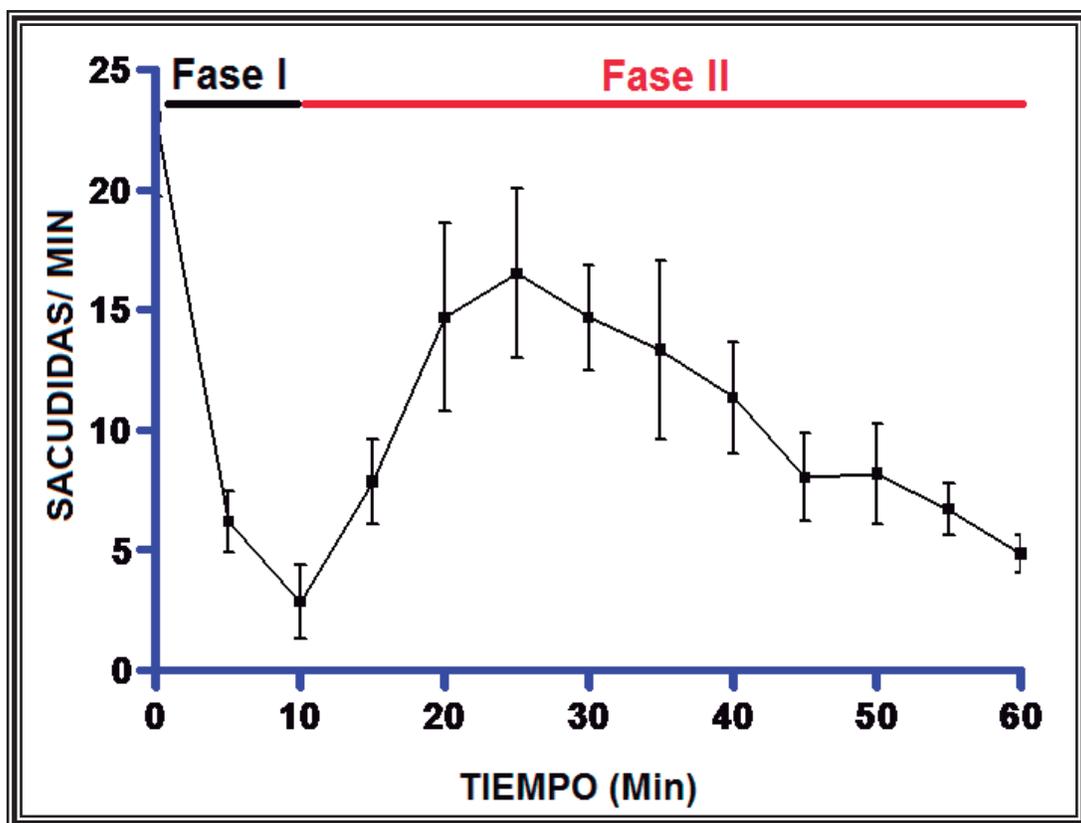


Figura 12. Comportamiento bifásico de la prueba de la formalina después de la administración de formalina en un grupo control. Se distinguen claramente 2 fases. La fase I (0 Min) relacionada al estímulo irritante directo y conocida como neurogénica; y la fase II (10-60 Min) que involucra la respuesta inflamatoria. En el eje de las ordenadas se

5. PROTOCOLOS EXPERIMENTALES

5.1 VÍA ORAL

A los animales se les administró en un volumen de 4 ml/kg, solución salina como vehículo (salina); dosis crecientes de diacereína (25, 50, 100 y 200 mg/kg), topiramato (25, 50, 100 y 200 mg/kg) o su combinación, utilizando una cánula de administración oral, 10 minutos antes de la inyección de formalina al 1%. Las dosis administradas en la combinación diacereína-topiramato, partieron del cálculo de las DE_{30} de cada fármaco y se emplearon fracciones de éstas calculadas por el análisis isoblográfico. Se evaluó la respuesta nociceptiva, cuantificando el número de sacudidas de la pata inyectada por 60 minutos, cada 5 minutos durante un minuto.

5.2 VÍA LOCAL

Los animales fueron administrados con 50 μ g de vehículo (salina) dosis crecientes de diacereína (10, 30, 100 y 300 μ g/pata), topiramato (10, 30, 100 y 300 μ g/pata) o su combinación, subcutáneamente en la cara dorsal de la pata posterior derecha de la rata, diez minutos antes de la inyección de formalina al 1% con agujas del No. 30, la cual se aplicó en el mismo sitio que el vehículo o los fármacos. Por medio de los datos obtenidos del isoblograma, se calcularon las dosis a administrar de la combinación diacereína- topiramato. Se evaluó la respuesta nociceptiva, cuantificando el número de sacudidas de la pata inyectada por 60 minutos, cada 5 minutos durante un minuto (figura 13).

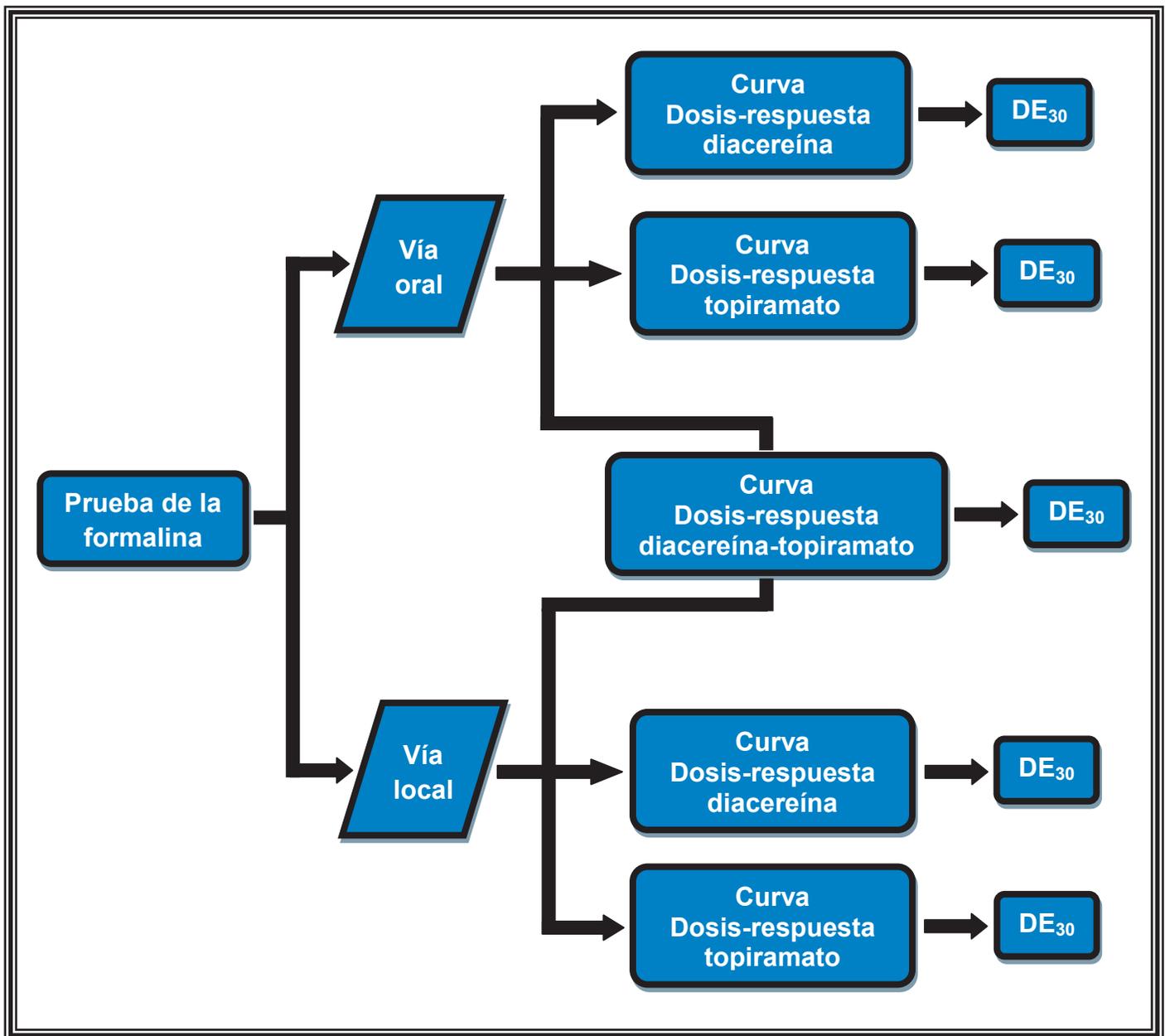


Figura 13. Esquema de los grupos experimentales empleados en el modelo inflamatorio por vía oral y local para obtener curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados de manera individual y en combinación. Cada grupo constó de 6 ratas.

6. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos se presentan como el valor de la media \pm el error estándar de 6 animales de los que consto cada grupo experimental. Se construyeron curvas de sacudidas/minuto vs tiempo, de estos cursos temporales se calculó el área bajo la curva mediante el método del trapezoide y se consideró como una expresión global de la intensidad y duración del efecto. Las áreas bajo la curva fueron transformadas a porcentaje de antinocicepción en las curvas dosis-respuesta, lo que representan el porcentaje de inhibición de sacudidas con respecto al control en las dos fases del modelo.

Valores cercanos a 0% indican que el número de sacudidas del grupo tratado es igual al grupo control, es decir no se presenta efecto antinociceptivo y valores cercanos al 100% significa que las ratas no presentaron la conducta de sacudida.

6.1 ANÁLISIS ISOBOLOGRÁFICO

Este método se basa en seleccionar un nivel de efecto, que generalmente es el 50% del efecto máximo, pero pueden ser utilizados distintos niveles de efecto para cada fármaco (Tallarida et al, 1997). En este trabajo se utilizó un nivel de efecto del 30%, por lo que se determinaron dosis equiefectivas 30 (DE_{30}) para la diacereína y topiramato a través de curvas dosis-respuesta. Una combinación aditiva correspondiente a un efecto determinado está constituida por 2 partes que aportan una fracción de dicho efecto determinado. En este trabajo se optó por que cada fracción fuera de 0.5 de manera que la dosis efectiva 30 teórica de la combinación elegida (DE_{30T}) contiene un 0.5 de la DE_{30} de diacereína y el resto de la DE_{30} de topiramato.

$$DE_{30}T = (0.5) (DE_{30} \text{ de diacereína}) + (0.5) (DE_{30} \text{ de topiramato})$$

A continuación se crea una curva dosis-respuesta experimental que contiene combinaciones de ambos fármacos en la proporción ya establecida y se calcula el valor de la dosis correspondiente del 30% ($DE_{30}E$), que posteriormente es comparada con la $DE_{30}T$. En el isoblograma se muestran los resultados en una gráfica cuyas coordenadas representan la contribución de cada fármaco. La línea que conecta las DE_{30} de cada fármaco contiene todas las combinaciones aditivas posibles y el centro de esta línea corresponde al valor de la $DE_{30}T$ de la combinación, también llamado punto de aditividad. Si se obtiene experimentalmente un valor de DE_{30} tiene coordenadas que no son significativamente distintas a las de la línea de aditividad, entonces dicha combinación evaluada es considerada aditiva. Si este punto se encuentra situado fuera de la línea se puede considerar un comportamiento sinérgico o subaditivo, dependiendo si el valor de la $DE_{30}E$ se encuentra por debajo o por encima de la línea respectivamente. Por medio de un análisis estadístico se establece el tipo de interacción de la combinación.

VI. RESULTADOS

1. MODELO INFLAMATORIO

La inyección de formalina produjo la típica conducta nociceptiva que fue descrita previamente. Se observó una respuesta bifásica que incluye una conducta nociceptiva inmediata (fase I), que abarca de 0 a los 10 minutos en la que después de un período breve se muestra una disminución en el número de sacudidas de manera gradual. Después inicia una segunda fase (fase II) que perdura durante todo el periodo de observación.

En la figura 14 se muestra el curso temporal en el modelo de la formalina del grupo control y de la administración de la dosis más alta de diacereína y topiramato empleadas en la vía de administración oral. El número de sacudidas inducidas por la inyección de formalina disminuyó de manera significativa tras la administración de los fármacos.

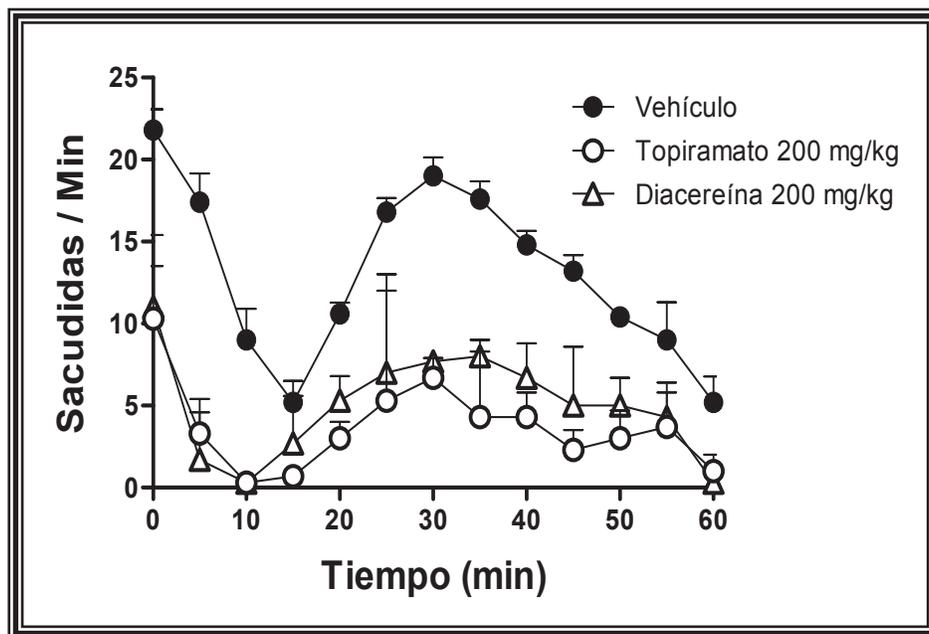


Figura 14. Curso temporal de la prueba de la formalina tras la administración oral de vehículo, diacereína y topiramato en las dosis más altas evaluadas. Se observa una disminución significativa del número de sacudidas con cada fármaco respecto al control (n=6).

Al igual que con la administración oral de diacereína y topiramato, la administración local de estos fármacos también disminuyó de manera significativa, la conducta nociceptiva inducida por la formalina respecto al control (figura 15). La reducción en el número de sacudidas tras la inyección de formalina en las dos vías de administración se interpreta como antinocicepción.

