

Efectos antinociceptivos de la combinación metamizol + morfina en ratas con dolor intenso (artritis tipo "gota" producida por ácido úrico)

Beatriz Godínez-Chaparro,* Uriah Guevara-López,**
Minarda de la O-Arciniega,*** Alma Rosa Cortés-Arroyo,§ Francisco Javier López-Muñoz*§

Resumen

Los efectos antinociceptivos del metamizol y la morfina administrados individualmente o en combinación fueron determinados en *Pain-induced functional impairment model in the rat* (PIFIR). La nocicepción intensa (o dolor intenso) fue provocada por la inyección intraarticular de ácido úrico a 50% en la extremidad posterior derecha. Después los animales recibieron tratamiento farmacológico y fue evaluada la recuperación de la funcionalidad a través del tiempo, como una expresión de antinocicepción. El metamizol (177.8 mg/kg vía subcutánea) y la morfina (3.2 mg/kg vía subcutánea) por separado presentaron un efecto antinociceptivo bajo: 22.1 ± 5.4 y 31.8 ± 9.4 unidades de área, respectivamente. El efecto antinociceptivo con la combinación (293.7 ± 16.6 unidades de área) fue significativamente mayor que el esperado con la suma de los efectos individuales: el cambio fue de 444.9 %. Éste representa el primer estudio que demuestra que la combinación metamizol + morfina potencia los efectos antinociceptivos de los fármacos.

Palabras clave: Analgesia, antinocicepción, morfina, metamizol, sinergismo.

Summary

Background: The antinociceptive effects of metamizol and morphine administered either separately or in combination were determined in the "Pain-Induced Functional Impairment Model in the Rat" (PIFIR antinociceptive model).

Methods: Intense nociception (or intense pain) was induced by the intra-articular injection of uric acid (50 %) in the right hind limb inducing its dysfunction. Animals then received analgesic agents, and the recovery of functionality over time was assessed as an expression of antinociception.

Results: Metamizol (177.8 mg/kg SC) or morphine (3.2 mg/kg SC) separately resulted in a lower antinociceptive effect (22.1 ± 5.4 area units [au] and 31.8 ± 9.4 au, respectively). Moreover, the combination of metamizol (177.8 mg/kg) with morphine (3.2 mg/kg) resulted in a potentiation (293.7 ± 16.6 au). The antinociceptive effect observed using the combination was significantly greater than expected on the basis of addition of the individual effects. The percent change in antinociceptive effects, using the combination, was 444.9 %.

Conclusions: This represents the first study to show that metamizol + morphine can produce potentiation of their antinociceptive effects in intense pain.

Key words: Analgesia, antinociception, morphine, metamizol, synergism.

* Departamento de Farmacobiología, Cinvestav-Sede Sur, México D. F., México.

** Unidad de Medicina del Dolor y Paliativa, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". Investigador de la Unidad Médica de Alta Especialidad "Magdalena de las Salinas", Instituto Mexicano del Seguro Social. México, D. F.

*** Área Académica de Farmacia, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.

§ Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México, D. F.

Solicitud de sobretiros:

Francisco Javier López-Muñoz. Laboratorio 7 "Dolor y Analgesia", Departamento de Farmacobiología, Cinvestav-Sede Sur, Calz. de los Tenorios 235, Col. Granjas Coapa, Deleg. Tlalpan, 14330 México, D. F. Tel.: (55) 5061 2851. Fax: (55) 5061 2863. E-mail: flopez@cinvestav.mx; flopezm@prodigy.net.mx

Recibido para publicación: 23-01-2007

Aceptado para publicación: 23-04-2007

Introducción

Datos clínicos y experimentales soportan el potencial de combinar opioides con otros analgésicos como los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Estas combinaciones han demostrado claramente ser superiores en eficacia analgésica y en menor perfil de efectos adversos que cualquiera de los fármacos administrados por separado.¹⁻⁸ Combinar fármacos que actúan a diferentes niveles con distintos mecanismos farmacológicos de acción, puede proporcionar beneficios potenciales como:

- Aumentar la eficacia analgésica, a través de la interacción sinérgica o aditiva.
- Ampliar el espectro analgésico: los opioides reducen la selectividad a estímulos independientes al dolor y los fármacos

adyuvantes decremantan la selectividad a estímulos evocados por dolor.

