

VOTOS APROBATORIOS

Cuernavaca, Mor., 27 de julio de 2020.

Dra. Vera Lucia Petricevich

Directora

Facultad de Medicina

P r e s e n t e:

Estimada Dra. Petricevich, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis **Evaluación del efecto analgésico de la combinación tramadol-meloxicam en modelos murinos de dolor crónico**", que para obtener el grado de Maestra en Medicina Molecular me proporcionó la alumna Laura González Palomares. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 110 del Reglamento de Posgrado de la UAEM le otorgo:

Dictamen I se aprueba el trabajo de tesis tal como se presenta.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

A t e n t a m e n t e

Dr. Armando Herrera Arellano



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ARMANDO HERRERA ARELLANO | Fecha:2020-08-10 16:47:41 | Firmante

Ke6nSIGg9teqOj9zUZRq4sZfk9+2PjD96Aq2u8iZJGDpUknWL/NjGPfv7+tula2EXEf/zdsOg++2ML3eM7NWb87vZuVSqD5SbMjE6Cdi1pMMfbqAJ7ZIND2eNCiLkyQ/JRDkg1g3DrK5X+EETr/DLFav3HgEO58dC5GwalYUpKUAaK75a2aMapeN23eOmvFlryhJ6G1Sxhs1mscRMBTmisARcerAahMZZLxoJq/VdfkeuKHSq1yigCs04I8dCPHWUvuzBdj2YCU4KJ/hRLCqCaHeSgFtd6BGm+zDi7j0gpa/qe0q6U2xYrf3OJy1LKIazz613zg/UmhEfTir77H9A==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



pfT8kP

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/qOhIKTtprZ5BY1q2NeGVXbXTCFJLhzJ>



Cuernavaca, Mor., 27 de julio de 2020.

Dra. Vera Lucia Petricevich

Directora

Facultad de Medicina

Presente:

Estimada Dra. Petricevich, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis **“Evaluación del efecto analgésico de la combinación Tramadol-Meloxicam en modelos murinos de dolor crónico”**, que para obtener el grado de Maestra en Medicina Molecular me proporcionó la alumna Laura González Palomares. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 110 del Reglamento de Posgrado de la UAEM le otorgo:

Dictamen I se aprueba el trabajo de tesis tal como se presenta.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dra. Gabriela Castañeda Corral



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

GABRIELA CASTAÑEDA CORRAL | Fecha:2020-08-18 14:55:40 | Firmante

Ub1luHqBr3s21vzOvRzCSDV1D6aAos/eXrSM6eXHyLiC5wul79LnU8yF9iwzaOw8XUa909ESYW/as8gj7OuRj6Hi8mlrzJQDnv9HtHXV/1q+5pYfqPUbtX7YID26UPgT+C8aDRZ1ADoRFFHD5iGXN8NII/w7YWjRii/E4jNoWy+rz0+/TVHc+4fqvJx7LfRbYEV5Rdz2tk6bk3+KHIRJzVWWmCJE5X6HLkhfuOVv4wRBrKI+sV/c3RLs6jLYlXUugDxjDJHdUynK6q1OQ6JQJKKRSS6Z9QUvAfcpYnKScSV7yU8uPo/fDmbk/xHwArWs0ZILlqfboWuBv5t07XBKg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[TGalEr](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/DJFaAR4nO5SIZUnhL6bRvF38eAMIEN9G>



Cuernavaca, Mor., 27 de julio de 2020.

Dra. Vera Lucia Petricevich

Directora

Facultad de Medicina

P r e s e n t e:

Estimada Dra. Petricevich, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis “**Evaluación del efecto analgésico de la combinación Tramadol-Meloxicam en modelos murinos de dolor crónico**”, que para obtener el grado de Maestra en Medicina Molecular me proporcionó la alumna Laura González Palomares. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 110 del Reglamento de Posgrado de la UAEM le otorgo:

Dictamen I se aprueba el trabajo de tesis tal como se presenta.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

A t e n t a m e n t e

Dr. Juan José Acevedo Fernández

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JUAN JOSE ACEVEDO FERNANDEZ | Fecha:2020-08-19 09:04:21 | Firmante

kH+kZuNXEHsZl3un7d9ekYDQEaeWiYTNH2o5L1JsMI3kcZQIXeXIZyiY8xPBjL50wXLsEULFajb4L2vma8Mp35QeLUaEeNHHucpWeQrclOeIyLVTsVYmFX+S1XwGCaYtL07xnWcl3hqCD37uJaGVy14An8KOTHonpvtMreCiPibEPm1G7a2HONlzWwZWhW3dmQvxNXpl8F72rzHcjY4vDtnSa871xejk3rXbAFUjBYxzB65Vxe1+iDeVtl+jvtC0Y7hklv24kK5cUp1bRzxpK5DYbNhIV3NZZOlyhBQ3sqpYSoUzRoKWcBaToXkj0FThtHvQPeKozNrjAHB2qoJMUw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



0p1DKI

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/sMuYZxy2DptWhx7QZHVfHHSzy3FJcHJI>

Cuernavaca, Mor., 27 de julio de 2020.

Dra. Vera Lucia Petricevich

Directora

Facultad de Medicina

Presente:

Estimada Dra. Petricevich, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis **“Evaluación del efecto analgésico de la combinación Tramadol-Meloxicam en modelos murinos de dolor crónico”**, que para obtener el grado de Maestra en Medicina Molecular me proporcionó la alumna Laura González Palomares. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 110 del Reglamento de Posgrado de la UAEM le otorgo:

Dictamen I se aprueba el trabajo de tesis tal como se presenta.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dra. Maribel Lucila Herrera Ruiz



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MARIBEL LUCILA HERRERA RUIZ | Fecha:2020-08-18 14:51:08 | Firmante

nfiL8Gp3oRQ0d6CillC/hK3FRNb/L9BKSvZlg5lQsGnocyFZN01hvPnK0LD6a/ufF05+InsnEMTPK0AzM86fIRe/VppQusTmVYxm5H9xO53h9W0EPVx3Y4RkNzIObXVPuF5jcJxz4NfXVCsiODeCPgjlB/mPj8wPbeDEbsNQLaY/1xNI8CyAl/e36EsS2REfH7rTgxzXVWARb4YzL9XRMLjPwZiCkUURd7aEUckMdXbmi4aTzJ3vLtBd0ol/3yxT6BWv3Rppnjsa5oLcCydB7H22pmNumh1y4zJ6dJc+79cRWSYOLY+IL/KNMyUUMFK9G1GhpsZbaSTKAZEhkgb==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[ihSbAx](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/6PCXCwIPFU0QrS5kC3Y5POUykC6g10T8>



Cuernavaca, Mor., 27 de julio de 2020.

Dra. Vera Lucia Petricevich

Directora

Facultad de Medicina

P r e s e n t e:

Estimada Dra. Petricevich, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis **“Evaluación del efecto analgésico de la combinación Tramadol-Meloxicam en modelos murinos de dolor crónico”**, que para obtener el grado de Maestra en Medicina Molecular me proporcionó la alumna Laura González Palomares. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 110 del Reglamento de Posgrado de la UAEM le otorgo:

Dictamen I se aprueba el trabajo de tesis tal como se presenta.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

A t e n t a m e n t e

Dr. Jesús Santa Olalla Tapia



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JESUS SANTA OLALLA TAPIA | Fecha:2020-08-18 15:11:02 | Firmante

EhHFkV23+XhZemxgFMgpoFIno8lw6hMBzR/D/SdvcFBFsLLIsXVazFq5HTJutQrvN2ZxCuOsZI3TibD8q6+kYmKFpKcJtVApe31GmRKnZrOTG0EsGv/BeA84daWcyfk5xJlXrmyz6Ka9CfiJTCvsv+79pcbLxRMMWi1BujvHVxJPKunzO3GcOb1Va90019XRl86Xl7/Os85YgqPkPsPqsXlt6AU4QLlirh0zQpYkxuAidE9BCM0nErv9B8NIAsRwpY/O69ObA2Q3bRuzEWjx148eycRT5glIhcnqUdaEN4Qhugm9vWMJ6elPKHUKbse6pLpTrCaT133jXzhafOJA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



ZqGvrl

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/wYqoic4H30BEtucwNnJCW0leEZmrClol>





**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO
DE MORELOS**



**FACULTAD DE MEDICINA
SECRETARIA DE DOCENCIA
JEFATURA DE POSGRADO**

**Evaluación del efecto analgésico de la combinación
Tramadol-Meloxicam en modelos murinos de dolor
crónico**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN:
MEDICINA MOLECULAR**

**QUE PRESENTA:
IBT. LAURA GONZÁLEZ PALOMARES**

**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. GABRIELA CASTAÑEDA CORRAL**

CUERNAVACA, MORELOS SEPTIEMBRE DEL 2020

El presente proyecto se realizó de febrero del 2018 a junio del 2020 en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Miembros del comité tutorial

Tutor principal: Dra. Gabriela Castañeda Corral

Tutor personal: Dr. Juan José Acevedo Fernández

1° Vocal: Maribel Lucila Herrera Ruiz

2° Vocal: Jesús Santa Olalla tapia

3° Vocal: Armando Herrera Arellano

Miembros del jurado de examen

Presidente: Dr. Jesús Santa Olalla Tapia

Secretario: Dr. Juan José Acevedo Fernández

1° Vocal: Maribel Lucila Herrera Ruiz

2° Vocal: Armando Herrera Arellano

3° Vocal: Dra. Gabriela Castañeda Corral

Agradecimientos por el financiamiento

Para la realización del presente proyecto se contó con el apoyo de la beca de maestría No. 726887 otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

DEDICATORIAS

A ti mi persona favorita

Te agradezco por tus consejos, la paciencia y sobre todo por el amor incondicional brindado en todo momento. La vida me hizo coincidir contigo para ver el mejor lado de ella, cada día me impulsas a ser mejor tanto a nivel académico como a nivel personal. Soy afortunada al tenerte a mi lado, bien dicen que la vida te dará el amor que crees merecer y a mí me dio como regalo a la mejor persona en todos aspectos. Porque a ti puedo decirte que para mí cualquier lugar es mi hogar si eres tú quien abre la puerta. Simplemente gracias por todo, te amo mis ojitos bonitos.

“Celebra tus propias victorias en compañía de las personas que amas, porque nadie más entiende lo que te costó alcanzarlas “

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mi mamá **Amelia** por brindarme la educación, los valores y los consejos que me acompañaron a lo largo de mi vida y formaron la persona que soy hoy en día. Ustedes forman parte de este logro por alentarme a nunca rendirme y siempre salir adelante.

A la **Dra. Gabriela** por abrirme las puertas de su laboratorio y por todos los conocimientos brindados a lo largo de la licenciatura y maestría, y sobre todo gracias por iniciarme en el mundo de la investigación científica.

A mi mejor amiga y compañera de aventuras **Victoria**, gracias por todas las risas, los desvelos y el estrés compartido a lo largo de estos dos años. Quiero agradecerte porque siempre estuviste en las buenas y en las malas, como cuando me enferme horrible te acuerdas. Te agradezco por invitarme a tu casa y considerarme parte de tu familia, así como yo te considero parte de la mía, por todas esas aventuras que pasamos juntas, porque sé que esta amistad perdurara por mucho tiempo más, porque incluso cuando seamos viejitas siempre estaré ahí para ti y sobre todo te agradezco por tener el valor de soportarme ya que no soy una persona nada fácil, te quiero mujer.

A **Juanita** gracias por tu ayuda con los experimentos, las dudas académicas y sobre todo por esas platicas divertidas y sobre todo por evitar que muriera de una alergia.

A **Alan**, aunque la mayoría del tiempo nos ignorabas a Juanita y a mí, cuando nos hacías caso pasábamos momentos agradables.

A **Misa** muchas gracias por tus consejos, tu ayuda y tus abrazos que fueron muy reconfortantes sobre todo en momentos de estrés.

A **Nancy** gracias por tenerme la confianza para contarme tus historias de amor, por las recomendaciones de música y películas, y finalmente por las historias de terror contadas con las cuales me divertía mucho.

A mi comadre y mejor amiga de la universidad **Ofelia** por demostrarme que en todo momento estarás ahí para mí con tus consejos y por tu apoyo en los momentos

difíciles ya que fuiste una de las pocas personas que me ayudo cuando se cayó mi casa y esas son las pequeñas cosas que no se olvidan, así como por considerarme dentro de las decisiones más importantes de tu vida.

Finalmente, a **Paquito** porque a pesar de que nos vemos pocas veces al año, has demostrado ser un amigo incondicional que ha estado en las buenas y las malas desde hace años, te considero un gran amigo, gracias por todo.

I. ÍNDICE

I. ÍNDICE	VI
II. ÍNDICE DE FIGURAS	IX
III. ÍNDICE DE TABLAS.....	XI
IV. RESUMEN	XIV
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Dolor	1
1.2 Clasificación del dolor	1
1.3 Dolor crónico	1
1.3.1 Clasificación del dolor crónico.....	2
1.3.1.1 Dolor crónico primario	3
1.3.1.2 Dolor crónico secundario.....	6
1.3.2 El dolor crónico como problema de salud pública.....	7
1.3.3 Epidemiología del dolor crónico	9
1.3.4 Mecanismos moleculares que perpetúan el dolor crónico	15
1.3.4.1 Sensibilización periférica.....	15
1.3.3.2 Sensibilización central.....	17
1.3.4.2.1 Señalización del receptor NMDA.....	18
1.3.3.3 Facilitación descendente	19
1.3.5 Modelos animales de dolor crónico.....	21
1.3.5.1 Modelos de fibromialgia.....	22
1.3.5.2 Modelos de dolor neuropático	23
1.3.6 Tratamiento del dolor crónico.....	25
1.3.6.1 Tratamiento farmacológico del dolor crónico.....	26
1.3.6.1.1 AINEs	29
1.3.6.1.2 Opioides	36
2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	43
2.1 Combinación de fármacos.....	43
2.1.1 Tipos de sinergismo	44
2.1.2 Isoblograma	45
2.1.3 Combinación de opioides con AINEs.....	47
2.1.3.1 Combinación tramadol-meloxicam	47

4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	52
3. JUSTIFICACIÓN	53
5. HIPÓTESIS	55
6. OBJETIVOS	56
6.1 Objetivo general	56
6.2 Objetivos específicos	56
7. MATERIALES Y METODOS	57
7.1 Animales	57
7.2 Fármacos	57
7.3 Inducción de dolor neuropático: axotomía parcial del nervio ciático	57
7.4 Inducción de fibromialgia por la inyección repetida de solución salina ácida en el músculo gastrocnemio	58
7.5 Evaluación de la alodinia mecánica	58
7.6 Diseños experimentales	59
7.6.1 Determinar el valor de la DE ₃₀ de tramadol y meloxicam a partir de la curva dosis-respuesta obtenida en ratones con alodinia mecánica inducida por la axotomía parcial del nervio ciático	59
7.6.2 Determinar el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam, en las proporciones 1:1 y 1:3 en un modelo murino de dolor neuropático	61
7.6.3 Determinar el valor de la DE ₃₀ de tramadol y meloxicam a partir de la curva dosis-respuesta obtenida en ratones con alodinia mecánica inducida por la administración repetida de salina ácida en el músculo gastrocnemio.....	63
7.6.4 Determinar el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam, en las proporciones 1:1, 1:3 en un modelo experimental de fibromialgia.	65
7.7 Isoblograma	67
7.8 Análisis estadístico.....	67
8. RESULTADOS	68
8.1 Efecto de tramadol y meloxicam en la alodinia mecánica inducida por la axotomía parcial del nervio ciático	69
8.2 Curva dosis respuesta del efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo de dolor neuropático inducido por la axotomía parcial del nervio ciático.	72
8.3 Evaluación del efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático	73
8.4 Efecto de naloxona sobre el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático experimental	76

8.5 Implementación de un modelo de fibromialgia experimental inducida por la inyección repetida de solución salina ácida	77
8.6 Evaluación del efecto de tramadol en la alodinia mecánica inducida por la inyección repetida de solución salina ácida	82
8.7 Evaluación del efecto de la administración aguda de meloxicam en la alodinia mecánica inducida por la inyección repetida de solución salina ácida.....	84
8.8 Evaluación del efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en el modelo de fibromialgia inducido por la inyección repetida de solución salina ácida.....	87
8.9 Determinación del tipo de interacción farmacológica de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de fibromialgia experimental.....	88
8.10 Efecto de naloxona sobre el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de fibromialgia experimental.....	90
9. DISCUSIÓN.....	92
9.1 Efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo de dolor neuropático	92
9.2 Efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo de fibromialgia experimental.....	94
9.3 Efecto de la combinación tramadol-meloxicam en dos modelos de dolor crónico	97
10. CONCLUSIONES.....	101
11. PERSPECTIVAS.....	101
12. REFERENCIAS.....	102

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación del dolor crónico de acuerdo a la IASP 2019.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 2. Clasificación del dolor crónico primario.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 3. Ciclo del dolor crónico.....	9
Figura 4. Prevalencia del dolor crónico en México por grupo etario.....	11
Figura 5. Sensibilización periférica.....	17
Figura 6. Sensibilización central.....	19
Figura 7. Facilitación descendente.....	21
Figura 8. Modelos animales de dolor crónico.....	22
Figura 9. Tratamiento multimodal del dolor crónico.....	26
Figura 10. Escalera de la OMS para el tratamiento del dolor.....	27
Figura 11. Estructura química del meloxicam.....	35
Figura 12. Clasificación de los analgésicos opioides por su actividad intrínseca y por su potencia.....	37
Figura 13. Localización de los receptores opioides en el SNC.....	39
Figura 14. Estructura química del tramadol.....	41
Figura 15. Isoblograma.....	46
Figura 16. Determinación de la DE ₃₀ de tramadol y meloxicam a partir de la curva dosis respuesta obtenida a partir de un modelo de dolor neuropático en ratones.....	61
Figura 17. Determinación el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam, en las proporciones 1:1 y 1:3 en un modelo murino de dolor neuropático.....	62
Figura 18. Implementación y validación del modelo de fibromialgia inducido por la inyección repetida de solución salina ácida en el músculo gastrocnemio.....	64
Figura 19. Determinación de la DE ₃₀ de tramadol y meloxicam a partir de la curva dosis-respuesta obtenida a partir de un modelo experimental de fibromialgia.....	65
Figura 20. Determinación el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo experimental de fibromialgia.....	66
Figura 21. Curso temporal del 50% de umbral de retiro en ratones naïve (A), sham (B) y dolor neuropático (C).....	69
Figura 22. Efecto antialodínico del tramadol en el modelo de axotomía parcial del nervio ciático en ratón.....	70
Figura 23. Efecto antialodínico del meloxicam en el modelo de axotomía parcial del nervio ciático en ratón.....	71
Figura 24. Curva dosis respuesta del efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo de dolor neuropático en ratón.....	72
Figura 25. Evaluación del efecto antialodínico de las combinaciones tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático en ratón.....	74

Figura 26. Curva Dosis Respuesta del efecto antialodínico de tramadol y la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático en ratón...	75
Figura 27. Curso temporal del efecto de naloxona en la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de murino de dolor.....	77
Figura 28. Curso temporal del 50% de umbral de retiro en ratones sham hembras y machos.....	78
Figura 29. Caracterización del desarrollo de alodinia mecánica inducida por la inyección repetida de solución salina ácida en ratones hembra y macho.	80
Figura 30. Efecto de la gabapentina en la alodinia mecánica inducida por solución salina ácida.	81
Figura 31. Efecto de tramadol en la alodinia mecánica inducida por la inyección i. m. repetida de solución salina ácida.	83
Figura 32. Efecto de meloxicam en la alodinia inducida por la inyección i. m. repetida de solución salina ácida.	85
Figura 33. Curva dosis respuesta del efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo de fibromialgia inducido por solución salina ácida.....	86
Figura 34. Evaluación del efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de fibromialgia inducido por solución salina ácida.....	88
Figura 35. Isoblograma de la combinación de tramadol-meloxicam en un modelo de fibromialgia inducido por la inyección de solución salina ácida.....	89
Figura 36. Curso temporal del efecto de naloxona en la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de murino de fibromialgia.....	91

III. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Epidemiología de los síndromes dolorosos crónicos más comunes.	12
Tabla 2. Manejo farmacológico del dolor crónico.	28
Tabla 3. Clasificación de los AINEs de acuerdo a su estructura química.....	29
Tabla 4. Clasificación de los AINEs por su selectividad de COX..	30
Tabla 5. Perfil de efectos adversos de los AINEs por sistemas..	34
Tabla 6. Principales efectos de los opioides sobre órganos y sistemas.....	40
Tabla 7. Antecedentes específicos de la combinación tramadol-meloxicam.....	50
Tabla 8. Valores teóricos y experimentales de las DE ₃₀ de las combinaciones de tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático.....	76
Tabla 9. Valores teóricos y experimentales de las DE ₃₀ de las combinaciones de tramadol-meloxicam en un modelo de fibromialgia.	90

IV. ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados
µL	Microlitros
5-HT	5-Hidroxitriptamina (serotonina)
AA	Ácido Araquidónico
ABC	Área Bajo la Curva
admón	administración
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
AMPA	α-amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
AMPc	Adenosín Monofosfato cíclico
ANOVA	Análisis de Varianza
ASIC	Canales de Sodio Sensibles a Ácido
ATP	Adenosín Trifosfato
BDNF	Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro
Ca ²⁺	Ion calcio
CCI	Constricción crónica del nervio ciático
CENETEC	Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud
CFA	Adyuvante Completo de Freund
CGRP	Péptido Relacionado con el Gen de Calcitonina
CL	Contralateral
CO ₂	Dióxido de carbono
COX	Ciclooxigenasa
COX-1 y 2	Ciclooxigenasa 1 y 2
CXC3CL1	Fractalcina
DE ₃₀	Dosis Efectiva 30
DMARDs	Fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad
e.e.m.	error estándar de la media
EE. UU.	Estados Unidos
ERK	Proteína cinasa regulada por señales extracelulares
EVA	Escala Visual Análoga
FDA	Administración de Medicamentos y Alimentos (<i>por sus siglas inglés</i> Foods and Drugs Administration)
g	gramos
GABA	Ácido γ-aminobutírico
GH-1	Gonadotropina-1
GI	Gastrointestinal
GPCRs	Receptores Acoplados a Proteína G
h	horas
I	Índice de interacción
i.m.	administración intramuscular
i.p.	Administración intraperitoneal
IASP	Asociación Internacional para el Estudio del Dolor
IL	Ipsilateral
IL-1β	Interleucina-1β
IL-6	Interleucina-6

INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IRNS	Inhibidores de la Recaptura de Noradrenalina y Serotonina
K ⁺	Ion potasio
M	Molaridad
M1	Metabito-1
mg/Kg	miligramos por kilogramo
NA	Noradrenalina
Na ⁺	Ion sodio
NaTTxR	Canales de sodio resistentes a tetrodotoxina
NaTTxS	Canales de sodio sensibles a tetrodotoxina
Nav 1.8	Canal de sodio-1.8
NK1	Receptor de neurocinina tipo1 (Receptor de sustancia P)
NMDA	Ácido N-metil-D-aspartico
NOM	Norma Oficial Mexicana
NOP	Receptor de nociceptina
NOS	Óxido Nítrico Sintasa
NP	Neurona Periférica
NR1	Subunidad del receptor de glutamato zeta-1
ns	no significativo
OMS	Organización Mundial de la Salud
P2X	Receptor purinérgico dependiente de ATP
PBS	Tampón Fosfato Salino
PGD	Prostaglandina D
PGE	Prostaglandina E
PGI	Prostaglandina I
PGs	Prostaglandinas
PKA	Proteína Cinasa A
PKC	Proteína Cinasa C
REP2	Receptor de la prostaglandina E ₂
RVM	Medula Rostral Ventromedial
SEM	error estándar de la media
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SNC	Sistema Nervioso Central
SNI	Axotomía parcial del nervio ciático (del inglés <i>Spared Nerve Injury</i>)
SNP	Sistema Nervioso Periférico
SP	Sustancia P
TCAs	Antidepresivos Tricíclicos
TLR	Receptor tipo Toll
TNF- α	Factor de necrosis tumoral- α
TrkB	Receptor de tirosín cinasa B
TRPV1	Receptor de Potencial Transitorio Vaniloide tipo 1
TXA2	Tromboxano A2
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana

V. RESUMEN

ANTECEDENTES: El dolor crónico es un problema de salud, debido a su alta incidencia y a la repercusión negativa en la calidad de vida del paciente, familia y sociedad. El tratamiento de este tipo de dolor con un solo fármaco es poco efectivo por lo que se ha propuesto que el tratamiento requiere una aproximación multimodal. Una alternativa es el uso de combinaciones de dos o más fármacos en donde el principal criterio de selección es que posean diferentes mecanismos de acción con el objetivo de aumentar la eficacia y mejorar el perfil de efectos adversos para favorecer el tratamiento a largo plazo.

OBJETIVO: Comparar el efecto antialodínico agudo de la combinación tramadol-meloxicam con el efecto de la administración individual de cada uno de los fármacos en dos modelos de dolor crónico, con la finalidad de determinar si esta combinación es útil para el tratamiento de dolor crónico de diferentes etiologías.

MATERIAL Y MÉTODOS: Para evaluar el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam y de los fármacos individuales se utilizó el modelo de dolor neuropático de axotomía parcial del nervio ciático y un modelo de fibromialgia inducida por la inyección solución salina ácida en ratón hembra.

RESULTADOS: En el modelo de dolor neuropático se encontró que el tramadol, pero no el meloxicam, produjo un efecto antialodínico dependiente de la dosis con una DE_{30} de 24.79 ± 2.12 mg/Kg. En el modelo de fibromialgia tanto tramadol como meloxicam produjeron un efecto antialodínico dependiente de la dosis con una DE_{30} de 35.98 ± 4.88 y 11.43 ± 0.25 mg/Kg, respectivamente. En cuanto a la combinación se observó que la adición de meloxicam (2.74 o 7.5 mg/kg) al tramadol produjo un incremento de la eficacia indicando un sinergismo (índices de interacción de 0.35 para la combinación tramadol con la dosis fija de meloxicam 2.74 y 0.18 para la combinación con 7.5 mg/kg) en el modelo de dolor neuropático. De forma similar el análisis isoblográfico de la combinación de tramadol-meloxicam en las proporciones 1: 1 y 1:3 mostro que se produjo una potenciación del efecto antialodínico en el modelo de fibromialgia. En ambos modelos el efecto sinérgico de la combinación fue revertido parcialmente con la inyección de naloxona (1 mg/kg, i.p.) un fármaco antagonista de los receptores opioides.

CONCLUSIÓN: La combinación meloxicam-tramadol produjo una potenciación del efecto antialodínico en comparación con el efecto de los fármacos individuales en dos modelos de dolor crónico. El efecto sinérgico involucra la activación de los receptores opioides. Estos resultados sugieren que la combinación tramadol-meloxicam puede ser una herramienta prometedora para el tratamiento del dolor crónico.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Dolor

El dolor se define como una experiencia sensorial o emocional desagradable asociada a un daño tisular real o potencial que puede describirse en términos de dicho daño [1]. El dolor tiene una naturaleza multidimensional, por lo que su percepción se afecta por componentes fisiopatológicos, emocionales, cognitivos y conductuales. Debido a esto es difícil clasificar al dolor.

1.2 Clasificación del dolor

En la actualidad, existen diversas clasificaciones de dolor basadas en distintos criterios. Una de las clasificaciones más aceptadas es con base en su duración, la cual nos permite distinguir entre dolor agudo y crónico.

El dolor agudo o dolor nociceptivo implica una condición de inicio rápido y duración corta, cuya función biológica es preservar la integridad del individuo [2]. Este tipo de dolor se produce en respuesta a estímulos nocivos y desaparece cuando se elimina la causa subyacente. Sin embargo, bajo ciertas condiciones el dolor agudo se convierte en crónico. El dolor crónico es aquel que persiste más allá del período normal de curación por lo que carece de función protectora convirtiéndose así en un síntoma debilitante o incluso la enfermedad por sí misma [3]. A continuación, se describe con mayor detalle las características del dolor crónico.

1.3 Dolor crónico

El dolor crónico es una de las principales causas de sufrimiento a nivel mundial. Desde el punto de vista clínico se considera que existe dolor crónico cuando se presenta de forma constante por al menos cuatro o cinco días a la semana y que perdura por al menos 3 meses o más allá del período normal de curación [3]. Sin embargo, este tipo de dolor puede llegar a durar incluso años hasta convertirse en un síntoma debilitante derivado de una enfermedad como el caso de la neuropatía

diabética o incluso la enfermedad por sí misma como la fibromialgia. Con base en lo anterior el dolor crónico es un término que se utiliza para englobar a un gran número de enfermedades de diversas etiologías que cursan con dolor por períodos largos de tiempo. Las etiologías más comunes son lesión nerviosa, cirugías, quemaduras, uso de fármacos como los utilizados en la quimioterapia y enfermedades metabólicas o infecciosas e incluso etiologías que se desarrollan sin ningún motivo aparente. En este contexto, los tipos de dolor crónico más comunes son el dolor neuropático, dolor musculoesquelético, dolor postquirúrgico o postraumático, dolor orofacial y dolor crónico generalizado como resultado de enfermedades como herpes zoster, VIH, diabetes, artritis, osteoartritis y fibromialgia [3.4]

1.3.1 Clasificación del dolor crónico

Dado el gran número de condiciones patológicas que cursan con dolor crónico existe un gran debate en la comunidad médica y científica referente a si este tipo de dolor es un síntoma o una enfermedad. Esto es de gran relevancia porque dificulta el diagnóstico y en consecuencia el tratamiento. Debido a lo anterior la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP por sus siglas en inglés) formó un grupo de trabajo que se dio a la tarea de crear una clasificación que fuera útil tanto en el ámbito clínico como científico. Así en el 2019 se publicó la clasificación de dolor crónico la cual distingue entre dos grandes grupos; el dolor crónico primario y secundario. A su vez estos grupos se subdividen en 7 grandes categorías las cuales engloban trastornos clínicamente más comunes (Figura 1) [3.4]. Esta nueva clasificación proporciona una nueva herramienta útil para el diagnóstico y tratamiento adecuado para cada tipo de dolor crónico con el objetivo de lograr resultados óptimos y mejorar la calidad de vida del paciente.

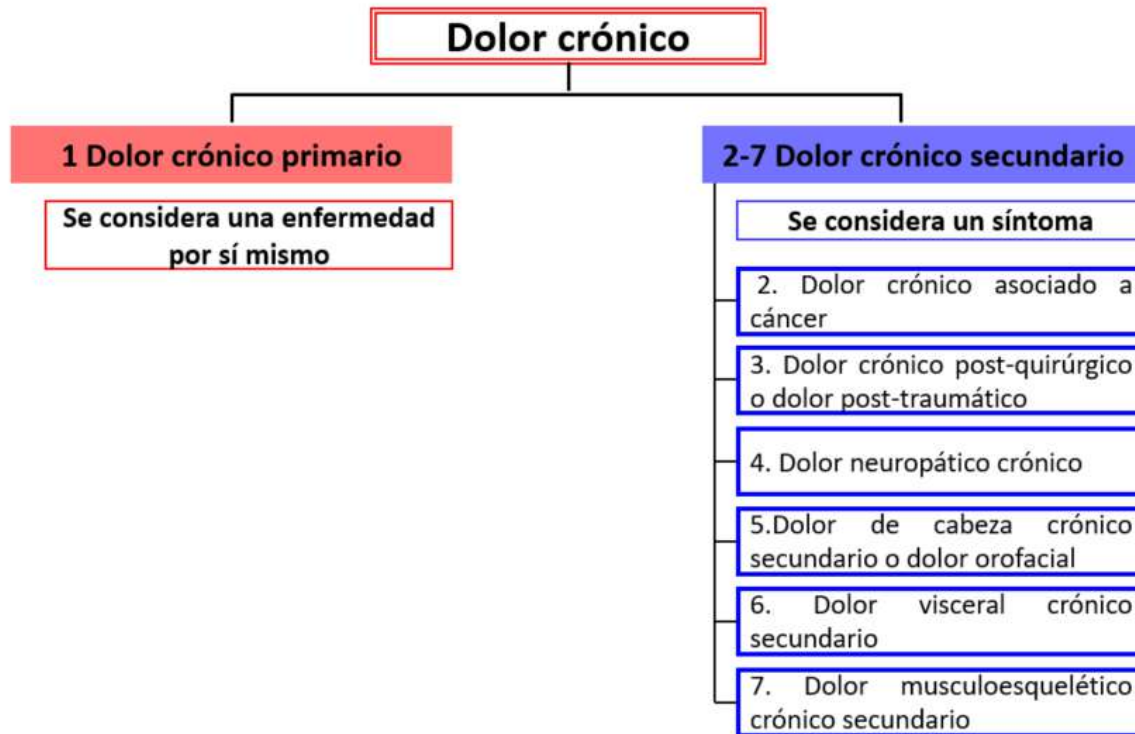


Figura 1. Clasificación del dolor crónico de acuerdo a la IASP 2019. Modificado de Treede et al., 2019 [3].

1.3.1.1 Dolor crónico primario

Se define como el dolor presente en una o más regiones anatómicas que persiste o recurre durante más de 3 meses y se acompaña por angustia emocional (ansiedad, enojo, frustración, estado de ánimo deprimido) y/o discapacidad funcional (interrupción de las actividades de la vida diaria y participación en roles sociales), y esto no puede ser mejor explicado por otras condiciones de dolor crónico. Por lo tanto, se convierte en la enfermedad por sí misma. Este tipo de dolor se localiza preferentemente en los sistemas nervioso, musculoesquelético, y aparato gastrointestinal, y en cualquier sitio del cuerpo (cara, espalda, cuello, extremidades superiores e inferiores, tórax y abdomen) [3.4]. Esto da como resultado un gran número de subtipos de dolor crónico primario (Figura 2), los cuales se subdividen a su vez en 5 tipos, que a continuación se describen brevemente:

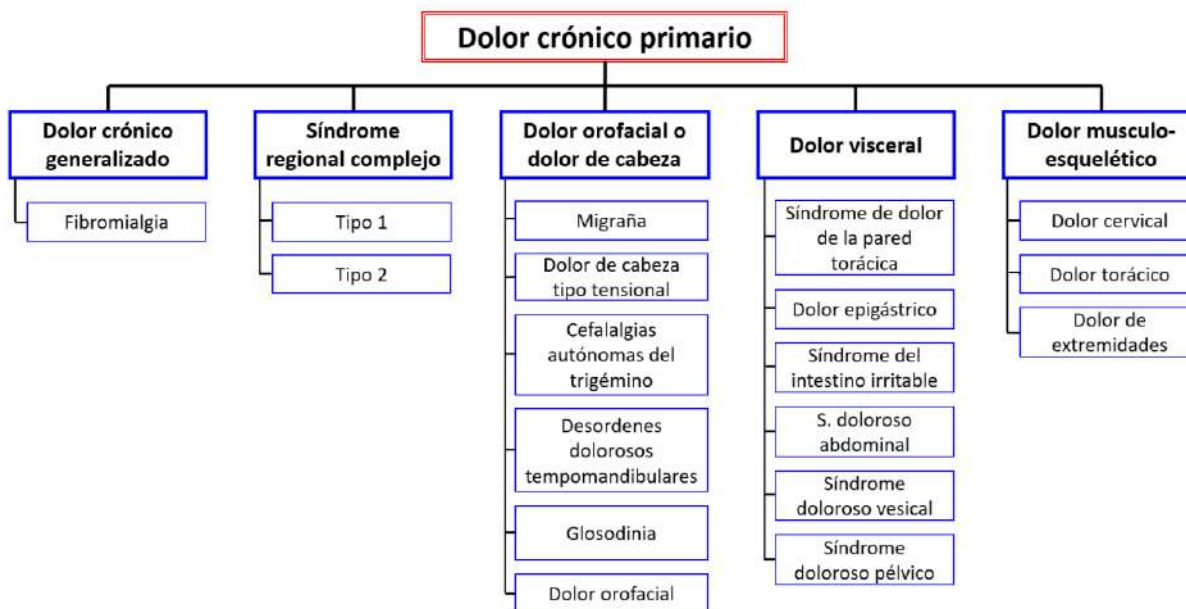


Figura 2. Clasificación del dolor crónico primario. Modificado de Nicholas et al., 2019 [4].

1. **Dolor crónico generalizado:** se define como aquel dolor musculoesquelético difuso presente en al menos 4 de 5 regiones del cuerpo (extremidades superiores e inferiores y el esqueleto axial), que perdura por más de 3 meses o más allá del periodo normal de curación, además de cumplir con todas las características del dolor crónico primario. El síndrome más representativo es la fibromialgia y se caracteriza por la presencia de dolor crónico generalizado, fatiga, trastornos del sueño, trastornos cognitivos y autonómicos [5]. Otros síntomas frecuentes incluyen dolor de cabeza, parestesias y rigidez matutina. A menudo este conjunto de signos y síntomas coexisten con enfermedades como la depresión y la ansiedad [5]. Debido a lo anterior es considerado un síndrome de naturaleza multifacética y por lo tanto se le debe prestar especial atención para brindar un adecuado diagnóstico y tratamiento.
2. **Síndrome doloroso regional complejo:** es un tipo de dolor crónico primario que se caracteriza por dolor intenso que generalmente se presenta en las extremidades ante un trauma en ausencia o presencia de lesiones nerviosas [6] y se acompaña de alteraciones sensoriales, autonómicas (cambios en el color y temperatura de la piel, edema, y crecimiento anormal de vello y uñas), motoras (disminución de la fuerza, temblores, osteoporosis focal y atrofia de músculos,

articulaciones y tendones) y tróficas. También desarrollan hiperalgesia y alodinia como resultados de estas alteraciones [7]. Existen dos subtipos, el tipo I y el tipo II. En el primero no existe evidencia de daño a los nervios periféricos, y se asocia con mecanismos nociplásticos, mientras que en el segundo presenta evidencia de daño a los nervios periféricos como consecuencia de cirugías, traumatismos o lesiones menores y a menudo se asocia como un subtipo de dolor neuropático [8].

- 3. Cefalea primaria crónica o dolor orofacial:** se define como el dolor de cabeza que se produce por al menos 15 días o más por mes, durante al menos 3 meses. La duración del dolor por día es de al menos 2 horas (sin tratamiento), o bien, pueden ocurrir varios episodios al día [9]. Dentro de estos trastornos se encuentra la migraña, que se caracteriza por dolor de cabeza marcado con episodios unilaterales recurrentes que se acompañan de dolor punzante de moderado a intenso que empeora con la actividad física, luz y el ruido [10.11]. Por otro lado, el dolor orofacial se define como aquel dolor que se percibe en la cara y/o cavidad oral, el cual se origina por enfermedades o trastornos de las estructuras regionales y disfunciones del sistema nervioso. Otros ejemplos son el dolor de cabeza tipo tensional, cefalalgias autónomas del trigémino, desordenes dolorosos temporomandibulares y por último la glosodinía [4].
- 4. Dolor visceral crónico primario:** Se define como el dolor crónico primario localizado en la cabeza o cuello, región torácica, abdominal o pélvica del aparato digestivo [4]. Este representa una de las principales categorías en medicina interna. Los principales síndromes son: el síndrome de dolor en la pared torácica, dolor epigástrico, síndrome de intestino irritable, síndrome doloroso abdominal, síndrome doloroso de vejiga y por último el síndrome doloroso pélvico (Figura 2).
- 5. Dolor crónico musculoesquelético primario crónico:** Es un dolor crónico localizado en los músculos, huesos, articulaciones o tendones que se caracteriza por la presencia de dolor espontáneo o evocado en la región afectada, acompañado de alodinia y/o hiperalgesia [4]. En esta subclasificación el principal síndrome es el dolor de espalda baja el cual se define como aquel

dolor acompañado de tensión muscular o rigidez localizada entre el borde inferior de la espalda y el pliegue inferior del glúteo con o sin dolor referido a la pierna [12].