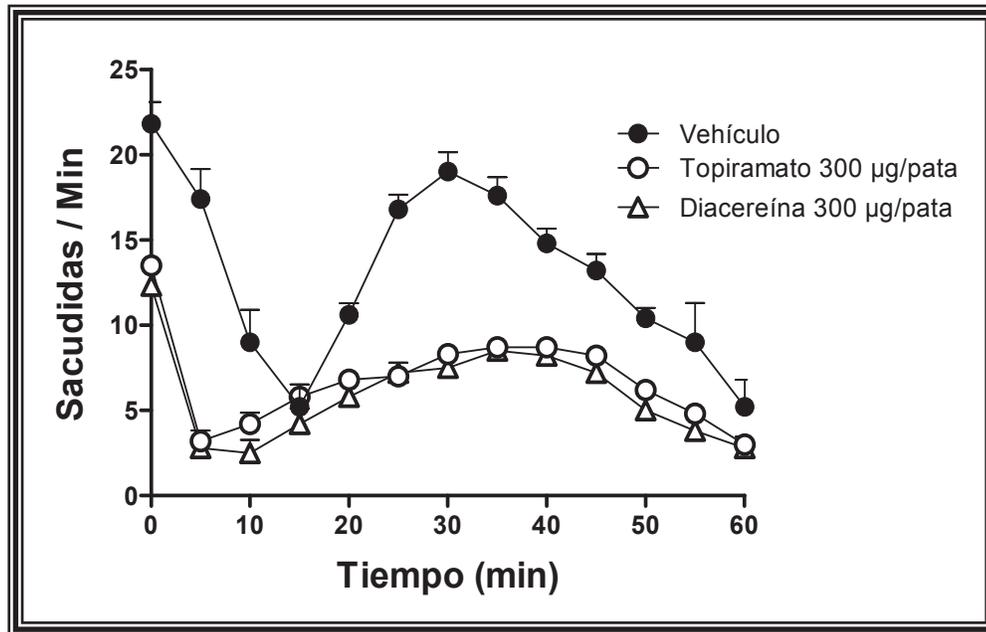


Figura 15. Curso temporal de la prueba de la formalina tras la administración local periférica de vehículo, y las dosis más altas utilizadas de diacereína y topiramato. La grafica muestra la disminución del número de sacudidas que es significativamente distinto al control después de administrarse los fármacos (n=6).

2. ADMINISTRACIÓN ORAL DE DIACEREÍNA

El tratamiento oral de diacereína mostró resultados distintos en ambas fases del modelo inflamatorio respecto al vehículo (solución salina) y arrojó valores diferentes en el porcentaje de antinocicepción en cada fase. En la fase I no se observó una relación directamente proporcional entre las dosis; el porcentaje de antinocicepción para cada dosis evaluada alcanzó un efecto similar: 71.95% (25

mg/kg), 73.09% (50 mg/kg), 71.67% (100 mg/kg) y 74.79% (200 mg/kg) (figura 16).

Por su parte, en la fase II donde se observó un efecto marcado dependiente de la dosis (figura 17).

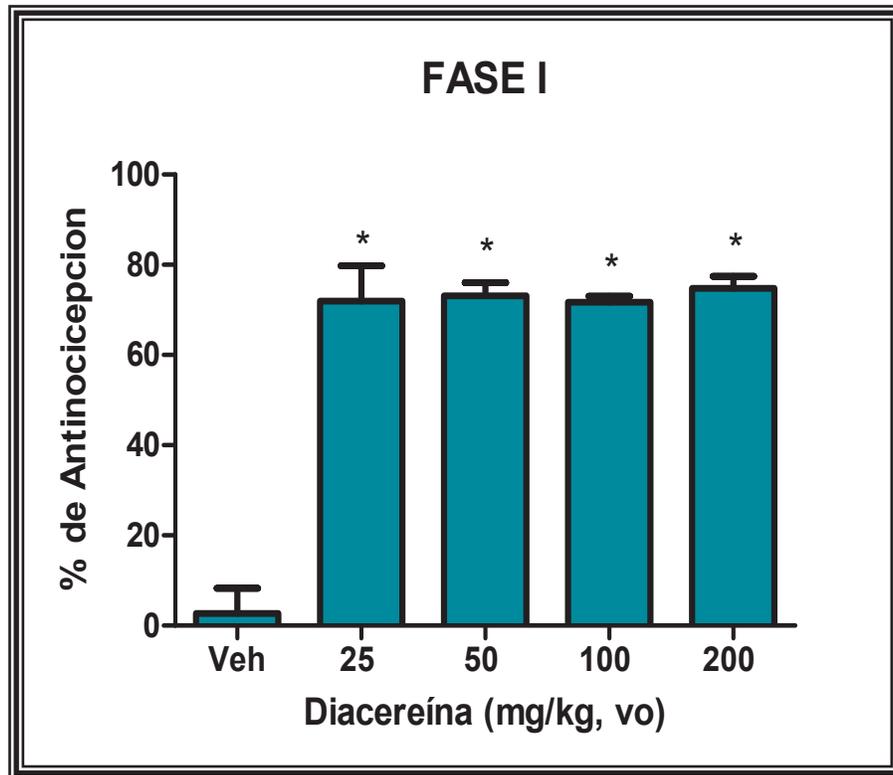


Figura 16. Curva dosis-respuesta de la fase I del modelo de la formalina tras la administración oral de diacereína (25, 50, 100 y 200 mg/kg), en la que se observa un efecto que no es dependiente de la dosis, registrándose un porcentaje máximo de antinocicepción de 74.79 ± 2.6 con la dosis de 200 mg/kg ($n = 6$; $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

Al administrar diacereína en dosis de 25, 50, 100 y 200 mg/kg por vía oral en el modelo inflamatorio, se observó en la fase I un efecto antinociceptivo que no fue dependiente de la dosis, que resultó ser diferente al grupo control, alcanzando un efecto máximo observado de $74.79\% \pm 2.6$. En contraste con lo anterior, en la fase II del modelo, la administración oral de diacereína mostró un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis, alcanzándose un porcentaje máximo de

antinocicepción de $68.84\% \pm 4.1$, observado con la dosis más alta utilizada (200 mg/kg) (figura 17).

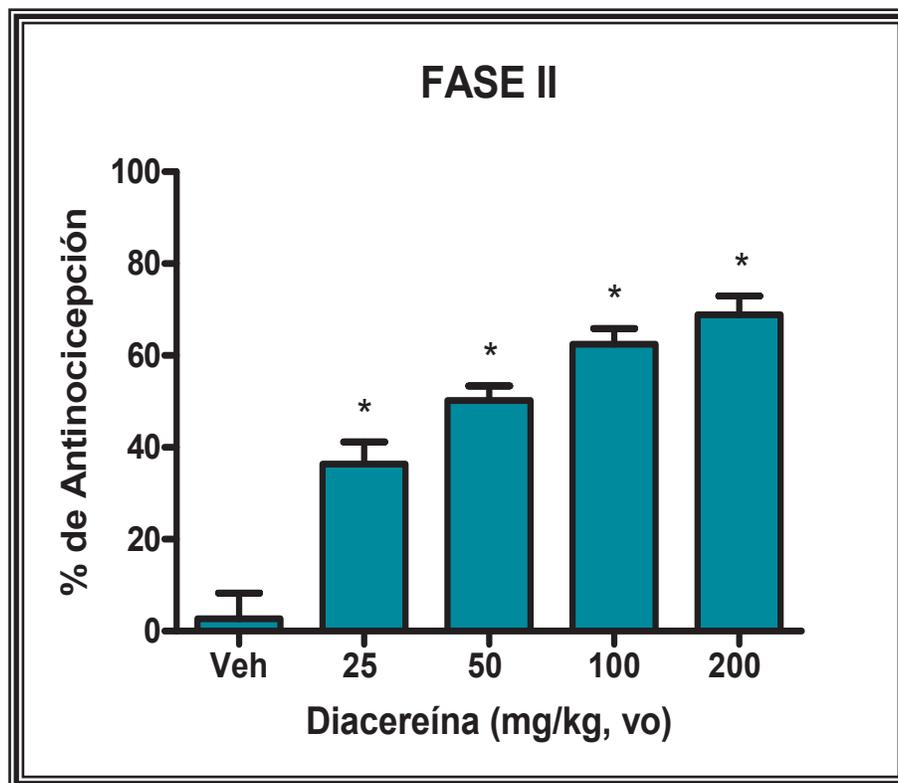


Figura 17. Curva dosis respuesta de la fase II del modelo de la formalina tras la administración oral de diacereína (25, 50, 100 y 200 mg/kg), en la que se observa un efecto dependiente de la dosis, se registró un efecto máximo de $68.84\% \pm 4.1$ ($n = 6$; $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

3. ADMINISTRACIÓN ORAL DE TOPIRAMATO

Tras la administración de topiramato por vía oral (25, 50, 100 y 200 mg/kg), se observó en la fase I un efecto antinociceptivo no proporcional entre las dosis y el efecto obtenido, observándose un valor máximo de $78.19\% \pm 1.6$ de antinocicepción (figura 18). En contraste, se observó un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis en la segunda fase de la prueba, alcanzándose un máximo de $66.03\% \pm 2.7$ de antinocicepción con la dosis de 200 mg/kg (figura 19).

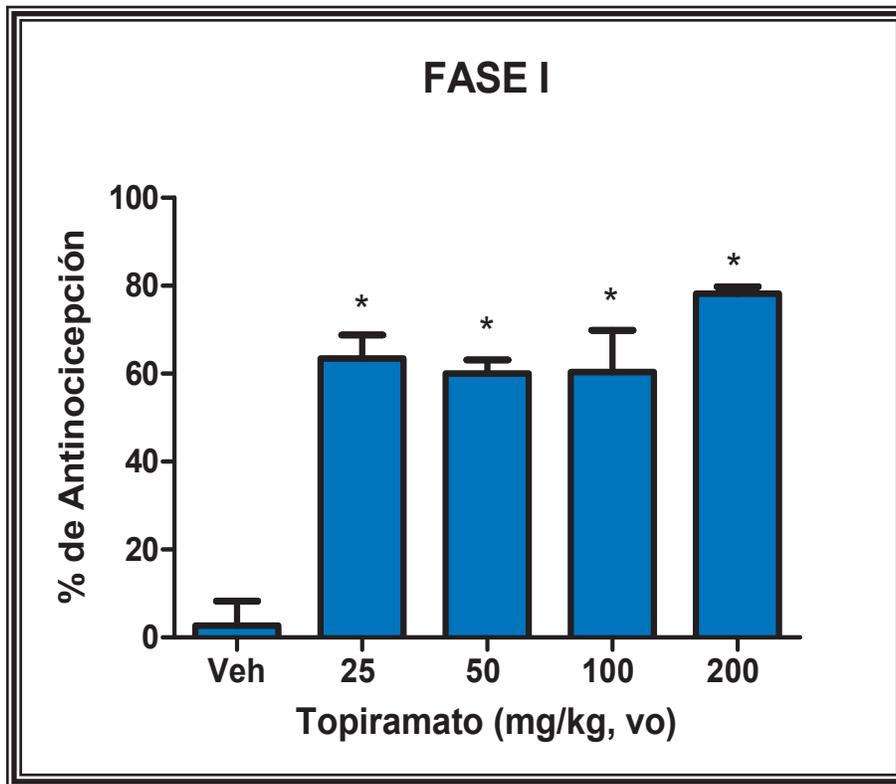


Figura 18. Curva dosis respuesta de la fase I del modelo de la formalina tras la administración oral de topiramato (25, 50, 100 Y 200 mg/kg), en la que se observa un efecto que no es proporcional a la dosis, el efecto máximo alcanzado fue de 78.19% \pm 1.6 (n = 6; *p < 0.05 vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

El tratamiento oral con topiramato, reveló ser distinto en ambas fases del modelo inflamatorio con respecto al vehículo, obteniéndose un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis en la fase II. Respecto a la fase I, el efecto antinociceptivo obtenido no mostró ser dosis dependiente. Se observó un porcentaje de antinocicepción similar tras la administración de cada dosis del fármaco 63.46 % (25 mg/kg), 60.06 % (50 mg/kg), 60.34 % (100 mg/kg) y 78.19 % (200 mg/kg).

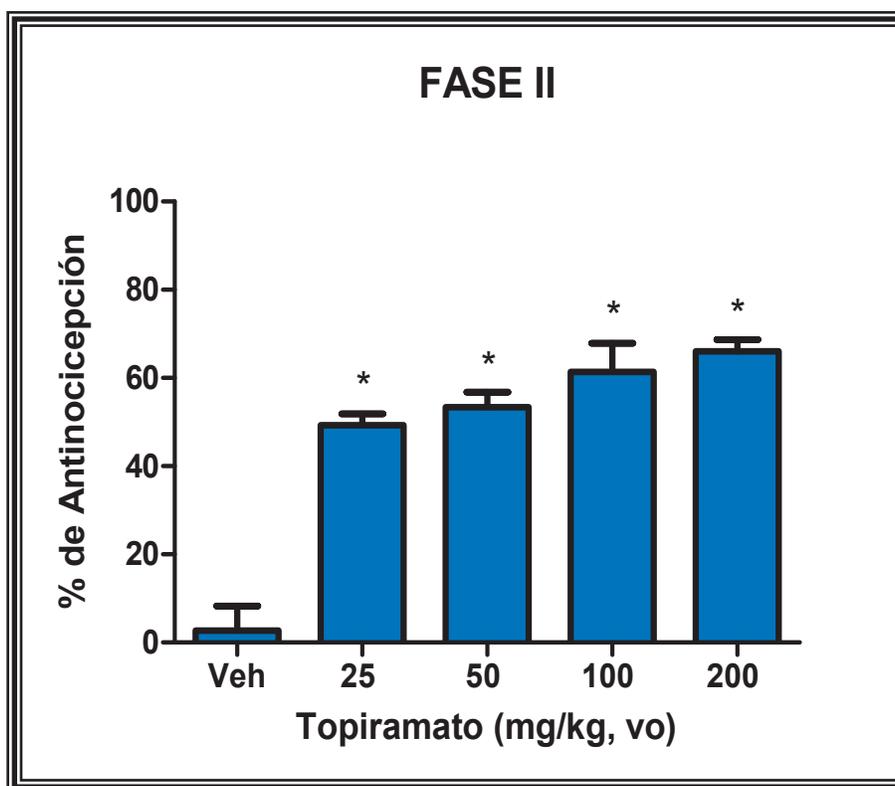


Figura 19. Curva dosis respuesta de la fase II del modelo de la formalina tras la administración oral de topiramato (25, 50, 100 y 200 mg/kg), en la que se observa un marcado efecto dependiente de la dosis, el efecto máximo que se registró fue de 66.03% \pm 2.7. (n = 6; *p < 0.05 vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

4. ADMINISTRACIÓN ORAL DE LA COMBINACIÓN DIACEREÍNA-TOPIRAMATO

Con los datos obtenidos a partir de las curvas dosis respuesta de los fármacos administrados individualmente por vía oral, se construyó el isoblograma para obtener la proporción a utilizarse de cada fármaco en la combinación. Se obtuvieron las DE₃₀ de cada fármaco en la fase II, obtenidas a partir de curvas dosis-respuesta de cada fármaco utilizado en el modelo inflamatorio, para el isoblograma se obtuvieron 4 dosis distintas para la combinación en una proporción de uno a uno (0.5:0.5). La dosis que suma en total 45.23 mg/kg

corresponde a la dosis efectiva 30 teórica de la combinación oral (DE_{30T}); además, se calcularon las dosis equiefectivas para la combinación como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Combinaciones de diacereína y topiramato oral para la construcción del isoblograma.