- Disminuir la dosis del opioide.
- Disminuir los efectos adversos.
- Prevenir la tolerancia al opioide.^{2,5,8}

Dadas las múltiples vías involucradas en la percepción del dolor, la Organización Mundial de la Salud y la Sociedad Americana del Dolor han recomendado la combinación terapéutica.⁵

La morfina es ampliamente utilizada como analgésico y tiene múltiples ventajas, sin embargo, su aplicación clínica en dolor crónico puede ser limitada por el desarrollo de tolerancia. Otra desventaja puede ser su corto periodo de acción, por lo que requiere frecuentes administraciones. En muchos casos se necesitan dosis altas que pueden ser asociadas con efectos adversos como depresión respiratoria.⁹

El metamizol, también conocido como dipirona, es un profármaco derivado de la pirazolona que se hidroliza *in vivo* en sus metabolitos biológicamente activos.¹⁰ Es un agente analgésico y antipirético perteneciente al grupo de los AINEs,¹¹ empleado en pacientes pediátricos y adultos.¹⁰ Fue introducido en la práctica clínica en 1922 y todavía es prescrito en muchos países de Europa (Alemania, Italia, España), incluso en Turquía y países de América, como Brasil¹⁰ y México.¹¹ Está prohibido en Estados Unidos y Suiza por su potencial efecto adverso de agranulocitosis. Sin embargo, este tema es criticado por algunos autores debido a que en otras poblaciones se ha demostrado una producción de adecuados efectos analgésicos,^{10,11} una formulación parenteral disponible, bajo costo,^{10,11} y muy baja incidencia de agranulocitosis. Adicionalmente, el metamizol tiene efectos benéficos: relajante del músculo liso, antiapoptótico vascular y anticonvulsivo.^{10,12-14}

Estudios preclínicos han demostrado que el metamizol incrementa la antinocicepción o analgesia por morfina cuando los fármacos son coadministrados en ratas con dolor inducido por ácido úrico a 30 %.^{2,6,9,15,16} En trabajos previos, nuestro grupo ha caracterizado los efectos de esta combinación examinando un amplio rango de dosis de metamizol (31.6 a 562.3 mg/kg, vía subcutánea) y de morfina (1.8 a 10 mg/kg, vía subcutánea) en un modelo de nocicepción inflamatoria conocido como *Pain-induced functional impairment model in the rat* (PIFIR, por sus siglas en inglés),^{2,17} empleando ácido úrico intraarticular a 30 %. De 24 combinaciones examinadas, 13 produjeron efectos aditivos y 11 efectos supraaditivos comparados con la antinocicepción con los fármacos individuales. La combinación que resultó con la máxima potenciación antinociceptiva fue la de 177.8 mg/kg de metamizol con 3.2 mg/kg de morfina.² Dicho estudio claramente sugiere que la coadministración tiene efectos antinociceptivos benéficos.¹⁵ Por lo que se decidió determinar los posibles efectos antinociceptivos de la combinación subcutánea de 3.2 mg/kg de morfina + 177.8 mg/kg de metamizol, en una condición de dolor más intenso (ratas con administración intraarticular de ácido úrico a 50 %), y así definir si en esta condición es útil.