1.3.1.2 Dolor crónico secundario

Se define como el dolor crónico relacionado con otras enfermedades como la causa subyacente, por lo que el dolor puede considerarse inicialmente como un síntoma altamente debilitante [3]. Para este tipo de dolor la base de la terapéutica es tratar la patología que causa el dolor. Sin embargo, en muchos casos el dolor puede continuar a pesar del tratamiento exitoso de la causa inicial e incluso si el diagnóstico de dicha enfermedad ya no es relevante. En tales casos el diagnóstico de dolor permanecerá. A continuación, se describe manera breve cada una de las 6 categorías que engloba el dolor crónico secundario.

- 1. Dolor crónico asociado a cáncer:** Es un dolor causado por el cáncer en sí (tumor o metástasis) o por su tratamiento (quimioterapia o radioterapia) [13]. Por lo que cada vez es más evidente la presencia de dolor en pacientes sobrevivientes de cáncer a largo plazo. El síndrome característico es la neuropatía causada por quimioterapia con agentes como los taxanos, platinos y alcaloides de vinca, entre otros [14].
- 2. Dolor postquirúrgico o postraumático crónico:** Es el dolor que se encuentra ausente antes de la cirugía o trauma y que continúa por más de tres meses posterior a la cirugía, donde se desconocen la causa aparente y el tiempo de curación varía con cada paciente [15].
- 3. Dolor neuropático crónico:** Se define como el dolor causado por una lesión o enfermedad del sistema nervioso somatosensorial [16]. Este se caracteriza por la presencia de dolor espontáneo o evocado por estímulos sensoriales (hiperalgesia o alodinia), alteraciones de la función sensorial o disestesias y parestesias [17]. A su vez tomando en cuenta el sitio donde se produce la lesión del sistema nervioso, el dolor neuropático se divide en periférico y central. Algunos de los síndromes de dolor neuropático periférico más comunes son la neuralgia del trigémino, neuralgia postherpética y la neuropatía diabética [18].

Por otro lado, los síndromes neuropáticos centrales son los asociados a lesiones en la médula espinal o cerebro, o bien, derivados de enfermedades como esclerosis múltiple, lesiones vasculares, epilepsia, tumores en el SNC, infecciones bacterianas y autoinmunes, entre otros [17].

4. **Cefalea crónica secundaria o dolor orofacial secundario:** Anteriormente se menciona la definición de cefalea y dolor orofacial. Por lo cual solo mencionaremos que la diferencia entre la cefalea o dolor orofacial primario y secundario es que este se origina a partir de una enfermedad como neuralgia del trigémino, periodontitis, entre otras [4].
5. **Dolor visceral crónico secundario:** Se define como el dolor localizado en la cabeza o cuello, región torácica, abdominal o pélvica del aparato digestivo, pero que se origina a partir de una enfermedad [19]. Las principales causas subyacentes de este tipo de dolor son los factores mecánicos (obstrucción), mecanismos vasculares (isquemia y trombosis) o inflamación persistente [20].
6. **Dolor musculoesquelético secundario crónico:** Se define como el dolor persistente o recurrente que surge como parte de una enfermedad que afecta directamente al hueso, articulaciones, músculos o tejidos blandos, dicho dolor puede ser espontáneo o inducido por el movimiento [4]. Los principales mecanismos implicados son la inflamación persistente (etiología: infecciosa, autoinmune o metabólica), un ejemplo claro es la artritis reumatoide. Otras causas son los cambios estructurales que afectan los huesos, articulaciones, tendones o músculos, por ejemplo, la osteoartritis.

1.3.2 El dolor crónico como problema de salud pública

El dolor crónico primario y secundario son condiciones que no ponen en peligro inmediato la vida del paciente. Sin embargo, el dolor crónico es la principal causa de sufrimiento y discapacidad a nivel mundial por lo que se considera un problema de salud pública. Este término engloba a un gran número de condiciones clínicas que cursan con dolor persistente y alta prevalencia que con frecuencia se asocia como una condición debilitante que conlleva a un deterioro en la calidad de vida de quien lo padece siendo la principal causa de consulta médica [21]. Esto debido a

que el paciente experimenta dolor sordo, punzante o quemante acompañado de debilidad, rigidez, disminución en la circulación seguido de inflamación e hipotrofia que dificultan el movimiento de la zona afectada. Aunado a esto los trastornos del apetito y del sueño a menudo llevan al desarrollo de ansiedad y depresión. Todos estos factores en conjunto interaccionan de manera compleja generando una condición cíclica altamente debilitante que genera discapacidad a nivel físico, psíquico, social y económico (Figura 3) [2]. Adicionalmente la mayoría de los pacientes no recibe tratamiento, o bien, el tratamiento que reciben no es adecuado. Esto contribuye al incremento en la carga emocional dando como resultado un incremento de más del doble en la tasa de suicidios en los pacientes con dolor crónico [22]. Resulta evidente que el dolor crónico también conduce a incapacidad o discapacidad, que influye de manera negativa en el área laboral, ocasionando un gran número de días laborales perdidos, lo cual afecta seriamente la economía individual y familiar.

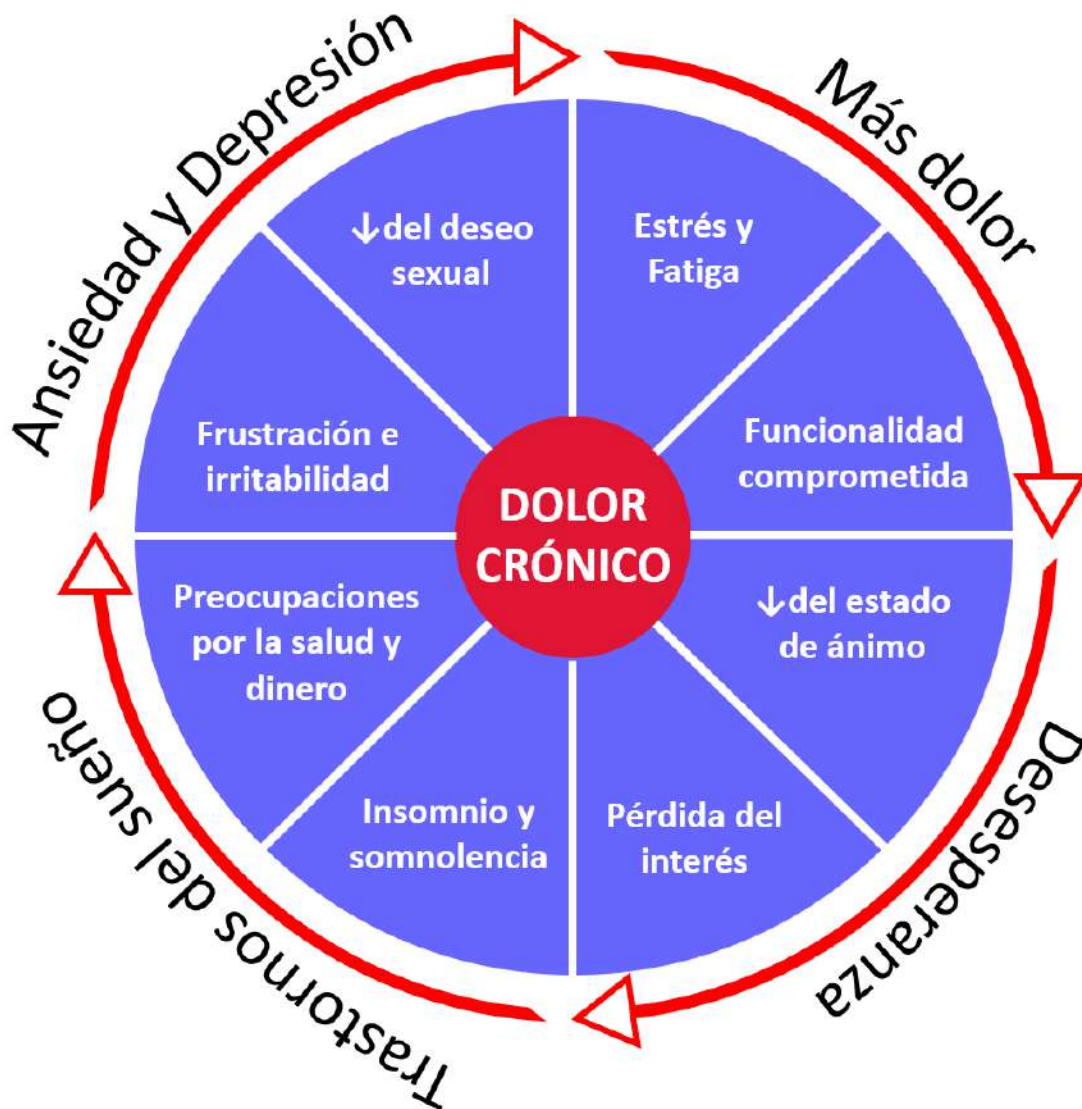


Figura 3. Ciclo del dolor crónico. Este tipo de dolor tiene una marcada repercusión negativa en la calidad de vida de los pacientes a nivel físico, psíquico y social. Lo anterior se debe a interacción compleja de diversos factores que en conjunto contribuyen a la perpetuación del dolor crónico y a la disminución de la calidad de vida del paciente. Modificado de Feizerfan et al., 2015 [2].

1.3.3 Epidemiología del dolor crónico

Actualmente el dolor crónico es considerado un problema de salud pública que implica una carga económica importante para el sector salud. Esto debido al consumo de recursos directos (visitas a especialistas, radiografías, tomografías, resonancias, fármacos y fisioterapia, etc.) y de forma indirecta a la repercusión en el número de incapacidades y bajas laborales que provoca. En este contexto, el dolor crónico afecta a 1 de cada 5 personas, siendo las mujeres las que tienen

mayor probabilidad de padecer dolor crónico [23]. A nivel mundial la prevalencia reportada es variable. Algunos estudios han reportado que se encuentra entre el 20% [24.25], pero se estima que la prevalencia es mayor en un rango del 2-55% (Tabla 1) [26]. Por otro lado, los resultados colectados en la encuesta “National Health and Wellness Survey” realizada en el 2008 a 53,5244 personas en Ucrania, Francia, España, Alemania e Italia mostró que más de 50 millones de personas viven con dolor crónico en estos 5 países [27]. Con base en esto se ha observado que la prevalencia de dolor crónico va en aumento debido a factores de riesgo como el envejecimiento, el género, el estatus socioeconómico, las comorbilidades, los antecedentes genéticos, entre otros. Por otro lado, en América Latina la prevalencia del dolor crónico se estima entre el 31 al 33% [28]. En México no existen datos precisos, sin embargo, entre 2008-2010 se estimó que la población asciende a 105 millones y de estos 28 millones de habitantes padecen dolor crónico [23.26-29]. Este se presenta en un rango de edad de 18 a 81 años, donde la mayor prevalencia esta entre los 60 a 81 años (Figura 4) [30.31]. Así mismo, existe una mayor prevalencia en mujeres con respecto a los hombres en una proporción 4 a 1, siendo aún mayor en mujeres mayores de 65 años en un 55% [31]. Los síndromes dolorosos crónicos que se presentan con mayor frecuencia en la población mexicana son: espondilitis anquilosante, artritis, fibromialgia, cefaleas, dorsalgias, enfermedades psiquiátricas, y trastornos musculoesqueléticos [31.32].

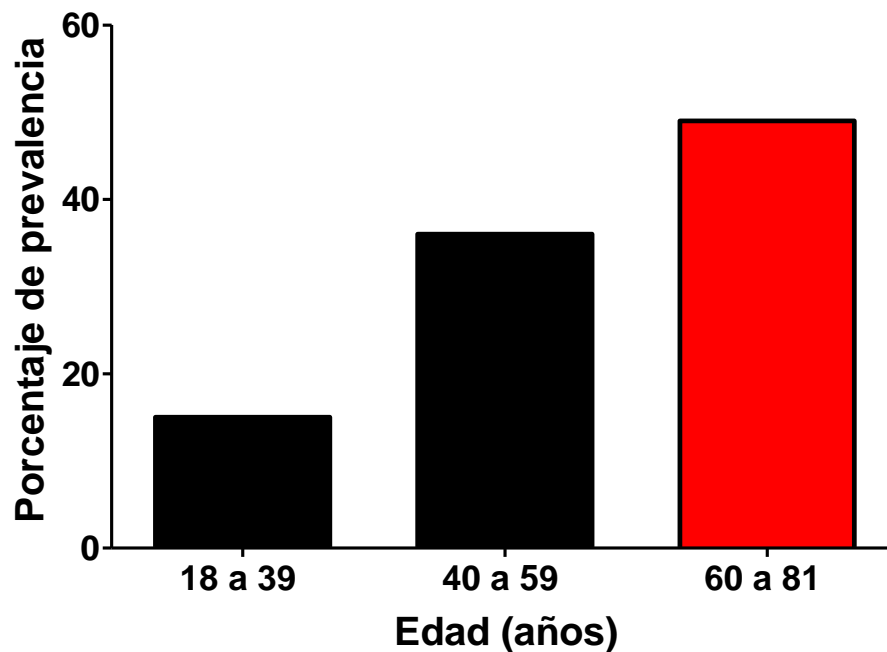


Figura 4. Prevalencia del dolor crónico en México por grupo etario. Notar que la prevalencia de dolor crónico incrementa con la edad. Modificado de Covarrubias et al., 2008 [30].

Es importante destacar que ha sido difícil determinar con exactitud la prevalencia del dolor crónico debido a las diversas etiologías y a la gran diversidad de síndromes dolorosos existentes, así como a diferencias metodológicas. A continuación, se muestran datos de prevalencia y/o incidencia de los síndromes de dolor crónico de mayor importancia clínica (Tabla 1).

Tabla 1. Epidemiología de los síndromes dolorosos crónicos más comunes.

Clasificación	Síndrome	Epidemiología
Dolor crónico generalizado (Dolor crónico primario)	Fibromialgia	<i>Prevalencia mundial:</i> Afecta del 2 al 8% siendo más prevalente en mujeres con respecto a los hombres en una proporción 7 a 1. La incidencia es de 6.9 y 11.3 casos por cada 1000 personas para hombres y mujeres respectivamente [5.33].
		<i>Prevalencia en Latinoamérica:</i> 0.68% al 4.4% teniendo una mayor prevalencia en mujeres con respecto a los hombres en una proporción 7 a 1 [34].
		<i>Prevalencia en México:</i> Afecta al 0.68% de la población con una mayor prevalencia en mujeres con respecto a los hombres en una proporción 4 a 1 [35].
Síndrome regional complejo (Dolor crónico primario)	Síndrome de dolor regional complejo tipo I	<i>Prevalencia mundial:</i> Se estima que va del 0.73 al 2% de acuerdo a estudios realizados en EU, Corea, Alemania y Europa, con una mayor prevalencia en mujeres con respecto a hombres en una proporción 4 a 1 [7.36.37]. Se estima que existen 5.4 a 26.2 casos por cada 1000 personas [38].
	Síndrome regional complejo tipo II	<i>Prevalencia mundial:</i> Se estima que va del 0.82 al 3.81% teniendo una mayor prevalencia en mujeres en un rango de edad de 40 a 60 años.
Dolor de cabeza crónico o dolor orofacial (Dolor crónico primario)	Migraña	<i>Prevalencia mundial:</i> 18% con una mayor prevalencia en mujeres con respecto a los hombres en una proporción 3 a 1, siendo mayor en mujeres de 25 a 55 años [39.40].
		<i>Prevalencia en Latinoamérica:</i> 4 al 8% con una mayor prevalencia en mujeres con respecto a hombres en una proporción 2 a 1 [41].
		<i>Prevalencia en México:</i> 3.9 al 12% con una mayor incidencia en mujeres con respecto a hombres en una proporción 3 a 1, siendo mayor en mujeres de 30 a 50 años [41].
	Dolor de cabeza crónico tensional	<i>Prevalencia mundial:</i> Afecta del 1 al 5% de la población mundial [40].
		<i>Prevalencia en México:</i> 1.7 al 2.2% apareciendo a partir de los 20 años [42].
	Dolor orofacial	<i>Prevalencia mundial:</i> 10% de la población mundial adulta lo padece con una mayor prevalencia en mujeres en una proporción 2 a 1 con respecto a los hombres [42].
<i>Prevalencia en México:</i> 2.2 al 4.3% de la población [43].		

Tabla 1 continuación

Clasificación	Síndrome	Epidemiología
Dolor musculoesquelético (Dolor crónico primario)	Dolor de espalda baja	<i>Prevalencia mundial:</i> 15 al 27% de la población mundial [44.45].
		<i>Prevalencia en Latinoamérica:</i> 1.8 al 11.33 % en población >20 años [46].
		<i>Prevalencia en México:</i> 13 al 25% de las consultas de pacientes de 20 a 59 años [32.47].
Dolor postquirúrgico (Dolor crónico secundario)	Dolor postquirúrgico crónico	<i>Prevalencia mundial:</i> Afecta del 10 al 22% de los pacientes que se someten a la cirugía como la principal causa de este tipo dolor crónico [48].
		<i>Prevalencia en México:</i> 7 al 18% de los pacientes en el IMSS [49].
Dolor neuropático crónico (Dolor crónico secundario)	Síndrome del túnel carpiano	<i>Prevalencia mundial:</i> 1 al 5.8% con una prevalencia mayor en mujeres con respecto a hombres en una proporción 1 a 10 en mujeres de 46 a 60 años [50-52].
		<i>Prevalencia en México:</i> 3.8% mujeres y 0.6% hombres. <i>Incidencia:</i> 99 casos/100,000 habitantes [53.54].
	Neuralgia postherpética	<i>Prevalencia mundial:</i> 5 al 20% de la población mundial. <i>Incidencia mundial:</i> 1.3 a 4.8 casos/1000 habitantes [55-57].
		<i>Prevalencia en Latinoamérica:</i> Afecta del 3.6 al 6.5% en población >50 años [58].
		<i>Prevalencia en México:</i> 11 al 22% (en pacientes >80 años). <i>Incidencia:</i> 2 a 3 casos /1000 habitantes (20 a 50 años). 5 casos/1000 habitantes (≥60 años), 6 a 7 casos /1000 habitantes (70 a 80 años), 1 caso/100 habitantes (>80 años) [59.60].
	Neuropatía por VIH	<i>Prevalencia mundial:</i> 21 al 60% de los pacientes infectados con VIH (36,500 en 2016) [61-64].
	Dolor del miembro fantasma	<i>Prevalencia mundial:</i> 33 al 80% de los pacientes con amputaciones [65.66].
		<i>Prevalencia en México:</i> 50 al 67% de los pacientes con amputaciones (75000 en 2013) [67.68]. Otros estudios indican que la prevalencia va del 18 al 30% por amputación [69].
Neuralgia del trigémino	<i>Prevalencia mundial:</i> 0.03 al 0.3% de la población mundial [70].	
	<i>Prevalencia en México:</i> 0.038% de la población adulta [71].	

Tabla 1 continuación

Clasificación	Síndrome	Epidemiología
Dolor neuropático crónico (Dolor crónico secundario)	Neuropatía por quimioterapia	<i>Prevalencia mundial:</i> 40% de los sobrevivientes de cáncer (28 millones de sobrevivientes) [72-74]. Pacientes en tratamiento por [74-76]: Agentes derivados del platino: 45 al 98% Alcaloides de la vinca: 57 al 98% Taxanos: 20 al 43% Agentes hormonales: 50% Agentes biológicos: 36 al 53%
	Neuropatía diabética	<i>Prevalencia mundial:</i> 40 al 50% de los diabéticos (aproximadamente 371 millones a nivel mundial) [77].
		<i>Prevalencia en Latinoamérica:</i> 25 al 48% de los pacientes diabéticos en América latina (62 millones de diabéticos en Latinoamérica) [78].
		<i>Prevalencia en México:</i> 41.2 al 60% de los diabéticos en México (6.4 millones) [79-81].
Dolor musculoesquelético (Dolor crónico secundario)	Artritis Reumatoide	<i>Prevalencia mundial:</i> Afecta del 0.5 al 1% de la población mundial siendo más prevalente en mujeres con respecto a hombres en una proporción 3 a 1 [82-85].
		<i>Prevalencia en Latinoamérica:</i> 0.49 al 0.9% de la población [86].
		<i>Prevalencia en México:</i> 1.6% de la población [87].
	Osteoartritis	<i>Prevalencia mundial:</i> 8.2 al 15.9% de la población >60 años [88.89].
		<i>Prevalencia en Latinoamérica:</i> 0.45 al 0.9% de la población [86].
		<i>Prevalencia en México:</i> 10.5 al 30 % de la población >65 años [90].

1.3.4 Mecanismos moleculares que perpetúan el dolor crónico

Los mecanismos neurobiológicos que subyacen al mantenimiento de los diversos síndromes dolorosos crónicos no han sido completamente elucidados. Sin embargo, se ha evidenciado que la transición de dolor agudo a crónico no sólo involucra un aspecto temporal sino más bien una interacción entre el sistema nervioso y el sistema inmunológico a partir de lesiones tisulares (dolor inflamatorio) o nerviosas (dolor neuropático) en la cual existe una liberación de mediadores proalgésicos que favorecen la reorganización de relevos neuronales del sistema nervioso denominada “neuroplasticidad”. La plasticidad nerviosa puede ocurrir tanto a nivel periférico como central y da paso a estados anormales de sensibilidad frente a estímulos nocivos (hiperalgesia) e inoocuos (alodinia), que inician y perduran, independientemente de si existe o no una causa aparente [21]. Dicha plasticidad refleja alteraciones a nivel de la transcripción y traducción génica que dan paso a niveles de excitabilidad anormales en las neuronas sensoriales primarias (sensibilización periférica), y un aumento de la transmisión sináptica excitatoria hacia la médula espinal, el encéfalo y el tálamo (sensibilización central) [91].

1.3.4.1 Sensibilización periférica

La sensibilización periférica se caracteriza por el aumento de la excitabilidad de los nociceptores debido a la reducción de los umbrales de activación y/o aumento en la frecuencia de despolarización nerviosa como resultado de la liberación de mediadores proinflamatorios [92]. De manera más específica la sensibilización periférica inicia ante un estímulo nocivo que activa al nociceptor, lo que resulta en la liberación de mediadores proinflamatorios y, en la activación y reclutamiento de células del sistema inmune (p. ej. células cebadas, basófilos, plaquetas, macrófagos, neutrófilos y linfocitos), en el sitio de la lesión [93]. Existe una amplia gama de mediadores inflamatorios y vasoactivos que incluyen a la sustancia P (SP), péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP), serotonina (5-HT), bradicinina, adenosina, prostaglandinas (PGs), tromboxanos (TX), interleucinas, protones y ATP [94], cuyos receptores específicos se ubican en las terminales periféricas de los nociceptores. La estimulación de esta amplia variedad de

receptores favorece la activación de una serie de vías de señalización en los nociceptores que favorecen el desarrollo de la sensibilización periférica y plasticidad a largo plazo [91]. De manera específica se producen modificaciones funcionales de las fibras que inervan el tejido dañado. Esto incluye cambios a corto plazo como la activación y/o fosforilación de canales iónicos (como los canales de Na^+ , receptor transitorio vaniloide 1 o TRPV1, canales de sodio sensibles a ácido o ASICs, receptores purinérgicos P2X_3) y la fosforilación de cinasas [91.92]. Una vez que los mediadores inflamatorios facilitan la activación de canales iónicos se pueden generar descargas ectópicas que aumentan la excitabilidad nerviosa produciendo a corto plazo dolor espontáneo (dolor en ausencia de estímulo), alodinia e hiperalgesia mecánica. A largo plazo se producen cambios a nivel de la expresión génica en las neuronas sensoriales que contribuye al mantenimiento del dolor crónico [95]. Las modificaciones mejor caracterizadas son: 1) el aumento en la expresión de canales iónicos dependientes de voltaje en el nociceptor (Na^+ y Ca^{2+}), donde el resultado es el incremento en la frecuencia de despolarización; 2) cambios fenotípicos de las fibras $\text{A}\beta$ y C no peptidérgicas que conduce a la liberación de neuropéptidos y 3) un aumento en la expresión y liberación de neuromoduladores en la membrana presináptica [91.92]. Estos mecanismos resultan en una disminución del umbral de activación del nociceptor favoreciendo la excitabilidad neuronal. Además, también se afecta el proceso de inhibición de la excitabilidad de las neuronas a nivel del SNC, particularmente en el asta dorsal de la medula espinal. Todo esto en conjunto favorece la producción de respuestas anormales frente a estímulos sensoriales periféricos (Figura 5).

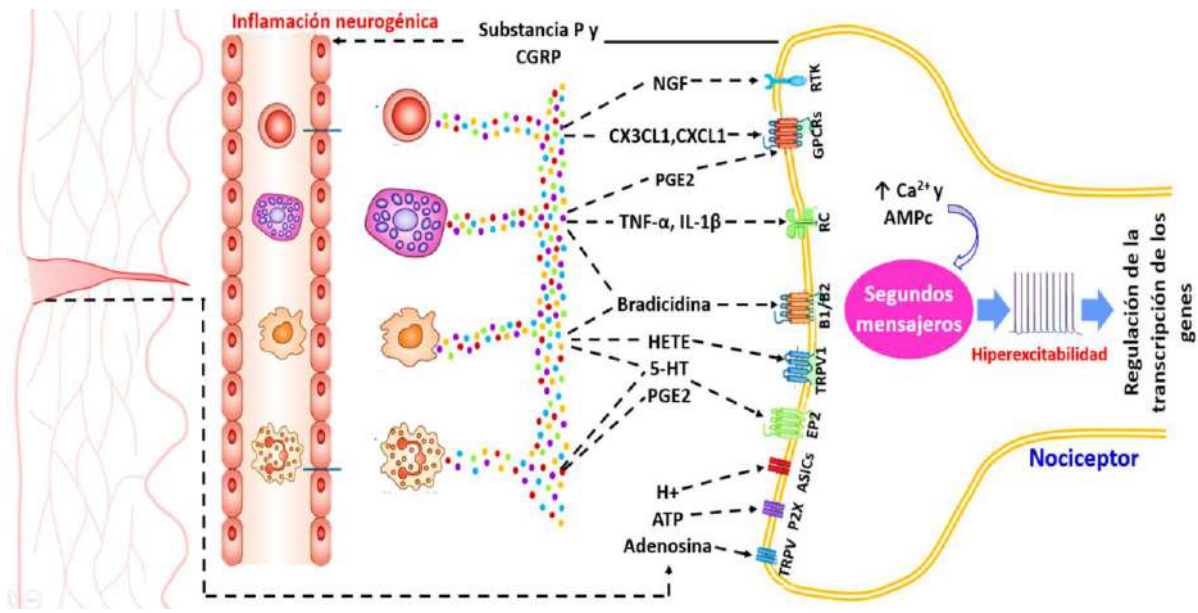


Figura 5. Sensibilización periférica. La sensibilización periférica es el aumento de excitabilidad de los nociceptores como resultado de la estimulación persistente de los receptores ubicados en la terminal periférica por sustancias proinflamatorias y proalgésicas. Esto resulta en cambios postraduccionales y postranscripcionales que modifican la funcionalidad del nociceptor. Los cambios postraduccionales incluyen la activación de cinasas que posteriormente fosforilan canales iónicos como los de sodio y los receptores TRPV₁. Esta fosforilación favorece la generación de potenciales de acción y por lo tanto la propagación de la información nociceptiva. Mientras que los cambios postranscripcionales incluyen el aumento de la expresión de canales iónicos que perpetúan la activación del nociceptor. El péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP), ácido hidroxiicosatetraenoico (HETE), receptor tirosín cinasa (RTK), factor neurotrófico derivado de la glía (NGF), receptores citosólicos (RC), receptor de prostaglandina E₂ (EP2), canales iónicos sensibles a ácido (ASICs), receptores purinérgicos (P2X), Fractalcina (CX3CL1), receptor de potencial transitorio vaniloide (TRPV), trifosfato de adenosina (ATP). Modificado de Basbaum et al., 2009 [95].

1.3.3.2 Sensibilización central

La sensibilización central se caracteriza por un incremento en la excitabilidad de las neuronas del SNC, especialmente en las neuronas de segundo orden. Estas neuronas son las encargadas de transmitir la información aferente procedente de los nociceptores hacia el encéfalo. Durante la sensibilización central, las neuronas hiperexcitables se activan con mayor facilidad y frecuencia en respuesta a la entrada de información nociceptiva de la periferia, lo que deriva en una amplificación de la transmisión de la información nociceptiva hacia centros superiores contribuyendo a la generación y permanencia de estados de dolor patológico. La sensibilización central también favorece el incremento de los campos receptivos de las neuronas nociceptivas espinales, favoreciendo así el desarrollo de hiperalgesia y alodinia.

Actualmente no se conocen con certeza los mecanismos que contribuyen en el desarrollo de sensibilización central. Sin embargo, se ha demostrado la participación de diversos fenómenos de plasticidad neuronal inducidos por la actividad aferente del sistema nervioso periférico que incluyen: el incremento de la señalización del receptor NMDA, 2) la desinhibición neuronal y 3) la activación de la microglía (Figura 6) [95]. Entre estos mecanismos el mejor caracterizado es el primero, por lo cual lo describiremos a continuación.

1.3.4.2.1 Señalización del receptor NMDA

La descarga repetida de los nociceptores aferentes primarios conduce al incremento de la colaboración de glutamato con otros neuromoduladores como la SP y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en las terminales centrales de los nociceptores generando despolarizaciones postsinápticas que permiten la remoción del bloque de magnesio que normalmente obstruye el poro del receptor el ácido N-metil-D-aspartico (NMDA) y por lo tanto la consecuente entrada de Ca^{2+} [2]. El glutamato posee afinidad por varios subtipos de receptores como los receptores ionotrópicos NMDA y AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico), y distintos subtipos de receptores metabotrópicos. El glutamato se une preferentemente a los receptores NMDA, pero en condiciones normales esta inactivado por un bloque de iones magnesio, sin embargo, los receptores AMPA de menor afinidad se activan inicialmente por la unión a glutamato lo que permite la entrada de K^+ , Na^+ y Ca^{2+} que resulta en una despolarización de las células del asta dorsal [92]. Estos a su vez promueven plasticidad funcional y el inicio de la sensibilidad central [96]. El incremento de calcio intracelular mediado por el receptor NMDA resulta en la activación de enzimas dependientes de calcio como la proteína cinasa C (PKC), la sintasa del óxido nítrico y la enzima ciclooxigenasa. Estas enzimas activan vías de señalización que resultan en la producción de óxido nítrico (ON) y PGs, así como la fosforilación del receptor NMDA. Tanto las PGs como el ON actúan a nivel presináptico y postsináptico favoreciendo así la liberación de glutamato y neuromoduladores que perpetuaran el ciclo de excitabilidad neuronal [2].

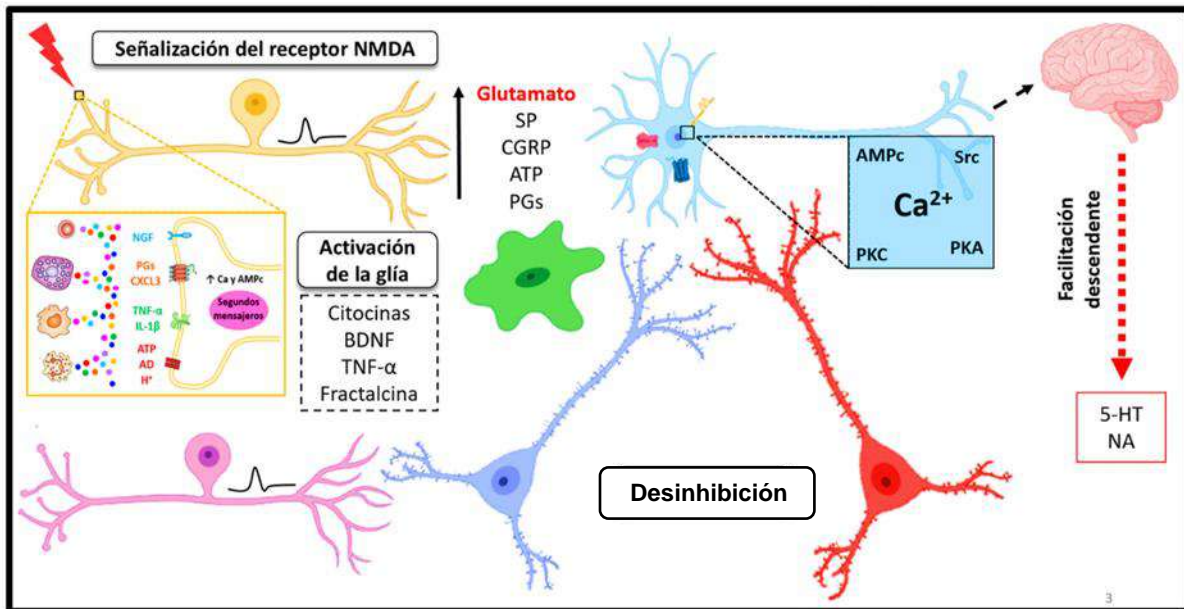


Figura 6. Sensibilización central. Los principales mecanismos que contribuyen a la sensibilización central son: 1) señalización mediada por el receptor NMDA, esta inicia con un incremento en la actividad de las fibras aferentes primarias C y A δ que resulta en la liberación de glutamato, sustancia P, CGRP y ATP en la terminal central del nociceptor. Esto activa a la neurona postsináptica a través de receptores específicos llevando a un aumento en el calcio intracelular. El calcio a su vez activa a segundos mensajeros causando un aumento en la excitabilidad de la neurona y a la facilitación de la transmisión de la información nociceptiva hacia centros superiores. 2) Desinhibición que se refiere a una disminución de la neurotransmisión inhibitoria mediada por GABA y glicina lo que resulta en hiperalgesia. Este mecanismo se acompaña de la segregación de péptidos por parte de las fibras A β que anteriormente eran no nociceptivas, pero ahora son pronociceptivas. 3) Activación de la microglía, esta se produce cuando mediadores como ATP y fractalcina difunden del espacio sináptico a las células gliales adyacentes favoreciendo así la activación de las células gliales, a través de receptores específicos como los receptores purinérgicos P2X3 que promueven la liberación del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) que se unirá a su receptor de tropomiosina cinasa B (TrkB) presente en las neuronas de segundo orden que finalmente generará un aumento de la excitabilidad. Además, la microglía activada libera una gran cantidad de citocinas, que contribuyen a la sensibilización central. Modificado de Basbaum et al., 2009 [95].

1.3.3.3 Facilitación descendente

El procesamiento y transmisión del dolor esta modulado por la vía descendente. Esta vía está constituida principalmente por la sustancia gris periacueductal (SGPA), la médula rostral ventromedial (RVM), el locus coeruleus, los núcleos del rafé, y la médula espinal. Esta tiene una función moduladora en el dolor debido a que puede inhibir o facilitar la transmisión de la información nociceptiva hacia centros superiores. En este contexto, los principales neurotransmisores implicados son los opioides endógenos, la serotonina (5-HT) y la noradrenalina (NA). En condiciones normales una vez que se produce el estímulo las vías descendentes

son activadas por medio de la liberación de péptidos opioides a nivel supraespinal para posteriormente generar la activación a nivel espinal nocivo las neuronas noradrenérgicas y serotoninérgicas las cuales inhiben de manera directa a las neuronas de primer y segundo orden, y de manera indirecta activan a las interneuronas que contienen péptidos opioides y GABA para que inhiban a las neuronas de segundo orden, generando que la información nociceptiva no se propague hacia los centros superiores. Mientras que en condiciones patológicas la vía descendente se vuelve predominantemente facilitadora, a éste fenómeno se le denomina facilitación descendente y desempeña un papel importante en el mantenimiento del dolor crónico [97]. Se ha propuesto que este comienza una vez que se produce la activación de las vías descendentes por medio de los péptidos opioides ante la presencia de un estímulo nocivo, para posteriormente activar a las neuronas noradrenérgicas y serotoninérgicas las cuales amplifican de manera directa la respuesta de las neuronas de primer y segundo orden, y de manera indirecta inhiben a las interneuronas para que no se lleve a cabo la liberación de péptidos opioides y GABA. Para generar finalmente de forma directa o indirecta que la información nociceptiva se transmita hacia centros superiores (Figura 7) [98]. Con base en esto, la 5-HT y la NA tienen un efecto dual ya que pueden inhibir o facilitar el paso de la información nociceptiva. Es importante resaltar el papel clave de los péptidos opioides debido a que modulan la entrada de la información nociceptiva a nivel supraespinal donde no solo activan las vías descendentes, sino que también inhiben por medio de GABA estas mismas vías. A su vez a nivel espinal, los péptidos opioides actúan a nivel presináptico inhibiendo la liberación de glutamato y neuropéptidos de las neuronas aferentes primarias, y a nivel post-sináptico generan un proceso de inhibición de las interneuronas. En este contexto, los receptores opioides son objetivos potenciales para nuevas intervenciones terapéuticas.

Actualmente se proponen tres mecanismos que propician el desarrollo de la facilitación descendente: 1) cambios neuroplásticos en la RVM generados por la hiperexcitabilidad neuronal [97]; 2) disminución de la neurotransmisión serotoninérgica, debido a que este neurotransmisor a concentraciones bajas facilita

la neurotransmisión glutamatergica [99] y 3) cambios en la neurotransmisión noradrenérgica [97].

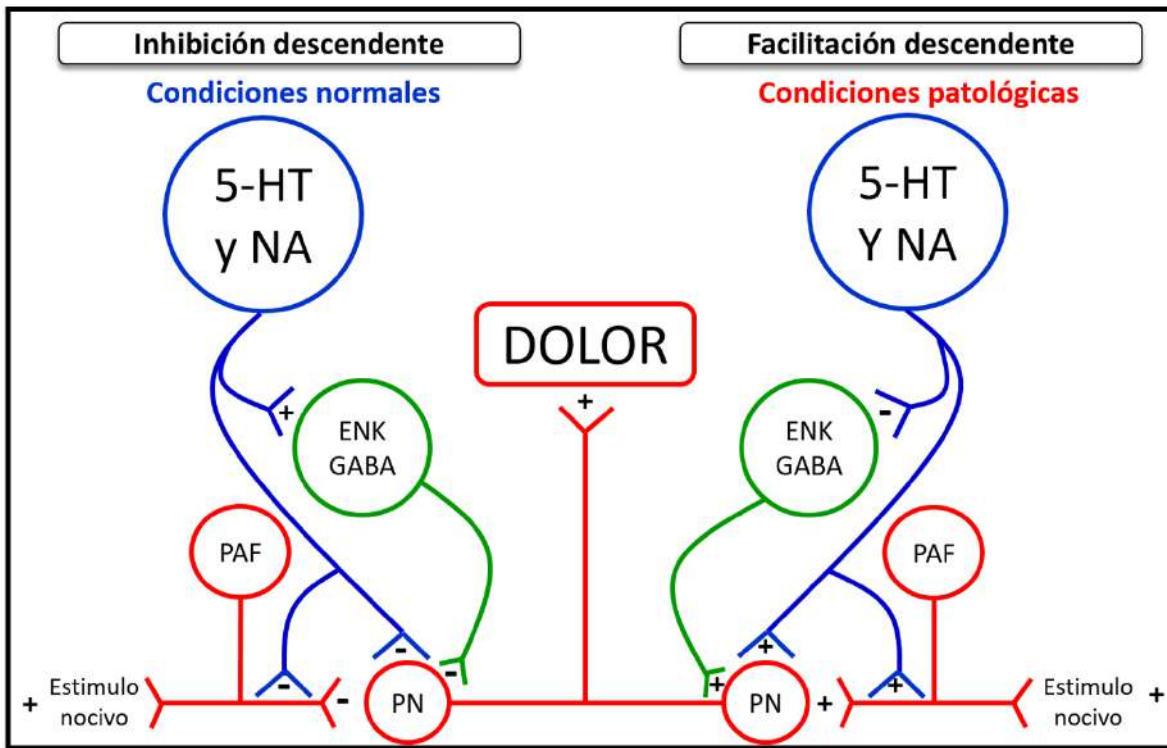


Figura 7. Facilitación descendente. Este proceso se desencadena por activación de las neuronas serotoninérgicas y noradrenérgicas que tienen un papel dual. En condiciones normales inhiben el paso de la información nociceptiva hacia centros superiores, mientras que en condiciones de dolor crónico permiten el paso de la información nociceptiva. Modificada de Rathmell et al., 2006 [98].