COMBINACIÓN	DIACEREÍNA (mg/kg)	TOPIRAMATO (mg/kg)	COMBINACIÓN TOTAL (mg/kg)
Vehículo	0	0	0
1	5.60	0.05	5.65
2	11.20	0.10	11.30
3	22.40	0.21	22.61
4	44.80	0.43	45.23

Las dosis calculadas mediante el isoblograma se probaron experimentalmente en el modelo inflamatorio. Al igual que en la administración individual de los fármacos, en la fase I tras la administración de la combinación se obtuvo un efecto que no es proporcional a la dosis, alcanzándose un máximo de $81.30\% \pm 3.5$ (figura 20).

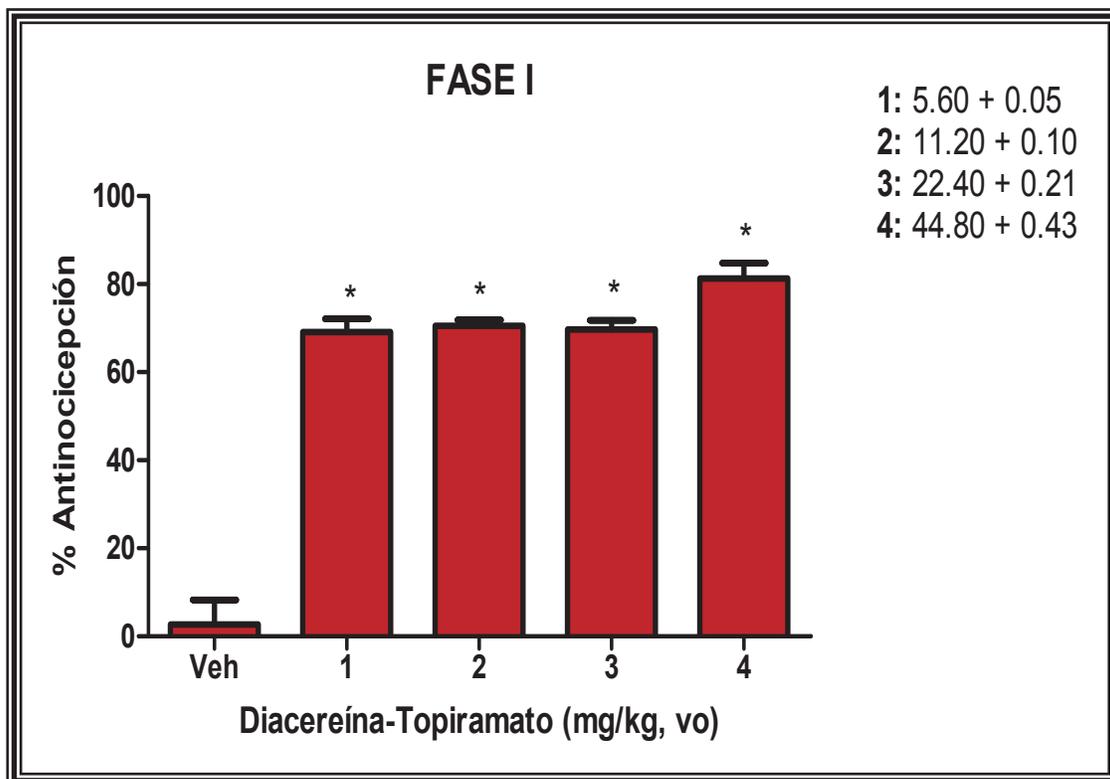


Figura 20. Curva dosis respuesta tras la administración de la combinación de diacereína- topiramato oral en la fase I del modelo inflamatorio. El efecto que se observa es independiente de la dosis, obteniéndose como máximo porcentaje de antinocicepción de 81.30 ± 3.5 ($n = 6$; $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

En la fase II se observa un marcado efecto dosis dependiente y la dosis de la combinación que teóricamente estaba calculada para el efecto del 30%, alcanzó experimentalmente un $65.21\% \pm 5.1$ (figura 21).

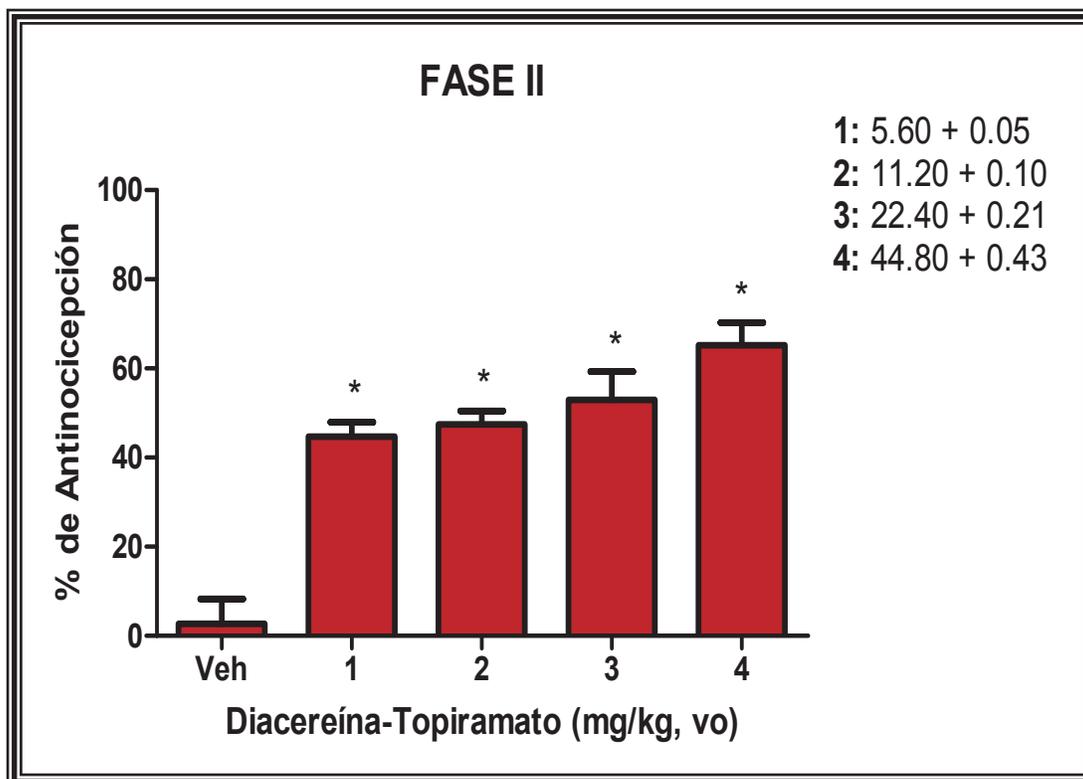
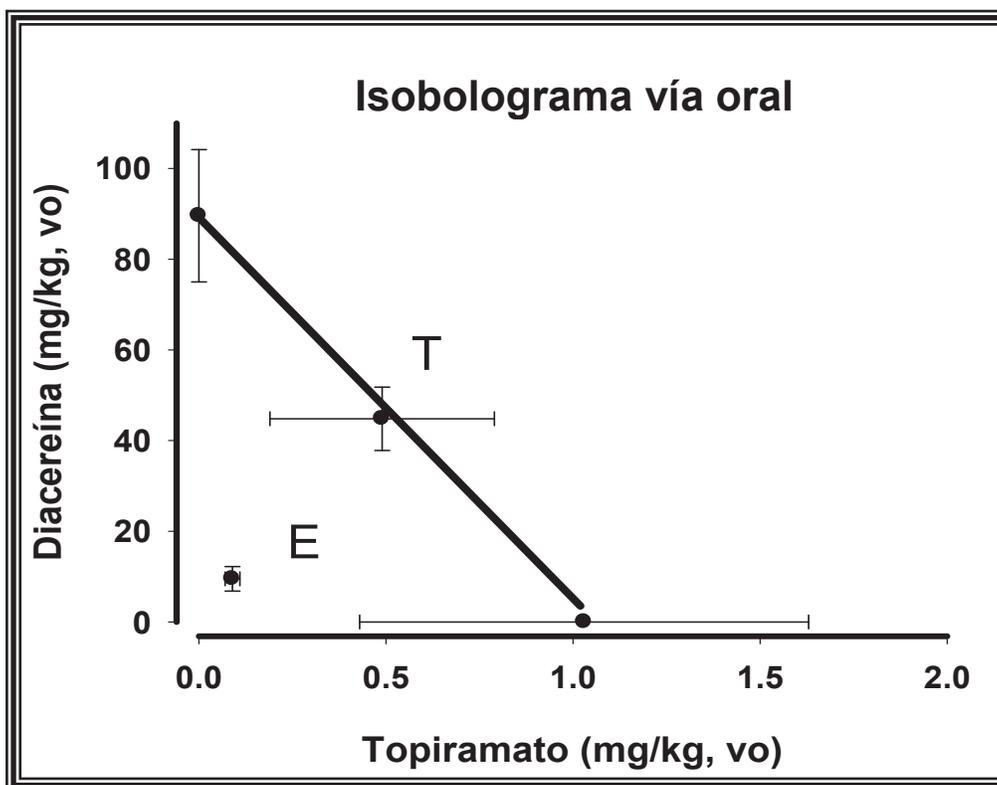


Figura 21. Curva dosis respuesta de la administración de la combinación oral en la prueba de la formalina. En la fase II de la prueba se observa un efecto dosis dependiente. La $DE_{30}T$ tuvo un valor de 45.23 mg/kg y en esta fase se alcanzó un porcentaje de antinocicepción de 65.21 ± 5.1 ($n = 6$; $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

El valor obtenido de la dosis efectiva 30 experimental ($DE_{30}E$) de la combinación fue de 9.52 mg/kg y resultó ser menor al de la $DE_{30}T$ (45.23 mg/kg). El índice de interacción es un parámetro que nos permite evaluar la interacción de la combinación que se obtiene al dividir el valor de la ($DE_{30}E$) entre la ($DE_{30}T$), que al ser significativamente diferentes muestran que la combinación resulta sinérgica en esta vía de administración (figura 22). El valor del índice de interacción obtenido fue de 0.21, lo que muestra que la dosis de la combinación fue de casi 5 veces menor a lo calculado.



DE ₃₀ Dia (mg/kg)	DE ₃₀ Tpm (mg/kg)	DE ₃₀ T (mg/kg)	DE ₃₀ E (mg/kg)	Índice de Interacción
89.6 ± 14.3	1.03 ± 0.6	45.24 ± 7.1	9.52 ± 2.81	0.209

Figura 22. Análisis isoblográfico de la interacción de diacereína y topiramato administrados por vía oral en el modelo inflamatorio. La DE₃₀T se encuentra en medio de una línea de aditividad trazada entre los valores de las DE₃₀ de la diacereína y topiramato. La DE₃₀T (punto T) de la combinación resulta significativamente diferente del punto E correspondiente a la DE₃₀E, tras una prueba de de t de Student. En la tabla se muestra los valores de la DE₃₀ de cada fármaco y el valor del índice de interacción que es de 0.21, lo que indica que la combinación es sinérgica.

5. ADMINISTRACIÓN LOCAL DE DIACEREÍNA

El tratamiento con diacereína local en dosis de 10, 30, 100 y 300 µg/pata, mostró un efecto antinociceptivo no dependiente de la dosis en la fase I de la prueba de la formalina, mostrando un porcentaje máximo de efecto de 67.71 ± 3 con la dosis de 100 µg (figura 23).

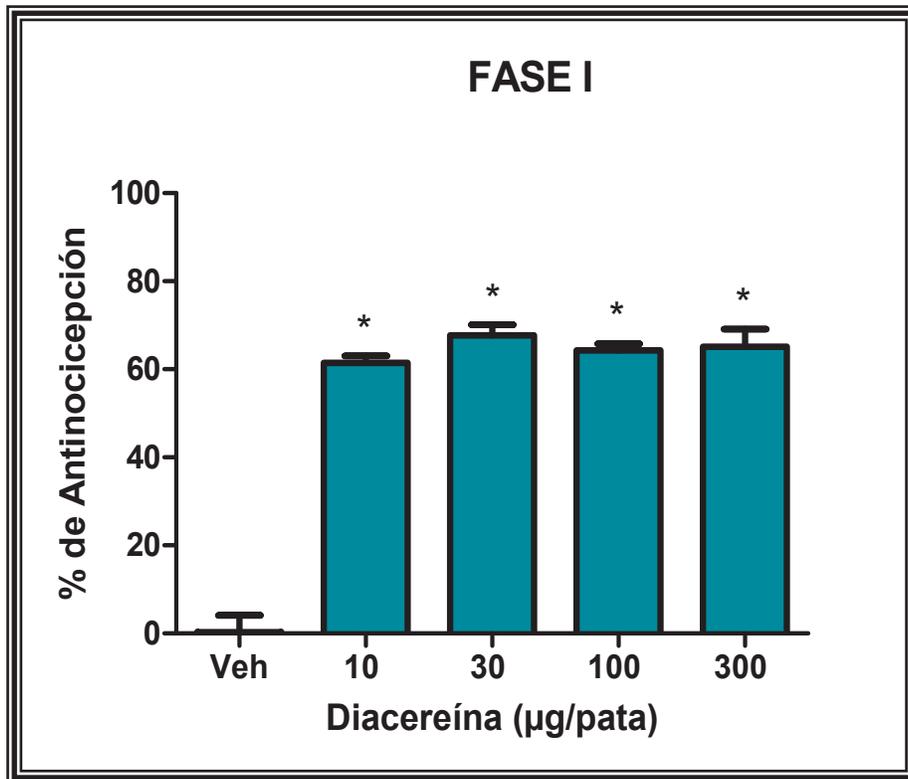


Figura 23. Curva dosis respuesta en la fase I de la prueba de la formalina tras la administración local de diacereína (10, 30, 100 y 300 µg/pata), en la que se observa un efecto independiente de la dosis, el efecto máximo observado fue de $67.71\% \pm 3$, ($n = 6$; $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

En contraste con lo anterior, en la fase II de la prueba, el efecto observado con la administración local de diacereína, fue dependiente de la dosis, alcanzándose un porcentaje máximo de antinocicepción de hasta 34.61 ± 3.8 (figura 24).