Material y métodos

Animales de experimentación

Fueron empleadas 18 ratas Wistar macho con peso de 150 a 180 g. Se siguieron las recomendaciones del Comité de Ética de la Asociación Internacional para la Investigación y Estudio del Dolor¹⁸ y las guías y estándares éticos para la investigación del dolor experimental en animales,¹⁹ además de seguir las recomendaciones del Comité Local de Ética (Departamento de Farmacobiología del Cinvestav-Sede Sur) para el manejo adecuado de animales de laboratorio. Los animales fueron mantenidos a 25 °C con ciclos de luz-oscuridad de 12:12 horas. Todos los experimentos fueron realizados durante la fase de luz. Doce horas antes del experimento se les retiró el alimento con libre acceso al agua. Los animales fueron utilizados sólo en una sesión experimental, y con el fin de evitar que sufrieran incapacidad y dolor por más tiempo del necesario fueron sacrificados al final del experimento en una cámara de dióxido de carbono.

Fármacos

El ácido úrico (Sigma) fue suspendido en aceite mineral; el metamizol sódico fue obtenido del Laboratorio Aventis Pharma y el clorhidrato de morfina, de la Secretaría de Salud de México. Todos los fármacos fueron disueltos en solución salina fisiológica a 0.9 % poco antes de realizar el experimento, y administrados en un volumen de 2 ml/kg de peso corporal. Fueron determinados los controles adecuados de acuerdo con los vehículos empleados. La dosis de cada fármaco se refiere a la sal particular.

Modelo experimental PIFIR

La actividad antinociceptiva fue determinada con el modelo experimental PIFIR, el cual ha sido descrito con detalle por López Muñoz y colaboradores.¹⁷ Los animales fueron anestesiados con vapores de éter etílico. Después fueron administrados 0.05 ml de ácido úrico (50 %) suspendidos en aceite mineral, por medio de una inyección intraarticular en la rodilla de la pata trasera derecha. Inmediatamente a los animales se les adhirió un electrodo en cada una de las extremidades traseras. Se esperó a que las ratas se recuperaran de la anestesia para después colocarlas en un cilindro de 30 cm de diámetro, rotado a 4 r. p. m por periodos de dos minutos cada media hora por cuatro horas.

El tiempo de contacto del electrodo colocado en la extremidad y el cilindro fue registrado en un sistema de cómputo programado para tal propósito. El tiempo en que la pata trasera administrada con ácido úrico alcanza un valor de cero de funcionalidad es de aproximadamente una hora y media después de la inyección con ácido úrico. En este momento fueron administrados metamizol o morfina o en combinación por vía subcutánea; el tiempo de contacto fue determinado por 2 minutos.

La antinocicepción (analgesia) fue estimada por medio del índice de funcionalidad porcentual, el cual fue calculado al dividir el tiempo de contacto de la extremidad trasera (derecha) a la que se inyectó ácido úrico, entre el tiempo de contacto de la extremidad trasera (izquierda) sin administración de ácido úrico y multiplicando el cociente por 100.

Análisis estadístico

Todos los resultados son presentados como media \pm error estándar de seis animales por grupo. Los datos de estudios de antinocicepción están expresados como índice de funcionalidad porcentual. El área bajo la curva de cada curso temporal del efecto antinociceptivo fue calculado por la regla de los trapecoides. El análisis estadístico para comparar los efectos tanto de los fármacos individuales como de la combinación se realizó con ANOVA de una vía y una prueba de Tukey. Una $p < 0.05$ fue aceptada como valor significativo. Para determinar la diferencia entre la combinación morfina + metamizol y la suma teórica esperada se realizó prueba t de Student con corrección de Bonferroni.

Resultados

La inyección intraarticular de ácido úrico en las ratas indujo una completa disfunción en el uso de la pata derecha en aproximada-