1.3.5 Modelos animales de dolor crónico

El dolor crónico es un problema de salud cuyos mecanismos fisiopatológicos aún no están completamente elucidados. Esto ha repercutido negativamente en el diagnóstico y en el desarrollo de terapéuticas eficaces para su tratamiento. Sin embargo, los progresos que se han hecho en este campo se deben al desarrollo de modelos animales que ayudan a comprender mejor la naturaleza multidimensional del dolor. Los modelos animales buscan reproducir las características más importantes de las patologías y actualmente se busca refinar la evaluación conductual del dolor con la finalidad de lograr una evaluación integral que permita comprender mejor el componente sensorial y emocional de cada condición [100]. En este contexto, existe una gran variedad de modelos animales de dolor en función

de la gran diversidad de síndromes dolorosos crónicos que se presentan en el humano (Figura 8).

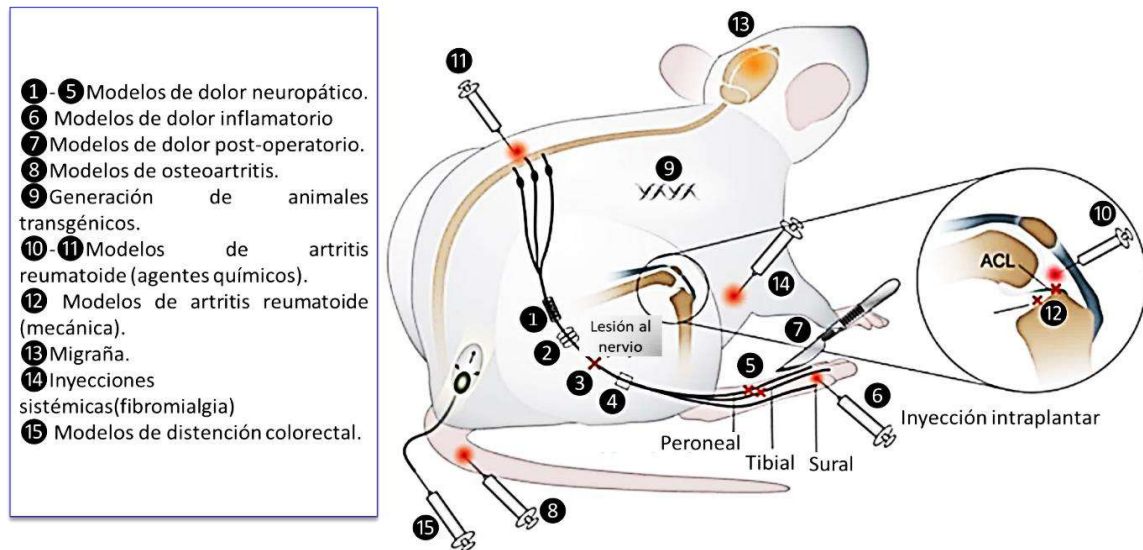


Figura 8. Modelos animales de dolor crónico. Existen diversos modelos para evaluar el dolor crónico en diversas patologías como dolor neuropático, dolor inflamatorio, dolor crónico generalizado y dolor visceral entre otros. Modificado de Burma et al., 2017 [100].

1.3.5.1 Modelos de fibromialgia

A diferencia de otros modelos preclínicos de dolor crónico la fibromialgia es difícil de imitar debido a que implica dolor generalizado acompañado de síntomas que incluyen fatiga, depresión, ansiedad y trastornos del sueño. Los modelos animales de fibromialgia se basan en generar hipersensibilidad al dolor por medio de estímulos químicos, estrés y fatiga [101]. A continuación, se explican de manera general los modelos más utilizados:

- **Fibromialgia inducida por solución salina ácida:** este modelo se induce por dos inyecciones de solución salina ácida (pH=4) separadas por 2 a 5 días de diferencia y administradas unilateralmente en el músculo gastrocnemio. Este modelo desarrolla alodinia mecánica bilateral en las extremidades inferiores que perdura por 4 semanas. Además, es reproducible, fácil de realizar e imita a la condición clínica debido a que desarrolla alodinia bilateral, alteraciones en el procesamiento nociceptivo central, daño al tejido muscular y alteraciones del equilibrio autonómico. Esto se desarrolla en dos fases: 1) alodinia mecánica

transitoria la cual se da por la primera inyección y 2) establecimiento de la alodinia mecánica, esta se presenta con la segunda inyección. En la primera fase participan los canales iónicos sensibles a ácido 3 (ASICs 3). Mientras que en la segunda participan los canales iónicos de potencial transitorio vaniloide tipo I (TRPV1), canales iónicos de sodio (Nav 1.8) resistentes a tetrodotoxina (TTXr) y en menor medida los ASICs 3 [102].

- **Fibromialgia inducida por fatiga:** este modelo consiste en hacer correr a los ratones durante 2 horas antes del insulto muscular. Posteriormente se realizan dos inyecciones intramusculares de solución salina de pH 5 o una inyección intramuscular de carragenina al 0.03% [100]. Este se caracteriza por hiperalgesia muscular y cutánea de larga duración, pero presenta ausencia de daño muscular. Este se desarrolla por un aumento en la activación de las neuronas de la medula rostral ventromedial (RVM) y el núcleo de rafé magnus mediado por la expresión de c-fos a nivel central y gonadotropina 1 (GH-1) a nivel periférico en respuesta al agotamiento muscular [100].
- **Fibromialgia inducida por estrés frío:** este modelo consiste en mantener al ratón en una habitación fría (-3 a 4°C) durante la noche por 3 días y en el día se transfiere entre una habitación a temperatura ambiente (24°C) y una habitación fría en intervalos de 30 minutos en cada condición [100]. En este la hiperalgesia dura alrededor de 3 semanas, inducida por niveles altos de corticosterona.

1.3.5.2 Modelos de dolor neuropático

El dolor neuropático es provocado por un daño al sistema nervioso periférico o central y a menudo ocurre después de un trauma o lesión. Actualmente el dolor neuropático representa un reto a nivel clínico y para esto se han desarrollado modelos animales de dolor neuropático. Estos modelos se caracterizan por presentar hiperalgesia mecánica y térmica, así como cambios conductuales espontáneos. Los modelos de dolor neuropático se generan principalmente por 1) lesión de nervios periféricos, 2) lesión al SNC y 3) neurotoxicidad inducida por fármacos [103.104]. Sin embargo cabe destacar que la mayoría de los modelos de

dolor neuropático existentes se inducen por lesión de nervios periféricos. A continuación se describen los modelos de dolor neuropático mas aceptados:

- **Axotomía parcial del nervio ciático:** este modelo consiste en la ligadura y axotomía de las ramas tibial y peroneal dejando intacto el nervio sural [105], se caracteriza por el desarrollo de alodinia mecánica la cual persiste por al menos 30 días en ratón [106]. Además, se ha detectado hipersensibilidad al frío y dolor espontáneo. Este es altamente reproducible, de larga duración y fácil de realizar lo cual permite que se asemeje más a las condiciones clínicas. Adicional a esto, permite la comparación entre las fibras en condiciones normales y las dañadas, y la participación de estas en el desarrollo de dolor neuropático.
- **Constricción crónica del nervio ciático:** este modelo consiste en hacer cuatro ligaduras alrededor del nervio ciático completo [107]. Este modelo imita las neuropatías humanas resultantes de un traumatismo en los nervios periféricos. Además, se caracteriza por el desarrollo de hiperalgesia térmica y alodinia mecánica.
- **Ligadura parcial del nervio ciático:** este modelo consiste en una ligadura que abarca de un 1/3 a un 1/2 del diámetro del nervio ciático, que se asemeja a una contusión [108]. Se caracteriza por el desarrollo de hiperalgesia térmica y alodinia mecánica que persiste hasta por 7 meses posterior a la cirugía. Sin embargo, tiene alta variabilidad debido a la porción de nervio ligada.
- **Ligadura de nervios espinales:** este modelo consiste en la ligadura de los nervios espinales L5 y L6 de manera distal al ganglio de la raíz dorsal y se caracteriza por el desarrollo de dolor espontáneo, alodinia mecánica e hiperalgesia térmica que duran hasta 4 meses [109].

1.3.6 Tratamiento del dolor crónico

Actualmente el tratamiento del dolor crónico es complejo y de baja eficacia, debido a que las terapias se basan en el uso individual de aproximaciones farmacológicas y no farmacológicas que proporcionan eficacia limitada en los pacientes con dolor crónico. Con base en esto, para lograr un mejor manejo de este tipo de dolor se requiere un abordaje multimodal que incluye la combinación de diversas terapias como el uso de fármacos, terapia física, rehabilitación y bloqueo de nervios, etc. (Figura 9). Esto con el objetivo de aumentar la eficacia y aumentar la seguridad. Sin embargo, cabe resaltar que no existe una guía establecida para el tratamiento del dolor, por lo que estos se seleccionan a prueba y error. En este contexto, la evaluación de la eficacia del dolor representa un reto en el ámbito clínico. Lo anterior debido a que el dolor es interpretado de forma diferente por cada paciente. Por lo tanto, la eficacia de los tratamientos se evalúa mediante medidas subjetivas como la manifestación verbal del paciente del alivio del dolor, la disminución en la depresión y aumento en la funcionalidad. En este sentido los objetivos del tratamiento son: 1) disminuir el sufrimiento, lo que incluye el dolor y el estrés emocional asociado; 2) incrementar y/o restablecer la función física y funcional del paciente; 3) optimizar el estado de salud, incluyendo el bienestar psicológico, y 4) mejorar las habilidades de afrontamiento (autoayuda, disminuir la dependencia de los sistemas de salud) y las relaciones interpersonales (familia y amigos). A pesar de esto las terapéuticas actuales no son tan eficaces debido a que del 100% de la población que lo padece solo el 50% no es tratado y el otro 50% que recibe tratamiento adecuado solo logra un 30 % en el alivio del dolor [110]. Este panorama resalta la necesidad de buscar nuevas alternativas enfocadas en la terapia multimodal para lograr resultados óptimos.

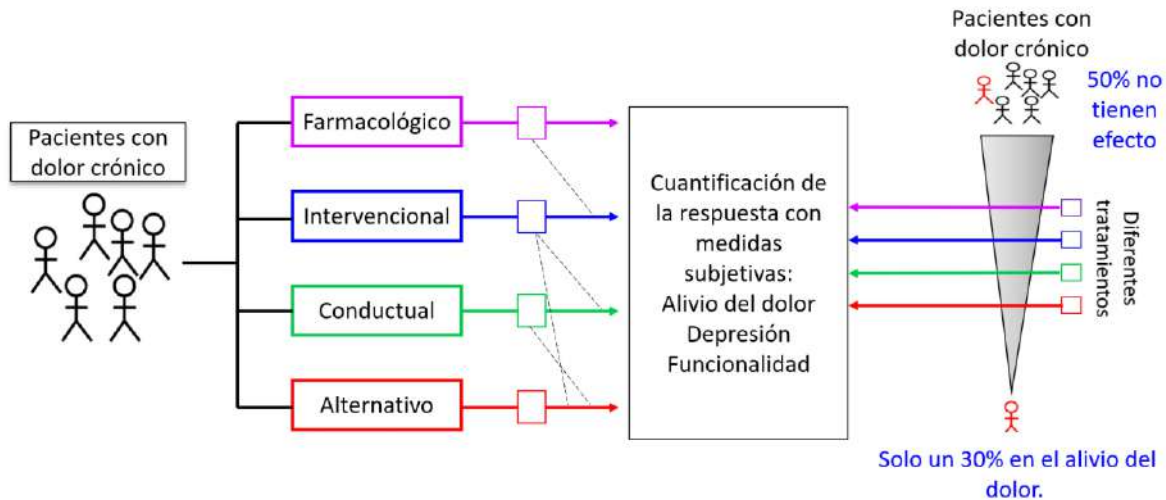


Figura 9. Tratamiento multimodal del dolor crónico. Las terapéuticas actuales en el tratamiento se seleccionan a prueba y error en busca de una mayor eficacia analgesia y una mayor seguridad con el objetivo de obtener un mejoramiento del tratamiento del dolor en los pacientes. Modificado de Borsook et al., 2013 [110].

1.3.6.1 Tratamiento farmacológico del dolor crónico

Actualmente el tratamiento farmacológico del dolor es una de las intervenciones más utilizadas. Los grupos farmacológicos que son la base para el tratamiento del dolor, de acuerdo a la escalera analgésica de la OMS, son los fármacos analgésicos no esteroideos (AINEs) y los analgésicos opioides. Sin embargo, esta guía terapéutica también sugiere el uso de fármacos coadyuvantes que incluyen los antidepresivos, anticonvulsivantes, anestésicos y los glucocorticoides. La escalera analgésica de la OMS fue diseñada para el tratamiento del dolor oncológico, sin embargo, hoy en día se utiliza para el tratamiento de cualquier tipo de dolor. Esta consta de cuatro escalones o niveles de dolor [111]. El primer escalón se refiere al tratamiento del dolor de intensidad leve para lo cual se sugiere el uso de AINEs. El segundo escalón indica que para el tratamiento del dolor de intensidad moderada se utilicen opioides débiles solos o en asociación con los fármacos del primer escalón. El tercer escalón se desarrolla para el tratamiento del dolor de intensidad severa donde se sugiere el uso de opioides solos o asociados con los fármacos del primer escalón. Finalmente, se añade un cuarto escalón con el objetivo de brindar nuevas terapéuticas que proporcionen un mejor alivio del dolor (Figura 10) [112].

Como se mencionó anteriormente, existen muchos síndromes que cursan con dolor crónico y estos cursan con dolor constante, pero de intensidad leve a moderada que tiende a incrementar con las actividades diarias, pero también persiste cuando el paciente está en reposo.



Figura 10. Escalera de la OMS para el tratamiento del dolor. En un inicio esta escalera fue utilizada para el tratamiento del dolor oncológico. Sin embargo, actualmente es una pauta para el tratamiento del dolor crónico. Modificado de OMS, 2016 [111].

Otro aspecto importante es que en algunos síndromes de dolor crónico se presentan episodios de dolor irruptivo, es decir, un episodio de dolor de corta duración con intensidad severa. Adicionalmente, se acompaña de una serie de complicaciones que disminuyen la funcionalidad y calidad de vida del paciente. Debido a esto actualmente el tratamiento de los diferentes síndromes de dolor crónico incluye una gran variedad de grupos farmacológicos, además de los analgésicos convencionales. A continuación, se muestran los principales fármacos utilizados en el tratamiento de síndromes de dolor crónico de relevancia clínica [84.110.113.114] (Tabla 2).

Tabla 2. Manejo farmacológico del dolor crónico. Modificado de Kahlenberg et al., 2011 [84]; Borsook et al., 2013 [110]; Macfarlane et al., 2017 [113] y Fornasari et al., 2017 [114].

Tipo de dolor	AINEs	Opioides	Analgésicos, adyuvantes y fármacos específicos	Comentarios
Artritis Reumatoide	Paracetamol AINEs preferentemente selectivos por COX-2: Diclofenaco Meloxicam	Opioides débiles: Tramadol Dihidrocodeína	Glucocorticoides: Metilprednisolona DMARDs biológicos: Metotrexato, Ciclosporina DMARDs biológicos: Infliximab, Adalimumab	Los glucocorticoides se utilizan por periodos cortos debido a sus efectos adversos. Los DMARDs frecuentemente se utilizan en combinación con Metotrexato. Los opioides se utilizan en etapas avanzadas en pacientes seleccionados.
Dolor Neuropático	Paracetamol, Diclofenaco	Opioides débiles: Tramadol Dihidrocodeína Opioides fuertes: Morfina Combinaciones de Tramadol con: Paracetamol o Diclofenaco	TCAs: Nortriptilina, Amitriptilina, Imipramina. IRSN: Duloxetina y Venlafaxina Antiepilépticos: Gabapentina, Pregabalina y Carbamazepina	La base del tratamiento son los antidepresivos y los antiepilépticos. Los AINEs solos no se recomiendan porque tienen eficacia limitada. Los opioides solo se prescriben en pacientes seleccionados.
Fibromialgia	Paracetamol AINEs selectivos por COX-2: Diclofenaco Meloxicam	Opioides débiles: Tramadol y Dihidrocodeína Combinaciones de tramadol con: Paracetamol o Diclofenaco.	TCAs: Amitriptilina. ISRSN: Duloxetina, Milnacipram Antiepilépticos: Pregabalina y Gabapentina Oxibato de sodio	Los fármacos aprobados por la FDA son Amitriptilina, Duloxetina y Pregabalina. El Oxibato de sodio ayuda a mejorar los trastornos del sueño. Los opioides se utilizan en combinación o por periodos cortos.

TCAs: Antidepresivos Tricíclicos, **IRSN:** Inhibidores de la Recaptura de Serotonina y Noradrenalina, **AINEs:** Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroideos, **DMARDs:** Fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad.

1.3.6.1.1 AINEs

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son un grupo de fármacos que consta de más de cincuenta fármacos que poseen estructuras químicas muy diferentes entre sí, que poseen efecto antiinflamatorio, analgésico y antipirético (Tabla 3) [115].

Tabla 3. Clasificación de los AINEs de acuerdo a su estructura química. Modificado de Goodman et al., 1996 [115].

Características ácido-base	Grupo farmacológico		Fármaco prototipo
Ácidos	Salicílico		Ácido acetilsalicílico
	Enólicos	Pirazolonas	Metamizol
		Pirazolidindionas	Fenilbutazona
		Oxicams	Meloxicam
	Acético	Indolacético	Indometacina
		Pirrolacético	Ketorolaco
		Fenilacético	Diclofenaco
		Piranoindoloacético	Etodolaco
	Propiónico		Naproxeno
	Antranílico		Ácido mefenámico
	Nicotínico		Clonixina
No ácidos	Sulfoanilidas		Nimesulida
	Alcalonas		Nabumetona
	Paraaminofenoles		Paracetamol

Actualmente los AINEs son uno de los grupos más prescritos, debido a que se pueden adquirir sin receta médica y son los principales fármacos utilizados para el tratamiento sintomático de una gran diversidad de patologías que cursan con dolor e inflamación. Ejemplo de lo anterior son artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis anquilosante, gota, dolor de cabeza, dismenorrea, etc. [116].

a) Mecanismo de acción

El principal mecanismo de acción de los AINEs y el más conocido es la inhibición reversible (excepto de la aspirina), de las isoformas 1 y 2 de la ciclooxigenasa (COX). Los AINEs bloquean el sitio de unión de la COX con el ácido araquidónico (AA), lo que evita la conversión de este en PGs y TXs. Aunque todos los AINEs inhiben la actividad enzimática de COX, varían entre sí en la eficacia de los efectos analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos. Esto se debe a la selectividad que

poseen para inhibir a COX-1 y COX-2 y a la expresión tisular diferencial de dichas isoformas [117]. Por lo tanto, tomando en cuenta la selectividad para inhibir a la COX los AINEs se clasifican en preferentemente selectivos por COX-1, no selectivos y preferentemente selectivos por COX-2 (Tabla 4) [118].

Tabla 4. Clasificación de los AINEs por su selectividad de COX. Modificado de Brunton et al., 2018 [118].

Preferentemente selectivo por COX-1	No selectivo	Preferentemente selectivo por COX-2
Ketorolaco	Piroxicam	Meloxicam
Flurbiprofeno	Ibuprofeno	Diclofenaco
Ketoprofeno	Paracetamol	Celecoxib
Indometacina	Salicilato de sodio	Valdecoxib
Ácido acetilsalicílico	Diflunisal	Etodolaco
Fenoprofeno		Rofecoxib
Sulindaco		Etoricoxib
Naproxeno		Lumiracoxib

El efecto analgésico de los AINEs se atribuye principalmente a la inhibición de la síntesis de PGs a nivel periférico. Sin embargo, actualmente existe evidencia de mecanismos adicionales para la generación de analgesia. A continuación, se describen los más importantes.

- **Inhibición de la síntesis de PGs a nivel espinal:** la médula espinal es uno de los sitios donde los AINEs ejercen sus efectos analgésicos. Con base en esto se ha demostrado que COX-2 se expresa de forma constitutiva en la médula espinal pero también puede ser inducible. Por lo tanto, la expresión de COX-2 incrementa en respuesta a la inflamación aguda y crónica o a la lesión de la médula espinal, este incremento en la expresión de COX-2 favorece el incremento en la liberación de prostaglandina E₂ (PGE₂) que correlaciona con un incremento en la nocicepción [119]. Una vez que PGE₂ y la prostaglandina I₂ (PGI₂) son liberadas se unen a receptores acoplados a proteínas G, localizados en neuronas espinales y neuronas aferentes primarias. Estos receptores a su vez activan la vía de adenosín monofosfato cíclico (AMPc) y proteína cinasa A (PKA), aumentando así las corrientes de calcio y a su vez inhibiendo a los canales de potasio dependientes de voltaje [119]. El aumento en la entrada de

calcio a su vez aumenta la velocidad de disparo e induce la liberación de neurotransmisores excitadores como SP, glutamato y CGRP que a su vez sigue estimulando la liberación de PGs. Es en este proceso donde actúan los AINEs inhibiendo la liberación de PGs a nivel espinal lo que contribuye a disminuir la excitabilidad neuronal y por ende favorecer la analgesia. Sin embargo, es importante mencionar que la capacidad de los AINEs para inhibir la producción de PGs a nivel central depende de su capacidad para alcanzar el sitio de acción en el SNC [120].

- **Inhibición de la acción de los canales ASICs:** los AINEs pueden contrarrestar el dolor a través de otras dianas terapéuticas como los canales iónicos sensibles a ácido (ASICs) [121]. Lo anterior debido a que estos canales son sensibles a las concentraciones de protones presentes en el medio extracelular. Por lo tanto, cuando se produce una disminución del pH extracelular los ASICs se activan y permiten la entrada de sodio al interior de la neurona favoreciendo así la inducción de cambios postranscripcionales y postraduccionales que favorecen la excitabilidad neuronal y el posterior desarrollo de hipersensibilidad al dolor [122.123]. En este contexto, está documentado que existe acidosis tisular en enfermedades que cursan con dolor crónico. Las evidencias indican que los AINEs participan en la regulación del dolor a través de los ASICs mediante diferentes mecanismos como: 1) la disminución del dolor cutáneo producido por una disminución del pH intracelular en ausencia de inflamación, 2) inhibición de la activación de ASICs a dosis terapéuticas en neuronas sensoriales, y 3) disminución de la expresión de ASICs inducida por inflamación [121.123]. Hasta el momento el mecanismo de como los AINEs interaccionan con los ASICs no está bien elucidado [123]. Sin embargo, se sugiere que los AINEs preferentemente selectivos por COX-2 inhiben directamente las corrientes de ASICs a nivel periférico [122].

b) Efectos adversos

La elección de AINEs para el tratamiento del dolor depende de la vía de administración, el costo y la frecuencia de efectos adversos. Estos fármacos son

relativamente seguros cuando se usan de forma adecuada por periodos cortos de tiempo. Sin embargo, cuando se usan de manera crónica se presentan una serie de efectos adversos como la toxicidad gastrointestinal, eventos trombóticos, infarto al miocardio, accidente cerebrovascular, daño renal y retención de líquidos (Tabla 5) [124]. A continuación, se describen los efectos adversos más importantes de los AINEs.

- **Gastrointestinales**

Los efectos adversos más frecuente en estos fármacos son a nivel gastrointestinal (GI). Estos abarcan desde náusea, dispepsia, dolor abdominal y diarrea hasta complicaciones más serias como úlceras, sangrado y perforaciones. Las úlceras gástricas o intestinales tienen una frecuencia de un 12 a un 40% y abarcan desde erosiones superficiales hasta perforaciones en la mucosa [125]. Estas pueden ser únicas o múltiples y suelen acompañarse de pérdida gradual de sangre que puede terminar en anemia o hemorragias [125.126]. Los efectos adversos GI se producen como consecuencia de la inhibición de COX-1 que es constitutiva en el tracto gastrointestinal. En estos tejidos COX-1 participa en la síntesis de prostaglandinas implicadas en la protección de la mucosa intestinal y en la regulación de la función plaquetaria, por lo que en ausencia de estas se producen dichos efectos adversos [127].

- **Cardiovasculares**

Los AINEs preferentemente selectivos por COX-2 presentan más efectos adversos a nivel cardiovascular en comparación con los AINEs tradicionales [128]. Entre los efectos adversos cardiovasculares más frecuentes se encuentra el infarto al miocardio, accidente cerebrovascular y tromboembolismo venoso. Estos se desarrollan cuando existe un desequilibrio en el balance entre COX-1 y COX-2. Lo anterior debido a que COX-1 está implicada en la producción de PGs responsables de la formación de tromboxanos los cuales promueven la agregación plaquetaria, la vasoconstricción y la proliferación celular del músculo liso vascular. Por otro lado, la COX-2 produce prostaglandinas responsables de producir vasodilatación en el endotelio vascular como la PGI₂ que genera un efecto inhibitor sobre la agregación

plaquetaria, la vasoconstricción y la proliferación del músculo liso vascular. Con base en esto, los AINEs preferentemente selectivos por COX-2 inhiben la producción de PGI₂ derivada del endotelio, por lo que el balance está a favor del tromboxano A₂ (TXA₂) favoreciendo la agregación plaquetaria y vasoconstricción que deriva en un aumento del riesgo de aparición de los efectos adversos la cual del 3 al 6% [129.130].

- **Efectos adversos de los AINEs en el sistema renal**

Los AINEs inducen poco efecto en la función renal o en la presión arterial en personas sanas. Sin embargo, en personas con insuficiencia renal, cirrosis hepática, nefropatías crónicas, hipovolemia y otras patologías si existe una repercusión importante [131]. Los efectos adversos más frecuentes son la disminución en la función renal con una prevalencia del 2 al 7 % y la retención de sodio con una prevalencia del 3 al 5% [132]. Esto debido a que los AINEs propician la pérdida excesiva del ion cloruro y la acción de la hormona antidiurética, favoreciendo así la retención de sodio y agua lo que conlleva al aumento en la presión arterial y problemas nefrovasculares [133].

Tabla 5. Perfil de efectos adversos de los AINEs por sistemas. Modificado de Brunton et al., 2018 [118].

Aparato o Sistema	Manifestaciones
Tracto Gastrointestinal (los efectos adversos disminuyen en número con fármacos que muestran selectividad por COX-2)	Dolor abdominal
	Náusea
	Anorexia
	Erosiones o úlceras gástricas
	Anemia
	Hemorragia en el tracto GI
	Perforación
	Diarrea
Renal	Retención de agua y sodio
	Edema, disminución de la función renal en sujetos con nefropatía, cardiopatía o cirrosis.
	Disminución de la eficacia de los antihipertensivos.
	Disminución de la excreción de ácido úrico.
	Hiperpotasemia
Sistema Nervioso Central	Cefalalgia
	Vértigo
	Mareos
	Confusión
	Depresión
	Disminución del nivel umbral de convulsiones
Plaquetas (los efectos adversos disminuyen en número con fármacos que muestran selectividad por COX-2)	Inhibición de la activación de plaquetas
	Propensión a la aparición de hematomas
	Mayor riesgo de hemorragia
Útero	Prolongación de gestación
	Inhibición del parto
Hipersensibilidad	Rinitis vasomotora
	Angioedema
	Asma
	Urticaria
	Hiperemia
	Hipotensión
	Choque anafiláctico
Vasos	Cierre del conducto arterioso

1.3.6.1.1.1 Meloxicam

El meloxicam es un AINE del grupo de los oxicams cuyo nombre químico es 4-hidroxi-2-metil-N-(5-metil-2-tiazolil)-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida-1,1-dióxido (Figura 11) [134]. Este fármaco muestra una alta selectividad por COX-2 (80%) comparado con la COX-1 (20%) a las dosis terapéuticas que son 7.5 y 15 mg/Kg [135.136].

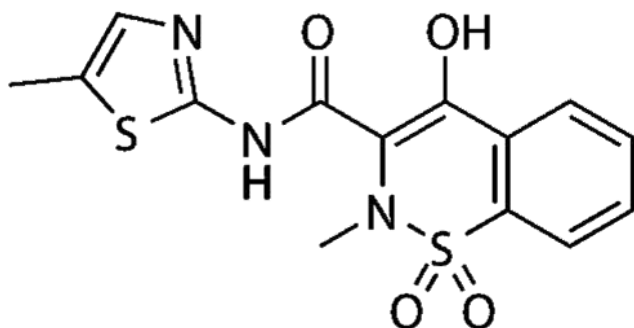


Figura 11. Estructura química del meloxicam. El meloxicam es un fármaco derivado de la benzotiazinacarboxamida, que proviene del ácido enólico. Tiene un peso molecular de 351.41 g/mol y presenta baja solubilidad en agua. Modificado de Sahoo et al., 2014 [134].

A nivel clínico, el meloxicam se encuentra entre los AINEs más prescritos para aliviar los signos y síntomas de la osteoartritis, artritis reumatoide, periartrosis de hombro y cadera, distensiones musculares y ataques de gota [135]. También es útil en el tratamiento de la inflamación y dolor que se presentan después de un traumatismo, inflamación de tejidos blandos, trastornos ginecológicos y dismenorrea primaria [136]. Con base en esto, el meloxicam se utiliza en el tratamiento de diversos padecimientos. Esto debido a que presenta un buen perfil analgésico y antiinflamatorio. Este efecto está dado por la inhibición selectiva de COX-2 a nivel periférico y central, lo que deriva en la inhibición de la síntesis de PGE₂ y la prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) que poseen importantes efectos antiinflamatorios y proalgésicos. En este contexto, se ha visto que COX-2 se expresa en mayor medida en el SNC en comparación con la isoforma COX-1 [119]. Por lo tanto, si el meloxicam alcanza niveles suficientes a nivel central inhibe la producción de COX-2 generando así sus efectos analgésicos. En un estudio preclínico previo

de dolor neuropático inducido por el modelo de ligadura de nervios espinal se observó que alcanza concentraciones suficientes en la médula espinal para inhibir la producción de PGs [137]. Otra característica importante del perfil farmacológico de meloxicam es que presenta una menor frecuencia de efectos adversos a dosis terapéuticas (7.5 a 30 mg/Kg) en comparación con los AINEs no selectivos [135.138.139]. Por lo tanto, el meloxicam posee un índice terapéutico elevado en comparación con AINEs como Paracetamol y Diclofenaco, cuando se administra de forma aguda. Sin embargo, tras su uso crónico se ha observado un incremento en el riesgo de efectos adversos severos a nivel cardiovascular y gastrointestinal (Tabla 5) [140.141]. En relación a esto, en el 2015 la FDA advirtió sobre un aumento del riesgo de eventos trombóticos cardiovasculares como infarto agudo al miocardio y accidente cerebrovascular posterior al uso de AINEs preferentemente selectivos por COX-2 [142]. Por otro lado, meloxicam presenta características farmacocinéticas que le confieren ventajas en comparación con otros AINEs. Las principales características son: 1) absorción por vía oral y alta biodisponibilidad (89%). Se absorbe lentamente y alcanza la concentración plasmática máxima 4-5 horas después de la administración 2) tiene un tiempo de vida media de eliminación largo de 20 a 24 horas en humanos, lo cual permite una sola administración por día y en consecuencia un mejor apego al tratamiento, 3) presenta una amplia distribución detectándose concentraciones cercanas al 50% en plasma y líquido sinovial, 4) se biotransforma en el hígado produciendo 4 metabolitos inactivos, 5) el meloxicam y sus metabolitos se unen en un 99% a proteínas plasmáticas, y 6) los metabolitos inactivos se excretan por vía renal (50%) y por heces (50%) [143.144].

1.3.6.1.2 Opioides

Los opioides son un grupo de fármacos ampliamente utilizados para el tratamiento del dolor y trastornos relacionados desde hace cientos de años. La morfina es el fármaco prototipo del grupo. Actualmente son uno de los grupos de analgésicos más utilizados en la clínica [145]. Se denominan opioides por que originalmente se identificaron del opio que se extrae de la amapola (*Papaver somniferum*). Con base en su origen se clasifican en naturales y sintéticos. Los opioides naturales incluyen

a las benzoquinolonas y fenantrenos como Papaverina y Codeína, respectivamente. Mientras que los opioides sintéticos incluyen fármacos como Fentanilo y tramadol. Estos fármacos también se clasifican de acuerdo a su potencia analgésica en opioides fuertes y débiles; y con base a la forma en la que interactúan con los receptores opioides (actividad intrínseca), en agonistas puros, agonistas parciales, agonistas-antagonistas y antagonistas (Figura 12) [146].

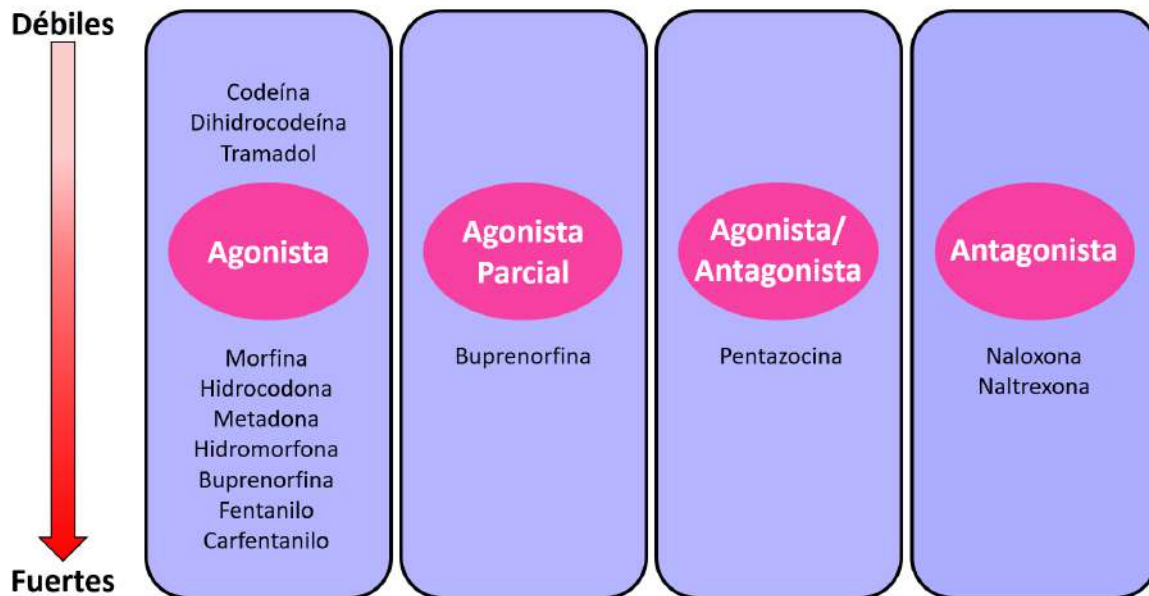


Figura 12. Clasificación de opioides por su actividad intrínseca y por su potencia. Modificada de Williams et al., 2008 [146].

Los opioides se consideran los analgésicos más potentes que existen, por lo que se sugiere su uso en condiciones en las que el dolor va de moderado a severo como en el dolor oncológico en donde el tratamiento es de corta duración [147]. Con base en lo anterior, el uso de opioides en el tratamiento del dolor crónico se recomienda solo en pacientes seleccionados, por lo tanto, no son considerados la primera línea de tratamiento debido a sus múltiples efectos adversos. Sin embargo, para un tratamiento de larga duración de una condición crónica se recomienda el uso de opioides débiles como el tramadol. Es por esto que los opioides débiles son la segunda línea de tratamiento de padecimiento que cursan con dolor crónico como el dolor neuropático, artritis reumatoide y fibromialgia [147.148].

a) Mecanismo de acción

Los opioides producen analgesia al interactuar con los receptores opioides μ , κ , δ y NOP. Todos estos receptores están acoplados a proteínas G inhibitorias, por lo que los efectos de los opioides son principalmente inhibitorios [145]. El resultado global de la activación de opioides es el cierre de los canales de Ca^{2+} tipo L dependientes de voltaje y la apertura de canales K^+ [118]. Esto resulta en la hiperpolarización de la neurona y por ende una reducción de la excitabilidad neuronal. Los opioides también inhiben la acción de la enzima adenilato ciclasa, que convierte el adenosín trifosfato en AMPc, reduciendo así la concentración de AMPc y bloqueando la liberación de neurotransmisores excitatorios de la vía ascendente como la sustancia P, glutamato y CGRP. La disminución de AMPc resulta en una disminución de la activación de PKA que a su vez lleva a una alteración en la expresión de genes tempranos como c-fos que es un marcador de actividad neuronal, que se asocia a menudo con el proceso de nocicepción [149]. Es importante destacar que los receptores opioides tienen una amplia distribución en el SNC (SGPA, RVM, tálamo, mesencéfalo, ínsula, núcleo accumbens y la corteza cerebral) y en menor proporción en el aparato gastrointestinal, sistema cardiovascular y el sistema nervioso periférico (Figura 13) [150].

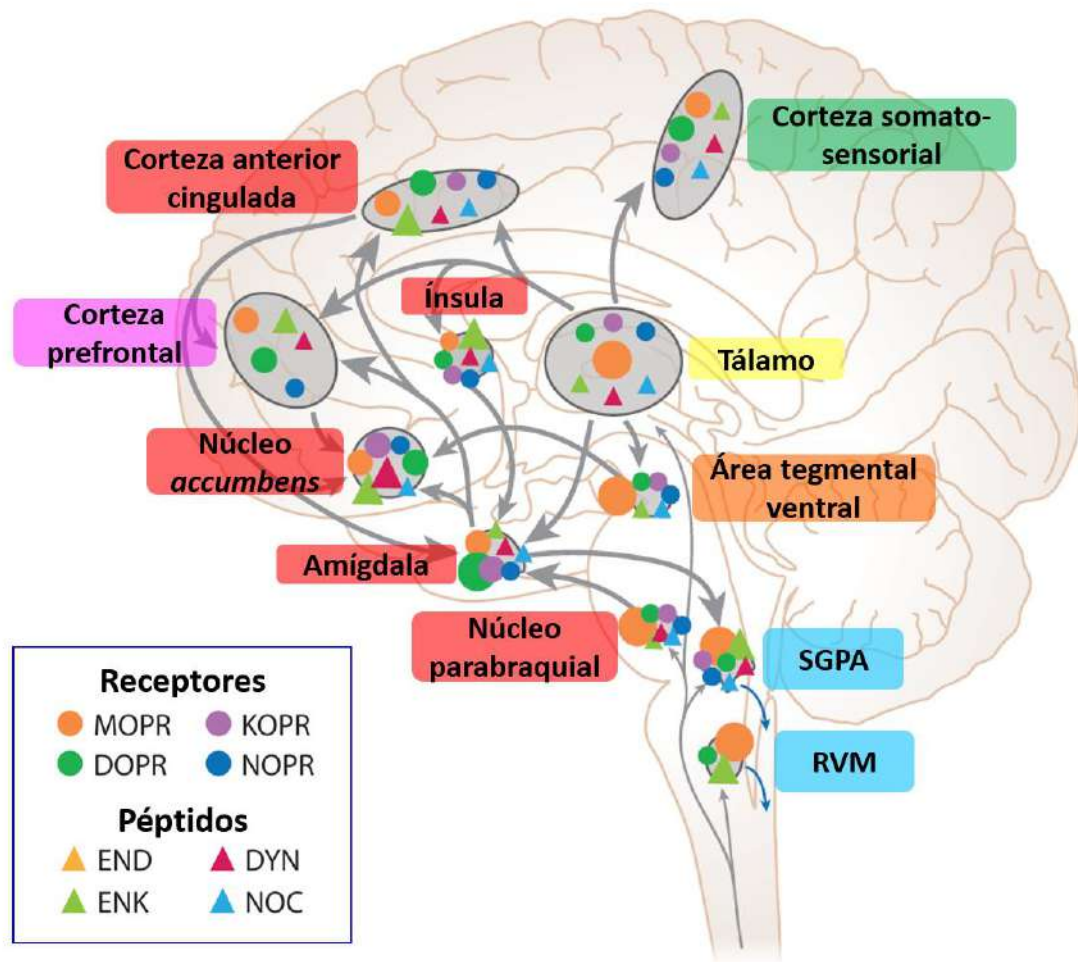


Figura 13. Localización de los receptores opioides en el SNC. Modificado de Corder et al., 2018 [150].