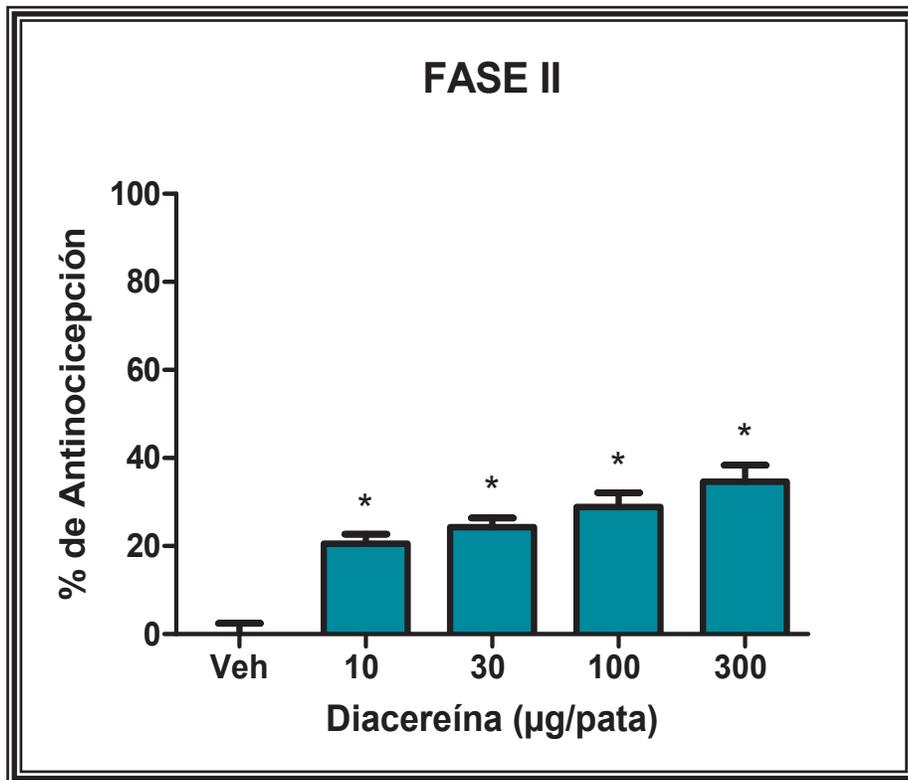


Figura 24. Curva dosis respuesta de la fase II del modelo de la formalina tras la administración local de diacereína en dosis de 10, 30, 100 y 300 µg/pata, donde se observa un efecto dosis dependiente. Se registró un porcentaje máximo de antinocicepción de 34.61 ± 3.8 ($n = 6$; $*p < 0.05$ vs vehículo. ANOVA. prueba de Dunnett).

La administración local de diacereína resultó ser distinta en ambas fases del modelo respecto al vehículo (solución salina) y presentó diferencias en el porcentaje de antinocicepción en cada fase. En la fase I no se observó una relación directamente proporcional entre la dosis y el porcentaje de antinocicepción, ya que el efecto que se alcanzó con cada una de las dosis administradas fue similar: 61.47% (10 µg/pata), 67.71% (30 µg/pata), 64.31% (100 µg/pata) y 65.16% (300 µg/pata). Por otro lado, en la fase II del modelo inflamatorio se observó un efecto dosis dependiente y un máximo de antinocicepción de 34.61%.

6. ADMINISTRACIÓN LOCAL DE TOPIRAMATO

La administración local de topiramato en dosis de 10, 30, 100 y 300 $\mu\text{g/pata}$ redujo la nocicepción inducida por la formalina en la fase I del modelo inflamatorio, donde se observó un efecto de antinocicepción que no fue dependiente de la dosis, alcanzándose un valor máximo de $67.99\% \pm 3.1$ (figura 25).

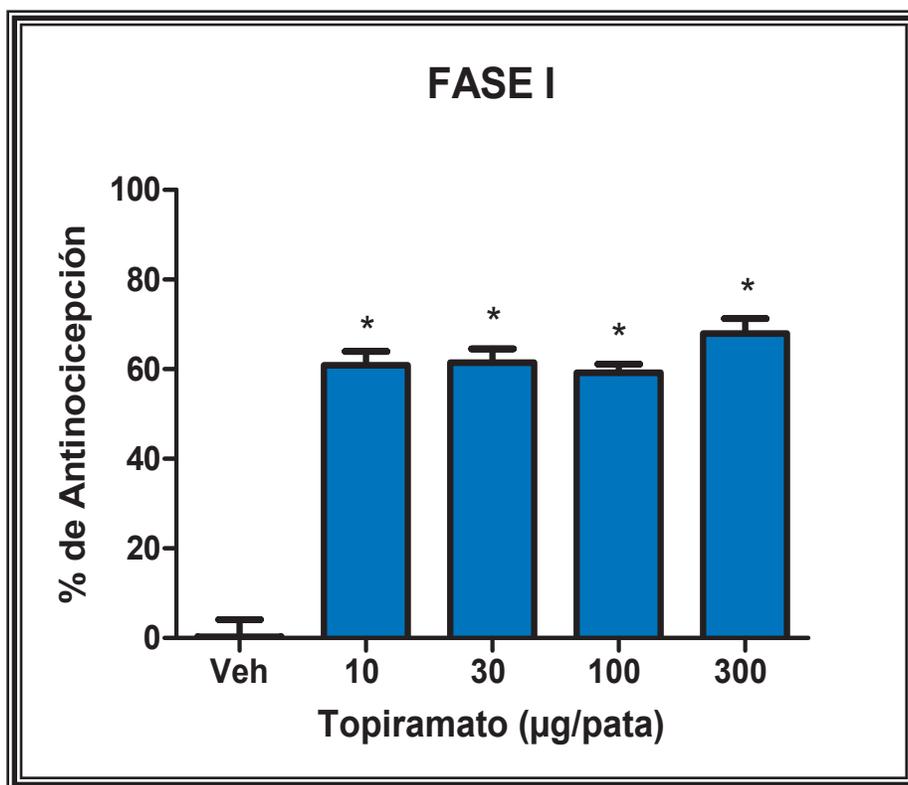


Figura 25. Curva dosis respuesta de la fase I del modelo de la formalina tras la administración local de topiramato (10, 30, 100 y 300 $\mu\text{g/pata}$), en la que se observa un efecto que no es dependiente de la dosis, el registro más alto que obtuvo el porcentaje de antinocicepción fue de 67.99 ± 3.1 ($n = 6$; $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

El efecto observado en la fase II del modelo fue dependiente de la dosis, alcanzándose un efecto máximo de $29.98\% \pm 1$ con la dosis de $300 \mu\text{g}$ (figura 26). El tratamiento con topiramato por vía local, reveló una diferencia respecto al vehículo, presentó una disminución parecida en el porcentaje de nocicepción en cada una de sus dosis evaluadas: 60.91% ($10 \mu\text{g/pata}$), 61.47% ($30 \mu\text{g/pata}$), 59.21% ($100 \mu\text{g/pata}$) y 67.99% ($300 \mu\text{g/pata}$) en la fase I de la prueba, mostrando un efecto independiente de la dosis. En la fase II del modelo se observa también un aumento en el porcentaje de antinocicepción de manera dependiente de la dosis, alcanzando su efecto máximo registro con la dosis más alta (29.98%).

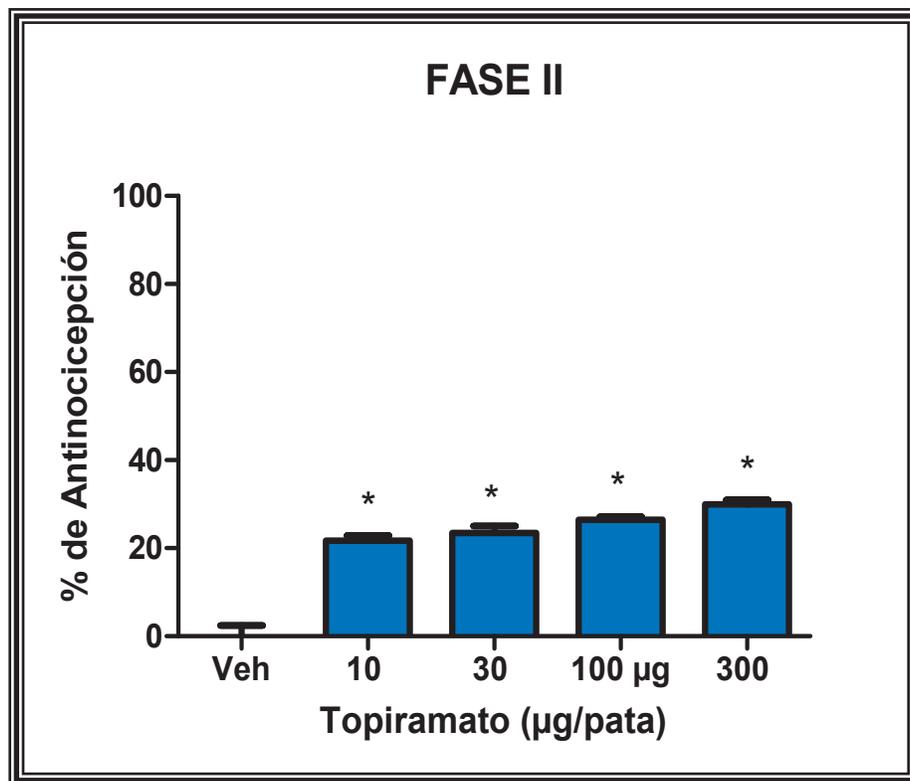


Figura 26. Curva dosis respuesta de la fase II del modelo de la formalina tras la administración local de topiramato en dosis de 10, 30, 100 y $300 \mu\text{g/pata}$, donde se observa un efecto dependiente de la dosis. El porcentaje máximo de antinocicepción que se obtuvo fue de 29.98 ± 1 ($n = 6$; $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

7. COADMINISTRACIÓN LOCAL DE DIACEREÍNA-TOPIRAMATO

Tras la obtención de las curvas dosis respuesta de la administración de los fármacos individuales por vía local en la fase II del modelo de la formalina, se procedió a la construcción del isoblograma para obtener la proporción a utilizar de cada fármaco en la combinación. Se obtuvo el valor de las DE_{30} de cada fármaco a partir de las curvas dosis respuesta de cada fármaco en el modelo inflamatorio, para el isoblograma se obtuvieron 4 dosis distintas para la combinación en una proporción de uno a uno (0.5:0.5). La dosis que suma en total 315.27 $\mu\text{g/pata}$ corresponde a la dosis efectiva 30 teórica de la combinación local (DE_{30T}), las dosis utilizadas se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Combinaciones de diacereína y topiramato administrados por vía local para la construcción del isoblograma

COMBINACIÓN	DIACEREÍNA ($\mu\text{g/pata}$)	TOPIRAMATO ($\mu\text{g/pata}$)	TOTAL ($\mu\text{g/pata}$)
Vehículo	0	0	0
1	7.03	32.37	39.40
2	14.07	64.74	78.81
3	28.1513	129.48	157.63
4	56.30	258.96	315.27

Posteriormente, estas dosis se probaron experimentalmente en el modelo de la formalina. En la fase I del modelo inflamatorio, se observó un efecto independiente de la dosis y el efecto máximo de antinocicepción alcanzado fue de $71.96\% \pm 1.8$, tras la administración de la combinación (figura 27).

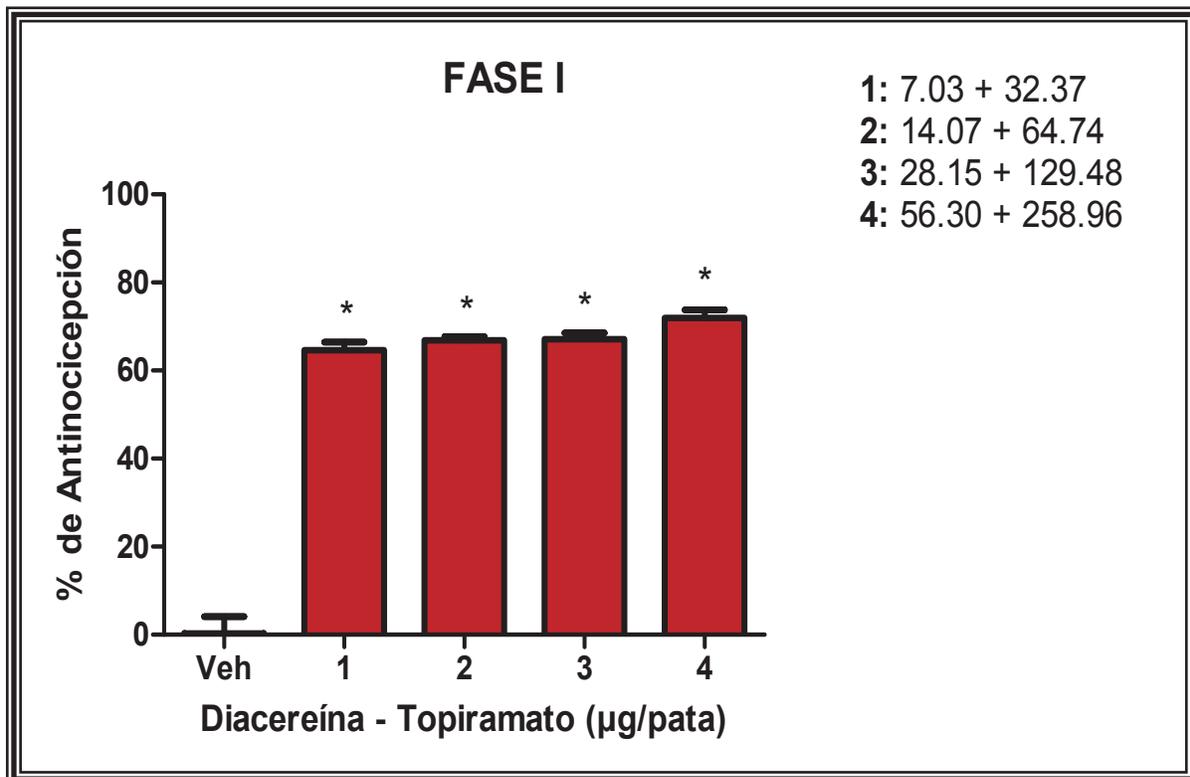


Figura 27. Curva dosis respuesta tras la combinación local de diacereína-topiramato en la fase I del modelo de la formalina. El efecto observado es independiente de la dosis, obteniéndose como máximo de porcentaje de antinocicepción un valor de 71.96 ± 1.8 ($n = 6$; $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

En la fase II de la prueba se observó un efecto dependiente de la dosis y la dosis de la combinación que teóricamente estaba calculada para el efecto del 30%, alcanzó experimentalmente un efecto del $35.24\% \pm 1$ (figura 28).