Con base en lo anterior los opioides tienen un papel modulador selectivo de la información que es enviada al SNC. Lo anterior a través de su acción en la sustancia gris periacueductual (SGPA) y la médula rostral ventromedial donde inhiben a las neuronas gabaérgicas que bloquean la vía descendente inhibitoria del dolor la cual es principalmente serotoninérgica y noradrenérgica, generando la inhibición del paso de la información nociceptiva hacia centros superiores. También producen inhibición directa en neuronas descendentes facilitadoras de la vía nociceptiva [151]. Además, a nivel periférico interfieren con la acción de las prostaglandinas en sitios periféricos, inhibiendo particularmente la hiperalgesia inducida por PGE₂.

b) Efectos adversos

Dada la amplia distribución de los opioides en el SNC, estos tienen una gran variedad de efectos farmacológicos y por lo tanto un complejo perfil de efectos adversos que se describen en la Tabla 6 [145].

Tabla 6. Principales efectos de los opioides sobre órganos y sistemas. Modificado de Al Hasani, et al., 2011 [145].

Sistemas u órganos	Efecto	Sistemas u órganos	Efecto
SNC	↑ Analgesia	Gastrointestinal	Estreñimiento
	↑ Euforia		↓ Motilidad gástrica
	↑ Sedación		Reflujo esofágico
	↓ Frecuencia respiratoria		Peristaltismo del colon
	↓ Reflejo de la tos		Constricción del músculo liso biliar
	↑ Miosis		↓ Digestión en el intestino delgado
	↑ Rigidez troncal		
	↑ Náuseas y vómitos		
Sistema inmunológico	↓ Formación de rosetas por linfocitos	Músculo liso	Depresión de la función renal
	↓ Actividad citotóxica de las células naturales asesinas.		↓ Tono uterino
			Retención urinaria
Piel	↑ Comezón y sudoración	Sistema cardiovascular	Depresión de la función renal
	↑ Enrojecimiento de cara, cuello y tórax.		↓ Presión arterial y ritmo cardíaco

El uso de opioides a corto o largo plazo se asocia con múltiples efectos adversos. La prevalencia de los efectos adversos más comunes son sedación 20 al 70%, tolerancia del 30 al 42%, dependencia 35%, sequedad bucal 32%, estreñimiento del 20 al 41%, sudoración 34%, aumento de peso 29%, somnolencia del 14 al 29%, problemas del sueño 25%, déficit de memoria 24%, pérdida de apetito 21%, náuseas del 17 al 33%, fatiga 19%, mareos del 12 al 22%, vómitos del 1 al 12% , prurito 10% y retención urinaria 6% [152]. Ahora bien, es importante mencionar que la toxicidad sistémica es baja. En el entorno clínico del control del dolor, la adicción y la abstinencia no plantean problemas importantes. Pero los efectos adversos más graves están relacionados con su capacidad de producir depresión respiratoria, tolerancia y dependencia [118].

1.3.6.1.2.1 Tramadol

El tramadol pertenece al grupo de opioides débiles que generalmente se recomienda para el tratamiento del dolor moderado a severo. Es un analgésico opioide de origen sintético que actúa como agonista de los receptores opioides debido a que tiene la capacidad de inhibir la recaptura de noradrenalina y serotonina modulando así la función de las vías descendentes del dolor [153], por lo que se le considera un opioide atípico (Figura 14). Con base en lo anterior, el tramadol tiene una alta eficacia analgésica y anti-inflamatoria comparable con los AINEs, por lo cual se encuentra entre los fármacos más prescritos para aliviar los signos y síntomas de cáncer, neuropatías, artritis reumatoide, osteoartritis, fibromialgia, entre otras [153]. Su eficacia analgésica se da a las dosis terapéuticas que van de 50 a 100 mg/Kg donde se obtiene un efecto que va de 70 al 80% en el rango de dosis antes mencionado, que es equivalente a la dosis de 10 mg/Kg de morfina [118].

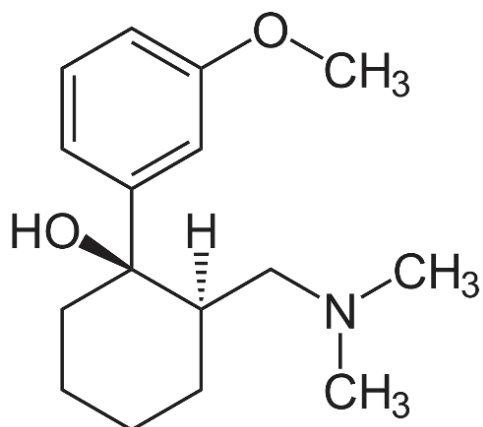


Figura 14. Estructura química del tramadol. El tramadol es un fármaco de origen sintético derivado del aminociclohexanol. Es un compuesto sólido con un peso molecular de 263.381 g/mol y presenta alta solubilidad en agua. Modificado de Subedi et al., 2019 [153].

Este fármaco posee propiedades farmacocinéticas que le proporcionan un mejor índice terapéutico en comparación con otros opioides. Las principales: 1) tiene una absorción del 68% por vía oral, la cual aumenta (90-100%) durante una administración múltiple por vía oral; 2) el tiempo de vida media es de aproximadamente 5 a 6 horas alcanzando su efecto máximo entre la hora 1 y 2 post-administración, 3) se biotransforma principalmente en el hígado dando como resultado la formación de un metabolito activo, el O-desmetil-tramadol (M1). Este

metabolito también posee actividad analgésica, tiene una mayor afinidad por los receptores opioides μ , y posee un tiempo de vida media de 9 horas, la duración del efecto analgésico de tramadol es de 6-8 horas dependiendo de la concentración y la velocidad de liberación del medicamento que se esté consumiendo. 4) tramadol y sus metabolitos se unen a proteínas plasmáticas en un 80%. 5) Aproximadamente el 90% del fármaco se excreta por riñones y el 10% en heces son [153.154]. Además, al ser un opioide débil tiene una menor frecuencia de efectos adversos sobre todo a nivel respiratorio. Es importante destacar que en comparación con los opioides típicos como la morfina y el agonista parcial buprenorfina; el tramadol rara vez causa depresión respiratoria o dependencia física. La prevalencia de los efectos adversos más comunes del tramadol son sedación del 10 al 15%, constipación 5 al 10%, náuseas 3.4%, mareos 1.5% y vómitos 1.1%. Adicionalmente, pueden producir fatiga, sudoración, boca seca y taquicardia con una prevalencia que va de 0.1 al 1% [153].

Debido a que el tramadol posee buena eficacia analgésica y un alto índice terapéutico se seleccionó para realizar la combinación con un AINE, con la finalidad de determinar si se potencia el efecto analgésico de estos fármacos. Esta afirmación se sustenta en estudios recientes realizados en humanos que han mostrado los efectos benéficos de la combinación de fármacos en el tratamiento del dolor crónico. Sin embargo, hasta el momento se han realizado muy pocos estudios clínicos, y esto es en parte a que no se cuenta con estudios preclínicos que sustenten los beneficios de una combinación determinada. Con base en lo planteado hasta el momento, el objetivo de este proyecto es estudiar a nivel preclínico la eficacia de la combinación tramadol-meloxicam en modelos animales de dolor crónico de distinta etiología. Estos fármacos fueron seleccionados para su estudio en combinación por su efectividad analgésica, su perfil de efectos adversos y sus propiedades farmacocinéticas. El tramadol es un opioide débil que inhibe la recaptura de monoaminas por lo que es altamente efectivo en el tratamiento del dolor de severo a moderado, sin embargo, genera efectos adversos entre los cuales se encuentran la somnolencia, constipación y náuseas o vómitos. Por su parte el meloxicam es un AINE efectivo en el tratamiento de dolor agudo y crónico particularmente de origen

músculo-esquelético o inflamatorio que posee baja incidencia de daño gástrico y además tiene un tiempo de vida media de 24 horas. En conjunto los mecanismos de acción de ambos fármacos sugieren que la combinación podría generar potenciación mediante la modulación de diferentes puntos en las vías del dolor, o bien, generar un efecto de larga duración con una menor incidencia de efectos adversos. Por lo tanto, en el estudio actual demostraremos si la combinación de estos fármacos potencia el efecto analgésico en un modelo de dolor neuropático inducido por la axotomía del nervio ciático y en un modelo de fibromialgia inducido por la inyección repetida de solución salina ácida.

2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

2.1 Combinación de fármacos

Actualmente la combinación de fármacos resulta ser una de las mejores alternativas en el tratamiento del dolor crónico. Desde una perspectiva clínica, se busca cumplir con dos objetivos. El primero es obtener un mayor efecto terapéutico en comparación con la administración de un solo fármaco. El segundo es disminuir los efectos adversos o limitar la toxicidad al reducir la dosis [155]. En este contexto la combinación ideal lograría ambos objetivos. Para lograr esto existen criterios para seleccionar los fármacos a combinar. El principal criterio es combinar fármacos con el mismo efecto terapéutico, pero con diferente mecanismo de acción, con la idea de generar interacciones farmacológicas entre estos que proporcionen un mejor alivio del dolor crónico. Este es el criterio más común debido a que la mayoría de las combinaciones solo actúan en un componente de la enfermedad y por ende en una sola diana terapéutica. Este enfoque proporciona mayores efectos o reducción de la dosis y una disminución de los efectos adversos. Esto debido a que este criterio reduce las desventajas de cada uno de los fármacos ya que a menudo se combina un fármaco seguro, pero de baja eficacia con uno de alta eficacia, pero bajo índice terapéutico. Lo anterior permite alcanzar el efecto deseado mientras se disminuye la toxicidad.

Otro criterio para hacer combinaciones, es utilizar un fármaco que sea útil por sí solo, pero que presenta muchos efectos adversos, y un segundo fármaco que no comparte la misma actividad que el primer fármaco y que además no tiene efecto farmacológico por sí solo, pero sí mejora la efectividad del primer fármaco, lo que convierte al segundo fármaco en un potenciador de la respuesta ya sea por mecanismos farmacodinámicos o farmacocinéticos. Cabe señalar que estos potenciadores pueden modular la magnitud y la duración de la respuesta del fármaco activo [156].

2.1.1 Tipos de sinergismo

Cuando se realizan combinaciones de fármacos el resultado final puede ser sinergismo, aditividad o antagonismo del efecto farmacológico [157]. Se denomina sinergismo cuando el efecto de la combinación de dos o más fármacos en conjunto tiene un efecto superior a la suma de los efectos individuales de cada fármaco. Una interacción de este tipo permite el uso de dosis significativamente más bajas de los componentes de la combinación, lo cual aumenta la probabilidad de disminuir la frecuencia y severidad de los efectos adversos. Ahora bien, si la eficacia de la combinación es igual a la suma de los efectos individuales de cada fármaco se le denomina suma o aditividad. Finalmente, cuando el efecto de la combinación de dos fármacos es menor a la suma de los efectos individuales de cada fármaco se le denomina antagonismo. Es importante destacar que cuando se combinan fármacos se desea obtener un sinergismo. Sin embargo, esto no siempre es posible y en algunos casos la combinación puede generar un incremento de los efectos adversos sin incremento del efecto terapéutico. Por lo tanto, para determinar si dos fármacos tienen un efecto sinérgico es necesario probarlo experimentalmente.

Para determinar el tipo de interacción que se presenta cuando se combinan fármacos existen diversas metodologías entre las que destacan el uso de gráficos como el isoblograma debido a que permite determinar fácilmente el tipo de interacción establecida entre la combinación de fármacos [158].

2.1.2 Isoblograma

El método más utilizado para estudiar interacciones farmacológicas es el análisis isoblográfico que fue propuesto por Loewe en 1953. Este método ha sido probado y demostrado matemáticamente siendo la base para el desarrollo de nuevos métodos de análisis de interacciones farmacológicas [159]. Este método se basa en la relación dosis-respuesta establecida entre dos fármacos para alcanzar un efecto farmacológico de la misma magnitud, lo cual se denomina potencia. La idea principal es seleccionar el nivel de efecto deseado que generalmente es el 50% (dosis efectiva 50 o DE_{50}) [158]. Sin embargo, pueden emplearse niveles más bajos cuando uno de los fármacos no alcanza el 50% de efecto. Para construir el isoblograma hay que realizar una serie de pasos [159]. Primero se realiza una curva dosis respuesta de los fármacos individuales con al menos cuatro dosis cada uno. Después se calcula la DE_{50} a partir de las curvas dosis respuesta de cada uno de los fármacos. Posteriormente, se establecen las proporciones de las DE_{50} de cada fármaco que se van a combinar y evaluar experimentalmente. Con base en estos resultados se construye una curva dosis respuesta de la combinación y a partir de esta se calcula la dosis efectiva (DE) experimental y teórica de la combinación en conjunto con el índice de interacción. Después se grafica la DE del fármaco de mayor potencia (Fármaco A) en el eje de las X y en eje de las Y el de menor potencia (Fármaco B) y se traza una línea de unión entre las DE cada fármaco a la que se le denomina línea de aditividad o isobola [157]. Por último, se determina el tipo de interacción farmacológica (Figura 15)

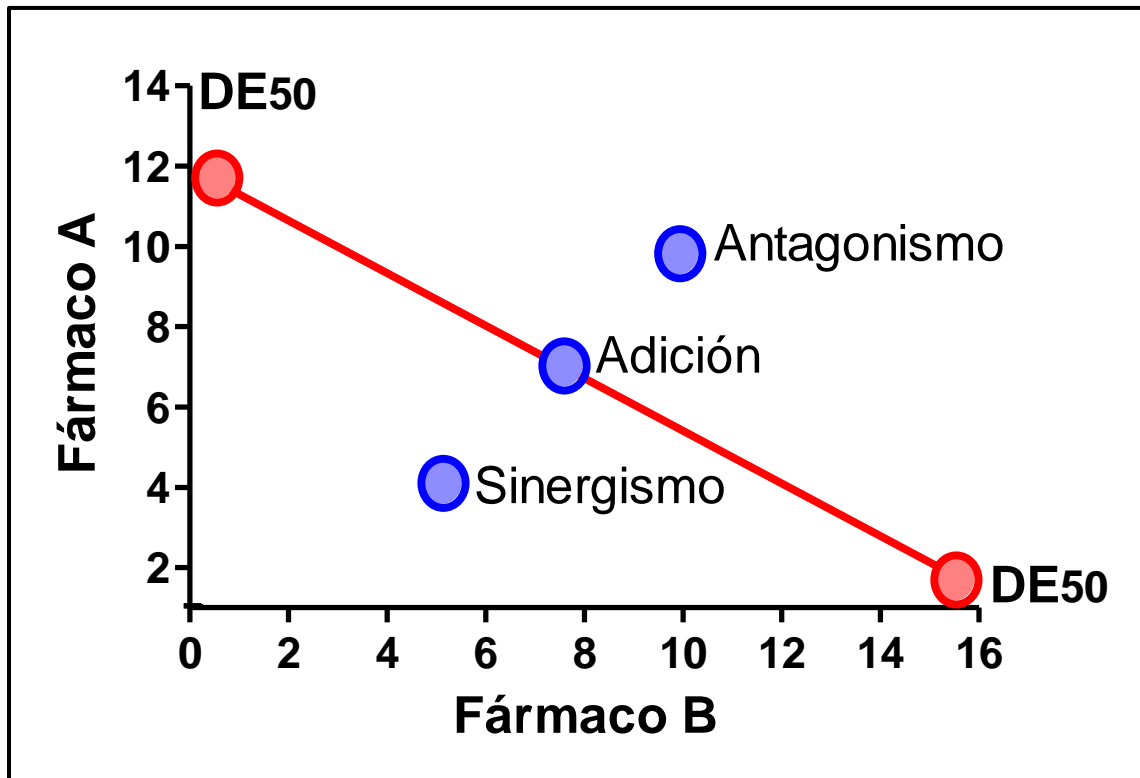


Figura 15. Isoblograma. Este es una representación gráfica de un eje de coordenadas de dosis equianalgésicas de dos o más fármacos. Por lo tanto, nos ayuda a elucidar de forma más clara el tipo de interacción farmacológica entre dos fármacos. Modificado de Huang et al., 2019 [159].

Para confirmar el tipo de interacción farmacológica vista en el Isoblograma se hace un análisis estadístico que consiste comparar la DE_{30} teórica y DE_{30} experimental mediante una prueba t de student y calcular el 95% de intervalo de confianza y la varianza [160].

2.1.3 Combinación de opioides con AINEs

La combinación de estos dos grupos de fármacos sigue siendo la más utilizada debido a su eficacia analgésica contra el dolor moderado a intenso debido a que inhiben el dolor en múltiples sitios de las vías nociceptivas [161]. Sin embargo, tienen limitaciones debido a sus efectos adversos. En este contexto, los opioides generan sedación, disminución en la motilidad gastrointestinal, desarrollo de tolerancia e incluso riesgo de generar muerte debido a depresión respiratoria [162]. Por otro lado, los AINEs tradicionales tienen un mayor riesgo de generar úlceras y hemorragias GI en diferentes proporciones dependiendo de la selectividad del fármaco [163]. Mientras que los preferentemente selectivos por COX-2 presentan mayor riesgo de efectos adversos a nivel cardiovascular. Debido a esto se ha buscado crear combinaciones de opioide con AINEs para mejorar la eficacia y disminuir los efectos adversos. Con base en lo anterior, existen diversos estudios que demuestran que las combinaciones de estos grupos de fármacos cumplen con los dos objetivos de la terapia multimodal [164]. Cabe destacar, que la interacción no siempre es favorable debido a que en ocasiones se obtienen más efectos adversos y poca eficacia. La mayoría de estas combinaciones utilizan tramadol en combinación con AINEs. Ejemplo esto son las combinaciones de tramadol con Paracetamol [165-167], Ketorolaco [168-170] y Diclofenaco [167.171.172].

2.1.3.1 Combinación tramadol-meloxicam

En el presente proyecto se decidió estudiar el tipo de interacción que se establece con la combinación tramadol-meloxicam en dos modelos murinos de dolor crónico. Lo anterior con la finalidad de determinar si esta combinación puede ser una alternativa para el tratamiento del dolor crónico. Estos fármacos se seleccionaron con base en los siguientes criterios [118.153]: 1) son fármacos ampliamente probados en la clínica para el tratamiento de diversos tipos de dolor, el tramadol por su efecto analgésico y el meloxicam por su efecto analgésico y anti-inflamatorio, 2) poseen diferentes mecanismos de acción y actúan a diferentes niveles del proceso nociceptivo, 3) sus propiedades farmacocinéticas y, 4) perfil de efectos adversos. Con base en esto, el tramadol al ser un opioide débil tiene menor riesgo de generar

dependencia y depresión respiratoria [162], mientras que el meloxicam al ser un AINE preferentemente selectivo por COX-2 tiene menor riesgo de generar úlceras en comparación con los AINEs tradicionales [163]. Sin embargo, hasta la fecha existen pocos estudios donde se evalúe el efecto de la combinación tramadol-meloxicam y la mayoría de estos se realizaron en modelos preclínicos de dolor agudo. Actualmente no existe un consenso del tipo de interacción que se establece entre tramadol y meloxicam, esto porque los diseños de dichos estudios no están desarrollados correctamente debido a que solo utilizan una dosis de cada uno de los fármacos y la mayoría no se realiza un análisis isoblográfico. En la tabla 7, se muestran de forma resumida dichos estudios. En el primer estudio, se evaluó el tipo de interacción que se produce entre tramadol y meloxicam en las proporciones 1:1, 1:3 y 3:1 utilizando el modelo de formalina en ratones, el cual es considerado un modelo de dolor agudo. Donde se encontró que el efecto de la combinación para las proporciones 1:1 y 1:3 fue una potenciación, mientras que para la proporción 3:1 fue aditividad [173]. En otro estudio, se evaluó el efecto de la combinación de tramadol-meloxicam en ratas a las que se les indujo dolor neuropático mediante el modelo de constricción crónica del nervio ciático y se evaluó el efecto de la combinación mediante las pruebas de retirada de la cola (tail flick) y placa caliente (hot plate). En este estudio se utilizaron dos aproximaciones. La primera fue determinar el efecto del pretratamiento con meloxicam (6 mg/Kg), tramadol (15 mg/Kg) o la combinación tramadol-meloxicam (15 + 6 mg/Kg) en el dolor postoperatorio. Se observó que los tres tratamientos incrementaron la latencia de retirada de la cola y la latencia de retiro. Sin embargo, a pesar de que los autores mencionan que el efecto obtenido con la combinación fue un sinergismo, los datos sugieren que existe solo un efecto aditivo a los 120 minutos después de realizada la cirugía. La segunda aproximación fue un tratamiento crónico (6 días, del día 5 al día 11). Donde se midió la eficacia del tratamiento con las mismas pruebas los días 6, 8, 10 y 12 post-cirugía. Los resultados mostraron que la combinación produjo un mejor alivio del dolor que cada uno de los fármacos evaluados por sí solos. Sin embargo, con estos resultados no es posible determinar qué tipo de interacción resulta para la combinación [174]. Por otro lado, se evaluó el efecto analgésico de

la combinación tramadol-meloxicam (3-0.2 mg/Kg, 3 administraciones/día) en perros hembra sometidas a mastectomía unilateral, en donde la intensidad del dolor postoperatorio fue evaluado a través de la escala analógica visual (VAS) y la escala de Glasgow modificada (GCMPS). Se observó que el tramadol por si solo mostró una disminución significativa en los puntajes de dolor postoperatorio evaluados y al comparar tramadol con la combinación solo obtuvo una disminución temprana en las puntuaciones de dolor postoperatorio. Los resultados observados no son concluyentes, probablemente debido al número de animales utilizados [175]. En otro estudio, se evaluó la combinación en un modelo de tail flick, donde se obtuvo un efecto aditivo en este modelo, aunque se menciona que debe realizarse un estudio isobolográfico para determinar el tipo de interacción farmacológica establecida [161]. Por último, la combinación se evaluó en gatos geriátricos con osteoartritis mediante las pruebas de fuerza vertical, actividad motora y la suma de los estímulos mecánicos temporales. Los resultados mostraron que la combinación no produjo un mejor efecto mayor (64.1%) en comparación con meloxicam por si solo (60.5%) para la fuerza vertical, mientras que para la actividad locomotora fue de 41% para la combinación y el de meloxicam de 56.3% [176]. Estos resultados en conjunto mostraron que no existe un consenso del tipo de interacción producida por esta combinación y si esta es eficaz para el tratamiento del dolor crónico.

Tabla 7. Antecedentes específicos de la combinación tramadol-meloxicam

Tipo de dolor	Modelo de dolor	Fármacos/Dosis/ Vía de administración	Conducta evaluada	Resultados	Ref.
Dolor agudo	Prueba de formalina (1%) en ratones	Tramadol 3.16, 5.6, 7.5 y 10 mg/Kg (i.m.). Meloxicam 3.16, 5.6, 10 y 17.8 mg/Kg (i.m.). Combinación (i.m.) Proporción 1:1; 3:1 Proporción 1:3	Número de sacudidas	Se obtuvo un efecto sinérgico para la proporción 1:1 y 1:3 y un efecto aditivo para la proporción 3:1.	[173]
Dolor agudo	Dolor post-operatorio (Post-CCI) en ratones	Tramadol 15 mg/Kg meloxicam 6 mg/Kg, y la combinación Tramadol-meloxicam 15-6 mg/Kg. Administrados como pretratamiento, i.m.	Hot plate. Pretratamiento: la medición fue 0, 120, y 150 min post-cirugía	No se puede determinar con los resultados obtenidos.	[174]
Dolor crónico	Dolor neuropático (Constricción crónica del nervio ciático)	Tramadol 15mg/Kg, meloxicam 6 mg/Kg, y la combinación Tramadol-meloxicam 15-6 mg/Kg administrada por 6 días consecutivos, i.m.	Tail Flick y Hot plate. Pos-tratamiento: 6, 8, 10, y 12 días post-cirugía		
Dolor agudo	Dolor post-operatorio (mastectomía Unilateral) Perros Hembras	Tramadol 3 mg/Kg, Tramadol-meloxicam 3-0.2 mg/Kg i.v. e i.m. 3 administraciones: ½ hora antes de la intubación, 8 y 16 horas después de la intubación.	Escala Analógica Visual (VAS) Escala de Glasgow (modificada)	El efecto generado por Tramadol vs Tramadol/ meloxicam no fue significativamente diferente. La combinación presenta una disminución temprana en las puntuaciones de dolor postoperatorio.	[175]
Dolor agudo	Prueba de Tail flick en Ratas	Tramadol 12.5 mg/Kg, i.p. meloxicam 1 mg/Kg, i.p.	Tail flick, se evaluó a los 45, 60, 75, 90 y 120 minutos post-tratamiento	La administración conjunta de tramadol con meloxicam produjo latencias de respuesta que no diferían de tramadol solo. Sin efecto sinérgico a las dosis evaluadas.	[161]

Continuación Tabla 7

Tipo de dolor	Modelo de dolor	Fármacos/Dosis/ Vía de administración	Conducta evaluada	Resultados	Ref.
Dolor crónico	Osteoartritis en gatos macho geriátricos.	Meloxicam 0.05 mg/Kg c/24 horas en spray oral transmucosal. Tramadol 3 mg/Kg c/12 h (p.o.) Combinación tramadol-meloxicam (3-0.05 mg/Kg) Administrados durante 25 días.	Fuerza vertical y actividad locomotora se evaluó los días 0, 7, 21 y 25 pos-tratamiento	La combinación tramadol-meloxicam no produce un beneficio evidente en comparación con el meloxicam solo, excepto para la hipersensibilidad central.	[176]

Por otro lado, es importante recordar que otro de los objetivos de combinar fármacos es disminuir la frecuencia y severidad de efectos adversos. Una de las principales limitaciones de los AINEs es el desarrollo de úlceras gástricas. Por lo tanto, es importante determinar el efecto de la combinación tramadol-meloxicam en el desarrollo de úlceras gástricas. Con respecto a esto, existe un estudio publicado en el 2017 donde se evaluó el daño gástrico de la combinación tramadol-meloxicam (5-0.2 mg/Kg). En este estudio se administró la combinación y los fármacos individuales, donde se obtuvo que la combinación no es más tóxica que la administración de meloxicam y tramadol por sí solos, lo que sugiere que la combinación es segura [177].

4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- ¿La administración única de la combinación tramadol-meloxicam posee efecto antialodínico en el dolor neuropático?
- ¿Puede la combinación tramadol-meloxicam potenciar el efecto antialodínico en comparación con los fármacos individuales en un modelo de dolor neuropático?
- ¿La administración única de la combinación tramadol-meloxicam posee efecto antialodínico en un modelo de fibromialgia experimental?
- ¿Puede la combinación tramadol-meloxicam potenciar el efecto antialodínico en comparación con los fármacos individuales en un modelo de fibromialgia experimental?

3. JUSTIFICACIÓN

El dolor crónico es un término que engloba a un gran número de síndromes dolorosos altamente prevalentes, difíciles de diagnosticar y tratar. Actualmente el campo de la terapéutica del dolor crónico enfrenta grandes retos debido al incremento en la incidencia del dolor crónico en todo el mundo y al sufrimiento que este provoca. Este incremento, se debe en parte al envejecimiento de la población, a los estilos de vida modernos que favorecen la disminución de la actividad física, así como el aumento de estrés, depresión y ansiedad, y otras enfermedades, que predisponen o van acompañadas de dolor crónico. Esto resulta en una carga creciente para la sociedad en términos del costo de la atención médica y la pérdida de productividad de los pacientes afectados. Hoy en día para lograr un mejor manejo del paciente con dolor crónico, se utilizan aproximaciones multimodales, incluyendo la farmacoterapia. Sin embargo, un porcentaje alto de los pacientes no recibe tratamiento, y por si no fuera poco, de la población que recibe tratamiento aproximadamente el 50% no recibe un tratamiento adecuado y el otro 50%, aun con los mejores tratamientos solo logran una disminución de aproximadamente el 30% del dolor. Lo anterior evidencia la necesidad de encontrar nuevas alternativas terapéuticas para su tratamiento. En este contexto la búsqueda de nuevos fármacos es deseable. Sin embargo, la investigación del dolor se encuentra estancada debido a que aún no se ha logrado desarrollar medidas objetivas para cuantificar dolor, impidiendo un avance significativo en la investigación de los mecanismos fisiopatológicos que favorecen la transición de dolor agudo a dolor crónico, y la perpetuación del mismo. Además, la búsqueda de nuevos analgésicos actualmente es muy costosa y poco exitosa, lo que ha resultado en que empresas como Pfizer y Astra Zeneca desmantelaran sus unidades de estudio del dolor. En este contexto, las combinaciones de fármacos analgésicos con diferentes mecanismos de acción son una aproximación atractiva para el tratamiento del dolor crónico. Sin embargo, hasta el momento se han realizado muy pocos estudios clínicos que demuestren la efectividad y seguridad de estas. Esto es en parte porque no se cuenta con estudios preclínicos que sustenten los beneficios de una combinación determinada. Con

base en lo planteado hasta el momento, el objetivo de este proyecto es estudiar a nivel preclínico la eficacia de la combinación de tramadol-meloxicam en modelos animales de dolor crónico de distinta etiología, además de determinar el tipo de interacción que se produce. Estos fármacos fueron seleccionados para su estudio en combinación por su efectividad en el tratamiento del dolor a nivel clínico y preclínico, su perfil de efectos adversos y propiedades farmacocinéticas. El tramadol es un opioide débil que además inhibe la recaptura de monoaminas, altamente efectivo en el tratamiento del dolor de severo a moderado, sin embargo, genera náuseas, somnolencia, tolerancia y constipación. Por su parte el meloxicam es un AINE efectivo en el tratamiento de dolor agudo y crónico particularmente de origen musculoesquelético o inflamatorio, posee baja incidencia de daño gástrico y además tiene un tiempo de vida media de 24 horas. Los mecanismos de acción de ambos fármacos sugieren que la combinación de estos podría modular las vías del dolor a diferentes niveles lo que podría resultar en la potenciación del efecto analgésico. Por lo tanto, en el presente proyecto se estudió si la combinación de estos fármacos potencia el efecto analgésico en comparación con los fármacos individuales en dos modelos murinos de dolor crónico.

5. HIPÓTESIS

La administración aguda de la combinación tramadol-meloxicam produce una potenciación del efecto antialodínico en comparación con el efecto antialodínico que produce la administración aguda de tramadol o meloxicam de forma individual en dos modelos murinos de dolor crónico.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

- Comparar el efecto antialodínico agudo de la combinación tramadol-meloxicam con el efecto de la administración individual de cada uno de los fármacos en dos modelos de dolor crónico, con la finalidad de determinar si esta combinación es útil para el tratamiento del dolor crónico de diferentes etiologías.

6.2 Objetivos específicos

- Determinar el valor de la DE₃₀ de tramadol y meloxicam a partir de la curva dosis respuesta obtenida en ratones con alodinia mecánica inducida por la axotomía parcial del nervio ciático.
- Determinar el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam utilizando dosis fijas de meloxicam 2.74 y 7.5 mg/Kg con dosis crecientes de tramadol en un modelo experimental de dolor neuropático.
- Determinar el valor de la DE₃₀ de tramadol y meloxicam a partir de la curva dosis respuesta obtenida en ratones con alodinia mecánica inducida por la administración repetida de salina ácida en el músculo gastrocnemio.
- Determinar el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam, en las proporciones 1:1, 1:3 en un modelo experimental de fibromialgia.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Animales

Se utilizaron ratones hembra de la cepa CD-1 con un peso corporal de 25 a 30 g al inicio del experimento. Los ratones se mantuvieron con libre acceso al agua y alimento, en un ciclo de luz/oscuridad de 12 por 12 horas. Todos los experimentos se realizaron bajo los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) [178] para el cuidado y manejo de animales de laboratorio, así como de las guías internacionales para el estudio del dolor en animales [179]. Adicionalmente el protocolo fue aprobado por el comité para el cuidado y uso de animales de la Facultad de Medicina de la UAEM (CCUAL-FM-UAEM). Al finalizar los ensayos los ratones fueron sacrificados por asfixia con CO₂.

7.2 Fármacos

Para los modelos de dolor crónico se utilizaron los siguientes fármacos: tramadol (AMSA No. de lote 262M2018 y 014M2019) y meloxicam (Química Sintética No. de lote 1501021517). Los fármacos fueron disueltos y administrados por vía intraperitoneal en una solución de carboximetilcelulosa al 0.5% (No. de lote 1150771, disueltos en SSF al 0.9%) y se administraron por vía intraperitoneal. Adicionalmente, para inducir fibromialgia se utilizó solución salina fisiológica estéril al 0.9% con un pH=4. Todas las disoluciones de fármacos y los vehículos se prepararon el día del experimento.

7.3 Inducción de dolor neuropático: axotomía parcial del nervio ciático

Para la inducción de alodinia mecánica producida por la lesión de nervios periféricos (dolor neuropático) se utilizó el modelo de axotomía parcial del nervio ciático en ratón. Para esto en primer lugar los ratones fueron anestesiados con una mezcla de ketamina / xilacina (100/10 mg/Kg, i.p.). Posteriormente se afeitó y realizó asepsia de la extremidad izquierda con yodo espuma. Después, se llevó a cabo una incisión en piel de aproximadamente 1 cm, tomando como referencia la cabeza del fémur.

Una vez expuesto el músculo se realizó un corte transversal a la incisión en piel con la finalidad de exponer las ramas del nervio ciático (tibial, peroneal y sural). Inmediatamente después las ramas tibial y peroneal se ligaron con seda 5-0, para posteriormente realizar la axotomía el nervio 1 o 2 mm por debajo de la ligadura. Para inmediatamente proceder a cerrar el músculo con catgut 4-0 y se verificó que no existiera sangrado para proceder a cerrar la piel con seda 3-0. Finalmente se realizó la asepsia de la herida con Microdacyn. A todos los animales se les dio un periodo de recuperación de 14 días. Es importante mencionar que la rama sural debe dejarse intacta debido a que si se manipula el ratón queda con daño motor en la pata izquierda.

7.4 Inducción de fibromialgia por la inyección repetida de solución salina ácida en el músculo gastrocnemio

La inducción de la hipersensibilidad al dolor característica principal de la fibromialgia se llevó a cabo mediante la inyección de 20 μ L de solución salina a un pH=4 en el músculo gastrocnemio del ratón los días cero y tres. La administración se realizó bajo condiciones de anestesia (Ketamina/Xilacina 100/10 mg/Kg, i.p.), usando como referencia anatómica la cara posterior de la tibia izquierda. La inyección se realizó mediante una aguja 30 de ½ pulgada adaptada a una cánula de polietileno. Finalmente, los ratones se regresaron a su caja habitación para permitirles recuperarse de la anestesia.

7.5 Evaluación de la alodinia mecánica

La cuantificación del dolor en ambos modelos se realizó mediante el seguimiento de la alodinia mecánica. El desarrollo de esta conducta nociceptiva se evaluó a través del método Up and Down con ayuda de filamentos de von Frey calibrados para aplicar estímulos mecánicos que van en un rango de 0.007 a 3.24 gramos. El método consiste en aplicar un filamento a la vez durante 5 segundos en las extremidades inferiores, empezando con el filamento de 0.06 g. Este estímulo resulta en una respuesta de retirada de la pata (respuesta positiva) o ninguna

respuesta (respuesta negativa). Si la respuesta fue negativa, el siguiente estímulo se produce con el siguiente filamento más grande, sin embargo, si fue positiva el siguiente estímulo se produce aplicando el siguiente filamento más pequeño. Se continua así hasta identificar la primera respuesta positiva, y posterior a esta se realizan otras cuatro mediciones consecutivas más hasta obtener un patrón de 5 respuestas. Finalmente, el patrón de respuestas se utiliza para calcular el 50% de umbral de retiro mediante la siguiente formula:

$$50\% \text{ umbral de retiro} = \frac{10^{(Xf + \kappa\delta)}}{10,000}$$

Donde:

Xf: Valor del último filamento utilizado (en valor logarítmico).

κ: Valor asignado para el patrón de respuestas positivo/negativo de acuerdo a la tabla de Chaplan.

δ: La diferencia entre la fuerza de los estímulos (mayor y menor) (en valor logarítmico).

En donde valores menores o iguales a 0.4 gramos en el 50% de umbral de retiro indican la presencia de alodinia mecánica, es decir, una respuesta exagerada ante un estímulo que normalmente no sería nocivo. En esta prueba el incremento de los valores del 50% de umbral de retiro por arriba de 0.4 g se interpreta como un efecto antialodínico.

7.6 Diseños experimentales

Para cumplir los objetivos del presente proyecto se plantearon los siguientes diseños experimentales.

7.6.1 Determinar el valor de la DE₃₀ de tramadol y meloxicam a partir de la curva dosis respuesta obtenida en ratones con alodinia mecánica inducida por la axotomía parcial del nervio ciático

Para obtener la DE₃₀ de cada fármaco se construyó la curva dosis respuesta del efecto antialodínico de cada uno de los fármacos en ratones con alodinia mecánica

inducida por la axotomía parcial del nervio ciático. Para esto, el día 21 post-axotomía se midió el 50% de umbral de retiro para determinar el valor de alodinia basal, inmediatamente después se realizó la administración por vía intraperitoneal del vehículo (CMC 0.5% o SSF) o dosis crecientes de tramadol (0.3-131.5 mg/Kg) o meloxicam (2.74-30 mg/Kg). Posterior a la administración del tratamiento, se realizó la medición del 50% de umbral de retiro cada 30 min durante 4 horas para obtener el curso temporal del efecto antialodínico generado por cada fármaco (Figura 16). En esta prueba un incremento del 50% de umbral de retiro a valores mayores a 0.4 g se interpreta con efecto antialodínico. A partir de los cursos temporales se realizó el análisis de ABC, que se utilizó para calcular el % de efecto antialodínico con el cual se construyó la CDR de cada fármaco. Finalmente, a partir de la CDR de cada fármaco se obtuvo el valor de la DE_{30} .

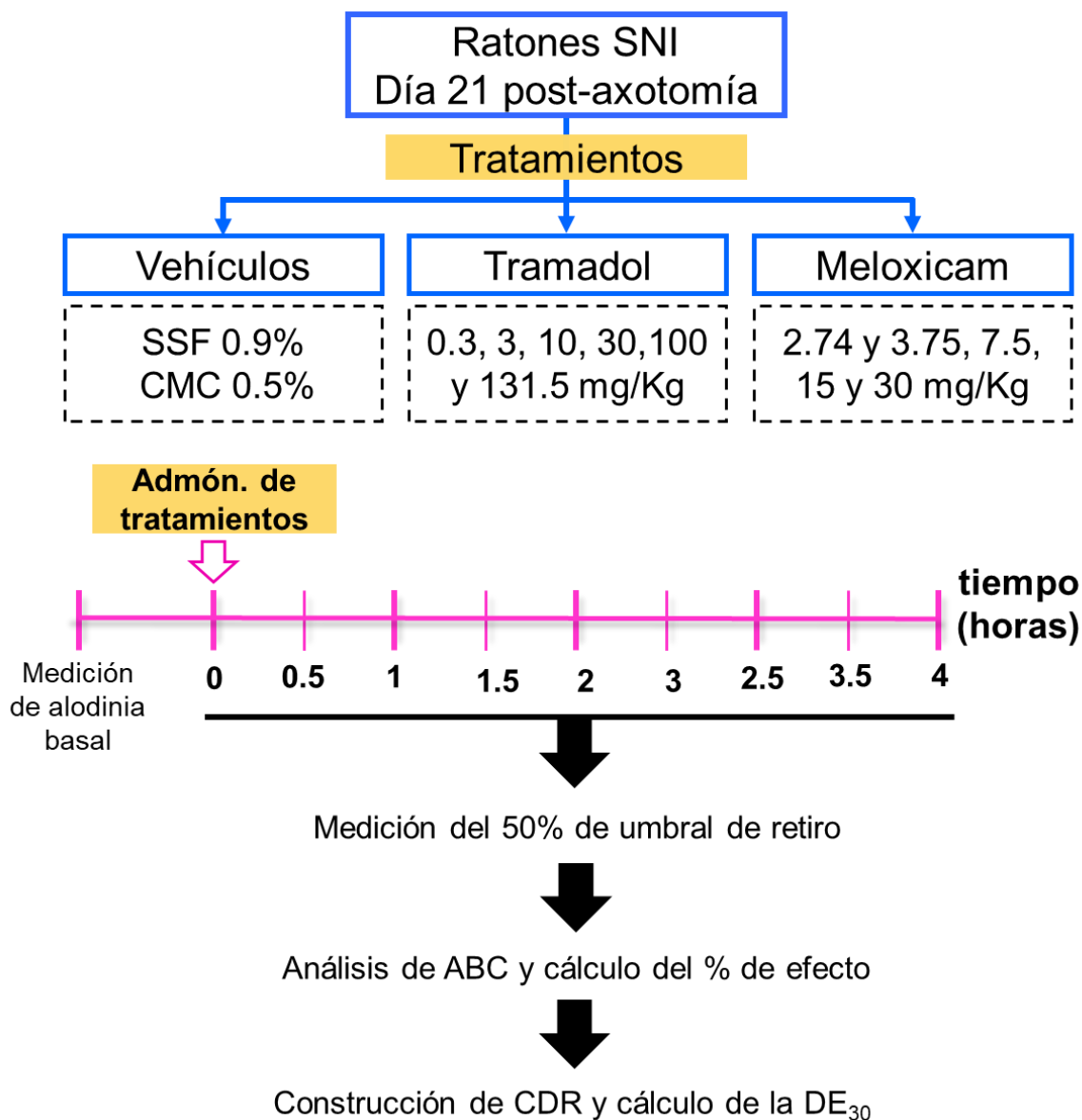


Figura 16. Determinación de la DE₃₀ de tramadol y meloxicam a partir de la curva dosis respuesta obtenida a partir de un modelo de dolor neuropático en ratones.

7.6.2 Determinar el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam, en las proporciones 1:1 y 1:3 en un modelo murino de dolor neuropático

Para determinar el tipo de sinergismo que se produce cuando se administra la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático y teniendo en cuenta que el meloxicam no presenta efecto antialodínico en este modelo, se siguió la siguiente aproximación experimental. Se evaluó el efecto antialodínico de

diferentes fracciones de la DE₃₀ de tramadol, obtenida en el modelo de dolor neuropático, en presencia de a) meloxicam 2.74 mg/Kg, o b) meloxicam 7.5 mg/Kg (Figura 17).

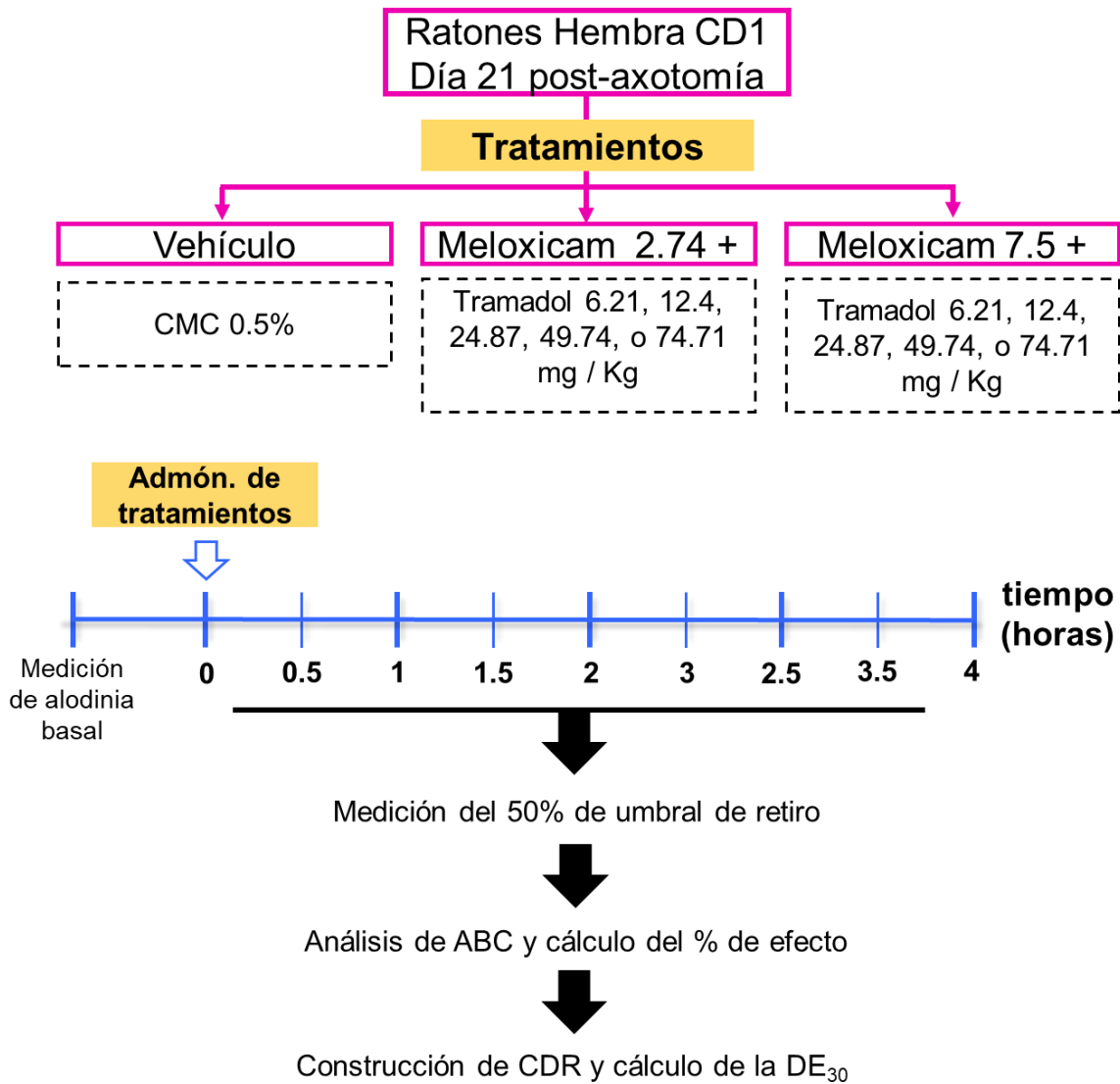


Figura 17. Determinación del efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam, en las proporciones 1:1 y 1:3 en un modelo murino de dolor neuropático.

Estas dosis de meloxicam se seleccionaron con base a sus efectos analgésicos y antiinflamatorios observados en otros modelos animales que fueron evaluados en nuestro laboratorio. Así, la dosis de 2.74 mg/Kg no produce efecto antinociceptivo en el modelo de estiramiento abdominal, pero disminuye en un 30% el edema inducido por carragenina en rata [180]. Mientras que la dosis de 7.5 mg/Kg produce

un 32.6% de efecto antinociceptivo en el modelo de estiramiento abdominal y disminuye en un 60% el edema inducido por carragenina [180.181]. El día del experimento (día 21 post-axotomía) se evaluó el efecto antialodínico por un periodo de 4 horas. Con estos datos se realizó el análisis de ABC y la construcción de la CDR para posteriormente calcular la DE_{30} experimental de la combinación para así poder establecer el tipo de interacción farmacológica.

7.6.3 Determinar el valor de la DE_{30} de tramadol y meloxicam a partir de la curva dosis respuesta obtenida en ratones con alodinia mecánica inducida por la administración repetida de salina ácida en el músculo gastrocnemio

Para cumplir con este objetivo en primer lugar fue necesario implementar y validar un modelo experimental de fibromialgia. La inducción de fibromialgia se realizó mediante la administración de 2 inyecciones, separadas por 2 días (día 0 y día 3), de solución salina ácida en el músculo gastrocnemio. Para determinar si esta aproximación produce dolor generalizado de larga duración, se administraron ratones hembra y macho con solución salina ácida (pH=4) o PBS 0.1 M, pH= 7.4 (n=8) y se realizó el seguimiento del desarrollo y la duración de la alodinia mecánica bilateral los días 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 y 30 después de la primera inyección de solución salina (Figura 18A).

Una vez que se identificó los días en que los ratones presentan alodinia establecida, se realizó la validación del modelo mediante la administración de un fármaco aprobado para el tratamiento de fibromialgia. Para esto, el día 15 post-inyección se midieron los basales para comprobar la presencia de alodinia, posteriormente se administró gabapentina a la dosis 100 mg/Kg, i.p. Inmediatamente después de la administración se midió el 50% de umbral de retiro basal cada hora durante un periodo de 6 horas (Figura 18B).

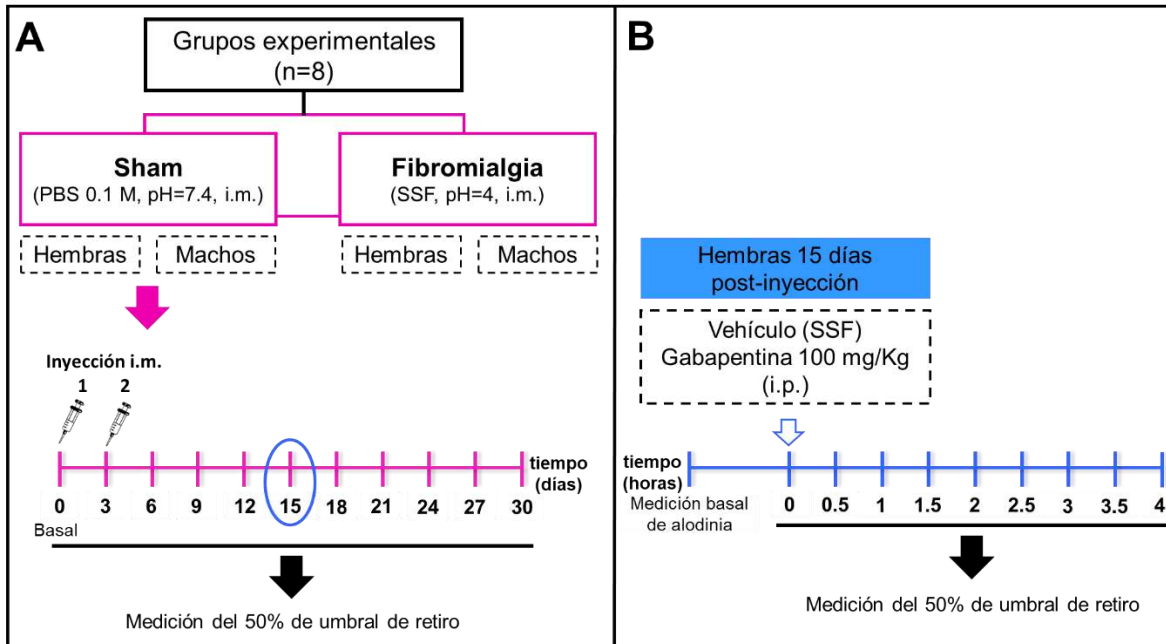


Figura 18. Implementación y validación del modelo de fibromialgia inducido por la inyección repetida de solución salina ácida en el músculo gastrocnemio.

Por otro lado, para evaluar el efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en este modelo se utilizaron ratones con alodinia establecida (día 15 post-inyección). El día del experimento inicialmente se comprobó que los ratones tuvieran alodinia y posteriormente se administró por vía intraperitoneal el vehículo (CMC 0.5% o SSF) o dosis crecientes de tramadol (0.3-131.5 mg/Kg) y meloxicam (3.75-30 mg/Kg). Posteriormente, se procedió a medir el 50% de umbral de retiro cada 30 minutos por un período de 4 horas (Figura 19). Con estos datos se construyó el curso temporal del 50% de umbral de retiro. Donde un aumento en el 50% de umbral de retiro por arriba de los 0.4 g se interpreta como un efecto analgésico o antialodínico. A partir de estos cursos temporales se obtuvieron los datos de área bajo la curva y las respectivas curvas dosis respuesta de cada fármaco. Finalmente, a partir de las CDR se obtuvo la DE_{30} de cada fármaco.

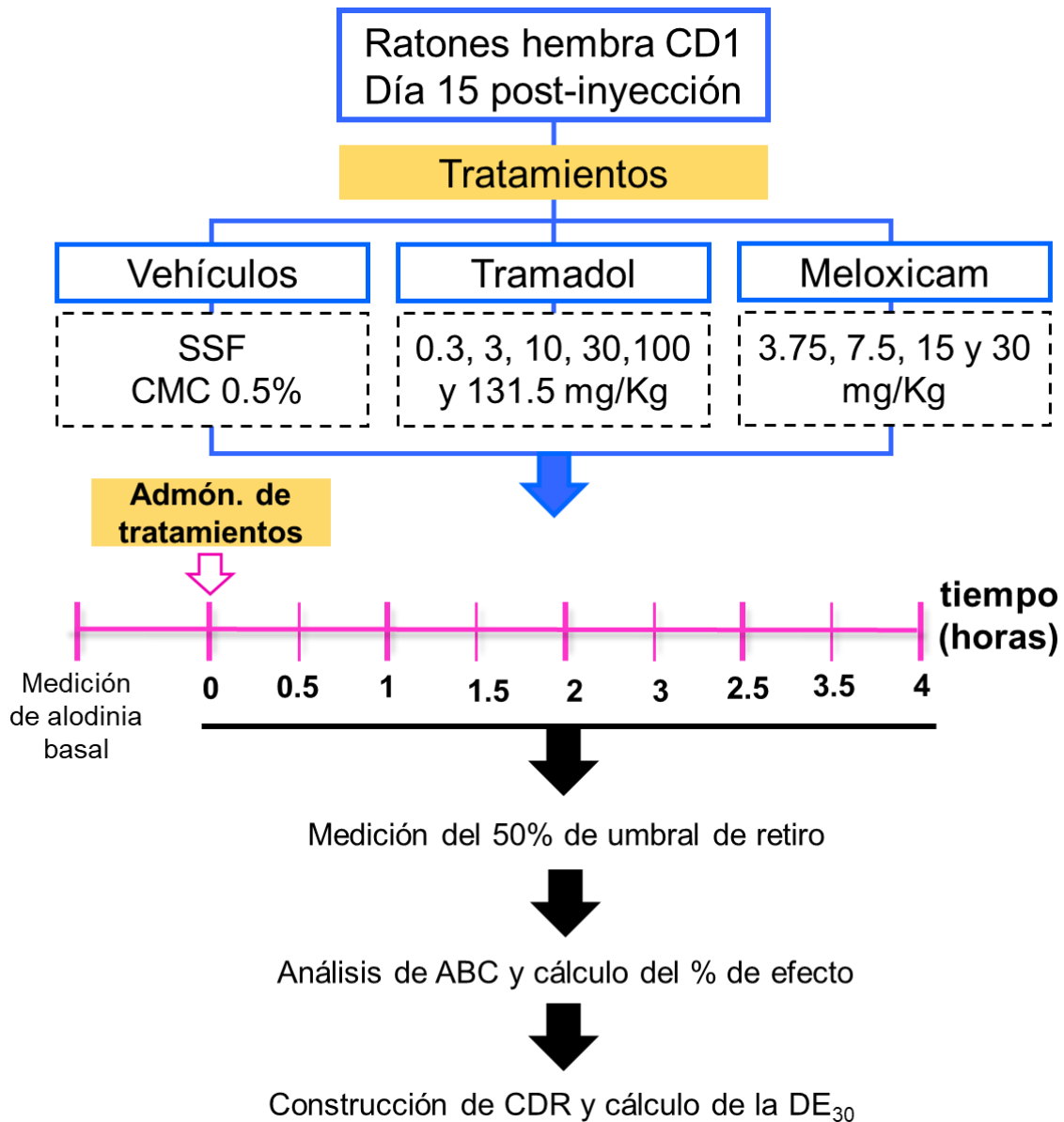


Figura 19. Determinación de la DE_{30} de tramadol y meloxicam a partir de la curva dosis-respuesta obtenida a partir de un modelo experimental de fibromialgia.

7.6.4 Determinar el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam, en las proporciones 1:1, 1:3 en un modelo experimental de fibromialgia.

Una vez determinadas las DE_{30} se evaluó el efecto de la combinación tramadol-meloxicam en las proporciones 1:1 y 1:3 en ratones con fibromialgia al día 15 post-inyección (Figura 20). Una vez que se obtuvieron los cursos temporales de las

combinaciones se construyó la gráfica del área bajo la curva, para posteriormente realizar la gráfica de la curva dosis respuesta de la combinación y a partir de esta se determinó la DE₃₀ experimental de la combinación para así poder establecer el tipo de interacción establecida representándola en un Isoblograma.

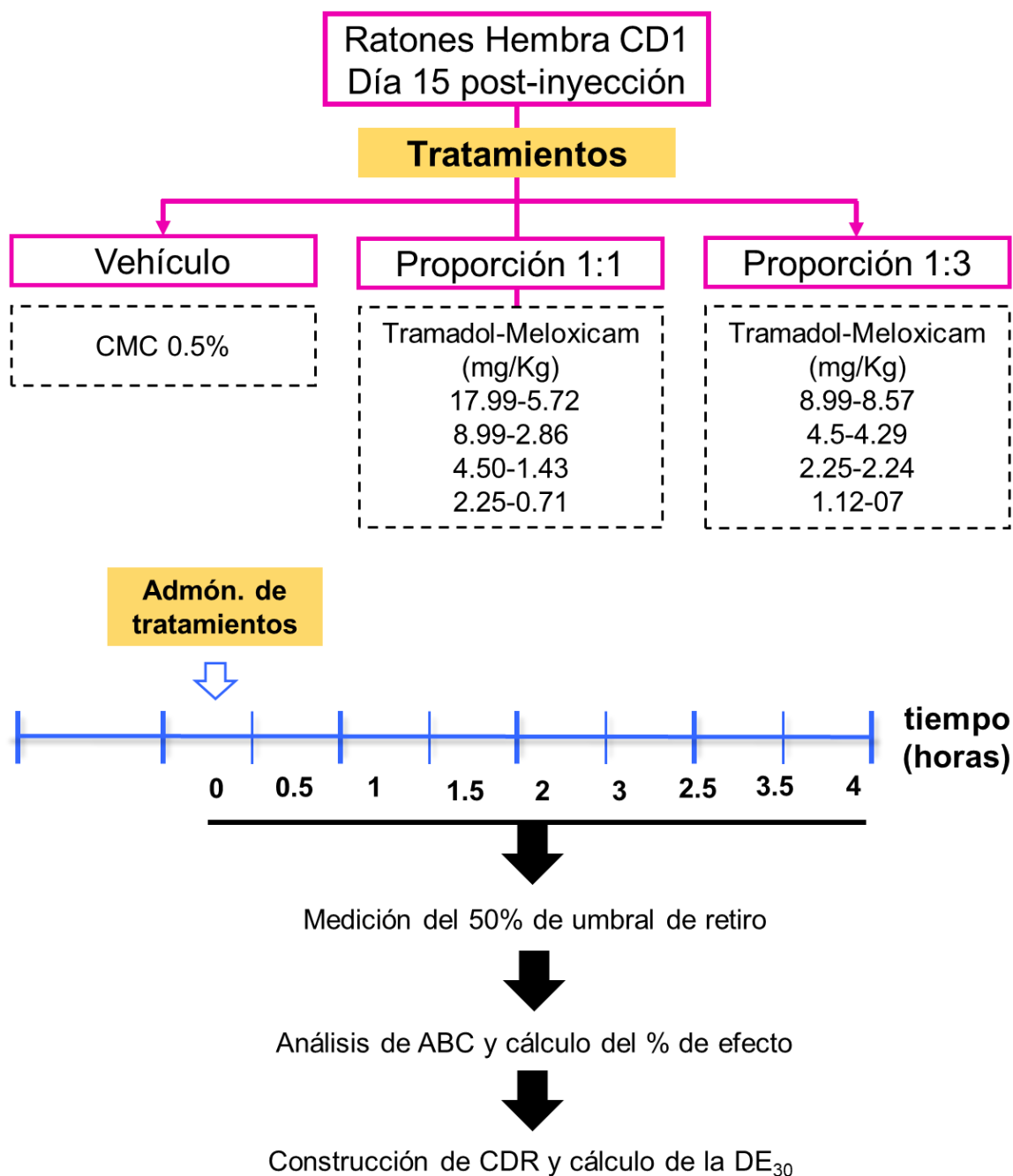


Figura 20. Determinación el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam, en las proporciones 1:1, 1:3 en un modelo experimental de fibromialgia.

7.7 Isoblograma

Una vez determinadas las DE_{30} de cada fármaco, se evaluó experimentalmente el efecto de las combinaciones en las proporciones 1:1 y 1:3 de tramadol y meloxicam. Con la curva cada dosis repuesta de cada proporción se determinó la DE_{30} experimental de la combinación. Con estos datos se construyó un Isoblograma. Para esto se trazó la línea de aditividad se trazó graficando la DE_{30} de meloxicam en el eje Y, y la DE_{30} de tramadol en el eje de X, posteriormente se graficó la DE_{30} teórica de la combinación. Posteriormente determinar el tipo de interacción farmacológica se calculó a partir de las siguientes ecuaciones:

$$I = DE_{30} * \rho$$

Donde ρ es la proporción total del fármaco A y B en la combinación:

$$\rho = f * DE_{30exp} / DE_{30 teórica}$$

Una vez determinado el punto de interacción se gráfica y partir de este se determina el tipo de interacción que se establece entre los fármacos por medio del Isoblograma. Por último, para confirmar el tipo de interacción farmacológica vista en el Isoblograma se hace un análisis estadístico que consiste comparar la DE_{30} teórica y DE_{30} experimental mediante una prueba t de student y para calcular el 95% de intervalo de confianza y la varianza.

7.8 Análisis estadístico

Los resultados se expresan como el promedio de 6-8 animales \pm el error estándar de la media (SEM). El cálculo de área bajo la curva (ABC) se realizó mediante el método de los trapezoides a partir de los cursos temporales del efecto antialodínico vs tiempo. Para determinar si existían diferencias estadísticas se realizó análisis de varianza de (ANOVA) una vía seguido de la prueba de Dunnett para comparar más de dos grupos experimentales de un mismo tratamiento, y ANOVA de dos vías, de medidas repetidas, seguido de la prueba de Bonferroni cuando se compararon grupos con dos factores (dosis, tiempo). Se consideró que existe una diferencia estadísticamente significativa cuando el valor de P fue menor a 0.05.

8. RESULTADOS

En el presente proyecto se determinó el efecto de la combinación tramadol-meloxicam en la alodinia mecánica inducida por lesión de nervios periféricos, es decir, en un modelo de dolor neuropático. Para cumplir con este objetivo se caracterizó el curso temporal del desarrollo de alodinia mecánica en ratones naïve, sham y con neuropatía (SNI), los días 0, 7, 14 y 21 después de la cirugía. En los ratones naïve se encontró que el valor basal de 50% de umbral de retiro (día 0) fue de 1.1 ± 0.11 g y 1.1 ± 0.12 g para la extremidad izquierda y derecha, respectivamente. Lo anterior indica que la evaluación continua con los filamentos de von Frey los días 7, 14 y 21, no modifica el umbral de retiro (Figura 21 A). Así mismo para demostrar que el umbral de retiro no se modifica con la manipulación quirúrgica se evaluó un grupo de ratones sham, donde se observó que este parámetro evaluado los días 7, 14 y 21 post-cirugía se mantiene en valores por arriba de 0.8 g (Figura 21 B). Los valores mayores a 0.8 g del 50% de umbral de retiro se consideran normales, lo que indica que el proceso quirúrgico per se no produce alodinia mecánica. En contraste con los ratones a los que se les realizó la axotomía parcial del nervio ciático, donde se observó que los valores del 50% de umbral de retiro disminuyeron a valores por debajo de 0.4 g en comparación con el valor basal (1.01 ± 0.1 g). Esta disminución se observó a partir del día 7 y hasta el día 21 post-axotomía (Figura 21 C). Cabe resaltar que valores de 50% de umbral de retiro iguales o menores a 0.4 g del umbral de retiro indican el desarrollo de alodinia mecánica, evidenciando que la alodinia mecánica observada en la pata ipsilateral se debe a la axotomía parcial del nervio ciático. Finalmente, el análisis de Área Bajo la Curva (ABC) calculada a partir de los cursos temporales mostró de forma más clara que no existen diferencias significativas entre el grupo naïve y el grupo sham. Sin embargo, si existe una diferencia estadísticamente significativa del ABC de la pata ipsilateral de ratones con SNI, en comparación con el ABC de la pata contralateral y el ABC de las patas ipsilateral y contralateral en ratones naïve y sham.

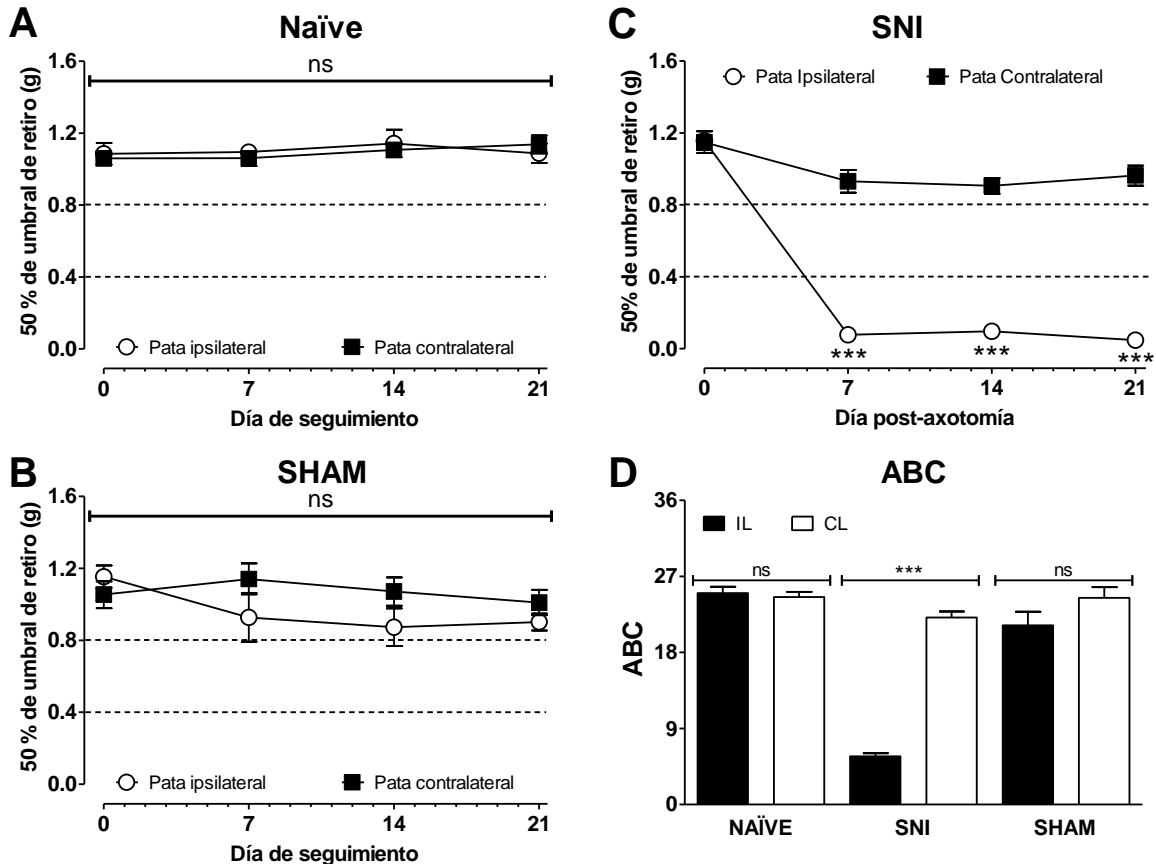


Figura 21. Curso temporal del 50% de umbral de retiro en ratones naïve (A), sham (B) y con dolor neuropático (C) En D los datos se expresan como el área bajo la curva (ABC) calculada a partir de los cursos temporales en A, B y C. Notar que el 50% de umbral de retiro de la pata ipsilateral (IL) de ratones con axotomía parcial del nervio ciático (SNI), en comparación con el umbral de retiro de la pata ipsilateral (IL) o contralateral (CL) de ratones naïve o sham, es menor a 0.4 g lo que indica el desarrollo de alodinia mecánica. Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. *** $P < 0.001$. ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (cursos temporales); ANOVA de una vía seguido de la prueba de Tukey (gráfica de barras). ns: no significativo; IL: Pata ipsilateral; CL: Pata contralateral; SNI: axotomía parcial del nervio ciático.

8.1 Efecto de tramadol y meloxicam en la alodinia mecánica inducida por la axotomía parcial del nervio ciático

Para determinar si el tramadol disminuye la alodinia mecánica en ratones con 21 días post-axotomía, se les administró dosis crecientes de tramadol (0.3 a 131.5 mg/Kg, i.p.). Los resultados muestran que tramadol a las dosis de 0.3 y 3 mg/Kg no incrementó el 50% de umbral de retiro en ninguno de los tiempos evaluados, mientras que, con las dosis de 10, 30, 100 y 131.5 mg/Kg se observó un aumento estadísticamente significativo en comparación con el grupo tratado con vehículo. El efecto antialodínico inicio a las 0.5 horas después de la administración con una

duración de 3 horas mientras que el efecto máximo se observó entre las 1.5 y 2 horas post-administración (Figura 22 A, B). El análisis de ABC mostró que el tramadol posee un efecto antialodínico dependiente de la dosis, que es estadísticamente significativo a partir de la dosis de 10 mg/Kg en comparación con el vehículo (Figura 22 C). También se observó que el efecto máximo de tramadol se alcanza a la dosis de 100 y 131.5 mg/Kg (46.9% y 54.2%, respectivamente).

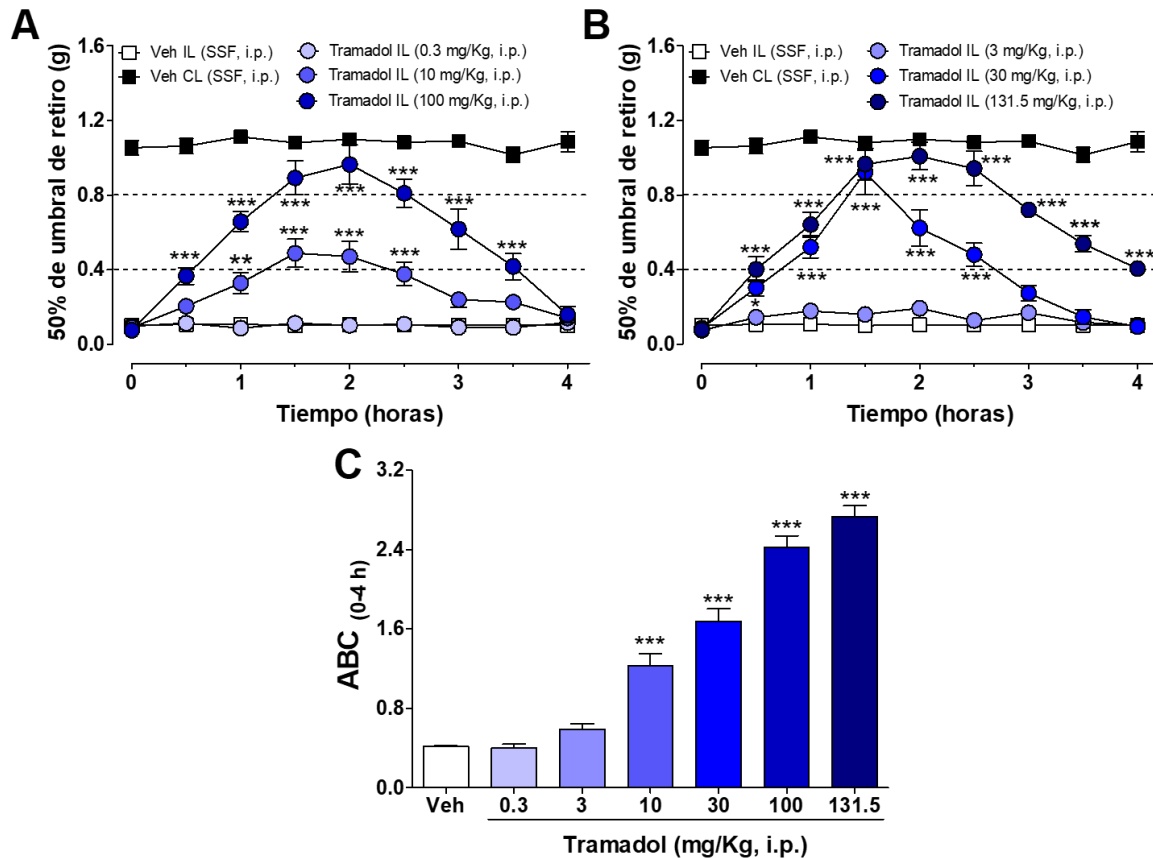


Figura 22. Efecto antialodínico del tramadol en el modelo de axotomía parcial del nervio ciático en ratón. Panel A y B cursos temporales del efecto de dosis crecientes de tramadol en la alodinia mecánica. Panel C. Curva dosis respuesta (CDR) del efecto antialodínico de tramadol expresado como ABC calculada a partir de los cursos temporales. Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ con respecto al vehículo por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (cursos temporales) o ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett (Gráfica de barras). Veh: Vehículo; ns: no significativo; SSF: solución salina fisiológica; IL: Pata ipsilateral; CL: Pata contralateral; i.p. intraperitoneal.

Por otro lado, para determinar si el meloxicam disminuía la alodinia mecánica inducida por la axotomía parcial del nervio ciático, se administró meloxicam en dosis crecientes (2.74 a 30 mg/Kg, i.p.) al día 21 post-axotomía. Los resultados mostraron que meloxicam no revierte la alodinia mecánica a ninguna de las dosis evaluadas (Figura 23), por lo tanto, meloxicam no posee efecto antialodínico en este modelo de dolor neuropático.

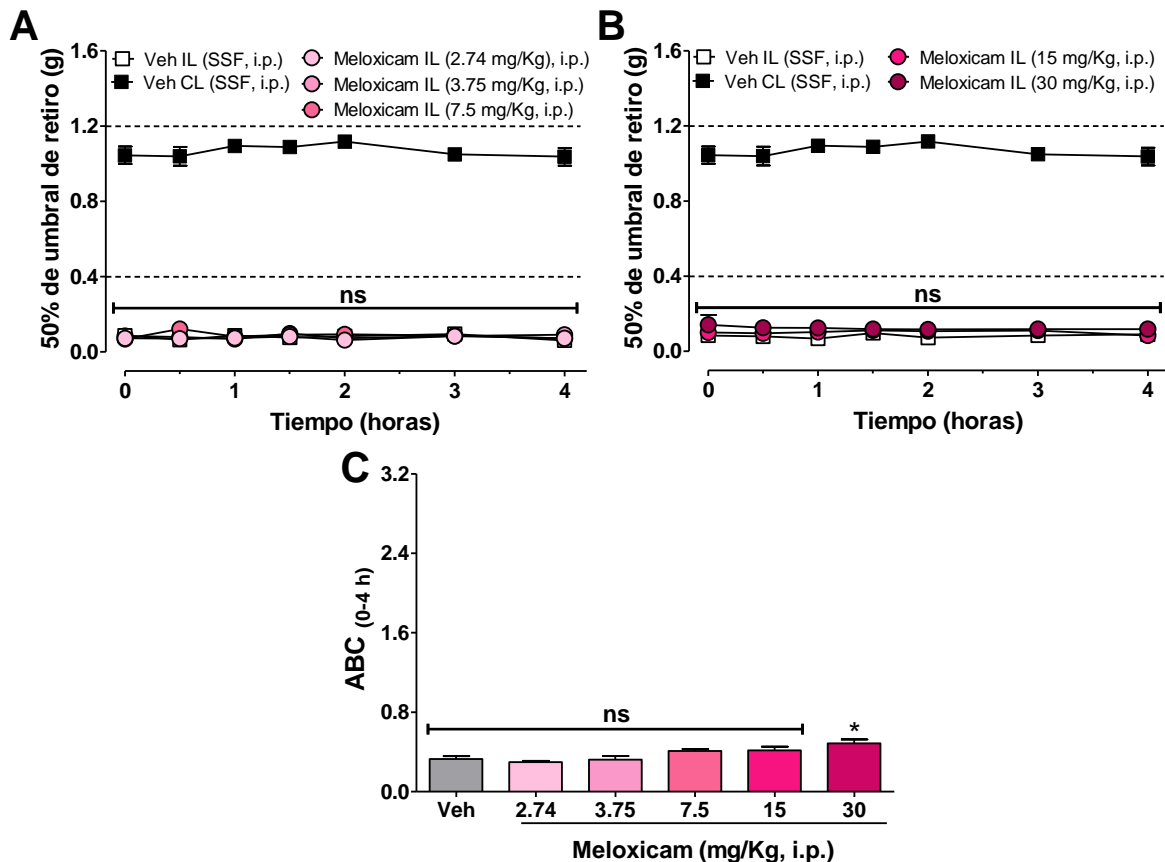


Figura 23. Efecto antialodínico del meloxicam en el modelo de axotomía parcial del nervio ciático en ratón. Panel A y B cursos temporales del efecto de dosis crecientes de meloxicam en la alodinia mecánica. Panel C. Curva dosis respuesta (CDR) del efecto antialodínico de meloxicam expresado como Área Bajo la Curva (ABC) calculado a partir de los cursos temporales. Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ con respecto al vehículo por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (cursos temporales) o ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett (Gráfica de barras). Veh: Vehículo; no significativo; SSF: solución salina fisiológica; IL: Pata ipsilateral; CL: Pata contralateral; i.p.: intraperitoneal.

8.2 Curva dosis respuesta del efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo de dolor neuropático inducido por la axotomía parcial del nervio ciático.

En la Figura 24 se muestran las curvas dosis respuesta de tramadol y meloxicam que se construyeron a partir del análisis de ABC. En la Figura 23 A, se observó que tramadol tiene efecto dependiente de la dosis y el efecto máximo se obtiene a las dosis de 100 y 131.5 mg/Kg. Adicionalmente, con la finalidad de calcular la DE_{30} , se analizó la CDR linealizada de tramadol por el método de mínimos cuadrados donde se determinó que la DE_{30} experimental de tramadol fue 24.79 ± 2.12 mg/Kg en el modelo de dolor neuropático (Figura 24 B). Por último, en la CDR de meloxicam se encontró que no tiene efecto antialodínico a ninguna de las dosis evaluadas, por lo tanto, no se puede calcular la DE_{30} (Figura 24 C). Esto evidencia que meloxicam no es efectivo para el tratamiento del dolor neuropático, por lo que las dosis que se emplearon en las combinaciones con tramadol fueron seleccionadas con base en los resultados obtenidos en estudios previos de nuestro laboratorio [180.181].

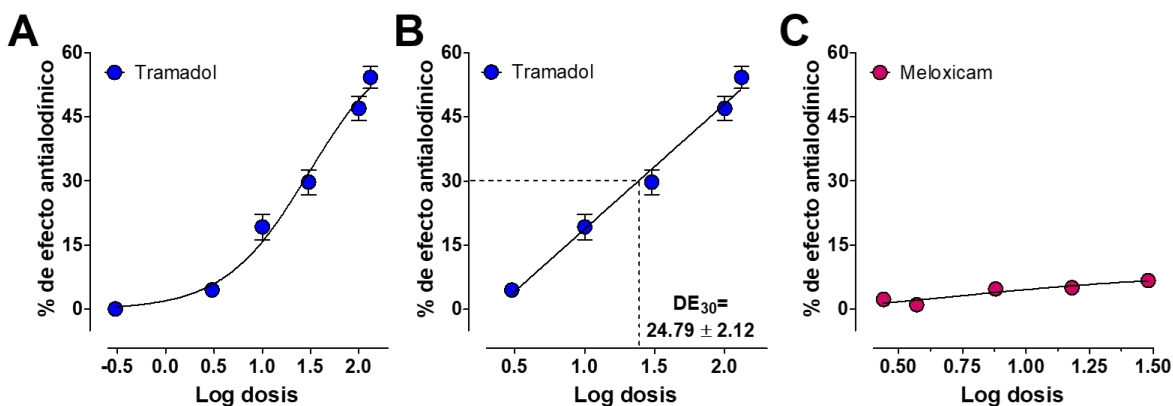


Figura 24. Curva dosis respuesta del efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo de dolor neuropático en ratón. Panel A y C se muestra la curva dosis respuesta de tramadol y meloxicam. En el panel B se muestra la linealización de la curva de tramadol de donde se obtuvo la DE_{30} . Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM.