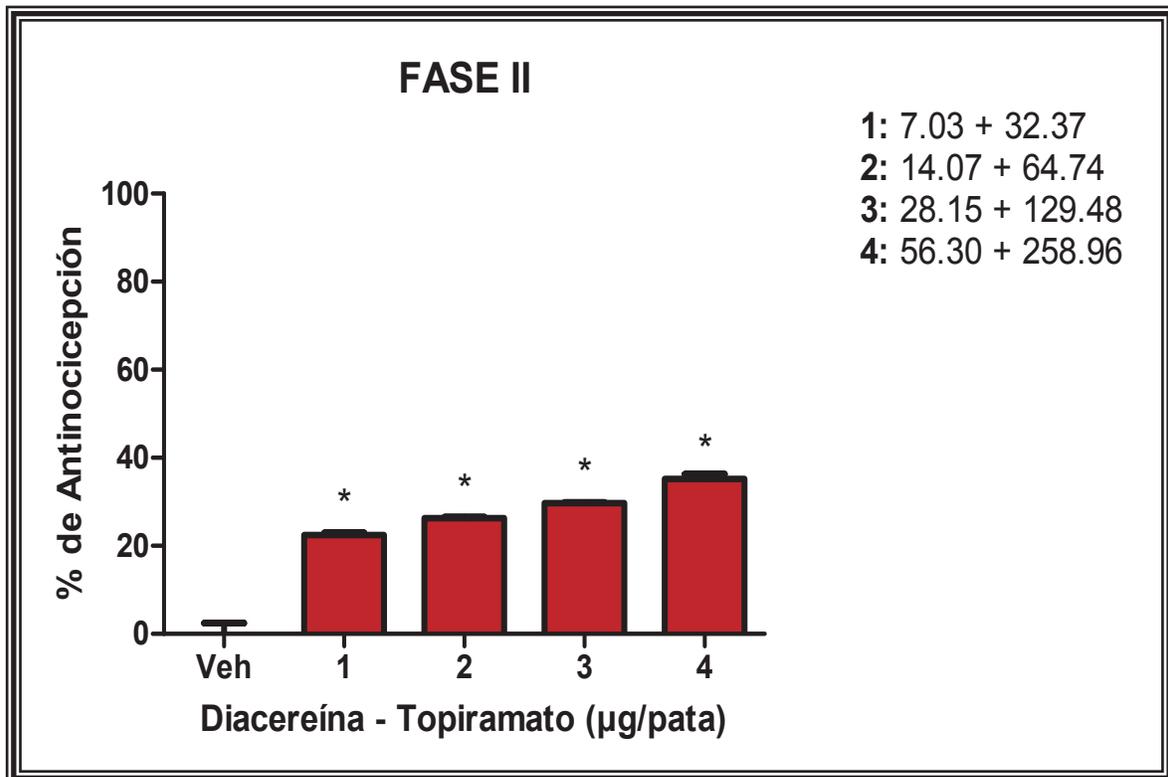
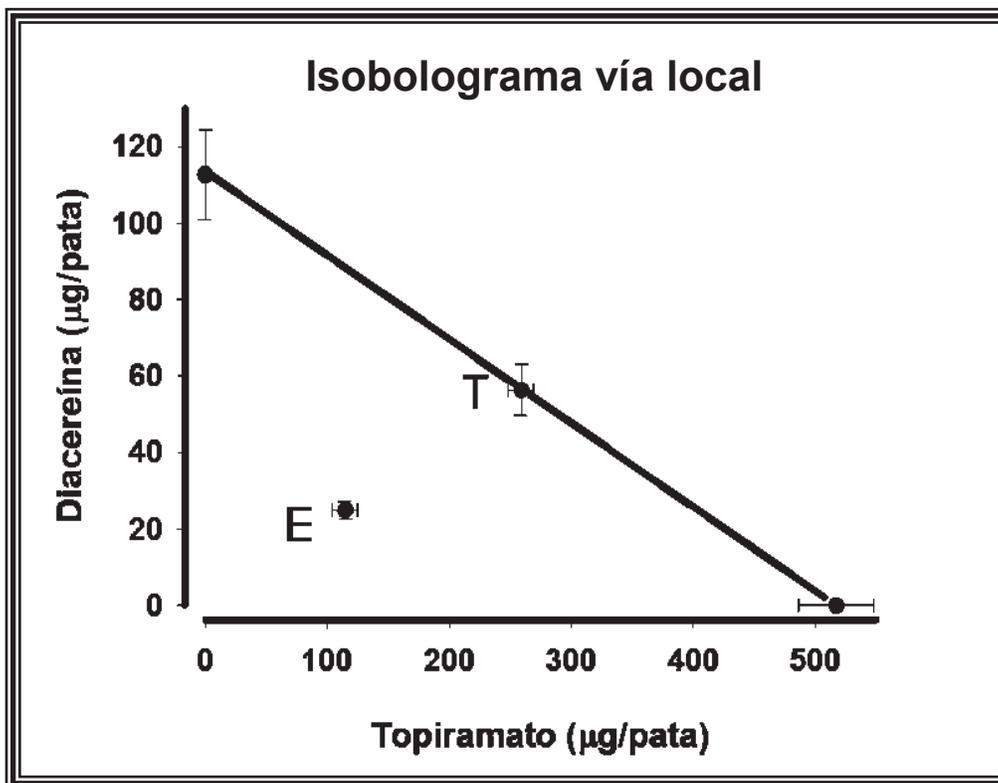


Figura 28. Curva dosis-respuesta tras la administración de la combinación de diacereína-topiramato por vía local. En la fase II del modelo inflamatorio, se observa un marcado efecto dependiente de la dosis. La DE_{30T} teórica tuvo un valor de 315.27 µg/pata y en esta fase se alcanzó un porcentaje de antinocicepción de 35.2 ± 1 ($n = 6$; $*p < 0.05$ vs vehículo, ANOVA, prueba de Dunnett).

La DE_{30T} de la combinación fue de 315.27 µg/pata, mientras que la DE_{30E} fue de 139.687 µg/pata, que al ser significativamente diferente de la DE_{30T} muestra que la combinación resulta sinérgica por esta vía de administración. El índice de interacción resultante fue de 0.443, que muestra que la dosis de la combinación fue 2 veces menor a lo calculado (figura 29).



DE ₃₀ Dia (µg/pata)	DE ₃₀ Tpm (µg/pata)	DE ₃₀ T (µg/pata)	DE ₃₀ E (µg/pata)	Índice de Interacción
112.60 ± 11.70	517.93 ± 73.11	315.271 ± 37.02	139.687 ± 12.63	0.443

Figura 29. Análisis isoblográfico de la interacción de diacereína y topiramato administrados por vía local en el modelo inflamatorio. La DE₃₀T se encuentra en medio de una línea de aditividad trazada entre los valores de las DE₃₀ de la diacereína y el topiramato. La DE₃₀T (punto T) de la combinación resulta significativamente diferente del punto E (DE₃₀E) tras una prueba de t de Student. En la tabla se muestran los valores de la DE₃₀ de cada fármaco y el valor del índice de interacción que es de 0.443 lo cual indica que se produjo sinergismo con la combinación.

VII. DISCUSIÓN

1. PRUEBA DE LA FORMALINA

La prueba de la formalina se considera un modelo de dolor persistente producido por la inyección subcutánea de esta sustancia que provoca la estimulación de los nociceptores (Shanon et al., 2005). La prueba se caracteriza por presentar un patrón de sacudidas de la extremidad de la rata que fue inyectada con formalina, lo que permite la evaluación del comportamiento nociceptivo. Se ha reportado que este comportamiento inducido por la formalina es de carácter bifásico, la fase inicial se relaciona al estímulo nociceptivo directo y se conoce como neurogénica, la segunda fase se denomina inflamatoria pues responde al proceso inflamatorio subsecuente (Ortega-Varela, 2008).

Algunos estudios demuestran que en la primera fase de la prueba participan mediadores como la sustancia P y la bradicidina, cuyos efectos pueden ser suprimidos por medicamentos de acción central. Se sabe también que esta fase del modelo inflamatorio se desencadena por la activación de fibras nociceptivas de tipo A δ y C, está demostrado que estas fibras son activadas por medio de canales de Na⁺, de tal modo que los fármacos que actúan bloqueando este tipo de canales pueden presentar un efecto analgésico en esta fase (Blackburn-Munro et al., 2002).

La segunda fase de la prueba de la formalina se caracteriza por el desarrollo de una respuesta inflamatoria y la sensibilización central de las fibras nociceptivas, donde participan diversas sustancias. En esta fase hay un aumento

en los niveles de distintos mediadores químicos como histamina, serotonina, bradicidina, aminoácidos excitatorios y prostaglandinas lo que produce la sensibilización de la médula espinal (Petrovski et al., 2006).

Ambas fases del modelo representan distintos tipos de dolor que son producto de la activación de nociceptores periféricos y de la sensibilización central como consecuencia de la transmisión nociceptiva (Blackburn-Munro et al., 2002).

Este modelo presenta la ventaja de que en él se pueden contabilizar una serie de signos que son una medida del dolor que puede ser aliviado por la acción de fármacos analgésicos. De igual manera, se puede valorar un parámetro postural que comprende las distintas posiciones protectoras de la extremidad afectada, como algunas conductas para aliviar el dolor (el lamido de la zona afectada) o la cuantificación de un reflejo (las sacudidas de la extremidad). Uno de los inconvenientes técnicos es la duración del periodo de observación de este modelo, ya que requiere de una gran concentración y paciencia del investigador (Ortega, 2002).

En este estudio pudieron reproducirse adecuadamente las condiciones adecuadas para realizar la prueba de la formalina. La inyección de formalina vía en la región dorsal de la pata derecha de la rata produjo la conducta nociceptiva típica previamente descrita. El curso temporal mostró una respuesta bifásica. Una conducta nociceptiva inmediata (0-10 min) y después de un breve periodo de ausencia de ésta, otra que inició de manera gradual y continua al menos durante el periodo de observación.

En el presente trabajo, se logró evaluar de manera eficiente el comportamiento de distintas dosis de diacereína, topiramato y su combinación que

fueron significativamente menores, en las dos vías de administración evaluadas en este estudio, al compararlas con el grupo control, observándose un efecto dosis-dependientes en la segunda fase de la prueba.

2. DIACEREÍNA

La diacereína es utilizada en algunos países para el manejo de pacientes con artrosis y proporciona una mejora significativa en los síntomas clínicos (Leblan, 2000). Los mediadores inflamatorios tienen un papel importante en las enfermedades articulares como la osteoartritis y artritis reumatoide. Se ha sugerido recientemente que la diacereína podría tener propiedades antiinflamatorias diferentes de las de los AINEs clásicos, debido a su capacidad para reducir la inflamación aguda en distintos modelos animales (Tamura, 2002). Este fármaco es un derivado de la antraquinona, que posee actividad analgésica y antiinflamatoria, cuyo mecanismo de acción consiste en la inhibición de la interleucina-1 β (IL-1 β), disminuyendo el umbral del dolor en ratas con edema en la extremidad (Kay et al., 1980). El metabolito activo de la diacereína, la reína, se ha demostrado que reduce la síntesis y la inducción de IL-1 β e iNOS respectivamente; mejora la actividad de la COX-2 en condiciones normales y en artrosis en condrocitos humanos (Pelletier, 1998). La citocina proinflamatoria IL-1 β puede modular la transmisión del dolor de manera indirecta, por la liberación de sustancias neuroactivas como el NO, radicales libres, prostaglandinas y aminoácidos excitatorios (Wu, 2004 y Watkins, 2003). En un estudio realizado con ratones, la diacereína mostró efectos antiinflamatorios y antihiperálgicos a largo plazo, después de ser administrada por vía oral e intratecal en el modelo de

carragenina (Quintão, 2005). En otros estudios se ha demostrado que el tratamiento oral con diacereína (en dosis que van de 10 a 200 mg/kg) resulta en una marcada inhibición del edema de la pata en ratas producido por carragenina, dextrano y zymosan. Asimismo, también se ha demostrado que la diacereína, al ser administrada de manera individual o conjunta con Naproxeno, es eficaz en la reducción de la respuesta inflamatoria después de la inyección intraplantar del adyuvante completo de Freund (CFA) en ratas (Tamura, 2002).

3. ADMINISTRACIÓN DE DIACEREÍNA

La administración oral y local de diacereína redujo el porcentaje de nocicepción en las dos fases del modelo de la formalina, en ambas vías de administración. En la primera fase del modelo, la diacereína registró un efecto máximo de antinocicepción que no resultó proporcional a la dosis. Sin embargo, en la segunda fase del modelo inflamatorio el efecto antinociceptivo que se presentó fue dependiente de la dosis.

La diacereína mostró un mejor efecto por vía oral obteniéndose un porcentaje de antinocicepción de 68.84% vs. 34.61% en la vía local, en la fase II de la prueba. En la fase I del modelo el efecto fue independiente de las dosis en las dos vías de administración evaluadas.

Se han reportado las propiedades antinociceptivas de la diacereína administrada por vía oral en modelos de inflamación persistente en ratones (Quintão, 2005). En diversos modelos de nocicepción la diacereína ha presentado

una eficacia similar a la de la Gabapentina, un fármaco que ha demostrado ser eficaz en el tratamiento del dolor neuropático (Quintão, 2005). Los mecanismos; por los cuales la diacereína ejerce su acción nociceptiva no están del todo claros y se requieren de más estudios (Quintão, 2005), dicho efecto está relacionado con la supresión de citocinas como la IL-1 β y el factor de crecimiento tumoral alfa (TNF- α), debido a que parece ser que su presencia está estrechamente relacionada con la aparición de hipersensibilidad (Cui, 2000).

En contraste con los resultados obtenidos en este estudio, Quintão reportó que la inyección intraplantar de diacereína no presentó ningún efecto en un modelo de inflamación persistente con carragenina. Estas diferencias pueden atribuirse a que en este estudio se utilizaron dosis distintas de diacereína (25, 50, 100 μ g/pata), los ensayos se realizaron en ratones suizos hembras y el lugar de administración del fármaco y del agente inflamatorio fue de manera intraplantar (Quintão, 2005).

4. TOPIRAMATO (TPM)

Algunos fármacos anticonvulsivos son conocidos por su actividad analgésica, pero debido a la serie de efectos colaterales que presentan se ve limitado su uso para estos propósitos. Algunos de ellos deben ser monitoreados tras su administración, debido a las reacciones adversas que se han observado. Esto justifica la necesidad de estudiar nuevos anticonvulsivos en condiciones donde se presente dolor (Jackson, 2006).