8.3 Evaluación del efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático

Para determinar el efecto de la combinación tramadol-meloxicam en el dolor neuropático se evaluó el efecto de dosis crecientes de tramadol en presencia de a) meloxicam 2.74 mg/Kg y b) meloxicam 7.5 mg/Kg. En la Figura 25 A, B se muestran los cursos temporales del efecto antialodínico de las combinaciones de meloxicam (dosis fija de 2.74 mg/Kg, i.p.) con dosis crecientes de tramadol (6.2 a 74.71 mg/Kg, i.p.). Se observó que todas las combinaciones evaluadas revierten la alodinia mecánica en comparación con el grupo tratado con vehículo. El efecto inicia a las 0.5 horas después de la administración y dura aproximadamente 3 horas. El efecto máximo se presenta entre 1.5 y 2 horas post-administración. Es importante notar que de esta serie, la combinación meloxicam 2.74 y tramadol 74.71 mg/Kg es la que produce el mayor efecto antialodínico y su efecto máximo alcanza valores de umbral de retiro similares a los que se presentan con los ratones naïve. De forma similar se observó que todas las combinaciones de meloxicam 7.5 mg/Kg con dosis crecientes de tramadol (6.2 a 74.71 mg/Kg, i.p.) producen un efecto estadísticamente significativo en comparación con el vehículo. Sin embargo, es importante notar que el efecto antialodínico observado con esta serie es mucho mayor que el observado con la serie de meloxicam 2.74 mg/Kg en combinación con tramadol. Esto es más evidente con las combinaciones de meloxicam 7.5 y tramadol 49.71 o 74.71 mg/Kg, en donde el efecto máximo se mantiene por dos horas y la duración del efecto es mayor de 4 horas (Figura 25 D, E). En las gráficas de ABC se observó claramente que las diferentes combinaciones producen un efecto dependiente de la dosis y estadísticamente significativo en comparación con el grupo tratado con vehículo para ambas series. La eficacia máxima fue de $70.3 \pm 2.4\%$ y $93.7 \pm 1.6\%$ para la serie de meloxicam 2.74-tramadol y meloxicam 7.5-tramadol, respectivamente en el modelo de dolor neuropático inducido por la axotomía parcial del nervio ciático (Figura 25 C, F).

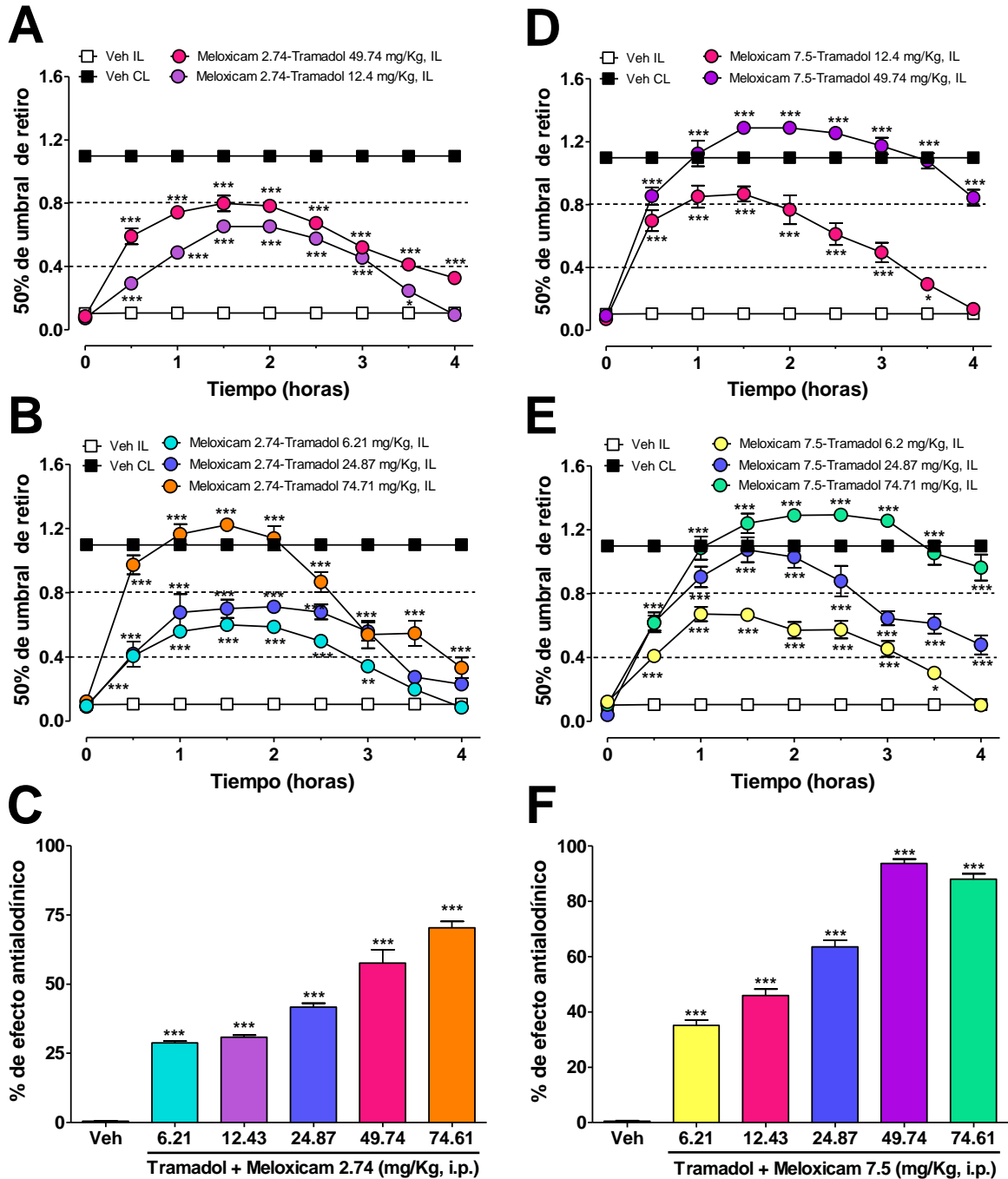


Figura 25. Evaluación del efecto antialodínico de las combinaciones tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático en ratón. Se presentan los cursos temporales del efecto antialodínico de la serie de combinaciones meloxicam 2.74 y tramadol (A, B) y meloxicam 7.5-tramadol (D, E), así como el análisis área bajo la curva (ABC) calculado a partir de los cursos temporales (C, F). Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ con respecto al vehículo por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (cursos temporales) o ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett (Gráfica de barras). Veh: Vehículo; IL: Pata ipsilateral; CL: Pata contralateral; i.p.: intraperitoneal.

A partir de los datos de ABC se construyeron las CDR de las dos series de combinaciones y se compararon con la CDR de cada uno de los fármacos. En la Figura 26 se observó que la adición de meloxicam (MLX) a las dosis de 2.74 mg/Kg generó un desplazamiento a la izquierda de la CDR de tramadol, lo que indica un incremento significativo en la potencia, este efecto es mayor cuando se adiciono meloxicam a la dosis de 7.5 mg/Kg. Es importante notar que la eficacia máxima de tramadol en el modelo de dolor neuropático fue de $54.2 \pm 2.54\%$ y este se alcanzó a la dosis de 131.5 mg/Kg. En contraste la eficacia máxima de la serie meloxicam 2.74mg/Kg-tramadol fue de $70.31 \pm 2.42\%$ y se obtuvo con la combinación tramadol 74.61 y meloxicam 2.74 mg/Kg. De forma similar con la serie de combinaciones de meloxicam 7.5 mg/Kg-tramadol se obtuvo una eficacia máxima de $93.74 \pm 1.55\%$ con la combinación de tramadol 49.74 y meloxicam 7.5 mg/Kg. Estos resultados mostraron que el meloxicam incrementa de manera importante la eficacia de tramadol (Figura 26). Finalmente se calculó la DE_{30} experimentales para las series de tramadol-meloxicam 2.74 mg/Kg y tramadol-meloxicam 7.5 mg/Kg las cuales son 9.22 ± 2.02 y 6.08 ± 1.27 mg/Kg, respectivamente.

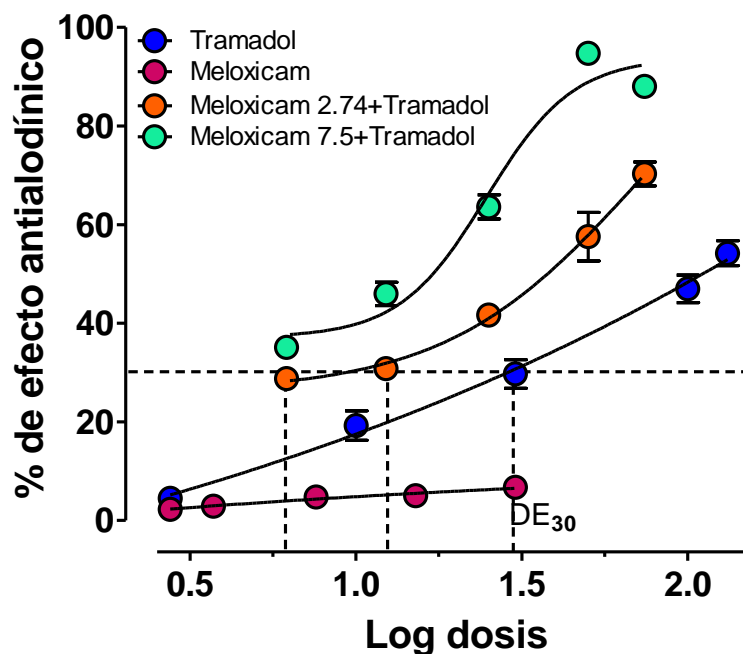


Figura 26. Curva dosis-respuesta del efecto antialodínico de tramadol y la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático en ratón. Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. DE_{30} : Dosis efectiva 30.

En la Tabla 8 se muestran las dosis efectivas teóricas y experimentales para cada dosis fija y sus respectivos índices terapéuticos que confirman que las combinaciones tienen un efecto sinérgico.

Tabla 8 Valores teóricos y experimentales de las DE₃₀ de las combinaciones de tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático.

Parámetros	Dosis fija 2.74 mg/Kg	Dosis fija 7.5 mg/Kg
DE ₃₀ teórica (Zadd, mg/Kg)	27.61± 1.95	32.37 ± 2.11
DE ₃₀ experimental (Zexp, mg/Kg)	9.22 ± 2.02*	6.08 ± 1.27*
Índice de interacción	0.33	0.18

*P < 0.05 indica sinergismo

8.4 Efecto de naloxona sobre el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de dolor neuropático experimental

Adicionalmente para determinar si existe participación del sistema opioide en el mecanismo de acción de las combinaciones se utilizó naloxona un fármaco antagonista de los receptores opioides. Para esto se administraron las combinaciones más efectivas de cada proporción en conjunto con naloxona en el modelo de dolor neuropático. En la Figura 27 A y C se muestran los cursos temporales de las combinaciones más efectivas la cuales son meloxicam 2.74 + tramadol 74.71 y meloxicam 7.5 + tramadol 49.74 en conjunto con naloxona 1mg/Kg, donde se observó una disminución del efecto antialodínico en comparación con las combinaciones por sí solas. Posteriormente se realizó el análisis de Área Bajo la Curva donde se muestra de forma más clara que existe una disminución del efecto antialodínico de 36.23 ± 1.06% para la combinación meloxicam 2.74 + tramadol 74.71, mientras que para la combinación meloxicam 7.5 + tramadol 49.74 fue de 38.47± 2.26% (Figura 27 C y D). Estos resultados sugieren que la combinación de tramadol y meloxicam produce una interacción sinérgica funcional que involucra receptores de opioides.

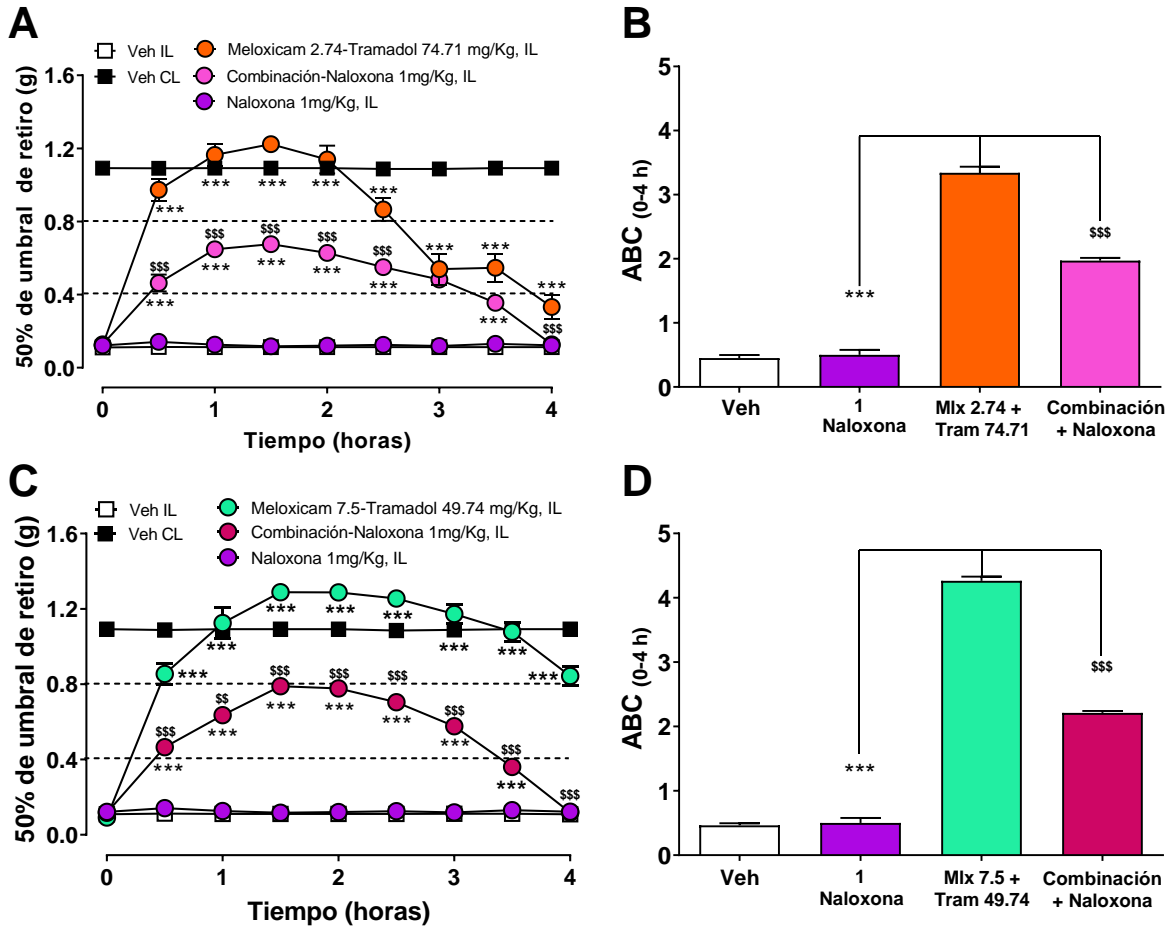


Figura 27. Curso temporal del efecto de naloxona en la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de murino de dolor. En la gráfica se observa que naloxona disminuye el efecto de las combinaciones más eficaces lo que indica existe participación de los receptores opioides en el mecanismo de acción. Cada punto representa el promedio de 6-8 animales \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ con respecto al vehículo; \$ $P < 0.05$, \$\$ $P < 0.01$, \$\$\$ $P < 0.001$ con respecto a la combinación sola por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (cursos temporales) o ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett (Gráfica de barras). Veh: Vehículo; Mix: meloxicam; Tram: Tramadol; IL: Pata Ipsilateral; CL: Pata contralateral; i.p.: intraperitoneal.

8.5 Implementación de un modelo de fibromialgia experimental inducida por la inyección repetida de solución salina ácida

Uno de los objetivos de este proyecto fue determinar si tramadol o meloxicam eran capaces de revertir la alodinia mecánica inducida por la administración repetida de solución salina ácida en el músculo gastrocnemio, el cual es un modelo de fibromialgia experimental. Para cumplir con este objetivo fue necesario implementar y validar el modelo en nuestras condiciones experimentales. Para esto el primer paso fue determinar si el 50% de umbral de retiro se modificaba con 1) la medición

continua (cada 3 días por 30 días) y 2) dos inyecciones en el músculo gastrocnemio con PBS pH=7.4 (grupo sham). En la figura 28 A se observa el curso temporal del 50% de umbral de retiro en ratones sham hembras y machos evaluado los días 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 y 30. Se encontró que el valor de 50% de umbral de retiro al día 0 (valor basal) fue de 1.18 ± 0.20 g y 1.18 ± 0.22 g para la pata posterior izquierda y derecha, respectivamente, lo que muestra que los valores del 50% de umbral de retiro en ambas extremidades son iguales y no varía entre hembras y machos. Adicional a esto, la medición de este parámetro en ratones sham a lo largo de 30 días en intervalos de 3 días mostro que el umbral de retiro se mantuvo aproximadamente en 1.15 ± 0.09 g en hembras mientras que en machos fue de 1.16 ± 0.05 g para ambas extremidades. Esto demuestra que la inyección por sí sola no produce cambios significativos en el 50% de umbral de retiro. En la Figura 28 B, se muestra el análisis de ABC donde se observó de forma más clara que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores de ABC de la pata ipsilateral y contralateral de cada grupo, así mismo al comparar hembras y machos tampoco existe diferencia en los valores ABC.

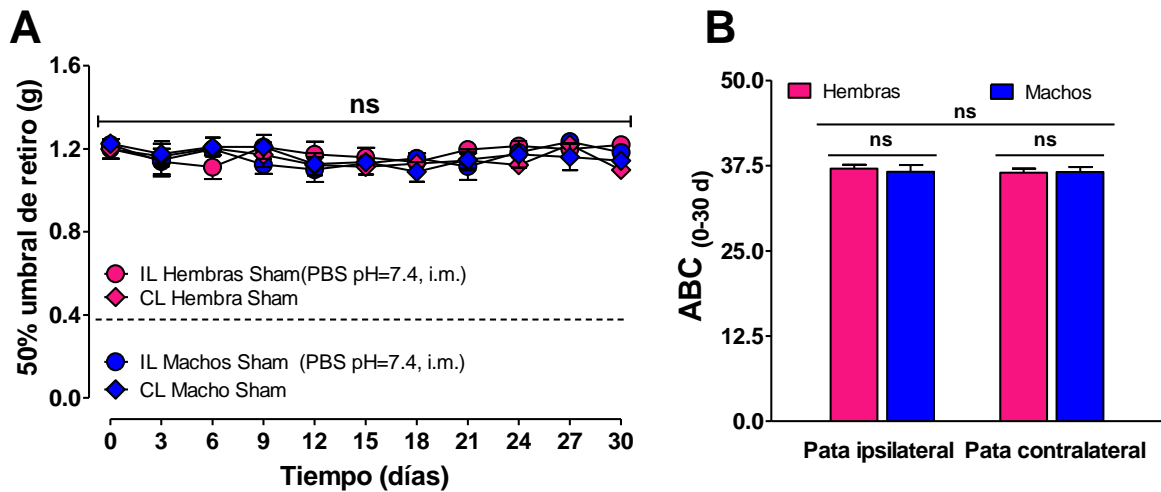


Figura 28. Curso temporal del 50% de umbral de retiro en ratones sham hembras y machos. Panel A. Se muestra el curso temporal del 50% de umbral de retiro en ratones sham. Notar que en todos los puntos evaluados el 50% de umbral de retiro se mantienen en valores por arriba de 1 g en todos los grupos experimentales. Panel B los datos se presentan como el Área Bajo la Curva calculada a partir de los cursos temporales. Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (cursos temporales); ANOVA de una vía seguido de la prueba de Tukey (Gráfica de barras). ns: no significativo; i.m. intramuscular.

El segundo paso fue caracterizar el curso temporal del desarrollo de alodinia mecánica tanto en hembras como en machos iniciando al día 3 después de la primera inyección durante un periodo de 30 días en intervalos de 3 días. Los resultados mostraron que los valores de 50% de umbral de retiro disminuyeron de forma significativa a partir del día 3, tanto en la pata ipsilateral como contralateral, de hembras y machos. Sin embargo, fue en los días 6, 9, 12, 15 y 18 post-inducción donde se observó valores menores o iguales a 0.4g, lo que indica el desarrollo de alodinia mecánica. Posteriormente, a partir del día 21 la alodinia empieza a revertirse espontáneamente hasta que los ratones regresan nuevamente a valores basales al día 30 post-inyección. Lo anterior evidencia que este esquema de administración de solución salina ácida en el músculo gastrocnemio produce alodinia mecánica bilateral en hembras y machos que se mantiene por al menos 12 días (Figura 29 A). Posteriormente en el análisis de Área Bajo la Curva se mostró que existe una disminución significativa de este parámetro en la pata ipsilateral y contralateral de ratones hembra y macho tratados con solución salina ácida en comparación con el grupo sham (PBS 0.1M, pH=7.4) (Figura 29 B). Con base en los resultados anteriores, la evaluación del efecto antialodínico de gabapentina tramadol, meloxicam o las combinaciones se realizó el día 15 post-inyección, es decir cuando existe alodinia establecida.

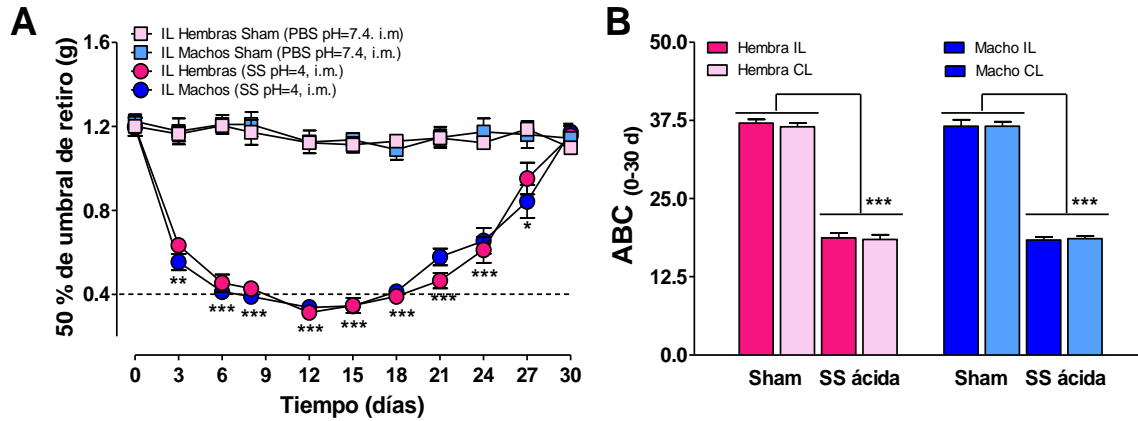


Figura 29. Caracterización del desarrollo de alodinia mecánica inducida por la inyección repetida de solución salina ácida en ratones hembra y macho. A. Curso temporal de alodinia mecánica en ratones sham y con solución salina ácida en la pata ipsilateral. Panel C Área Bajo la curva (ABC) calculada a partir de los cursos temporales. Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ con respecto al vehículo por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (cursos temporales) o ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett (Gráfica de barras). SS: solución salina; IL: Pata ipsilateral; CL: Pata contralateral; i. m. intramuscular.

El tercer paso fue validar el modelo de fibromialgia inducido por solución salina ácida, para esto se utilizó gabapentina un fármaco ampliamente utilizado en el tratamiento de la fibromialgia en humanos. Se observó que gabapentina (GBP) a la dosis de 100 mg/Kg incrementó el 50% de umbral de retiro en la pata ipsilateral como contralateral, a partir de la primera hora post-administración y alcanza su efecto máximo antialodínico entre las 2 y 3 horas post-inyección. El efecto antialodínico de gabapentina disminuyó a partir de la hora 3 indicando que la duración del efecto fue de 5 horas (Figura 30 A). El análisis de Área Bajo la Curva (ABC) mostró que la gabapentina disminuyó la alodinia en un $57.34 \pm 7.52\%$ y $55.54 \pm 8.23\%$ en la pata ipsilateral y contralateral, respectivamente (Figura 30 B).

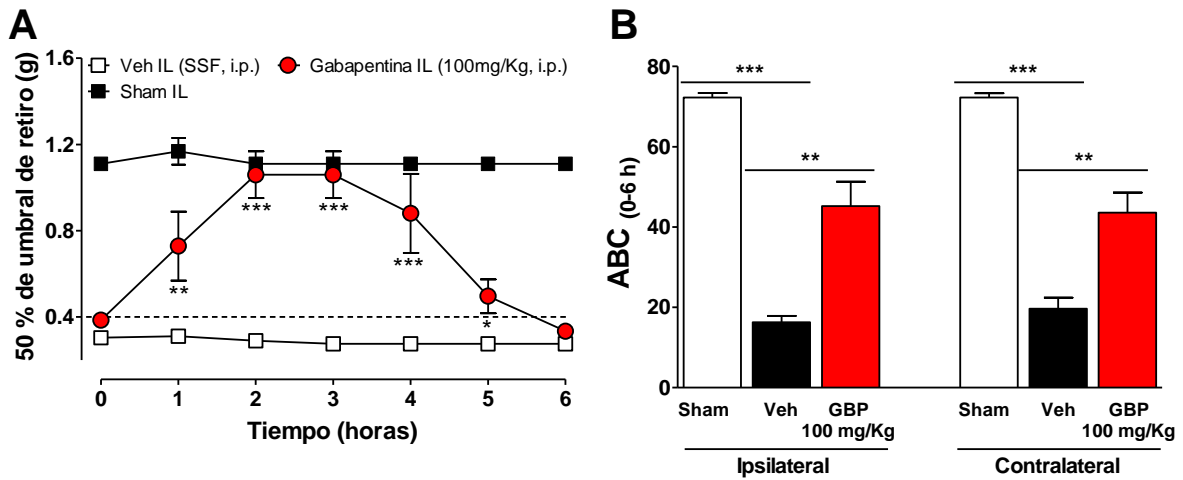


Figura 30. Efecto de la gabapentina en la alodinia mecánica inducida por solución salina ácida. Panel A. Curso temporal del efecto antialodínico de gabapentina en la pata ipsilateral. Panel B. Área Bajo la Curva (ABC) calculada a partir de los cursos temporales. Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ con respecto al vehículo por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (Curso temporal) o ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett (Gráfica de barras). Veh: vehículo; SSF: solución salina fisiológica; IL: Pata ipsilateral; CL: Pata contralateral; i.p. intraperitoneal; GPB: gabapentina.

8.6 Evaluación del efecto de tramadol en la alodinia mecánica inducida por la inyección repetida de solución salina ácida

Para determinar el efecto de tramadol en la alodinia mecánica, se administraron dosis crecientes de tramadol (0.3 a 131.5 mg/Kg, i.p.) en ratones al día 15 post-inyección. En la Figura 31 A, B se muestran los cursos temporales del efecto de tramadol en la alodinia mecánica durante un periodo de 4 horas. Donde se encontró que el tramadol a las dosis de 0.3 y 3 mg/Kg no incremento el 50% de umbral de retiro a ninguno de los tiempos evaluados, mientras que, a las dosis de 10, 30, 100 y 131.5 mg/Kg se observó un aumento estadísticamente significativo en comparación con el grupo tratado con vehículo. El efecto antialodínico inicio a las 0.5 horas después de la administración con una duración de 3 horas mientras que el efecto máximo se observó entre las 1.5 y 2 horas post-administración (Figura 31 A, B). El análisis de Área Bajo mostró que el tramadol posee efecto antialodínico dependiente de la dosis, que es estadísticamente significativo a partir de la dosis de 10 mg/Kg, en comparación con el grupo tratado con vehículo. La eficacia máxima de tramadol se alcanzó a la dosis 100 y 131.5 mg/Kg la cual fue de 38.65 ± 3.75 y $40.54 \pm 3.85\%$, respectivamente. Es importante mencionar que no existen diferencias en los valores de ABC entre la pata ipsilateral y contralateral lo que evidencia que el efecto de tramadol se presenta de manera bilateral.

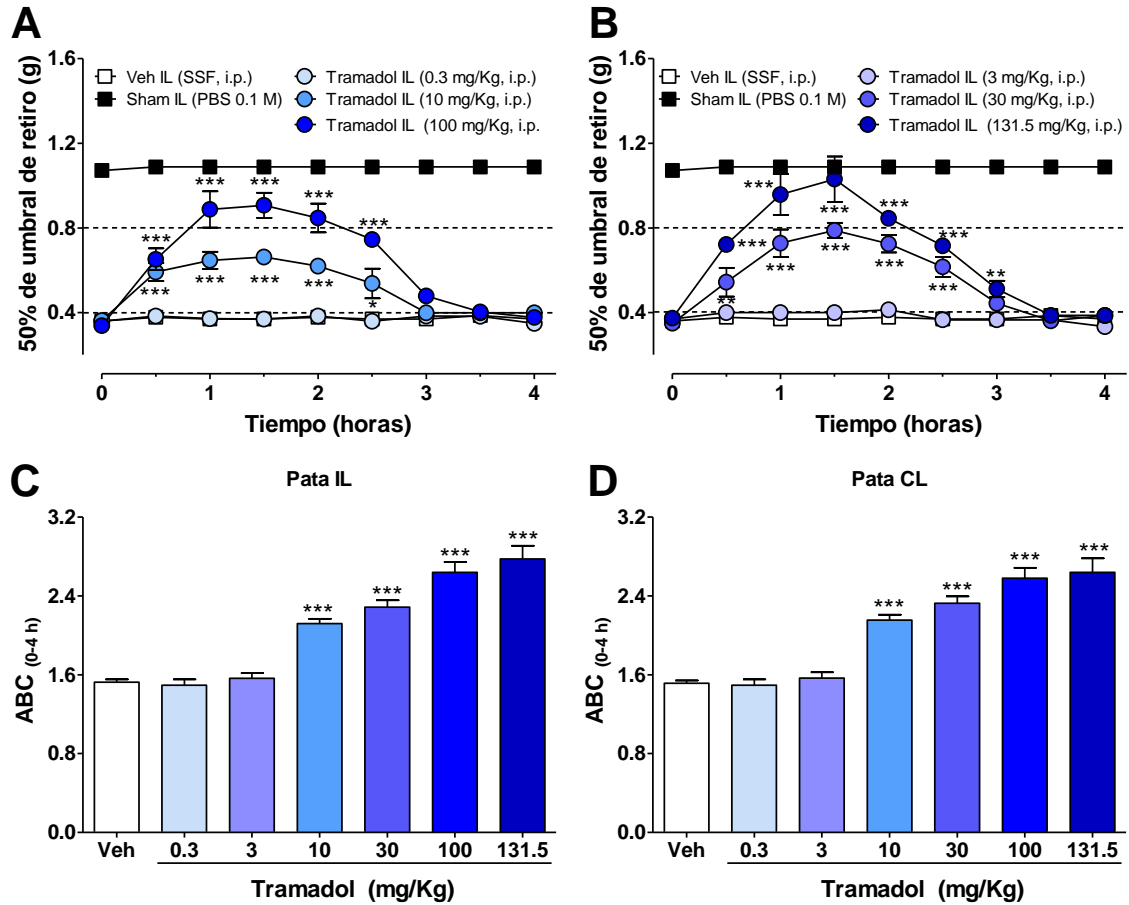


Figura 31. Efecto de tramadol en la alodinia mecánica inducida por la inyección i. m. repetida de solución salina ácida. Panel A y B. Cursos temporales del efecto de dosis crecientes de tramadol en la alodinia mecánica. Panel C y D. Efecto antialodínico de tramadol expresado como Área Bajo la Curva (ABC) calculada a partir de los cursos temporales. Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ con respecto al vehículo por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (Cursos temporales) o ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett (Gráfica de barras). Veh: Vehículo; SSF: solución salina fisiológica; IL: ipsilateral; CL: contralateral; i.p. intraperitoneal.

8.7 Evaluación del efecto de la administración aguda de meloxicam en la alodinia mecánica inducida por la inyección repetida de solución salina ácida

Para determinar si meloxicam disminuía la alodinia mecánica se administraron dosis crecientes de meloxicam (3.75 a 30 mg/Kg, i.p.) en ratones al día 15 post-inyección. En la Figura 32 se muestra el efecto de meloxicam en la alodinia mecánica durante un periodo de 4 horas. Los resultados mostraron que meloxicam a la dosis de 3.75 mg/Kg no aumenta de manera significativa el 50% de umbral de retiro, mientras que a las dosis de 7.5, 15 y 30 mg/Kg si existe un aumento significativo en el umbral de retiro en comparación grupo tratado con vehículo. El efecto antialodínico inicio a las 0.5 horas después de la administración con una duración de 2.5 horas mientras que el efecto máximo se observó entre las 1.5 y 2 horas post-administración (Figura 32 A, B). El análisis de Área Bajo la Curva mostró que meloxicam posee efecto antialodínico dependiente de la dosis, que es estadísticamente significativo a partir de la dosis de 7.5 mg/Kg, en comparación con el grupo tratado con vehículo. La eficacia máxima de meloxicam se obtuvo a la dosis 30 mg/Kg la cual fue de $43.79 \pm 4.43\%$. Es importante mencionar que no existen diferencias en los valores de ABC entre la pata ipsilateral y contralateral lo que indica que el efecto de meloxicam se presenta de manera bilateral.

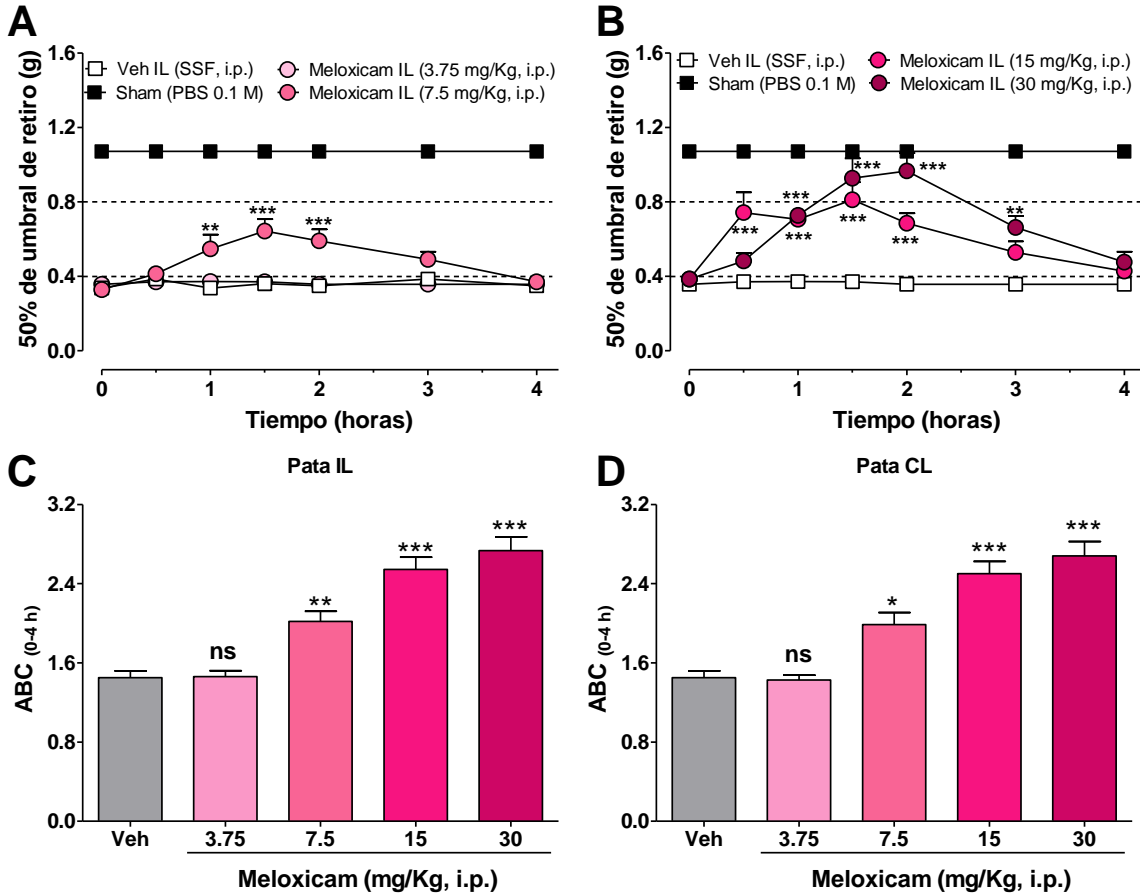


Figura 32. Efecto de meloxicam en la alodinia inducida por la inyección i. m. repetida de solución salina ácida. Panel A y B. Cursos temporales del efecto de dosis crecientes de meloxicam en la alodinia mecánica. Panel C y D efecto antialodínico de meloxicam expresado como Área Bajo la Curva (ABC) calculada a partir de los cursos temporales. Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, *** $p < 0.001$ con respecto al vehículo por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (Cursos temporales) o ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett (Gráfica de barras). Veh: Vehículo; SSF: solución salina fisiológica; IL: Pata ipsilateral; CL: Pata contralateral; i.p. intraperitoneal.

En la Figura 33, se muestran las curvas dosis respuesta del efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo murino de fibromialgia. Donde se analizó la CDR linealizada de tramadol y meloxicam por el método de mínimos cuadrados con la finalidad de determinar las DE₃₀ de cada fármaco (Figura 33 B, D). Finalmente se obtuvo que la DE₃₀ de tramadol fue de 35.98 ± 4.88 mg/Kg, mientras que la DE₃₀ de meloxicam fue 11.43 ± 0.25 mg/Kg.

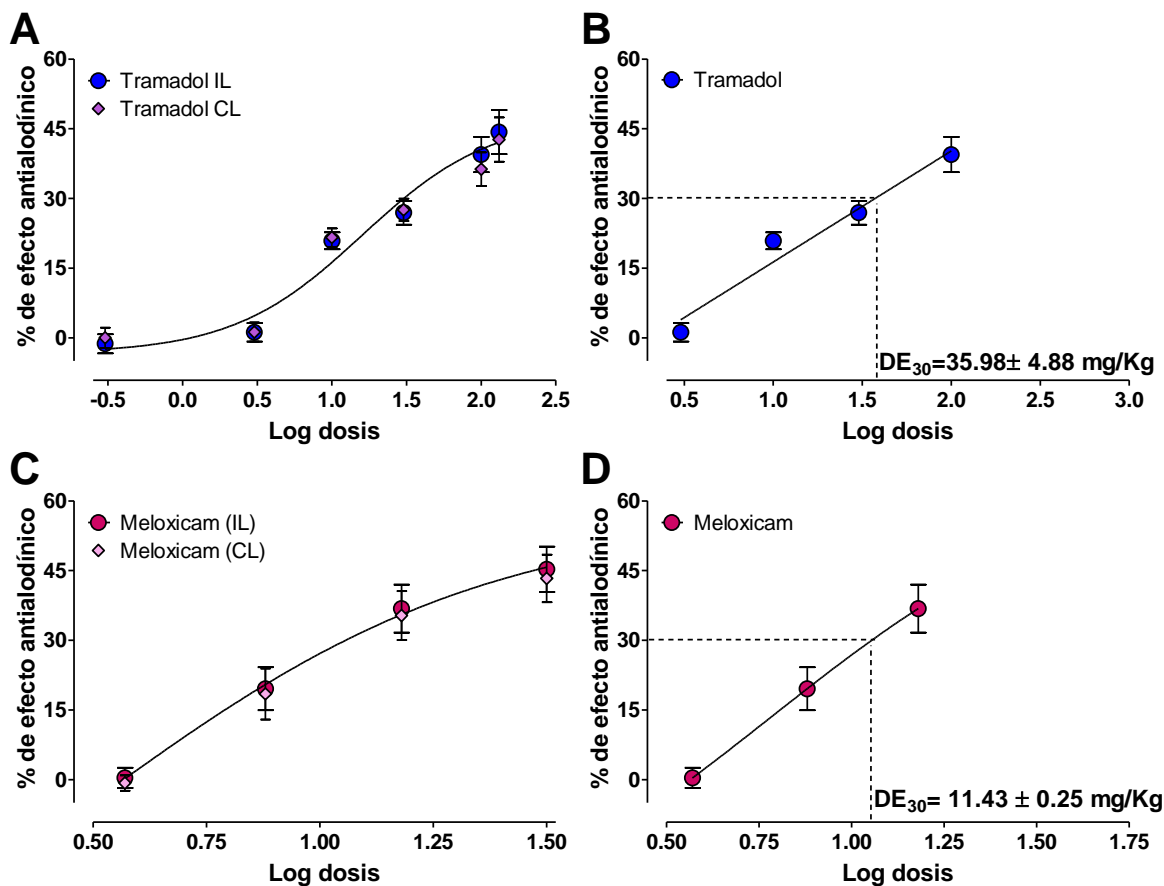


Figura 33. Curva dosis respuesta del efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo de fibromialgia inducido por solución salina ácida. Panel A y C se muestra la curva dosis respuesta de tramadol y meloxicam respectivamente, expresada en % de efecto calculado a partir del ABC. Panel C y D se muestra la linealización de la curva de tramadol y meloxicam a partir de la cual se determinó la DE₃₀. Cada punto representa el promedio de 8 animales ± SEM. IL: Pata ipsilateral; CL: Pata contralateral.

8.8 Evaluación del efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en el modelo de fibromialgia inducido por la inyección repetida de solución salina ácida

Finalmente, para determinar el tipo de interacción farmacológica que se establece entre tramadol y meloxicam, se realizó un análisis isoblográfico. Para esto se evaluó el efecto de la combinación a las proporciones 1:1 y 1:3. En la Figura 34 A se muestran los cursos temporales de las combinaciones para la proporción 1:1. Se observó que el efecto antialodínico comienza a partir de la media hora alcanzando su efecto máximo entre las 1.5 y 2 horas después de la administración y esta empieza a disminuir a partir de las 3.5 a 4 horas post-administración indicando que la duración del efecto fue de 3 a 4 horas dependiendo de la combinación evaluada. La eficacia máxima para esta proporción se produjo a la dosis de tramadol 17.99 mg/Kg en combinación con meloxicam 5.72 mg/Kg produciendo un efecto de $75.09 \pm 2.64\%$. Posteriormente se realizó la correspondiente CDR de las combinaciones para la proporción 1:1 en donde se observa claramente el efecto dependiente de la dosis para estas combinaciones. A partir de esta se obtuvo la DE_{30} experimental para proporción 1:1 la cual fue 4.91 ± 0.57 mg/Kg (Figura 34 B). En la Figura 34 C se muestran los cursos temporales para las combinaciones de la proporción 1:3, donde se observó un comportamiento similar al de la proporción 1:1. El efecto máximo antialodínico para esta proporción, se obtuvo con la combinación meloxicam 8.99 + tramadol 8.57 mg/Kg el cual fue de $79.42 \pm 1.95\%$. Cabe mencionar que con esta dosis el efecto perdura por 6 horas. La curva dosis respuesta para esta proporción mostró un efecto dependiente de la dosis. Finalmente, a partir de esta se obtuvo la DE_{30} experimental para la proporción 1:3 la cual fue 4.43 ± 0.47 mg/Kg (Figura 34 D).

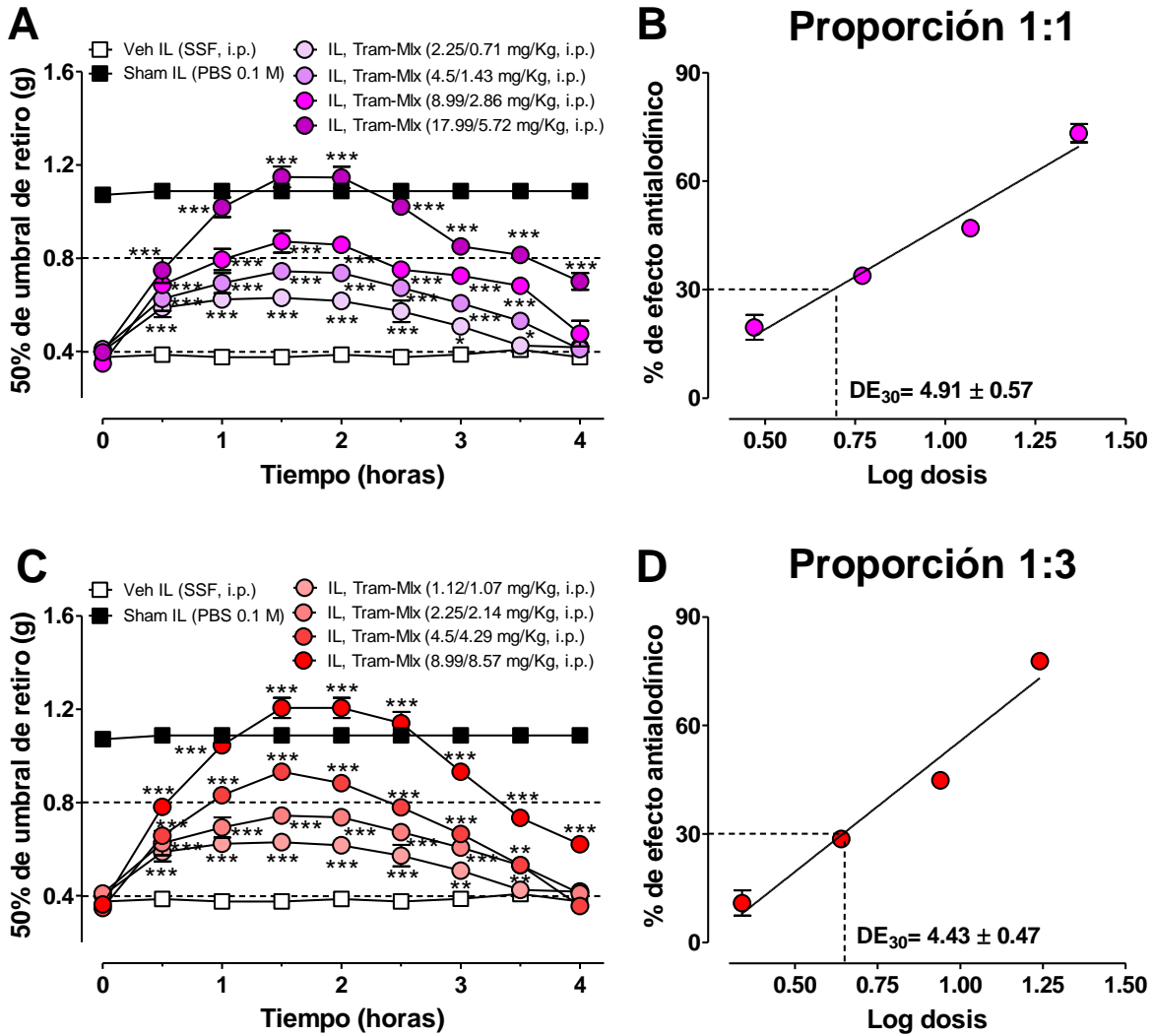


Figura 34. Evaluación del efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de fibromialgia inducido por solución salina ácida. Panel A y C Curso temporal del efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam para la proporción 1:1 y 1:3 respectivamente. Panel B y D. Curva dosis respuesta expresada de la combinación tramadol-meloxicam linealizada por el método de mínimos cuadrados. Cada punto representa el promedio de 8 animales \pm SEM. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ con respecto al vehículo por ANOVA de dos vías, seguido de una prueba de Bonferroni. (Panel A y C). Veh: Vehículo; SSF: solución salina fisiológica; IL: Pata ipsilateral; CL: Pata contralateral; i.p. intraperitoneal; DE_{30} : Dosis efectiva 30 Tram: tramadol; Mlx: meloxicam.

8.9 Determinación del tipo de interacción farmacológica de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de fibromialgia experimental

Como se mencionó anteriormente el Isoblograma nos proporciona una representación gráfica del tipo de interacción que se establece entre dos o más fármacos. Este se construyó a partir de las DE_{30} individuales de tramadol (35.98 ± 4.88 mg/Kg) y meloxicam (11.43 ± 0.25 mg/Kg) graficadas en el eje "X" y "Y"

respectivamente, estos puntos se unen creando la línea de aditividad. Posterior a esto se calcula el índice de interacción a partir de la DE_{30} experimental y p que es el índice de relación entre la DE_{30} experimental y teórica. Una vez que se obtiene el punto de interacción se interpreta el tipo de interacción establecida, si el punto está por debajo de la línea de aditividad es sinergismo, si está cerca o sobre la línea de aditividad es un efecto de sumación y si está por arriba de la línea de aditividad es antagonismo. Basado en esto, en la Figura 35 se muestra el Isoblograma de la combinación tramadol-meloxicam para las proporciones 1:1 y 1:3 donde se observa que ambas proporciones tienen un efecto sinérgico, debido a que los puntos están muy por debajo de la línea de aditividad.

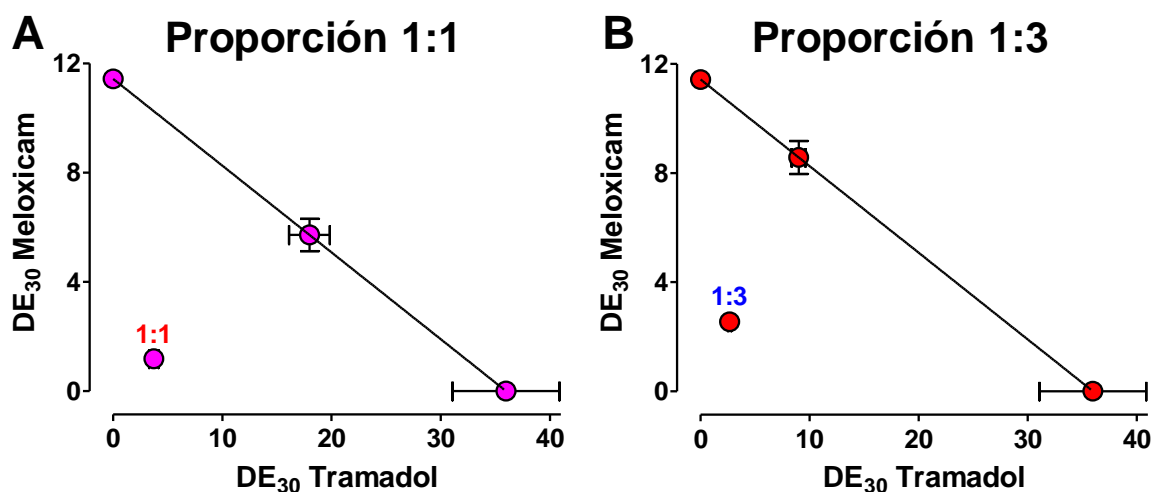


Figura 35. Isoblograma de la combinación de tramadol-meloxicam en un modelo de fibromialgia inducido por la inyección de solución salina ácida. En la gráfica se observa que el punto de interacción está por debajo de la línea de aditividad dando como resultado un efecto sinérgico. Adicional a esto se calculó el índice de interacción el cual es menor a 1 y confirma que la combinación tramadol-meloxicam en las proporciones 1:1 y 1:3 produce un efecto sinérgico. Cada punto representa el promedio de 6-8 animales \pm SEM.

Adicional a esto, en la Tabla 9 se muestran las dosis efectivas teóricas y experimentales para cada proporción y sus respectivos índices terapéuticos que confirman que las combinaciones en las proporciones 1:1 y 1:3 tienen un efecto sinérgico.

Tabla 9. Valores teóricos y experimentales de las DE₃₀ de las combinaciones de tramadol-meloxicam en un modelo de fibromialgia.

Parámetros	Proporción 1:1	Proporción 1:3
DE ₃₀ teórica (Zadd, mg/Kg)	23.7 ± 2.45	17.56 ± 2.88
DE ₃₀ experimental (Zexp, mg/Kg)	4.91 ± 0.57*	4.43 ± 0.47*
Índice de interacción	0.21	0.25

*P < 0.05 indica sinergismo

8.10 Efecto de naloxona sobre el efecto antialodínico de la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de fibromialgia experimental

Adicionalmente para determinar la participación del sistema opioide en el mecanismo de acción de las combinaciones en el modelo de fibromialgia se utilizó naloxona un fármaco antagonista de los receptores opioides. Con esta finalidad se administraron las combinaciones con mayor efecto las cuales son tramadol 17.99 + meloxicam 5.72 mg/Kg y tramadol 8.99 + meloxicam 8.57 mg/Kg en conjunto con naloxona 1mg/Kg y se construyeron los cursos temporales donde se observó una disminución en el efecto antialodínico en comparación con las combinaciones por sí solas. En el análisis de Área Bajo la Curva se muestra de forma más clara que existe una disminución en el efecto de 37.19 ± 1.94 % para la combinación tramadol 17.99 + meloxicam 5.72, mientras que para la combinación tramadol 8.99 + meloxicam 8.57 mg/Kg fue de 40.49 ± 2.01% (Figura 36 C y D). Estos resultados sugieren que la combinación de tramadol-meloxicam produce una interacción sinérgica que involucra receptores de opioides en el modelo de fibromialgia inducida por la inyección repetida de solución salina ácida. Por lo tanto, al presentar efecto sinérgico mediado por los receptores opioides en ambos modelos, esta combinación puede ser una herramienta prometedora en el manejo del dolor crónico.

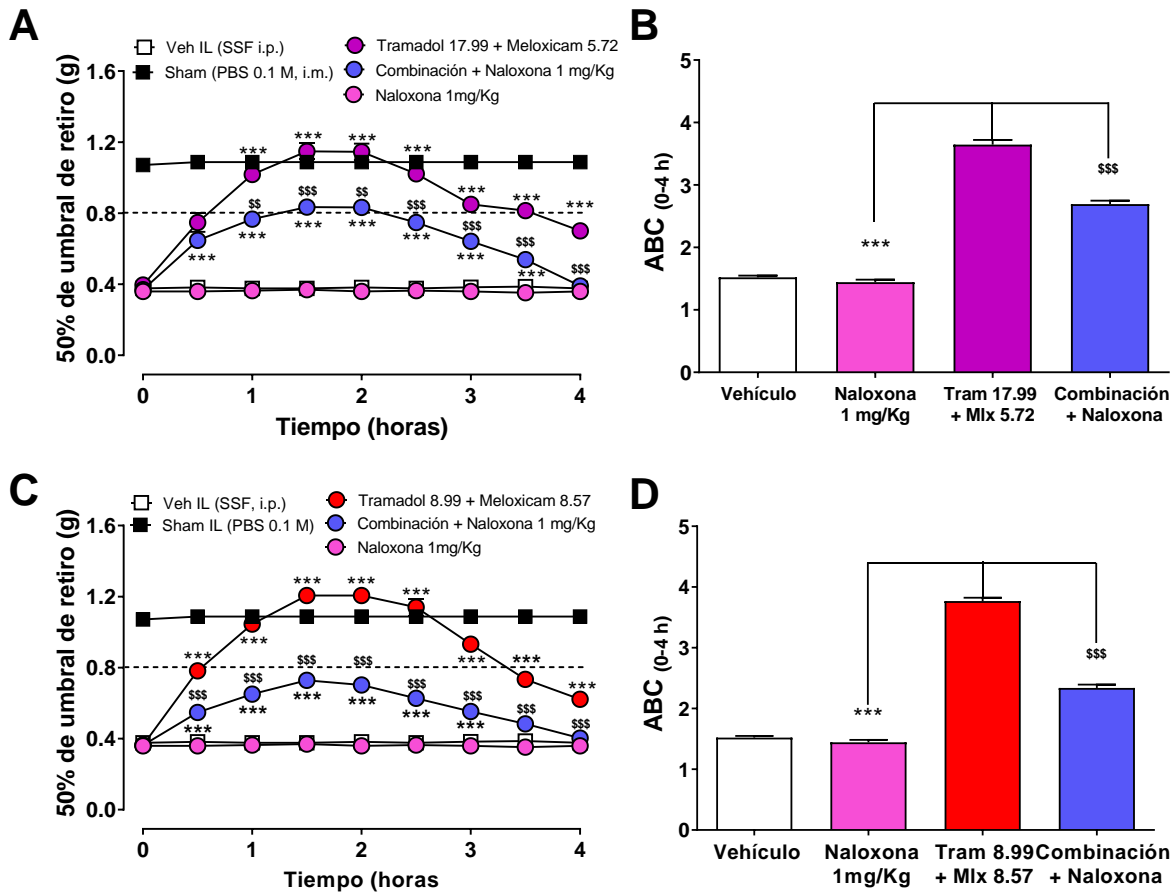


Figura 36. Curso temporal del efecto de naloxona en la combinación tramadol-meloxicam en un modelo de murino de fibromialgia. En la gráfica se observa que naloxona disminuye el efecto de las combinaciones más eficaces lo que indica existe participación de los receptores opioides en el mecanismo de acción. Cada punto representa el promedio de 6-8 animales \pm SEM \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ con respecto al vehículo; \$ $P < 0.05$, \$\$ $P < 0.01$, \$\$\$ $P < 0.001$ con respecto a la combinación sola por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni (cursos temporales) o ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett (Gráfica de barras). Veh: Vehículo; Mix: meloxicam; Tram: tramadol; IL: Pata Ipsilateral; CL: Pata contralateral; i.p.: intraperitoneal.

9. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó la eficacia de la combinación tramadol-meloxicam en dos modelos de dolor crónico con el objetivo de determinar el tipo de interacción farmacológica que se establece entre estos dos fármacos. Lo anterior con la finalidad de determinar su potencial utilidad en el tratamiento agudo del dolor crónico.

El dolor crónico, sin importar cual tipo, es un problema complejo que tiene un impacto negativo en todos los aspectos de la persona que lo padece tanto a nivel individual como familiar. Actualmente es una de las principales causas de sufrimiento en todo el mundo, que adicionalmente es una carga económica sustancial para la sociedad. Aunque el sufrimiento no puede cuantificarse, la carga económica que representa es grande. Por ejemplo, en los Estados Unidos de América se estima que es de aproximadamente \$ 650 mil millones de dólares por año, como resultado de los gastos en atención médica, así como debido a la pérdida de productividad de las personas afectadas [182.183]. El dolor crónico con frecuencia resulta de una enfermedad o lesión; sin embargo, no sólo es un síntoma acompañante, sino también una condición patológica separada por derecho propio, con su propia definición médica y taxonomía. Así actualmente podemos distinguir entre dolor crónico primario y dolor crónico secundario. El dolor crónico primario es el que se considera una enfermedad por sí mismo como es el caso de la fibromialgia, mientras que el secundario es el que se considera un síntoma que acompaña a otra enfermedad como es el caso del dolor neuropático [3]. Con base en lo anterior y con la finalidad de evaluar el potencial terapéutico de la combinación tramadol-meloxicam en el tratamiento del dolor crónico se utilizó un modelo de fibromialgia experimental y un modelo de dolor neuropático.

9.1 Efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo de dolor neuropático

El dolor neuropático es un tipo de dolor crónico que se origina a partir de una lesión o disfunción del sistema nervioso somatosensorial y esta categorizado dentro del

dolor crónico secundario [1.18]. El paciente con dolor neuropático experimenta dolor evocado (dolor en respuesta a un estímulo) como por ejemplo alodinia mecánica e hiperalgesia térmica; dolor espontáneo (dolor en ausencia de estímulo); y alteraciones sensoriales como parestesias y disestesias [17]. En el presente estudio se utilizó un modelo de dolor neuropático ampliamente validado, en donde se produce daño al nervio ciático mediante un procedimiento quirúrgico denominado axotomía parcial del nervio ciático o SNI (Spared Nerve Injury, por sus siglas en inglés) [184]. En este modelo la axotomía del nervio ciático reproduce signos característicos del dolor neuropático en humanos como es el caso de la alodinia, que se presenta del 15 al 50% de los pacientes. En el modelo de SNI en ratón se ha observado que se desarrolla alodinia mecánica de forma casi inmediata (desde el día 3 post-cirugía) y perdura por al menos 7 meses. Además, no se han reportado diferencias en el curso temporal del desarrollo de alodinia entre ratones hembra y macho [185.186]. Cabe destacar que en nuestro laboratorio se ha observado que la alodinia mecánica se mantiene estable desde el día 4 y hasta el día 42 post-axotomía. Con base en lo anterior la evaluación del efecto antialodínico de tramadol, meloxicam, o la combinación se realizó el día 21 post-axotomía.

El dolor neuropático es difícil de tratar por lo que es difícil lograr un tratamiento adecuado con un solo fármaco. Nuestros resultados muestran que el tramadol produjo un efecto antialodínico significativo entre 19.25 y 54.2% en un rango de dosis entre 10 y 131.5 mg/Kg (i.p.). Como se puede observar el tramadol por sí solo no revierte totalmente la alodinia mecánica. Esto está en concordancia con lo observado en diversos estudios clínicos en donde se evaluó el efecto de tramadol en pacientes con dolor neuropático. De forma global los resultados de estos estudios mostraron que el tramadol disminuye el 30% de la intensidad del dolor en el 38% a 71% de los pacientes de los pacientes. De la misma forma disminuye el 50% la intensidad del dolor en aproximadamente un 32 al 45% de los pacientes. Esto último se logra con dosis de 200 a 400 mg/Kg por día. Cabe destacar que con estos esquemas de tratamiento entre 30 y 91% de los pacientes experimentaron uno o más efectos adversos, y el 16% de los pacientes abandonaron el tratamiento debido a los efectos adversos. Los efectos adversos más frecuentes fueron náusea

(26%), constipación (29%), fatiga (33%), mareo (36%) y boca seca (29%) [187]. Por otro lado, encontramos que en el modelo de SNI, el meloxicam no posee un efecto antialodínico significativo a las dosis evaluadas (2.75-30 mg/kg, i.p.) en nuestro estudio. Esto es congruente con los resultados de diversos estudios clínicos que mostraron que los AINES poseen nula o poca eficacia en el tratamiento del dolor neuropático [188].

9.2 Efecto antialodínico de tramadol y meloxicam en un modelo de fibromialgia experimental

La fibromialgia esta categorizada dentro del dolor crónico primario, y afecta a millones de personas a nivel mundial. Se define como síndrome de dolor crónico musculoesquelético generalizado que está presente en al menos 4 de 5 regiones corporales, que perdura por al menos 3 meses [189]. Los pacientes con fibromialgia, además de dolor generalizado, experimentan constantemente fatiga, trastornos del sueño, trastornos cognitivos y una gran variedad de síntomas somáticos. Además, todo lo anterior frecuentemente coexisten con ansiedad y depresión [190]. El dolor generalizado y crónico es el síntoma más debilitante y en conjunto con los diversos síntomas, que varían en severidad, resultan en una pobre calidad de vida de la persona afectada. En esta patología es difícil identificar la causa del dolor, sin embargo, se sabe que existe una hipersensibilidad del sistema nervioso central que se manifiesta con el desarrollo de alodinia e hiperalgesia muscular. En este proyecto se utilizó un modelo de fibromialgia experimental inducido por la administración de solución salina ácida (pH=4) en el musculo gastrocnemio izquierdo del ratón [191]. En nuestras condiciones experimentales la inyección de solución salina los días 0 y 2 después de la primera inyección produjo hiperalgesia el día 3 post inyección, sin embargo, a partir del día 6 al día 18 se observó alodinia estable tanto en la pata ipsilateral como contralateral. Cabe destacar que el desarrollo de alodinia mecánica mostro el mismo curso temporal tanto hembras como en machos. Estos resultados concuerdan con varios estudios publicados que han reportado que la hipersensibilidad al dolor perdura entre 12 y 28 días [191.192].

El fundamento de este modelo es el fenómeno de priming de los nociceptores, que sugiere que la transición de dolor agudo a crónico podría involucrar la plasticidad neural de los nociceptores aferentes primarios, por lo que una estimulación nociva aguda puede desencadenar hipersensibilidad duradera de los nociceptores a estímulos nocivos posteriores [193]. Lo anterior está sustentado en estudios previos que demostraron que la acidosis tisular puede causar dolor muscular. En este aspecto se ha comprobado que existe acidez tisular en condiciones como la artritis, la inflamación, etc. En este modelo el grupo de Sluka y colaboradores mostró que la primera inyección de solución salina ácida disminuye el pH tisular lo que lleva a la activación y sensibilización de los nociceptores que inervan el músculo gastrocnemio, que genera priming de los nociceptores de tal manera que cuando se realiza la segunda inyección de solución salina ácida los nociceptores están sensibilizados y esto favorece el desarrollo de alodinia de larga duración. Cabe destacar que estos autores también mostraron que a pesar de que las dos inyecciones se producen en el mismo sitio, la alodinia se produce de manera bilateral evidenciando la generación de dolor crónico generalizado, característica principal de la fibromialgia. Cabe recordar que en la fibromialgia es difícil identificar la causa subyacente, y no se asocia con inflamación. Por tal motivo, se determinó mediante histología si la inyección producía un daño tisular en el sitio de la inyección. Los resultados mostraron que en 4 de 12 animales se produjo daño tisular moderado debido a la administración. Sin embargo, este se revierte 24 horas después de la segunda inyección. En contraste, en la mayoría de los animales (8/12) no se observó daño tisular o inflamación aparente después de la primera o segunda inyección. En el mismo estudio también se determinó si la inyección de solución salina ácida producía acidosis tisular en el sitio de la inyección, así como activación de los nociceptores. Se encontró que la inyección de solución salina ácida pH=4 produjo una disminución del pH intramuscular de 7.4 a valores de 6.5 dentro de los primeros tres minutos, sin embargo, la acidez se revierte después de 7 minutos. Asimismo se observó que la acidosis induce la activación de aproximadamente el 50% de los nociceptores que inervan el músculo [192]. Por otro lado, existe evidencia que muestra que los mecanismos involucrados de iniciación del dolor

generalizado inducido por acidosis incluyen la activación de ASIC3 y TRPV1 los cuáles son los principales sensores de protones en los nociceptores. Además, también se ha comprobado que existe una hiperactivación de los canales de sodio Nav 1.8 que se expresan en nociceptores musculares que expresan isolectina B4, es decir en nociceptores no peptidérgicos. Lo anterior se evidenció bloqueando estos canales con herramientas farmacológicas después de la primera inyección de solución salina ácida. Esta aproximación impidió el desarrollo de hipersensibilidad de larga duración [191]. Otro mediador que participa en el desarrollo de dolor generalizado en condiciones no inflamatorias es la SPA. En este sentido se ha comprobado que la acidosis del tejido también induce la liberación de SP de los nervios vecinos. La sustancia P posteriormente activa a su receptor NK1 lo que lleva a la activación de tirosinas cinasas y canales de potasio dependientes de voltaje particularmente el Kv7 [194].

El dolor de la fibromialgia es difícil de tratar de manera efectiva, ya que solo una minoría de individuos experimenta un beneficio clínicamente relevante de cualquier intervención. En este modelo preclínico encontramos que el tramadol y el meloxicam poseen un efecto antialodínico dependiente de la dosis, y producen un efecto máximo de $40.54 \pm 3.85\%$ y $43.79 \pm 4.43\%$, respectivamente. Los resultados obtenidos con ambos fármacos administrados de forma individual concuerdan con los resultados de estudios clínicos que muestran que la monoterapia farmacológica proporciona un alivio del dolor significativo (al menos una reducción del 30% en la intensidad del dolor), sin embargo esto generalmente representa del 10% al 25% más que con placebo [195]. Es importante destacar que la farmacoterapia de la fibromialgia no está bien establecida ni es universal para todos los pacientes. Los fármacos más recomendados para su tratamiento incluyen antidepresivos tricíclicos o bien inhibidores de la recaptura de serotonina y noradrenalina, además de los gabapentinoides pregabalina y gabapentina [196]. En todos los casos la evidencia de su efectividad no es concluyente. De igual forma los AINES se prescriben mucho en los pacientes con fibromialgia, a pesar de que no existe evidencia suficiente que demuestre su efectividad. En estudios clínicos solo se ha evaluado el efecto de etoricoxib (90 mg/día), ibuprofeno 2400 (mg/día), naproxeno (1000 mg/día) y

tenoxicam 20 (mg/día). Sin embargo, debido al diseño de los estudios la evidencia obtenida es insuficiente para sacar conclusiones [197]. De igual forma, hasta el momento no existe evidencia de la efectividad del meloxicam en el tratamiento de la fibromialgia. En cuanto al tramadol, solo existen dos estudios en donde se evaluó su efectividad en la fibromialgia. El estudio más sólido muestra que el tramadol es efectivo en el tratamiento de la fibromialgia en un rango de dosis entre 50 y 400 mg/Kg/día, en solo el 57% de los pacientes, evidenciando que un alto porcentaje de los pacientes abandona el tratamiento [198].

9.3 Efecto de la combinación tramadol-meloxicam en dos modelos de dolor crónico

Tomando en cuenta lo anterior, es evidente que la monoterapia farmacológica del dolor crónico posee una eficacia limitada y está relacionada con efectos secundarios dependientes de la dosis, lo que frecuentemente limita la tolerabilidad y efectividad de dosis más altas. Sin embargo, la farmacoterapia sigue siendo la piedra angular del tratamiento del dolor crónico. Esto sugiere que la combinación de dos o más fármacos diferentes representa una alternativa prometedora cuyos objetivos son obtener un mayor efecto terapéutico en comparación con la administración de un solo fármaco y disminuir los efectos adversos o limitar la toxicidad al disminuir la dosis [199]. El criterio más común para los fármacos de una combinación es combinar fármacos con diferente mecanismo de acción con la finalidad de intervenir en diferentes mecanismos del dolor para incrementar la probabilidad de incrementar el potencial de una interacción aditiva o sinérgica favorable. Este tipo de interacciones, entre diferentes analgésicos, puede permitir utilizar dosis más bajas de los fármacos individuales que puedan proporcionar un mejor perfil de seguridad / tolerabilidad (siempre que no haya aditividad o sinergia para los efectos adversos). En nuestro estudio utilizamos este criterio para seleccionar al tramadol y al meloxicam y además se tomó en cuenta el perfil de efectos adversos y las características farmacocinéticas de cada fármaco. Encontramos que la combinación de proporciones fijas de la DE₃₀ tramadol y meloxicam produjo un efecto sinérgico tanto en el modelo de dolor neuropático como en el modelo de fibromialgia

experimental. Es importante destacar que este es el primer estudio en donde se evaluó de manera sistemática el efecto antialodínico de la combinación en modelos de dolor cónico. Sin embargo, nuestros resultados son congruentes con un estudio publicado en el 2012 en donde se observó que la combinación de tramadol-meloxicam en las proporciones 1:1 y 1:3 producen un efecto sinérgico del efecto antinociceptivo en el modelo de la formalina en rata, el cual está considerado como un modelo de dolor agudo [173]. Además de este estudio, en otros trabajos se ha intentado determinar el tipo de interacción que se produce entre tramadol y meloxicam. Para ello se han empleado modelos de dolor postoperatorio [200.201], el modelo de tail flick [161] y el modelo de constricción crónica [200]. Adicionalmente, se evaluó el efecto de esta combinación en un modelo de osteoartritis en gato, que es un modelo de dolor crónico [202]. En estos modelos los autores reportan que la combinación no tiene efecto sinérgico, o bien, que presenta un efecto aditivo, lo que en conjunto muestra que no existe un consenso del tipo de interacción producida por esta combinación, y que posiblemente depende del modelo empleado. La realidad es que los estudio mencionados son estudios en donde solo se evaluó una sola dosis y no proporciones fijas, los fármacos se aplicaron por diferentes vías de administración o bien las dosis empleadas son muy bajas con respecto a las dosis que se sabe poseen efectividad. Nuestros resultados en conjunto con los de Isirdia y colaboradores muestran que si se hace un estudio sistemático de la combinación es claro que se produce un sinergismo.

Finalmente, en un intento preliminar de determinar el mecanismo que subyace el efecto sinérgico de la combinación, en ambos modelos se realizó un pretratamiento con naloxona, un antagonista de los receptores opioides. Se encontró que la naloxona produjo una disminución del efecto antialodínico de las combinaciones de tramadol-meloxicam en las proporciones más altas del 36 al 39% en el modelo de dolor neuropático y del 37 al 41% para el modelo de fibromialgia. Estos resultados sugieren fuertemente la participación del sistema de opioides endógenos en el efecto sinérgico de la combinación tramadol meloxicam, lo cual concuerda con lo reportado por Isirdia y colaboradores [173]. No obstante, cabe resaltar que el efecto no se abolió totalmente, indicando la participación de mecanismos

adicionales. Anteriormente se mencionó los principales mecanismos de acción de cada fármaco, pero existe evidencia que estos fármacos poseen mecanismos de acción adicionales a través de los cuáles ejercen sus efectos antinociceptivos de los fármacos y que posiblemente estén involucrados en la sinergia observada. El tramadol además de inhibir a los receptores opioides μ , inhibe la activación de la adenilato ciclasa [203], la liberación de sustancia P y el péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP) [204] y favorece la apertura de los canales de K^+ lo que conduce a la hiperpolarización y por lo tanto a una reducción en la activación de la neurona aferente primaria lo que deriva en un efecto antinociceptivo [205]. Además al ser un opioide atípico inhibe la recaptura de serotonina y noradrenalina favoreciendo los efectos inhibitorios de estos neurotransmisores en la vía descendente [206]. Por otro lado, el meloxicam también activa la vía del GMPc-óxido nítrico [207] y el sistema inhibitor colinérgico en modelos de dolor agudo [208]. Todo esto en conjunto muestra que la combinación tramadol meloxicam produce potenciación del efecto antialodínico en dos modelos de dolor crónico y que este efecto se debe en parte a la activación de opioides endógenos.

Limitaciones del estudio

En el presente estudio se encontró que el tratamiento agudo de la combinación tramadol-meloxicam produjo un efecto sinérgico en dos modelos de dolor crónico. Sin embargo, es importante tomar en cuenta que únicamente se evaluó el efecto de una sola dosis, por lo que es necesario evaluar si este sinergismo se mantiene durante un tratamiento crónico. Cabe destacar que desde el punto de vista clínico el meloxicam se prescribe en esquema de administración de una vez al día, sin embargo, las concentraciones efectivas se establecen después de un tratamiento de 5 días. En este estudio encontramos que si bien se produce un sinergismo, la duración del efecto es de 4-6 horas, lo que sugiere que para el tratamiento del dolor crónico se tendría que administrar la combinación al menos dos veces al día. Lo anterior supondría una contradicción en las recomendaciones actuales, sin embargo, se debe tomar en cuenta que las dosis requeridas en la combinación son menores a las dosis efectivas que se prescriben actualmente. Por otro lado, este

problema podría solventarse a través del diseño de una forma farmacéutica de liberación controlada. Otra limitación de este estudio es que no se evaluó el efecto de la combinación tramadol-meloxicam en el perfil defectos adversos, lo cual sería necesario realizar en futuros estudios, con la finalidad de garantizar la efectividad y seguridad de la combinación.

10. CONCLUSIONES

En el estudio actual demostramos que tramadol tiene un efecto antinociceptivo en dos modelos murinos de dolor crónico. El meloxicam por otro lado solo presentó un efecto antinociceptivo en el modelo de fibromialgia, lo que se atribuye a que en este modelo existe una mayor participación de la inflamación neurogénica.

La combinación Meloxicam-Tramadol produjo una potenciación del efecto antialodínico en comparación con el efecto de los fármacos individuales en dos modelos de dolor crónico. El efecto sinérgico involucra la activación de los receptores opioides. Estos resultados sugieren que la combinación tramadol-meloxicam puede ser una herramienta prometedora para el tratamiento del dolor crónico.

11. PERSPECTIVAS

- Evaluar el efecto de la combinación en un modelo preclínico de dolor inflamatorio crónico.
- Evaluar el efecto de la combinación tramadol-meloxicam en la proporción 3:1 en el modelo de dolor neuropático, en el modelo de fibromialgia y en un modelo de dolor inflamatorio crónico.
- Determinar, a través de herramientas farmacológicas, los mecanismos involucrados en el sinergismo que se produce con la combinación tramadol-meloxicam. Se sugiere determinar la participación de los receptores serotoninérgicos, canales de potasio y del óxido nítrico utilizando para este fin Metiotepina, Glibenclamida y L-NAME, respectivamente.
- Determinar el efecto de la combinación tramadol-meloxicam en la severidad de los efectos adversos más comunes de ambos fármacos, concretamente en la sedación y constipación inducida por tramadol y en el daño gástrico inducido por meloxicam.
- Evaluar el efecto del tratamiento crónico con la combinación tramadol-meloxicam en modelos de dolor crónico.

12. REFERENCIAS

1. Merskey, H. *Prepared by the IASP Subcommittee on Taxonomy. Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms.* Pain, **1986**. 3: p. S1-S226.
2. Feizerfan, A. and Sheh, G. *Transition from acute to chronic pain.* Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care Pain, **2015**. 15(2): p. 98-102.
3. Treede, R. D., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Bennett, M. I., et al. *Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11).* Pain, **2019**. 160(1): p. 19-27.
4. Nicholas, M., Vlaeyen, J. W., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., et al. *The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain.* Pain, **2019**. 160(1): p. 28-37.
5. Chinn, S., Caldwell, W. and Gritsenko, K. *Fibromyalgia pathogenesis and treatment options update.* Current Pain Headache Reports, **2016**. 20(4): p. 25-35.
6. Birklein, F. and Schlereth, T. *Complex regional pain syndrome—significant progress in understanding.* Pain, **2015**. 156: p. S94-S103.
7. Goh, E. L., Chidambaram, S. and Ma, D. *Complex regional pain syndrome: a recent update.* Burns & Trauma, **2017**. 5(1): p. 1-11.
8. Stanton-Hicks, M. *Complex regional pain syndrome.* Fundamentals of Pain Medicine, **2018**: p. 211-220.
9. Benoliel, R., Svensson, P., Evers, S., Wang, S.-J., Barke, A., et al. *The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic secondary headache or orofacial pain.* Pain, **2019**. 60-68(1): p. 60-68.
10. Bose, P., Karsan, N. and Goadsby, P. *The migraine postdrome.* CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology, **2018**. 24(4): p. 1023-1031.
11. Karsan, N., Bose, P. and Goadsby, P. J. *The migraine premonitory phase.* CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology, **2018**. 24(4): p. 996-1008.
12. Chou, R. *Low back pain (chronic).* BMJ clinical evidence, **2010**. 2010: p. 1116-1157.
13. Bennett, M., Kaasa, S., Barke, A., Korwisi, B., Rief, W., et al. *The IASP Task force for the Classification of Chronic Pain.* Pain: p. 160.
14. Yoon, S. Y. and Oh, J. *Neuropathic cancer pain: prevalence, pathophysiology, and management.* The Korean journal of internal medicine, **2018**. 33(6): p. 1058-1069.
15. Macrae, W. *Chronic post-surgical pain: 10 years on.* British journal of anaesthesia, **2008**. 101(1): p. 77-86.