TPM es utilizado sólo o en combinación con otros anticonvulsivos en el tratamiento de crisis parciales y de convulsiones tónico clónicas (Kudin, 2004). Una variedad de propiedades farmacodinámicas del TPM sugieren su eficacia potencial en condiciones distintas a la epilepsia. Adicionalmente, posee propiedades neuronales estabilizantes que pueden ser beneficiosas en el tratamiento del dolor (Thienel, 2004). Experimentos *in vitro* sugieren que el TPM actúa sobre la actividad neuronal y produce sus efectos por medio de varios mecanismos, donde se incluye la modificación de canales de Na^+ y de Ca^{2+} dependientes de voltaje, el aumento de la actividad de GABA y la inhibición de receptores glutamatérgicos de tipo AMPA y kainato (Kudin, 2004). El TPM ha demostrado su efecto antinociceptivo en algunos estudios, Wieczorkiewicz et al. en el 2004, reportaron el efecto antinociceptivo de TPM en un modelo de dolor neuropático en rata tras su administración intraperitoneal, de igual manera Stepanovic, en el 2008, demostró el efecto antinociceptivo de este fármaco en un modelo de dolor visceral. Además de su efecto antinociceptivo, el TPM ha mostrado propiedades antihiperálgicas en modelos de constricción crónica del nervio ciático (ICC) y en la neuropatía por compresión del nervio ciático en ratas (Bischofs, 2004).

5. ADMINISTRACIÓN DE TOPIRAMATO

La administración oral y local de TPM redujo la conducta nociceptiva en las dos fases de la prueba de la formalina. En ambas vías de administración, en la primera fase del modelo se observó un efecto antinociceptivo no dependiente de la dosis que alcanzó un efecto máximo de 78 y 68 por ciento en la vía oral y local,

respectivamente. En la fase II el efecto observado fue dosis dependiente. En la vía oral se alcanzó un efecto máximo de 66 por ciento y en la vía local se observó un efecto de hasta 30 por ciento, lo que muestra un mejor efecto de este fármaco tras su administración oral.

Este trabajo concuerda con algunas referencias de la literatura, ya que está establecido que el TPM reduce la conducta nociceptiva inducida por la formalina, después de ser administrado por vía oral (Da Silva, 2007). Lopes et al. 2009 han reportado la efectividad del TPM en dosis bajas en el modelo de la formalina y en la prueba de la plancha caliente. Ellos encontraron que la acción analgésica de este anticonvulsivo fue revertida por naxolona, lo que sugiere que el sistema opioide puede participar en los efectos observados. Paranos et al. 2011 reportaron el efecto antihiperálgico dependiente de la dosis de TPM administrado por vía oral en un modelo inflamatorio con carragenina, este efecto se redujo significativamente tras la administración sistémica de bicuculina, naxolona y yohimbina. La administración local de este fármaco produjo también un efecto antihiperálgico dependiente de la dosis que se redujo con bicuculina local, pero no con naxolona y yohimbina administradas por la misma vía. Los resultados sugieren que el TPM produce antihiperalgesia, tanto local como sistémica, en modelos de dolor inflamatorio y dicho efecto parece estar mediado por receptores GABA_A, receptores opioides y receptores adrenérgicos α_2 .

En otros trabajos se ha reportado el efecto antinociceptivo de algunos anticonvulsivos como la Gabapentina, que muestra un efecto máximo de 53.1%

por vía oral, aproximadamente un 50% tras su administración local y un 68.2% por vía intratecal en la prueba de la formalina (Ortega-Varela, 2008). En un estudio donde se evaluó el efecto antinociceptivo de distintos fármacos anticonvulsivos en un modelo de dolor visceral, el TPM resultó ser el fármaco con mejor tolerabilidad terapéutica y el que presentó el mejor efecto no asociado con daño motor en la prueba del rotarod (Stepanovic, 2008).

El TPM tiene actividad bloqueadora de la actividad de los canales de Na^+ dependientes de voltaje, por lo que su efecto analgésico en la primera fase del modelo inflamatorio podría estar justificado (78 y 68% de efecto de antinocicepción en la vía oral y local, respectivamente, en la fase I del modelo inflamatorio). La actividad de dicho canal, está relacionada con el aumento en la sensibilidad de las neuronas aferentes primarias y la activación de fibras A y C tras la aparición de daño tisular (Blackburn-Munro et al., 2002).

Este fármaco presentó un mejor efecto antinociceptivo después de administrarse por vía oral (66.03 %) vs. 29.98 % en la vía local en la segunda fase de la prueba.

6. ADMINISTRACIÓN DE DIACEREÍNA-TOPIRAMATO

El uso de las combinaciones analgésicas es una estrategia que tiene como fin facilitar el apego al tratamiento, simplificar la prescripción, mejorar la eficacia con la reducción o la desaparición de efectos adversos (Raffa, 2001). Con la utilización del análisis isoblográfico pudimos analizar la interacción existente, al

administrar la combinación diacereína-topiramato en dos vías de administración: oral y local.

Tras la administración de la combinación de diacereína-topiramato, tanto por vía oral como local, se produjo una reducción en la conducta nociceptiva en la prueba de la formalina. En la fase I del modelo inflamatorio se presentó un efecto no dependiente de la dosis, de hasta un 81 por ciento en la vía oral y un 72 por ciento en vía local, en la fase II se observa un efecto dependiente de la dosis.

La administración de la combinación de diacereína-topiramato, resultó ser más efectiva al administrarse por vía oral, ya que se alcanzó un efecto de antinocicepción de 65.21% vs. 35.24 % en la vía local (fase II). Al presentarse una interacción sinérgica mayor en el modelo inflamatorio después de la administración oral de la combinación, se sugiere una posible ventaja en su uso comparado con la administración local. Esto puede deberse a que el TPM presenta una absorción rápida y completa por vía oral y por su parte la diacereína después de su administración oral sufre un efecto de primer paso hepático y es desacetilada en su totalidad en forma de reína, que es el metabolito activo (McNamara, 2006; Mahajan, 2006).

El análisis isoblográfico de las dos vías de administración de la combinación mostró índices de interacción (γ) que muestran la presencia de sinergismo en cada vía. En la vía oral, el valor de γ fue de 0.209, lo que indica que la $DE_{30}E$ obtenida experimentalmente fue aproximadamente 5 veces menor a la

calculada teóricamente. En la vía local el valor del γ (0.443) indica que la DE_{30E} fue alrededor de 2 veces menor a la calculada teóricamente.

La coadministración de diacereína y topiramato produce una interacción sinérgica significativa en las distintas combinaciones analizadas en este estudio. El origen de la interacción sinérgica podría deberse a los distintos mecanismos de acción de ambos fármacos. Por parte, la diacereína produce la inhibición de la síntesis de $IL1\beta$, se sabe que este tipo de interleucinas aumenta la actividad de las vías nociceptivas (Hori, 1998) y puede causar sensibilización indirecta por la liberación de otras citocinas y mediadores de hiperalgesia como el glutamato o prostaglandinas (Fishman, 1998). Además, el bloqueo de canales de Na^+ y Ca^+ inducido por el TPM que produce la polarización de la membrana y la reducción de la frecuencia y número de potenciales de acción (Cummins, 2000 y Chong, 2001). El bloqueo de receptores AMPA/Kainato impide la entrada de Na^+ postsináptico y contribuye a disminuir el potencial excitador de los estímulos aferentes (Li, 1998). La potenciación de la neurotransmisión gabaérgica produce la facilitación del receptor $GABA_A$, lo cual incrementa el paso de iones cloruro al interior celular y de iones potasio al exterior, que da lugar a un estado de hiperpolarización e inhibición postsináptica (Bermejo, 2007). Debido a los resultados obtenidos tomando en cuenta los mecanismos y sitio de acción de cada fármaco podemos sugerir que el mecanismo por el cual la combinación ejerce su efecto antinociceptivo es de origen multifactorial.

El efecto sinérgico de combinaciones con algunos anticonvulsivos ha quedado evidenciado en modelos de dolor inflamatorio y neuropático, como es el caso de: Gabapentina-Metamizol (Ortega-Varela, 2008), Vigabatrina-Baclofen (Czuczwar, 2001), Oxcarbazepina-Ibuprofeno (Stepanović-Petrović, 2011), Gabapentina-Ibuprofeno (Yoon, 1999), Gabapentina-Tiagabina (Luszczki, 2009) y Carbamazepina-Benfotiamina (Mixcoatl-Zecuatl, 2008) respectivamente.

Haciendo un comparativo de las vías de administración utilizadas en este trabajo con otros estudios realizados, la combinación de diacereína-topiramato, presentó un mayor efecto antinociceptivo en la fase II del modelo inflamatorio en comparación con el observado en la combinación Gabapentina-Metamizol (Ortega-Varela) alcanzándose un efecto máximo de 65 y 56 por ciento por vía oral, respectivamente. Por otro lado, al administrarse por vía local, la combinación de Gabapentina-Metamizol presentó un mayor efecto antinociceptivo que la combinación evaluada en este estudio, ya que alcanzaron un porcentaje máximo de 40 y 35 por ciento respectivamente, en la segunda fase de la prueba de la formalina. En esta misma vía de administración, Arguelles et al., 2002 reportó el efecto antinociceptivo de Morfina-Lamotrigina, que presentó hasta un 45 por ciento de antinocicepción en la fase inflamatoria de la prueba de la formalina.

El análisis isoblográfico de la combinación diacereína-topiramato en las dos vías de administración evaluadas en este estudio, reveló un efecto sinérgico. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio donde se muestra la interacción sinérgica entre la diacereína y el topiramato. La reducción de la dosis de los dos

fármacos, para lograr un mayor efecto analgésico, puede reducir la incidencia de efectos secundarios, como pueden ser afecciones gastrointestinales, prurito, exantema y eccema causados en algunos casos por la diacereína; también podría reducirse la presencia de somnolencia, fatiga, confusión, irritabilidad, dolores de cabeza, nistagmos, temblor, anorexia, pérdida de peso, náusea, parestesia y trastornos del lenguaje, que son producidos por el topiramato.

VIII. CONCLUSIONES

- I. La administración oral y local de diacereína y topiramato producen un efecto antinociceptivo, significativo en ambas fases de la prueba de la formalina.

- II. La combinación diacereína-topiramato presenta una interacción sinérgica en la vía de administración oral y local en la prueba de la formalina.

- III. La combinación diacereína-topiramato presenta una interacción antinociceptiva sinérgica mayor en la vía oral que en la vía local periférica, en el modelo de la formalina.

- IV. La utilización de la combinación de diacereína y topiramato puede ser útil en el tratamiento del dolor inflamatorio en humanos.

IX. REFERENCIAS

Abbas AK, Lichtman AH. Cellular and Molecular Immunology (Philadelphia, Elsevier-Saunders, 2005).

Abbas AK, Lichtman AH. Cellular and Molecular Immunology. 5th edn. Saunders 2002, Philadelphia USA.

Arguelles CF, Torres-Lopez JE, Granados-Soto V. Peripheral antinociceptive action of morphine and the synergistic with lamotrigine. *Anesthesiology*. 96: 921–5; 2002.

Ariniello L, McComb M and Carey J: Brain Facts. Society for Neurosciences: 163, 2002.

Ashburn M, Ready B. Postoperative pain. In: Loesser J, ed. Bonica's management of pain. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins. 765-779; 2002.

Baba H, Doubell TP, Woolf CJ: Peripheral inflammation facilitates Abeta fiber-mediated synaptic input to the substantia gelatinosa of the adult rat spinal cord. *J Neurosci* 19: 859-867, 1999.

Ballantyne JC. Opioids for chronic nonterminal pain. *South Med J* 99 (11): 1245-1255; 2006.

Bardoni R, Torsney C, Chi-Hun T, Prandini M, MacDermott A. Presynaptic NMDA receptors modulate glutamate release from primary sensory neurons in rat spinal cord dorsal horn. *J. Neurosci* 24(11):2774-2781; 2004.

Baron R. Mechanisms of disease: neuropathic pain--a clinical perspective. *Nat Clin Pract Neurol* 2(2): 95-106; 2006.

Baron R. Pain memories: short and long-term alterations in CNS function after tissue inflammation and pain. *Dolor* 13 (Supl. III): 9-17; 1998.

Beccerica E., Ferretti G., Curatola G., Cervini C. Diacetyl-rhein and rhein: In vivo and in vitro effect on lymphocyte membrane fluidity. *Pharmacol. Res.* 22:277–285 (1990).

Ben-Menachem E, Axelsen M, Johanson EH, et al. Predictors of weight loss in adults with topiramate-treated epilepsy. *Obes Res*, 11:556–62. 2003.

Bereiter DA, Benetti AP. Excitatory amino release within spinal trigeminal nucleus after mustard oil injection into the temporomandibular joint region of the rat. *Pain* 67: 451-9; 1996.

Bermejo PE, Velasco R. Nuevos fármacos antiepilépticos en la profilaxis de la migraña. *Med Clin (Barc)*. 128:379-82; 2007.

Besson JM, Chaouch A. Descending serotonergic systems; neurotransmitters and pain control. In: *pain headache*. Ed. H. Akil, Lewis JW. 9:64-100; 1987.

Besson JM. The neurobiology of pain. *Lancet* 353: 1610-1615; 1999.

Bevan SJ, Geppetti P. Protons: small stimulants of capsaicin-sensitivity sensory nerves. *Trends Neurosci*, 17: 509-512, 1994.

Beydoun A, Backonja MM. Mechanistic stratification of antineuralgic agents. *J Pain Symptom Manage* 25: S18-S30; 2003.

Biggs JW, Sombati S, DeLorenzo RJ, Coulter DA. Cellular actions of topiramate: bookcase of kainate-evoked inward currents in cultured hippocampal neurons. *Epilepsia* 41 (Suppl 1): S106; 2000.

Bischofs S, Zelenka M, Sommer C. Evaluation of Topiramate as an antihyperalgesic and neuroprotective agent in the peripheral nervous system. *J Peripher Nerv Syst*. Jun; 9(2): 70-8. 2004.

Biton V, Montouris GD, Ritter F, Riviello JJ, Reife R, Lim P, Pledger G, and the Topiramate YTC Study Group. A randomized, placebo-controlled study of topiramate in primary generalized tonic-clonic seizures. *Neurology* 52: 13307; 1999.

Blackburn-Munro, G.; Ibsen, N.; Erichsen, H. K. A comparison of the antinociceptive effects of voltage-activated Na⁺ channel blockers in the formalin test. *European Journal of Pharmacology* .445, pp. 231-8. 2002.

Bleehen T, Keele CA. Observations on the algogenic actions of adenosine compounds on the human blister base preparation. *Pain* 3: 367-77; 1977.

Boittin M, Redini F, Loyau G, et al. Effect of diacereína (ART 50) on matrix synthesis and collagenase secretion by cultured rabbit joint chondrocytes. *Revue du Rhumatisme* 60:68S-76S; 1993.

Bolten W, Kempel-Waibel A, Pörringer W: Analysis of the cost of illness in backache. *Med Klin (Munich)* 93: 388-393, 1998.

Brennan F. y Cousins M. J., *Rev, Soc, Esp. Dolor*, 12, 17 (2005).

Casale TB., Abbas M. K. Comparison of leukotriene B₄- induced neutrophil migration through different cellular barriers. *Am J Physiol* 258 (4 Pt 1): C639-47. 1990.

Castañeda Hernández G. El dolor: maldición o bendición. Avance y perspectiva. México. V2 N2. 2009.

Chong MS, Libretto SE. The rationale and use of topiramate for treating neuropathic pain. *Clin J Pain* 19:59-68; 2003.

Chong S, Hunter JC. The role and consequences of ion channel distribution and dysfunction in pain. In Rose MR, Griggs RC, eds. *Channelopathies of the nervous system*. Cornwall: MPG Books; p. 10224. 2001.

Colleau S M. Evaluación de la Escalera Analgésica de la OMS. 2006.

Costigan M, Woolf CJ: Pain: molecular mechanisms. *J Pain* 1: 35-44, 2000.

Cui JG, Holmin S, Mathiesen T, et al. Possible role of inflammatory mediators in tactile hypersensitivity in rat models of mononeuropathy. *Pain* 88:239-48; 2000.

Cummins TR, DibHajj SD, Black JA, Waxman SG. Sodium channels and the molecular pathophysiology of pain. In Sandkühler J, Bromm B, Gebhart GF, eds. *Nervous system plasticity and chronic pain*. Amsterdam: Elsevier; p. 319. 2000.

Czuczwar M., Kioe J., Potasiński A., Turski W.A., Przesmycki K.: Isobolographic analysis of interaction between vigabatrin and baclofen in the formalin test in mice. *Pol. J. Pharmacol.*, 53, 527-530, 2001.

D'Amours RH, Ferrante FM : Postoperative pain management. *J Orthop Sports Phys Ther* 24: 227-236, 1996.

De lima L, Bruera E: The role of international treaties in the opioid availability process: Relationship between INCB, national governments, the pharmaceutical Industry and Physicians. *Prog Pall Care* 8: 128-131, 2000.

Da Silva Lopes L. Study of the analgesic effect of the topiramate in acute pain and diabetic neuropatic animal models. Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Ceará, 2007.

De Lorenzo RJ, Sombati S, Coulter DA. Effects of topiramate on sustained repetitive firing and spontaneous recurrent seizure discharges in cultured hippocampal neurons. *Epilepsia* 41 (Suppl 1): S404; 2000.

Diamond J, Foerster A, Holmes M, Coughlin M: Sensory nerves in adult rats regenerate and restore sensory function to the skin independently of endogenous NGF. *J Neurosci* 12: 1467-1476, 1992.

Dickenson AH, Chapman V, Green GM. The pharmacology of excitatory and inhibitory amino acid-mediated events in the transmission and modulation of pain in the spinal cord. *Gen Pharmacol* 28: 633-638; 1997.

Dougados M, Nguyen M, Berdah L, Mazières B, Vignon E, Lequesne M; ECHODIAH Investigators Study Group. Evaluation of the structure-modifying effects of diacerein in hip osteoarthritis. ECHODIAH, a 3-year, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 44:2539-47; 2001.

Dray A: Inflammatory mediators of pain. *Br J Anaesth* 75: 125-131, 1995.

Edwards KR, Glantz MJ, Button J. Efficacy and safety of topiramate in the treatment of painful diabetic neuropathy: a double-blind, placebo-controlled study. *Neurology* 54 Suppl. 3: A81; 2000.

Elterman RD, Glauser TA, Wyllie E, Reife R, Wu SC, Pledger G, and the Topiramate YP Study Group. A doubleblind, randomized trial of topiramate as adjunctive therapy for partialonset seizures in children. *Neurology* 52: 133844; 1999.

Falke NE y Fischer EG. Cell shape of polymorphonuclear leukocytes is influenced by opioids. *Immunobiology* 169 (5): 532-9. 1985.

Felisaz N, Boumediene K, Ghayor C, Herrouin JF, Bogdanowicz P, Galerra P, et al. Stimulating effect of diacerein on TGF-₁ and ₂ expression in articular chondrocytes cultured with and without interleukin-1. *Osteoarthritis Cartilage* 7: 255-64; 1999.

Fioravanti A., Adami S., Tozzi E., Zampieri A., Marcolongo R. Efficacia clínica e tollerabilità della diacereina nel trattamento dell'osteoartrite. *Reumatismo* 40: 193-199. 1988.

Fischer EG y Falke NE. Interaction of met-enkephalin with human granulocytes. *Ann NY Acad Sci* 496: 146-50. 1987.

Fishman D, Faulds G, Jeffery R, et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 102: 1369-76; 1998.

Florez J., J.A. Armijo, A. Mediavilla. *Farmacología Humana*. 4ª Edición Barcelona, España, cap 20, pag. 355-361; cap 22, pag. 375-385. 2003

Galindo F., Flores A. De la energética a la neurotransmisión: el adenosín trifosfato y sus receptores. *REV NEUROL* 43 (11): 667-677; 2006.

Gancedo C., Hernández-Gancedo C., Peñarrocha J. *Neurofisiología del dolor*. ISBN tomo 1: 978-84-8473-655-4. 2008.

Garris SS, Oles KS. Impact of topiramate on serum bicarbonate concentrations in adults. *Annals Pharmacother*, 39:424-6. 2005.

Geppetti P. Sensory neuropeptide release by bradykinin: mechanisms and pathophysiological implications. *Regul pept* 47 (1): 1-23. 1993.

Gessner PK, Cabana BE: A study of the interaction of the hypnotic effects and of the toxic effects of chloral hydrate and ethanol. *J Pharmacol Exp Ther* 174: 247-259, 1970.

Gilligan JP, Lovato SJ, Erin MD y Jeng AY. Modulation of carrageenan-induced hind paw edema by substance P. *Inflammation* 18:285-92. 1994.

Gilron I, Boohar SL, Rowan JS, et al. Topiramate in trigeminal neuralgia: a randomized, placebo-controlled multiple crossover pilot study. *Clin Neuropharmacol* 24: 109-112; 2001.

Gilron I, Watson CP, Cahill CM, Moulin DE: *Neuropathic pain: a practical guide for the clinician*. *CMAJ* 175: 265-275, 2006.

Glauser TA, Levisohn PM, Ritter F, Sachdeo RC, and the Topiramate YL Study Group. Topiramate in LennoxGastaut syndrome: openlabel treatment patients completing a randomized controlled trial. *Epilepsia* 41 (Suppl 1): S8690; 2000.

Gómez-Barrios J V y Tortorici V. Mecanismos del dolor neuropático: del laboratorio a la clínica. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica* Volumen 28, número 1, 2009.

González Espinosa C. La inflamación: respuesta del organismo al daño tisular. *Avance y Perspectiva*, 2, (2) ,13 (2009).

González Machado JL, García Escobar M: Utilidad de los Opioides en el Tratamiento del Dolor Neuropático, 2010.

González R., P. Poza, R. Vives, G. Canto. Revisión: antiinflamatorios inhibidores selectivos de la Ciclooxygenasa 2. *Alergol Inmunología Clínica*. 17: 247-254. 2002.

Gracely RH, Grant MA, Giesecke T: Evoked pain measures in fibromyalgia. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 17: 593-609, 2003.

Granados-Soto V, Arguelles CF: Synergic antinociceptive interaction between tramadol and gabapentin after local, spinal and systemic administration. *Pharmacology* 74: 200-208, 2005.

Grubb BD. Peripheal and central mechanisms of pain. *British Med of Anaest.* 81(1): 8-11; 1998.

Hai-Ying MC, Graham MP, Steven RL, et al. Dream is a critical transcriptional repressor for pain modulation. *Cell* 108: 31-43; 2002.

Hewett SJ, Bell SC, Hewett JA. Contributions of cyclooxygenase-2 to neuroplasticity and neuropathology of the central nervous system. *Pharmacol Ther* 112(2): 335-357; 2006.

Hilliges M, Weidner C, Schmelz M, Schmidt R, Orstavik K, Torebjörk E, et al. ATP responses in human C nociceptors. *Pain* 98: 59-68; 2002.

Hori T, Oka T, Hosoi M, et al. Pain modulatory actions of cytokines and prostaglandin E2 in the brain. *Ann N Y Acad Sci* 840: 269-81; 1998.

IASP. Pain terms: a current list with definitions and notes on usage. *Pain Suppl* 3: S215-S221, 1986.

Jackson II, Kenneth C. Pharmacotherapy for Neuropathic Pain. *Pain Practice*, v. 6, pp. 27-33. 2006.

Jahr CE, Jessel TM. Synaptic transmission between dorsal root ganglion and dorsal horn neurons in culture: antagonism of monosynaptic excitatory postsynaptic potentials and glutamate excitation by kynurenate. *J Neurosci* 5: 2281-9; 1985.

Janicki PK, Jeske-Janicka M. Relevance of nitric oxide in pain. Mechanisms and pain management. *Current Review of Pain* 2(4): 211-216, 1998.

Joris J, Costello A, Dubner R y Hargreaves KM. Opiates suppress carrageenan-induced edema and hyperthermia at doses that inhibit hyperalgesia. *Pain* 43 (1): 95-103: 1990.

Julius, D., and Basbaum, A.I. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 413, 203–210. 2001.

Kay AGL, Griffiths LG, Volans GN, Grahame R. Preliminary experience with diacetylrrhein in the treatment of osteoarthritis. *Current Medical Research and Opinion* 6(8):548-55; 1980.

Kelly DJ, Ahmad M, Brull SJ. Preemptive analgesia I: physiological pathways and pharmacological modalities. *Can J Anaesth*. Nov; 48(10):1000-10. 2001

Khalil Z y Helme RD. Modulation of peripheral inflammatory response to substance P by locally administered opioid receptor agonists. *Neuropeptides* 17 (1): 45-53. 1990.

Khalil Z y Helme RD. Serotonin modulates substance P-induced plasma extravasation and vasodilation in rat skin by an action through capsaicin-sensitive primary afferent nerves. *Brain Res* 527 (2): 292-8. 1990.

Khoromi S. Patsalides A. Parada. S. et al. Topiramate in chronic lumbar radicular pain. *J Pain* 6:829-36: 2005.

King, JC: Therapeutic options for neuropathic pain. *J Trauma* 62: S7, 2007.

Kudin, A. P.; Debska-Vielhaber, G.; Vielhaber, S.; Elger, C. E.; Kunz, W.S. The mechanism of neuroprotection by Topiramate in Animal Model of Epilepsy. *45(12): 1478-1487, 2004.*

Leblan D, Chantre P, Fournie B. Harpagophytum procumbens in the treatment of knee and hip osteoarthritis. four-month results of a prospective, multicenter, double-blind trial versus diacerhein. *Joint Bone Spine* 67:462–7; 2000.

Levine JD, Reichling DB. Peripheral mechanisms of inflammatory pain. En: Wall P, Melzack R, editores. *Textbook of Pain*. 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; p. 59-84. 2003.

Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery*, 127: 117-126; 2000.

Linden DR, Seybold VS. Spinal neurokinin3 receptors mediate thermal but not mechanical hyperalgesia via nitric oxide. *Pain* 80: 309-17; 1999.

Lingetti M, D'Ambrosio PL, Di Grezia F, et al. A controlled study in the treatment of osteoarthritis with diacetylrhein (arthrodar). *Current Therapeutic Research March*; 31(3): 408-12. 1982.

Li P, Zhuo M. Silent glutamatergic synapses and nociception in mammalian spinal cord. *Nature* 393: 6958; 1998.

Loewe S: The problem of synergism and antagonism of combined drugs. *Arzneimittelforschung* 3: 285-290, 1953.

Lopes LS, Pereira SS, Silva LL, Figueiredo KA, Moura BA, Almeida FRC, Sousa FCF. Antinociceptive effect of topiramate in models of acute pain and diabetic neuropathy in rodents. *Life Sci.*, 84, pp. 105–110. 2009.

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

Luster MI. "Inflammation, tumor necrosis factor and toxicology". *Environ Health Perspect.* 106(9):A418-9, 1998.

Luszczki JJ, Kolacz A, Wojda E, Czuczwar M, Przesmycki K, Czuczwar SJ. Synergistic interaction of gabapentin with tiagabine in the hot-plate test in mice: an isobolographic analysis. *Pharmacological Reports*. May-Jun; 61(3):459-67. 2009.

Ma W, Quirion R: Inflammatory mediators modulating the transient receptor potential vanilloid 1 receptor: therapeutic targets to treat inflammatory and neuropathic pain. *Expert Opin Ther Targets* 11: 307-320, 2007.

Mahajan A., Singh K., Tandon V. R., Kumar S., Kumar H. Diacerein: A New Symptomatic Slow Acting Drug for Osteoarthritis. 2006.

Mantovani G, Maccio A, Pisano M, Versace R, Lai P, Esu S, Massa E, Ghiani M, Dessi D, Melis GB, Del Giacco GS. "Tumor-associated lymphomonocytes from neoplastic effusions are immunologically defective in comparison with patient autologous PBMCs but are capable of releasing high amounts of various cytokines". *Int J Cancer*. 71(5):724-31, 1997.

Markind J. Topiramate: A new antiepileptic drug. *Am J HealthSyst Pharm*. 55: 554-62; 1998.

Mc Lean MJ, Bukhari AA, Wamil AW. Effects of topiramate on sodiumdependent potential firing by mouse spinal cord neurons in cell culture. *Epilepsia* 41 (Suppl 1): S214; 2000.

McNamara JO: Farmacoterapia de las epilepsias. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica* 11^a Ed. Editado por Goodman Gilman A, Hardman J.H. and Limbird L. E. McGraw-Hill Companies. Pergamon Press, New York. Chicago, San Francisco, Lisbon, London, Madrid, Mexico City, Milan, New Delhi, San Juan, Seoul, Singapore, Sydney, Toronto: 501-525, 2006.

McQuay H: Opioids in chronic non-malignant pain. *BMJ* 322: 1134-1135, 2001.

Meeus M, Nijs J: Central sensitization: a biopsychosocial explanation for chronic widespread pain in patients with fibromyalgia and chronic fatigue syndrome. *Clin Rheumatol* 26: 465-473, 2007.

Meller ST, Pechman PS, Gebhart TJ, et al. Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in rat. *Neuroscience* 50: 7:10; 1992.

Meunier A, Braz J, Cesselin F, Hamon M, Pohl M: Inflammation et douleur: Thérapie génique expérimentale. *Medecine/sciences* 20: 325-30; 2004.