16. Treede, R.-D., Jensen, T. S., Campbell, J. N., Cruccu, G., Dostrovsky, J., et al. *Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes*. *Neurology*, **2008**. 70(18): p. 1630-1635.
17. Gilron, I., Baron, R. and Jensen, T. *Neuropathic pain: principles of diagnosis and treatment*. in *Mayo Clinic Proceedings*. 2015. Elsevier.
18. Scholz, J., Finnerup, N. B., Attal, N., Aziz, Q., Baron, R., et al. *The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain*. *Pain*, **2019**. 160(1): p. 53-59.
19. Schwartz, E. S. and Gebhart, G. *Visceral pain*. *Behavioral Neurobiology of Chronic Pain*, **2014**: p. 171-197.
20. Giamberardino, M. A., Affaitati, G. and Costantini, R., *Referred pain from internal organs*, in *Handbook of clinical neurology*. 2006, Elsevier. p. 343-361.
21. Dueñas, M., Ojeda, B., Salazar, A., Mico, J. A. and Failde, I. *A review of chronic pain impact on patients, their social environment and the health care system*. *Journal of pain research*, **2016**. 9: p. 457-467.
22. Campbell, G., Darke, S., Bruno, R. and Degenhardt, L. *The prevalence and correlates of chronic pain and suicidality in a nationally representative sample*. *Australian New Zealand Journal of Psychiatry* **2015**. 49(9): p. 803-811.
23. Harstall, C. and Ospina, M. *How prevalent is chronic pain?* . *Pain: Clinical Updates*, **2003**. 11(2): p. 1-4.
24. Goldberg, D. S. and McGee, S. J. *Pain as a global public health priority*. *BMC public health*, **2011**. 11(1): p. 1-5.
25. Pizzo, P. *Relieving pain in America: a blueprint for transforming prevention, care, education, and research*. **2011**.
26. Dahlhamer, J., Lucas, J., Zelaya, C., Nahin, R., Mackey, S., et al. *Prevalence of chronic pain and high-impact chronic pain among adults—United States, 2016*. *Morbidity Mortality Weekly Report*. **2018**. 67(36): p. 1001-1006.
27. Pergolizzi, J., Ahlbeck, K., Aldington, D., Alon, E., Collett, B., et al. *The chronic pain conundrum: should we CHANGE from relying on past history to assessing prognostic factors?* *Current medical research opinion*, **2012**. 28(2): p. 249-256.
28. Jackson, T., Thomas, S., Stabile, V., Shotwell, M., Han, X., et al. *A systematic review and meta-analysis of the global burden of chronic pain without clear etiology in low-and middle-income countries: trends in heterogeneous data and a proposal for new assessment methods*. *Anesthesia and analgesia*, **2016**. 123(3): p. 739-748.
29. Reid, K. J., Harker, J., Bala, M. M., Truyers, C., Kellen, E., et al. *Epidemiology of chronic non-cancer pain in Europe: narrative review of prevalence, pain treatments and pain impact*. *Current medical research opinion*, **2011**. 27(2): p. 449-462.

30. Covarrubias-Gómez, A. *Papel del anestesiólogo en el manejo del dolor crónico*. Revista Mexicana de Anestesiología, **2008**. 31(S1): p. 235-237.
31. Covarrubias-Gómez, A., Guevara-López, U., Lara-Solares, A., Tamayo-Valenzuela, A. C., Salinas-Cruz, J., et al. *Características de los enfermos que acuden a clínicas del dolor por primera vez*. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social, **2008**. 46(5): p. 467-472.
32. Covarrubias-Gómez, A. *Lumbalgia: Un problema de salud pública*. Revista Mexicana de Anestesiología, **2010**. 33(S1): p. 106-109.
33. Littlejohn, G. and Guymer, E. *Neurogenic inflammation in fibromyalgia*. Seminars in immunopathology, **2018**. 40(3): p. 291-300.
34. Garcia-Rivero, A. A. *Ciencia latinoamericana sobre fibromialgia*. Revista Cubana de Reumatología, **2017**. 19(3): p. 102-110.
35. Ornelas, H. A., Buzzo, A. R., García, L., Aguilar, J. D., Hernández, I. C., et al. *Análisis de coste-efectividad en el tratamiento farmacológico del síndrome de fibromialgia en México*. Reumatología clínica, **2012**. 8(3): p. 120-127.
36. Choi, Y. S., Lee, M. G., Lee, H. M., Lee, C. J., Jo, J. Y., et al. *Epidemiology of complex regional pain syndrome: a retrospective chart review of 150 Korean patients*. Journal of Korean medical science, **2008**. 23(5): p. 772-775.
37. Birklein, F. and Dimova, V. *Complex regional pain syndrome—up-to-date*. Pain reports, **2017**. 2(6): p. 1-8.
38. Shim, H., Rose, J., Halle, S. and Shekane, P. *Complex regional pain syndrome: a narrative review for the practising clinician*. British journal of anaesthesia, **2019**. 123(2): p. e424-e433.
39. Manzoni, G. C. and Stovner, L. J., *Epidemiology of headache*, in *Handbook of clinical neurology*. 2010, Elsevier. p. 3-22.
40. Jensen, R. and Stovner, L. J. *Epidemiology and comorbidity of headache*. The Lancet Neurology, **2008**. 7(4): p. 354-361.
41. Morillo, L. E., Alarcon, F., Aranaga, N., Aulet, S., Chapman, E., et al. *Prevalence of migraine in Latin America*. Headache: the journal of head face pain. **2005**. 45(2): p. 106-117.
42. Stovner, L. J., Nichols, E., Steiner, T. J., Abd-Allah, F., Abdelalim, A., et al. *Global, regional, and national burden of migraine and tension-type headache, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016*. The Lancet Neurology, **2018**. 17(11): p. 954-976.
43. Murrieta, J. F., Alvarado, E. L., Valdez, M. T., Orozco, L., del Carmen Meza, J., et al. *Prevalence of temporomandibular joint disorders in a Mexican elderly group*. Journal of Oral Research, **2016**. 5(1): p. 13-18.
44. Maher, C., Underwood, M. and Buchbinder, R. *Non-specific low back pain*. The Lancet, **2017**. 389(10070): p. 736-747.

45. Mariano, T. Y., Urman, R. D., Hutchison, C. A., Jamison, R. N. and Edwards, R. R. *Cognitive behavioral therapy (CBT) for subacute low back pain: A systematic review*. Current pain headache reports, **2018**. 22(3): p. 15-22.
46. Rosario-MEDERI, B., do Maranhão, S. L., de Oncologia, M. and Garcia, J. *Prevalence of low back pain in Latin America: a systematic literature review*. Pain physician, **2014**. 17: p. 379-391.
47. Mejía-Espinosa, R., Guevara-López, U., Martínez-Guadarrama, E., Rivera-Viveros, M. G. and Roa-Aguirre, L. *Prevalencia del dolor de espalda baja en un centro interdisciplinario para el estudio y tratamiento del dolor*. Revista Mexicana de Anestesiología, **2014**. 37(1): p. 5-11.
48. Humble, S. R., Varela, N., Jayaweera, A. and Bhaskar, A. *Chronic postsurgical pain and cancer: the catch of surviving the unsurvivable*. Current Opinion in Supportive Palliative Care, **2018**. 12(2): p. 118-123.
49. Garibay, C., Ornelas, G., Rodríguez, S. J. J. o. A. and Access, C. O. *Pain control, adverse effects and degree of satisfaction of postsurgical patients in the acute pain unit in a Mexican hospital using an electronic platform as a tool for assessment*. Journal of Anesthesia & Critical Care: Open Access, **2019**. 11(1): p. 1-4.
50. Sánchez, F. P., Garcia, O. and Casallas, M. I. R. *Carga de la enfermedad atribuible al síndrome de túnel del carpo en la población trabajadora colombiana: una aproximación a los costos indirectos de una enfermedad*. Value in health regional issues, **2013**. 2(3): p. 381-386.
51. Sodani, A., Dani, R., Dube, M., Chouksey, D. and Athale, S. *Determinants of remission in medically treated carpal tunnel syndrome: Study from Central India*. Annals of Indian Academy of Neurology, **2018**. 21(1): p. 29.
52. Meroni, R., Alberti, P., Boria, P., Giordano, S. and Cavaletti, G. *Distal pain and carpal tunnel syndrome diagnosis among cashiers: A longitudinal study*. International Archives of Occupational Environmental Health, **2017**. 90(8): p. 741-746.
53. CENETEC. *Guía de práctica clínica: diagnóstico y tratamiento del síndrome del tunel del carpo*. Primer nivel de atención, **2016**.
54. Almejo, L. L. *Síndrome del túnel del carpo*. Orthotips, **2014**. 10.
55. Mallick-Searle, T., Snodgrass, B. and Brant, J. M. *Postherpetic neuralgia: epidemiology, pathophysiology, and pain management pharmacology*. Journal of Multidisciplinary Healthcare, **2016**. 9: p. 447-454.
56. Reda, H., Greene, K., Rice, F. L., Rowbotham, M. C. and Petersen, K. L. *Natural history of herpes zoster: late follow-up of 3.9 years (n= 43) and 7.7 years (n= 10)*. Pain, **2013**. 154(10): p. 2227-2233.
57. Kim, H. J., Ahn, H. S., Lee, J. Y., Choi, S. S., Cheong, Y. S., et al. *Effects of applying nerve blocks to prevent postherpetic neuralgia in patients with acute*

- herpes zoster: a systematic review and meta-analysis*. The Korean journal of pain, **2017**. 30(1): p. 3-17.
58. Rampakakis, E., Pollock, C., Vujacich, C., Neto, J. T., Covarrubias, A. O., et al. *Economic burden of herpes zoster (“culebrilla”) in Latin America*. International Journal of Infectious Diseases, **2017**. 58: p. 22-26.
 59. Vázquez, M., Cravioto, P., Galván, F., Guarneros, D. and Pastor, V. H. *Varicela y herpes zóster: retos para la salud pública*. Salud Pública de México, **2017**. 59: p. 650-656.
 60. García-González, A. I. and Rosas-Carrasco, O. *Herpes zoster (HZ) y neuralgia posherpética (NPH) en el adulto mayor: particularidades en la prevención, el diagnóstico y el tratamiento*. Gaceta Médica de México, **2017**. 153(1): p. 92-101.
 61. Schütz, S. G. and Robinson-Papp, J. *HIV-related neuropathy: current perspectives*. HIV AIDS, **2013**. 5: p. 243-251.
 62. Aziz-Donnelly, A. and Harrison, T. B. *Update of HIV-associated sensory neuropathies*. Current Treatment Options in Neurology, **2017**. 19(10): p. 36-48.
 63. Saylor, D., Nakigozi, G., Nakasujja, N., Robertson, K., Gray, R. H., et al. *Peripheral neuropathy in HIV-infected and uninfected patients in Rakai, Uganda*. Neurology, **2017**. 89(5): p. 485-491.
 64. Areal Correa de Sa e Benevides, M. L., Filho, S. B., Debona, R., Costa Bergamaschi, E. N. and Nunes, J. C. *Prevalence of Peripheral Neuropathy and associated factors in HIV-infected patients*. Journal of the Neurological Sciences, **2017**. 375: p. 316-320.
 65. Dijkstra, P. U., Geertzen, J. H., Stewart, R. and van der Schans, C. *Phantom pain and risk factors: a multivariate analysis*. Journal of pain symptom management, **2002**. 24(6): p. 578-585.
 66. Flor, H., Nikolajsen, L. and Jensen, T. S. *Phantom limb pain: a case of maladaptive CNS plasticity?* Nature reviews neuroscience, **2006**. 7(11): p. 873-881.
 67. Pérez, L. C. R. and Montiel, M. d. P. R., *Los amputados y su rehabilitación*. 2016. 67.
 68. Pérez-Martínez, S. *Síndrome de miembro fantasma como secuela postraumática*. Revista Mexicana de Anestesiología, **2012**. 35(S1): p. 155-158.
 69. Alanís, M. G. T., Marioni, S. S., Ocañas, C. E. E., Daniel, S., Menchaca, H. R. M., et al. *Phantom limb syndrome, pain that is real*. Revista Médica MD, **2012**. 3(1): p. 32-36.
 70. Nurmikko, T. and Eldridge, P. *Trigeminal neuralgia—pathophysiology, diagnosis and current treatment*. British journal of anaesthesia, **2001**. 87(1): p. 117-132.
 71. Hernández, M. G. G., Rodríguez, J. P. S. and Villegas, S. T. J. A. M. *Neuralgia del trigémino*. Anales Médicos, **2012**. 57(1): p. 39-47.

72. Park, S. B., Goldstein, D., Krishnan, A. V., Lin, C. S. Y., Friedlander, M. L., et al. *Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: a critical analysis*. CA: a cancer journal for clinicians, **2013**. 63(6): p. 419-437.
73. Seretny, M., Currie, G. L., Sena, E. S., Ramnarine, S., Grant, R., et al. *Incidence, prevalence, and predictors of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: a systematic review and meta-analysis*. Pain, **2014**. 155(12): p. 2461-2470.
74. Fallon, M. *Neuropathic pain in cancer*. British journal of anaesthesia, **2013**. 111(1): p. 105-111.
75. Rivera, E. and Cianfrocca, M. *Overview of neuropathy associated with taxanes for the treatment of metastatic breast cancer*. Cancer chemotherapy pharmacology, **2015**. 75(4): p. 659-670.
76. Stone, J. B. and DeAngelis, L. M. *Cancer-treatment-induced neurotoxicity—focus on newer treatments*. Nature Reviews Clinical oncology, **2016**. 13(2): p. 92-105.
77. Bansal, D., Gudala, K., Muthyala, H., Esam, H. P., Nayakallu, R., et al. *Prevalence and risk factors of development of peripheral diabetic neuropathy in type 2 diabetes mellitus in a tertiary care setting*. Journal of diabetes investigation, **2014**. 5(6): p. 714-721.
78. Escaño-Polanco, F. M., Odriozola, A., Davidson, J., Pedroza, H., Fuente, G., et al. *Consenso de expertos para el manejo de la neuropatía diabética*. Revista ALAD, **2016**. 6: p. 121-50.
79. Barraza-Lloréns, M., Guajardo-Barrón, V., Picó, J., García, R., Hernández, C., et al. *Carga económica de la diabetes mellitus en México, 2013*. Funsalud., **2015**.
80. Samur, J. A. A., Rodríguez, M. Z. C., Olmos, A. I. and Bárcena, D. G. *Prevalencia de neuropatía periférica en diabetes mellitus*. Acta Médica Grupo Ángeles, **2006**. 4(1): p. 13-17.
81. Hernandez, M., Rivera, J., Shamah, T., Cuevas, L., Gomez, L., et al., *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (Ensanut 2016). Informe final de resultados [Internet]. México: Instituto Nacional de Salud Pública: Secretaría de Salud; 2016. . p. 1-149*.
82. Guo, Q., Wang, Y., Xu, D., Nossent, J., Pavlos, N. J., et al. *Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies*. Bone research, **2018**. 6(1): p. 1-14.
83. Carvalho, C. d. S., Andrade, L. E. C., Keusseyan, S. P., Rangel, J. L., Ferreira-Strixino, J., et al. *Study of advanced rheumatoid arthritis*. Revista Brasileira de Engenharia Biomédica, **2014**. 30(1): p. 54-63.
84. Kahlenberg, J. M. and Fox, D. A. *Advances in the medical treatment of rheumatoid arthritis*. Hand clinics, **2011**. 27(1): p. 11-20.

85. Pisetsky, D. S. and Ward, M. M. *Advances in the treatment of inflammatory arthritis*. J Best Practice Research Clinical Rheumatology, **2012**. 26(2): p. 251-261.
86. Munetón, G. A. *La epidemiología de la artritis reumatoide*. Revista colombiana de reumatología, **2015**: p. 145-147.
87. Pelaez-Ballestas, I., Sanin, L. H., Moreno-Montoya, J., Alvarez-Nemegyei, J., Burgos-Vargas, R., et al. *Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology*. The Journal of Rheumatology Supplement, **2011**. 86: p. 3-8.
88. Johnson, V. L. and Hunter, D. J. *The epidemiology of osteoarthritis*. Best practice research Clinical rheumatology, **2014**. 28(1): p. 5-15.
89. Zhang, Y. and Jordan, J. M. *Epidemiology of osteoarthritis*. Clinics in Geriatric Medicine, **2010**. 26(3): p. 355-369.
90. Álvarez-Nemegyei, J., Esperón-Hernández, R. I., Herrera-Correa, G. M. and Nuño-Gutiérrez, B. L. *Prevalencia e impacto funcional de las artropatías en adultos mayores*. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social, **2006**. 44(5): p. 403-407.
91. Dansie, E. and Turk, D. *Assessment of patients with chronic pain*. British journal of anaesthesia, **2013**. 111(1): p. 19-25.
92. Latremoliere, A. and Woolf, C. *Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity*. The Journal of Pain, **2009**. 10(9): p. 895-926.
93. Zambelli, V. O., de Oliveira Fernandes, A. C., Gutierrez, V. P., Ferreira, J. C. B., Parada, C. A., et al. *Peripheral sensitization increases opioid receptor expression and activation by crotaline in rats*. PLoS One, **2014**. 9(3): p. e90576 1-13.
94. Bendtsen, L. *Central and peripheral sensitization in tension-type headache*. Current pain headache reports, **2003**. 7(6): p. 460-465.
95. Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G. and Julius, D. *Cellular and molecular mechanisms of pain*. Cell, **2009**. 139(2): p. 267-284.
96. Woolf, C. J. *Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain*. Pain, **2011**. 152(3): p. S2-S15.
97. Ossipov, M. H., Morimura, K. and Porreca, F. *Descending pain modulation and chronification of pain*. Current opinion in supportive palliative care, **2014**. 8(2): p. 143-151.
98. Rathmell, J. P. and Hill, B. *Wall and Melzack's Textbook of Pain, 5th E-dition*. Anesthesia Analgesia, **2006**. 102(6): p. 1914.
99. Zhuo, M. M. *Descending facilitation: from basic science to the treatment of chronic pain*. Molecular Pain, **2017**. 13: p. 153-141.

100. Burma, N. E., Leduc-Pessah, H., Fan, C. Y. and Trang, T. *Animal models of chronic pain: advances and challenges for clinical translation*. Journal of neuroscience research, **2017**. 95(6): p. 1242-1256.
101. DeSantana, J. M., da Cruz, K. M. and Sluka, K. *Animal models of fibromyalgia*. Arthritis research therapy, **2013**. 15(6): p. 222-235.
102. Chen, W.-N., Lee, C.-H., Lin, S.-H., Wong, C.-W., Sun, W.-H., et al. *Roles of ASIC3, TRPV1, and NaV1.8 in the transition from acute to chronic pain in a mouse model of fibromyalgia*. Molecular pain, **2014**. 10: p. 10-40.
103. Jaggi, A. S., Jain, V. and Singh, N. *Animal models of neuropathic pain*. Fundamental clinical pharmacology, **2011**. 25(1): p. 1-28.
104. Colleoni, M. and Sacerdote, P. *Murine models of human neuropathic pain*. Biochimica et Biophysica Acta -Molecular Basis of Disease, **2010**. 1802(10): p. 924-933.
105. Decosterd, I. and Woolf, C. J. *Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain*. Pain, **2000**. 87(2): p. 149-158.
106. Bourquin, A.-F., Süveges, M., Pertin, M., Gilliard, N., Sardy, S., et al. *Assessment and analysis of mechanical allodynia-like behavior induced by spared nerve injury (SNI) in the mouse*. Pain, **2006**. 122(1-2): p. e1-14.
107. Bennett, G. J. and Xie, Y.-K. *A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man*. Pain, **1988**. 33(1): p. 87-107.
108. Seltzer, Z., Dubner, R. and Shir, Y. *A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury*. Pain, **1990**. 43(2): p. 205-218.
109. Kim, S. H. and Chung, J. M. *An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat*. Pain, **1992**. 50(3): p. 355-363.
110. Borsook, D. and Kalso, E. *Transforming pain medicine: adapting to science and society*. European journal of pain, **2013**. 17(8): p. 1109-1125.
111. Organization, W. H., *Alivio del dolor en el cáncer: con una guía sobre la disponibilidad de opioides*. 1996: Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
112. Gálvez, R., Ruiz, S. and Romero, J. *Propuesta de nueva Escalera Analgésica para el dolor neuropático*. Revista de la sociedad española del dolor, **2006**. 13(6): p. 377-380.
113. Macfarlane, G. J., Kronisch, C., Dean, L. E., Atzeni, F., Häuser, W., et al. *EULAR revised recommendations for the management of fibromyalgia*. Annals of the rheumatic diseases, **2017**. 76(2): p. 318-328.
114. Fornasari, D. *Pharmacotherapy for neuropathic pain: a review*. Pain therapy, **2017**. 6(1): p. 25-33.

115. Goodman, L. S., *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. Vol. 1549. 1996: McGraw-Hill New York.
116. Ong, C., Lirk, P., Tan, C. and Seymour, R. *An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs*. *Clinical medicine research*, **2007**. 5(1): p. 19-34.
117. AlHajri, L. *Enteric-Coated, Extended-Release and Sustained-Release Formulations of NSAIDs: Do They Reduce GI Risks?* *Annals of Pharmacotherapy*, **2017**. 51(4): p. 354-356.
118. Brunton, L. L., Hilal-Dandan, R. and Knollmann, B. C., *Las Bases farmacológicas de la terapéutica Goodman y Gilman*. 2018: Artmed Editora.
119. Vanegas, H. and Schaible, H.-G. *Prostaglandins and cyclooxygenases in the spinal cord*. *Progress in Neurobiology*, **2001**. 64(4): p. 327-363.
120. Svensson, C. I. and Yaksh, T. L. *The spinal phospholipase-cyclooxygenase-prostanoid cascade in nociceptive processing*. *Annual review of pharmacology toxicology*, **2002**. 42(1): p. 553-583.
121. Voilley, N. C. D. T.-I. and Allergy. *Acid-sensing ion channels (ASICs): new targets for the analgesic effects of non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs)*. *Current Drug Targets-Inflammation Allergy*, **2004**. 3(1): p. 71-79.
122. Liu, S., Cheng, X.-Y., Wang, F. and Liu, C.-F. *Acid-sensing ion channels: potential therapeutic targets for neurologic diseases*. *Translational Neurodegeneration*, **2015**. 4(1): p. 1-8.
123. Voilley, N., de Weille, J., Mamet, J. and Lazdunski, M. *Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors*. *Journal of Neuroscience*, **2001**. 21(20): p. 8026-8033.
124. Kumar, V., Abbas, A. K. and Fausto, N., *Patología estructural y funcional de Robbins y Cotran*. 2010.
125. Peng, S. and Duggan, A. *Gastrointestinal adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs*. *Expert opinion on drug safety*, **2005**. 4(2): p. 157-169.
126. Sostres, C., Gargallo, C. J. and Lanás, A. *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and upper and lower gastrointestinal mucosal damage*. *Arthritis Research Therapy*, **2013**. 15(3): p. 1-8.
127. Sigthorsson, G., Simpson, R. J., Walley, M., Anthony, A., Foster, R., et al. *COX-1 and 2, intestinal integrity, and pathogenesis of nonsteroidal anti-inflammatory drug enteropathy in mice*. *Gastroenterology*, **2002**. 122(7): p. 1913-1923.
128. Dogné, J.-M., Supuran, C. T. and Pratico, D. *Adverse cardiovascular effects of the coxibs*. *Journal of medicinal chemistry*, **2005**. 48(7): p. 2251-2257.
129. FitzGerald, G. *Coxibs and cardiovascular disease*. *New England Journal of Medicine*, **2004**. 351(17): p. 1709-1711.

130. FitzGerald, G. *Cardiovascular pharmacology of nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and coxibs: clinical considerations*. The American journal of cardiology, **2002**. 89(6): p. 26-32.
131. Harirforoosh, S. and Jamali, F. *Renal adverse effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs*. Expert opinion on drug safety, **2009**. 8(6): p. 669-681.
132. Gambaro, G. and Perazella, M. *Adverse renal effects of anti-inflammatory agents: evaluation of selective and nonselective cyclooxygenase inhibitors*. Journal of internal medicine, **2003**. 253(6): p. 643-652.
133. Lucas, G. N. C., Leitão, A. C. C., Alencar, R. L., Xavier, R. M. F., Daher, E. D. F., et al. *Pathophysiological aspects of nephropathy caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs*. Brazilian Journal of Nephrology, **2019**. 41(1): p. 124-130.
134. Sahoo, N. K., Sahu, M., Rao, P. S., Rani, N. S., Devi, J. I., et al. *Validation of assay indicating method development of meloxicam in bulk and some of its tablet dosage forms by RP-HPLC*. Springer Plus, **2014**. 3(1): p. 95-101.
135. Furst, D. E. *Meloxicam: selective COX-2 inhibition in clinical practice*. In *Seminars in arthritis and rheumatism*. 1997. Elsevier.
136. Noble, S. and Balfour, J. *Meloxicam*. Drugs, **1996**. 51(3): p. 424-430.
137. Hakan, T., Toklu, H. Z., Biber, N., Celik, H., Erzik, C., et al. *Meloxicam exerts neuroprotection on spinal cord trauma in rats*. The International journal of neuroscience, **2011**. 121(3): p. 142-148.
138. Ahmed, M., Khanna, D. and Furst, D. E. *Meloxicam in rheumatoid arthritis*. Expert opinion on drug metabolism toxicology, **2005**. 1(4): p. 739-751.
139. Colberg, K., Hettich, M. and Degner, F. L. *The efficacy and tolerability of an 8-day administration of intravenous and oral meloxicam: a comparison with intramuscular and oral diclofenac in patients with acute lumbago*. Current medical research opinion, **1996**. 13(7): p. 363-377.
140. Moodley, I. *Review of the cardiovascular safety of COXIBs compared to NSAIDs*. Cardiovascular Journal of Africa, **2008**. 19(2): p. 102-107.
141. Distel, M., Mueller, C. and Bluhmki, E., *Global analysis of gastrointestinal safety of a new NSAID, meloxicam*, in *Side Effects of Anti-Inflammatory Drugs IV*. 1997, Springer. p. 183-193.
142. Rosen, E., Tsesis, I. and Vered, M. *Food and Drug Administration (FDA) strengthens warning that non-aspirin non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) can cause myocardial infarctions or strokes: the dentist's perspective*. Refuat Hapeh Vehashinayim, **2015**. 32(4): p. 6-25.
143. Busch, U., Schmid, J., Heinzl, G., Schmaus, H., Baierl, J., et al. *Pharmacokinetics of meloxicam in animals and the relevance to humans*. Drug metabolism disposition, **1998**. 26(6): p. 576-584.

144. Türck, D., Roth, W. and Busch, U. *A review of the clinical pharmacokinetics of meloxicam*. Rheumatology, **1996**. 35(suppl_1): p. 13-16.
145. Al-Hasani, R. and Bruchas, M. R. *Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior*. Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists, **2011**. 115(6): p. 1363-1381.
146. Williams, J. *Basic opioid pharmacology*. Reviews of pain, **2008**. 1(2): p. 2-5.
147. Ballantyne, J. C. and Mao, J. *Opioid therapy for chronic pain*. New England Journal of Medicine, **2003**. 349(20): p. 1943-1953.
148. Adams, N. J., Plane, M. B., Fleming, M. F., Mundt, M. P., Saunders, L. A., et al. *Opioids and the treatment of chronic pain in a primary care sample*. Journal of pain and symptom management **2001**. 22(3): p. 791-796.
149. Michos, E. D. and Blumenthal, R. S. *Treatment concentration of high-sensitivity C-reactive protein*. The Lancet, **2018**. 391(10118): p. 287-289.
150. Corder, G., Castro, D. C., Bruchas, M. R. and Scherrer, G. *Endogenous and exogenous opioids in pain*. Annual review of neuroscience, **2018**: p. 453-473.
151. Chahl, L. A. *Opioids-mechanisms of action*. Experimental and Clinical Pharmacology, **1996**.
152. Chau, D. L., Walker, V., Pai, L. and Cho, L. M. *Opiates and elderly: use and side effects*. Clinical interventions in aging, **2008**. 3(2): p. 273-278.
153. Subedi, M., Bajaj, S., Kumar, M. S. and Mayur, Y. *An overview of tramadol and its usage in pain management and future perspective*. Biomedicine Pharmacotherapy, **2019**. 111: p. 443-451.
154. Dayer, P., Collart, L. and Desmeules, J. *The pharmacology of tramadol*. Drugs, **1994**. 47(1): p. 3-7.
155. Reid, J. *Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of the choice of components of combination therapy*. Journal of human hypertension, **1995**. 9: p. S19-S23.
156. Toews, M. L. and Bylund, D. B. *Pharmacologic principles for combination therapy*. Proceedings of the American Thoracic Society, **2005**. 2(4): p. 282-289.
157. Tallarida, R. J., *Drug synergism and dose-effect data analysis*. 2000: CRC Press.
158. Tallarida, R. J. *Drug combinations: tests and analysis with isoboles*. Current Protocols in Pharmacology, **2016**. 72(1): p. 9.19. 1-9.19. 19.
159. Huang, R.-y., Pei, L.-l., Liu, Q.-j., Chen, S.-q., Dou, H.-b., et al. *Isobologram Analysis: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research*. Frontiers in pharmacology, **2019**. 10: p. 1222-1234.
160. Tallarida, R. J. *Combination analysis*. Chemo Fog, **2010**: p. 133-137.
161. Foroud, M. and Vesal, N. *Evaluation of the anti-nociceptive effects of morphine, tramadol, meloxicam and their combinations using the tail-flick test in*

- rats. in *Veterinary Research Forum*. 2015. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
162. Ricardo Buenaventura, M., Rajive Adlaka, M. and Nalini Sehgal, M. *Opioid complications and side effects*. *Pain physician*, **2008**. 11: p. S105-S120.
 163. Sostres, C., Gargallo, C. J., Arroyo, M. T. and Lanas, A. *Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract*. *Best practice Research Clinical Gastroenterology*, **2010**. 24(2): p. 121-132.
 164. Ortiz, M. I., Molina, M. A. R., Arai, Y.-C. P. and Romanò, C. L. *Analgesic drugs combinations in the treatment of different types of pain*. *Pain research and treatment*, **2012**: p. 1-2.
 165. Zhang, Y., Du, L., Pan, H., Li, L. and Su, X. *Enhanced analgesic effects of propacetamol and tramadol combination in rats and mice*. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, **2011**. 34(3): p. 349-353.
 166. Filitz, J., Ihmsen, H., Günther, W., Tröster, A., Schwilden, H., et al. *Supra-additive effects of tramadol and acetaminophen in a human pain model*. *Pain*, **2008**. 136(3): p. 262-270.
 167. Chandanwale, A. S., Sundar, S., Latchoumibady, K., Biswas, S., Gabhane, M., et al. *Efficacy and safety profile of combination of tramadol-diclofenac versus tramadol-paracetamol in patients with acute musculoskeletal conditions, postoperative pain, and acute flare of osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a Phase III, 5-day open-label study*. *Journal of Pain Research*, **2014**. 7: p. 455-463.
 168. López-Muñoz, F. J., Díaz-Reval, M. I., Terrón, J. A. and Campos, M. D. *Analysis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rat*. *European Journal of pharmacology*, **2004**. 484(2-3): p. 157-165.
 169. Isiordia, M., Guillén, A. P., Aguirre, P. and Pérez, J. *Análisis isobolográfico de la combinación analgésica ketorolaco sistémico y tramadol local en el modelo de la formalina en ratones*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, **2010**. 41(2): p. 42-49.
 170. Villegas-Gómez, R. M., Sánchez-Zárate, D. A. and Mejía-Terrazas, G. E. *Efficacy and safety of combination of tramadol-ketorolac in upper abdominal surgery*. *Revista Mexicana de Anestesiología*, **2009**. 32(4): p. 223-226.
 171. Ruiz, V. M., Contreras, A. D. J., Becerril, A. O., Ramírez, R. R., Trejo, E. R., et al. *Evaluation of the antinociceptive effects of tramadol in co-administration with diclofenac intraperitoneally in mice*. *Revista de Enfermería Neurológica*, **2011**. 10(1): p. 11-15.
 172. Rodríguez-Silverio, J., Déciga-Campos, M., Reyes-García, G., Carrasco-Portugal, M. d. C. and Flores-Murrieta, F. J. *Evaluation of the interaction between tramadol and diclofenac in several models of nociception in the rat*. *Drug Development Research*, **2011**. 72(5): p. 391-396.

173. Isiordia-Espinoza, M. A., Terán-Rosales, F., Reyes-García, G. and Granados-Soto, V. *Synergism between tramadol and meloxicam in the formalin test involves both opioidergic and serotonergic pathways*. Drug Development Research, **2012**. 73(1): p. 43-50.
174. Abass, M., Mosbah, E., Rizk, A., Karrouf, G. and Zaghloul, A. *Synergistic efficacy of tramadol and meloxicam on alleviation of pain and selected immunological variables after sciatic nerve ligation in rats*. International Journal of Veterinary Science Medicine, **2014**. 2(1): p. 14-20.
175. Teixeira, R. C., Monteiro, E. R., Campagnol, D., Coelho, K., Bressan, T. F., et al. *Effects of tramadol alone, in combination with meloxicam or dipyrone, on postoperative pain and the analgesic requirement in dogs undergoing unilateral mastectomy with or without ovariohysterectomy*. Veterinary anaesthesia analgesia, **2013**. 40(6): p. 641-649.
176. Monteiro, B. P., Klinck, M. P., Moreau, M., Guillot, M., Steagall, P. V., et al. *Analgesic efficacy of an oral transmucosal spray formulation of meloxicam alone or in combination with tramadol in cats with naturally occurring osteoarthritis*. Veterinary anaesthesia analgesia, **2016**. 43(6): p. 643-651.
177. Eskafian, H., Tabrizi, A. S. and Lari, M. A. *Gastroscopic study of meloxicam, tramadol, and their combined administration on the development of gastric injuries in dogs*. Topics in Companion Animal Medicine, **2017**. 32(3): p. 109-113.
178. NOM-062-ZOO-1999, *Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. 1999, Diario Oficial de la Federación México: Diario Oficial de la Federación México.
179. Zimmermann, M. *Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals*. Pain, **1983**. 16(2): p. 109-110.
180. Palomares, L. G., *Evaluación del efecto anti-inflamatorio de la combinación de Meloxicam-Omega-3*. 2017. p. 84.
181. Gil, J. R., *Evaluación del efecto antinociceptivo de nuevos α -aminofosfonatos en roedores*. 2020, UAEM. p. 1-88.
182. Dueñas, M., Ojeda, B., Salazar, A., Mico, J. A. and Failde, I. J. J. o. p. r. *A review of chronic pain impact on patients, their social environment and the health care system*. **2016**. 9: p. 457-467.
183. Gaskin, D. J. and Richard, P. *The economic costs of pain in the United States*. Journal of Pain, **2012**. 13(8): p. 715-24.
184. Decosterd, I. and Woolf, C. *Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain*. **2000**. 87(2): p. 149-158.
185. Bourquin, A.-F., Süveges, M., Pertin, M., Gilliard, N., Sardy, S., et al. *Assessment and analysis of mechanical allodynia-like behavior induced by spared nerve injury (SNI) in the mouse*. **2006**. 122(1-2): p. e1-14.

186. Grégoire, S., Millecamps, M., Naso, L., Do Carmo, S., Cuello, A. C., et al. *Therapeutic benefits of the methyl donor S-adenosylmethionine on nerve injury-induced mechanical hypersensitivity and cognitive impairment in mice.* **2017.** 158(5): p. 802-810.
187. Duehmke, R. M., Derry, S., Wiffen, P. J., Bell, R. F., Aldington, D., et al. *Tramadol for neuropathic pain in adults.* The Cochrane database of systematic reviews, **2017.** 6(6): p. 1465-1858.
188. Moore, R., Chi, C., Wiffen, P., Derry, S. and Rice, A. *Oral nonsteroidal anti-inflammatory drugs for neuropathic pain.* Cochrane Database of Systematic Reviews, **2015**(10): p. 1-27.
189. Nicholas, M., Vlaeyen, J. W., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., et al. *The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain.* **2019.** 160(1): p. 28-37.
190. Chinn, S., Caldwell, W., Gritsenko, K. J. C. P. and Reports, H. *Fibromyalgia pathogenesis and treatment options update.* **2016.** 20(4): p. 25-35.
191. Chen, W.-N., Lee, C.-H., Lin, S.-H., Wong, C.-W., Sun, W.-H., et al. *Roles of ASIC3, TRPV1, and NaV1. 8 in the transition from acute to chronic pain in a mouse model of fibromyalgia.* Molecular pain, **2014.** 10: p. 10-40.
192. Sluka, K., Kalra, A. and Moore, S. *Unilateral intramuscular injections of acidic saline produce a bilateral, long-lasting hyperalgesia.* Muscle Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine, **2001.** 24(1): p. 37-46.
193. Reichling, D. B. and Levine, J. D. *Critical role of nociceptor plasticity in chronic pain.* Trends in neurosciences, **2009.** 32(12): p. 611-618.
194. Lin, C. C., Chen, W. N., Chen, C. J., Lin, Y. W., Zimmer, A., et al. *An antinociceptive role for substance P in acid-induced chronic muscle pain.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **2012.** 109(2): p. E76-83.
195. Moore, R. A., Straube, S. and Aldington, D. *Pain measures and cut-offs - 'no worse than mild pain' as a simple, universal outcome.* Anaesthesia, **2013.** 68(4): p. 400-12.
196. Macfarlane, G. J., Kronisch, C., Dean, L. E., Atzeni, F., Häuser, W., et al. *EULAR revised recommendations for the management of fibromyalgia.* Ann Rheum Dis, **2017.** 76(2): p. 318-328.
197. Derry, S., Wiffen, P. J., Häuser, W., Mücke, M., Tölle, T. R., et al. *Oral nonsteroidal anti-inflammatory drugs for fibromyalgia in adults.* The Cochrane database of systematic reviews, **2017.** 3(3): p. Cd012332.
198. Russell, I. J., Kamin, M., Bennett, R. M., Schnitzer, T. J., Green, J. A., et al. *Efficacy of tramadol in treatment of pain in fibromyalgia.* Journal of clinical rheumatology : practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases, **2000.** 6(5): p. 250-257.

199. Reid, J. L. *Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of the choice of components of combination therapy*. J Hum Hypertens, **1995**. 9 Suppl 4: p. S19-23.
200. Abass, M., Mosbah, E., Rizk, A., Karrouf, G., Zaghoul, A. J. I. J. o. V. S., et al. *Synergistic efficacy of tramadol and meloxicam on alleviation of pain and selected immunological variables after sciatic nerve ligation in rats*. **2014**. 2(1): p. 14-20.
201. Teixeira, R. C., Monteiro, E. R., Campagnol, D., Coelho, K., Bressan, T. F., et al. *Effects of tramadol alone, in combination with meloxicam or dipyrrone, on postoperative pain and the analgesic requirement in dogs undergoing unilateral mastectomy with or without ovariectomy*. **2013**. 40(6): p. 641-649.
202. Monteiro, B. P., Klinck, M. P., Moreau, M., Guillot, M., Steagall, P. V., et al. *Analgesic efficacy of an oral transmucosal spray formulation of meloxicam alone or in combination with tramadol in cats with naturally occurring osteoarthritis*. **2016**. 43(6): p. 643-651.
203. Ingram, S. and Williams, J. *Modulation of the hyperpolarization-activated current (I_h) by cyclic nucleotides in guinea-pig primary afferent neurons*. **1996**. 492(1): p. 97-106.
204. Yaksh, T. L. *Substance P release from knee joint afferent terminals: modulation by opioids*. Brain research bulletin, **1988**. 458(2): p. 319-324.
205. Rodrigues, A. and Duarte, I. *The peripheral antinociceptive effect induced by morphine is associated with ATP-sensitive K⁺ channels*. British journal of pharmacology, **2000**. 129(1): p. 110-114.
206. Subedi, M., Bajaj, S., Kumar, M. S. and Mayur, Y. *An overview of tramadol and its usage in pain management and future perspective*. Biomedicine Pharmacotherapy, **2019**. 111: p. 443-451.
207. Aguirre-Bañuelos, P. and Granados-Soto, V. J. E. j. o. p. *Evidence for the participation of the nitric oxide–cyclic GMP pathway in the antinociceptive action of meloxicam in the formalin test*. **2000**. 395(1): p. 9-13.
208. Miranda, H., Lemus, I. and Pinardi, G. *Effect of the inhibition of serotonin biosynthesis on the antinociception induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs*. Brain research bulletin, **2003**. 61(4): p. 417-425.