Mian M., Brunelleschi S., Tarli S., Rubino A., Bennetti D., Fantozzi R., Ziletti L. Rhein: an anthraquinone that modulates superoxide anion production from human neutrophils. *J. Pharm. Pharmacol.* 39:845–847. 1987.

Mongil E., Sánchez I., Torre F., Callejo A., Arizaga A.: Farmacos de acción lenta (Sysadoa) en el tratamiento de la osteoartrosis. 7: 485-496; 2006.

Mixcoatl-Zecuatl T, Quinonez-Bastidas GN, Caram-Salas NL, Ambriz-Tututi M, Araiza-Saldana CI, Rocha-Gonzalez HI, Medina-Santillan R, Reyes-Garcia G, Granados-Soto V. Synergistic antiallodynic interaction between gabapentin or carbamazepine and either benfotiamine or cyanocobalamin in neuropathic rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 30(6): 431-441, 2008.

Montes A. Tratamiento del dolor agudo post-operatorio utilizando combinaciones de Tramadol y Metamizol: análisis de la interacción. Tesis doctoral. 2003.

Montes A, Warner W, Puig MM: Use of intravenous patient-controlled analgesia for the documentation of synergy between tramadol and metamizol. *Br J Anaesth* 85:217-223, 2000.

Montouris GD, Biton V, Rosenfeld WE, and the Topiramate YTC/YTCE Study Group. Nonfocal generalized tonic-clonic seizures: response during longterm topiramate treatment. *Epilepsia* 41(Suppl 1): S7781; 2000.

Moore AR, Greenslade KJ, Alam CA, et al. Effects of diacerhein on granuloma induced cartilage breakdown in the mouse. *Osteoarthritis Cartilage* 6:19–23; 1998.

Moreno C, Prada DM, *Fisiopatología del dolor clínico* 01.15 01:37:51: 2004.

Nathan C: Points of control in inflammation. *Nature* 420: 846-852, 2002.

Nguyen M, Dougados M, Berdah L, Amor B. Diacerhein in the treatment of osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum.* 1994: 37:529–536.

Nicolas P, Tod M, Padoin C, Petitjean O. Clinical pharmacokinetics of diacerein. *Clin Pharmacokinet* 35: 347–59; 1998.

Nieto Barrera M. Characteristics and indications of Topiramate. *Revista de Neurologia*, 35 (1), pp. 588–595. 2002.

Numazaki M, Tominaga M: Nociception and TRP Channels. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 3: 479-485, 2004.

Oneshuck D, Bruera E. The dark side of adjuvant analgesic drugs. *Progress in Palliative Care* 5: 5-13; 1997.

Ortega, E. *Neurofisiología del dolor*. Cuad. Cir. 9:50-54. 1995.

Ortega A, Roca A y Micó JA. Modelos animales de dolor. Una visión crítica. Rev. Soc. Esp. Dolor 9: 447-453, 2002

Ortega Varela LF: Análisis isobolográfico del efecto analgésico de la combinación gabapentina-metamizol administrada por vía oral y espinal en modelos de dolor inflamatorio y neuropático. Tesis doctoral. Escuela superior de medicina. Sección de estudios de posgrado e investigación. Instituto politécnico nacional. 2008.

Ortega-Varela LF, Herrera J, Caram-Salas NL, Rocha-González HI, Granados-Soto V: Isobolographic Analyses of the Gabapentin-Metamizol combination after local peripheral, intrathecal and oral administration in the rat. Pharmacology 79: 214-222, 2007.

Pablos Alvarez JL. Antiinflamatorios no esteroideos y analgésicos en las enfermedades articulares. Medicine 9(32): 2117-2123; 2005.

Paranos SL, Tomić MA, Micov AM, Stepanović-Petrović RM. The mechanisms of antihyperalgesic effect of topiramate in a rat model of inflammatory hyperalgesia. Fundam Clin Pharmacol. 2011.

Pelletier JP, Mineau F, Fernandes JC, et al. Diacerhein and rehin reduce the interleukin 1beta stimulated inducible nitric oxide synthesis level and activity while stimulating cyclooxygenase-2 synthesis in human osteoarthritic chondrocytes. J Rheumatol 25: 2417–24; 1998.

Pelletier JP, Yaron M, Haraoui B, et al. Efficacy and safety of diacerein in osteoarthritis of the knee: a double-blind, placebo-controlled trial. The Diacerein Study Group. Arthritis Rheum 43: 2339–48; 2000.

Petho G, Derow A, Reeh PW. Bradykinin-induced nociceptor sensitization to heat is mediated by cyclooxygenase products in isolated rat skin. Eur J Neurosci 14 (12):210-8. 2001.

Petrovski E.F., Rosa K.A., Facundo V.A., Rios K., Marques M.C.A., Santos A.R.S., Petroff O.A.C. Antinociceptive properties of the ethanolic extract and of the triterpene 3 β , 6 β , 16 β -trihidroxilup-20(29)-ene obtained from the flowers of *Combretum leprosum* in mice. Pharmacology. Biochemistry and Behavior, 83 (1) pp. 90–99, 2006.

Quintao Nara LM, Medeiros R, Santos Adair RS, Campos Maria M and Calixto João B. The Effects of Diacerhein on Mechanical Allodynia in Inflammatory and Neuropathic Models of Nociception in Mice. Anesth Analg 101: 1763–9; 2005.

Raffa RB: Pharmacology of oral combination analgesics: Rational therapy for pain. *J Clin Pharm and Ther* 26: 257-264, 2001.

Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JL, Jacoby HI, Selve N: Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. *J Pharmacol Exp Ther* 267: 331-340, 1993.

Raimondi L, Banchelli Soldaini G, Buffoni F, Ignesti G. Rhein and derivatives. In vitro on their capacity to inhibit some proteases. *Pharmacol. Res. Commun.* 14:103–112: 1992.

Raeburn CD, Sheppard F, Barsness KA et al. Cytokines for surgeons. *Am J Surg*, 183: 268-273; 2002.

Reeh PW, Pethö G. Nociceptor excitation in thermal sensitisation a hypothesis. In Sandkühler J, Bromm B, Gebhart GF, eds. *Nervous system plasticity and chronic pain*. Amsterdam: Elsevier; p. 3950. 2000.

Ritter F, Glauser TA, Elterman RD, Wyllie E, and the Topiramate YP Study Group. Effectiveness, tolerability, and safety of topiramate in children with partial onset seizures. *Epilepsia* 41 (Suppl 1): S825; 2000.

Rosenfeld WE, Slater J. Characterization of topiramate-associated weight changes in adults with epilepsy. *Epilepsia*, 43 (Suppl 7):220–1: 2002.

Rosenfeld WE, Liao S, Kramer LD, Schaefer PA. Comparison of Steadystate pharmacokinetics of topiramate and valproate in patients with epilepsy during monotherapy and combination therapy. *Epilepsia* 38: 32433; 1997.

Sachdeo J. Topiramate clinical profile in epilepsy. *Clin Pharmacokinetic* 34: 33546; 1998.

Sachdeo RC, Glauser TA, Ritter F, Reife R, Lim P, Pledger G, and the Topiramate YL Study Group. A doubleblind, randomized trial of topiramate in LennoxGastaut syndrome. *Neurology* 52: 18827; 1999.

Sachdeo RC, Reife RA, Lim P, Pledfer G. Topiramate monotherapy for partial onset seizures. *Epilepsia* 38: 294-300; 1997.

Schöngen R. N., Giannetti B. M., van de Leur E., Reinards R., Greiling H. Effect of diacetylrhein on the phagocytosis of polymorphonuclear leucocytes and its

influence on the biosynthesis of hyaluronate in synovial cells. *Arzneimittelforschung* 38 (I) 744–748. 1988.

Shank RP, Gardocki JF, Streeter AJ, Maryanoff BE. An overview of the preclinical aspects of Topiramate: Pharmacology, pharmacokinetics and mechanism of action. *Epilepsia* 41 (Suppl 1): S39; 2000.

Shanon HE, Eberle EL, Peters SC. Comparison of the effects of anticonvulsant drugs with diverse mechanisms of action in the formalin test in rats, *Neuropharmacology* 48, pp. 1012-1020. 2005.

Shimoyama M, Shimoyama N, Inturrisi CE, Elliot K, “Gabapentin enhances the antinociceptive effects of spinal morphine in the rat tail-flick test”, *Pain* 72 375-382.1997.

Shorvon AD. Safety of topiramate: adverse events and relationships to dosing. *Epilepsia* 37 (Suppl 2): S1822; 1996.

Skaradski S, Withe HS. Topiramate blocks kainateevoked cobalt influx into cultured neurons. *Epilepsia* 41 (Suppl 1): S457; 2000.

Solís JM, Herrero AI, Del Olmo N, García G, González-Escalada JR. Nuevos mecanismos deltopiramato. 2001.

Sorkin LS. Farmacología y fisiología básica del proceso del dolor agudo. En: Wallace MS, Dunn JS, Yaksh TL. *Clínicas de Anestesiología de Norteamérica*. México: McGraw-Hill Interamericana 2: 245-59; 1997.

Spencer CM, Wilde MI. Diacerein. *Drugs* 53(1): 98-106 ; 107-8; 1997.

Stepanovic-Petrovic RM, Tomic MA, Vuckovic SM, Paranos S, Ugresic ND, Prostran MS, Milovanovic S, Boskovic B. The antinociceptive effects of anticonvulsants in a mouse visceral pain model. *Anesth Analg*. Jun; 106(6):1897-903. 2008.

Stepanović-Petrović RM, Tomić MA, Vučković SM, Poznanović G, Ugrešić ND, Prostran MS, Bošković B. Pharmacological interaction between oxcarbazepine and two COX inhibitors in a rat model of inflammatory hyperalgesia. *Pharmacol Biochem Behav*. Jan; 97(3):611-8. 2011.

Sukiennik AW, Kream RM. N-methyl-D-aspartate receptors and pain. *Current Op Anaesth* 8: 445-9; 1995.

Sun, Q, Tu, H, Xing, G, Hans, J y Wan Y. Ectopic discharges from injured nerve fibers are highly correlated with tactile allodynia only in early, but not late, stage in rats with spinal nerve ligation. *Exp Neurol* 191(1): 128-36; 2005.

Tallarida RJ: *Drug synergism and Dose-Effect Data Analysis*. CRC press Boca Raton FL: 1-72, 2000.

Tallarida R. J., "Drug Sinergism: Its detection and applications", *JPET* 298: 865-872, 2001.

Tamura T, Shirai T, Kosaka N, Ohmori K, Takafumi N. Pharmacological studies of diacerein in animal models of inflammation, arthritis and bone resorption. *Eur J Pharmacol* 448:81-7; 2002.

Tassinari CA, Michelucci R, Chauvel P, et al., Double-blind, placebo controlled trial of topiramate (600 mg dialy) for the tratament of refractory partial epilepsy. *Epilepsia*, 37:763-8. 1996.

Thienel U. Topiramate in painful diabetic polyneuropathy; findings from three double-blind placebo controlled trials. *Acta. Neurol. Scand.*, 110, 221, 2004.

Torres López JE, Granados-Soto V. participación de la ciclo-oxigenasa-1 en el dolor inflamatorio. Vol. 17, número 34. Págs. 73-81. 2001.

Treede RD, Jensen TS, Campbell JN, Cruccu G, Dostrovsky JO, Griffin JW, Hansson P, Hughes R, Nurmikko T, Serra J. Neuropathic pain. Redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology* 70(18): 1630-1635; 2008.

Verbruggen G. Chondroprotective drugs in degenerative joint diseases. *Rheumatology (Oxford)* 45(2): 129-38; 2006.

Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. "Glial proinflammatory cytokines mediate exaggerated pain states: implications for clinical pain". *Adv Exp Med Biol*, 521: 1–21. 2003.

Waugh J, Goa KL. 2003. Topiramate: as monotherapy in newly diagnosed epilepsy. *CNS Drugs*, 17:985–92.

Wheeler-Aceto H, Cowan A: Standardization of the rat paw formalin test for the evaluation of analgesics. *Psychopharmacology (Berl)* 104: 35-44, 1991.

White HS, Brown SD, Woodhead JH, Skeen GA, Wolff HH. Topiramate enhances GABA-mediated chloride flux and GABA-evoked chloride currents in murine brain neurons and increase seizure threshold. *Epilepsy Res* 27: 167-79; 1997.

WHO: World Health Organization. Cancer pain relief and palliative care: Report of a WHO expert committee. Geneva: WHO (technical report series num 804). 1990.

Wieczorkiewicz-Plaza A, Plaza P, Maciejewski R, Czuczwar M, Przesmycki K. Effect of topiramate on mechanical allodynia in neuropathic pain model in rats. *Pol J Pharmacol* 56:275–8; 2004.

Wolf G, Livshits D, Beilin B et al. Interleukin-1 signaling is required for induction and maintenance of postoperative incisional pain: genetic and pharmacological studies in mice. *Brain Behav Immun*, 22:1072-1077; 2008.

Woolf CJ. Pain: moving from symptom control toward mechanism specific pharmacologic management. *Ann Intern Med*. 140:441-451. 2004.

Woolf CJ. What is this thing called pain? *J Clin Invest* 120: 3742–4; 2010.

Woolf CJ., Bennett GJ., Doherty M., Dubner R., Kidd B., Koltzenburg M., Lipton R., Loeser JD., Payne R., Torebjork E. Towards a mechanism-based classification of pain?. *Pain*. 77(3): 227-9. 1998.

Woolf CJ, Costigan M. Transcriptional and posttranslational plasticity and the generation of inflammatory pain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 7723-7730; 1999.

Woolf CJ, Ma Q. Nociceptors--noxious stimulus detectors. *Neuron* 55(3): 353-64; 2007.

Woolf CJ, Salter MW: Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science* 288: 1765-1769, 2000.

Wu CT, Jao S, Borel C, Yeh C, Li C, Lu C, Wong C. The effect of epidural clonidine on perioperative cytokine response, postoperative pain, and bowel function in patients undergoing colorectal surgery. *Anesth Analg* 99:502-9, 2004.

Yoon MH, Yaksh TL. Evaluation of Interaction between Gabapentin and Ibuprofen on the Formalin Test in Rats. *Anesthesiology* 91:1006–13; 1999.

Yoshikai Y. Prostaglandins and leukotrienes in acute inflammation caused by bacterial infection. *Curr Opin Infect Dis* 14 83): 257-63. 2001.

Zeitune MG, Bazerque E y Bazerque PM. Specific opiate effects on dextran-induced inflammation in rats. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam* 41 (3): 349-58. 1991.

Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin* 45:27-37; 2007.

Zhang X, Velumian A, Jones O T, Carlen P L. Modulation of high voltaje activated calcium channels in dentate granule cells by topiramate. *Epilepsia* 41 (Supl 1): S5260; 2000.

Zhuo M: Neuronal mechanism for neuropathic pain. *Mol Pain* 3: 14, 2007.