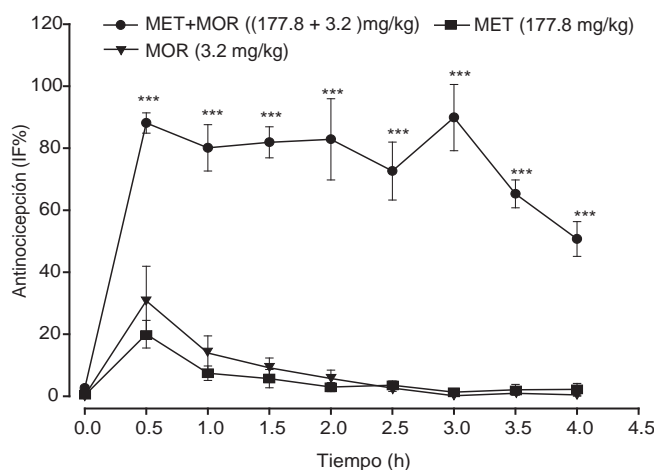


Figura 1. Efecto antinociceptivo expresado como recuperación del índice de funcionalidad porcentual producido por metamizol, morfina o la combinación metamizol + morfina. Los datos son expresados como media \pm error estándar de seis determinaciones. La combinación metamizol + morfina produce claramente potenciación del efecto analgésico, al comparar las áreas bajo la curva. *** La diferencia significativa ($p < 0.003$) fue determinada por ANOVA de una vía seguida de una prueba de Tukey.

mente 1.5 horas, correspondiendo a un índice de funcionalidad porcentual igual a cero. Este dato coincide con los controles obtenidos por López Muñoz en 1986,²⁰ donde demuestra que entre mayor la concentración de la suspensión administrada de ácido úrico, menor el tiempo en que se pierde la funcionalidad y más duradera la permanencia de esta disfunción (sin tratamiento de analgésicos) y mayor la nocicepción (dolor), mientras que la recuperación espontánea se retarda en comparación con lo que sucede con concentraciones más bajas de ácido úrico (30 % p/v).²⁰ Las normas internacionales en el manejo de dolor experimental en animales establecen que si se tienen controles históricos no es necesario repetirlos totalmente, siempre y cuando con un número menor de sujetos experimentales se compruebe que los datos obtenidos sean reproducibles y similares a los históricos, lo cual sucedió en este estudio. El curso temporal del efecto antinociceptivo (índice de funcionalidad porcentual *versus* tiempo) obtenido después de la administración aguda (dosis única) de morfina (3.2 mg/kg), metamizol (177.8 mg/kg) y la combinación de morfina + metamizol se muestran en la figura 1. Tanto la morfina como el metamizol inducen un incremento en el índice de funcionalidad de 30.8 y 20 %, respectivamente (cuadro I) en la primera media hora después de la administración, y después muestran un descenso gradual a lo largo de las cuatro horas de evaluación. No existen diferencias significativas entre ellos. Por el contrario, cuando es coadministrado metamizol con morfina se aprecia claramente un efecto de potenciación, mayor al esperado por la suma teórica (figura 2) tanto de efectos máximos como del área bajo la curva de los correspondientes cursos temporales. Así mismo, es evidente que el efecto antinociceptivo permaneció prácticamente constante a partir de la media hora y hasta tres horas después de que los fármacos fueron coadministrados, alcanzando 88.1 % de recuperación en el índice de funcionalidad de la pata afectada por ácido úrico a 50 % (figura 1).

De igual manera se puede apreciar en la figura 2 que el área bajo la curva refleja el efecto antinociceptivo global a través del tiempo de evaluación (cuatro horas en total), tanto del metamizol como de la morfina y no presentan diferencias significativas entre sí. Sin embargo, la combinación de metamizol con morfina produjo un área bajo la curva de 293.7 ± 16.6 unidades de área, que es significativamente diferente (***) a la suma de efectos individuales ($p < 0.001$). Lo anterior también puede ser observa-

Cuadro I. Interacción entre metamizol y morfina

Fármaco	Dosis (mg/kg)	ABC (%-h)	Emáx (% IF)
Metamizol + morfina	177.8 + 3.2	293.7 \pm 16.6	88.1 \pm 3.1
Morfina	3.2	31.8 \pm 9.4	30.8 \pm 11.2
Metamizol	177.8	22.1 \pm 5.4	20.0 \pm 4.5

do tanto en la figura 3 como en la figura 4; la primera muestra el efecto máximo alcanzado por los fármacos media hora después de la administración, mientras que la segunda indica el efecto antinociceptivo cuatro horas después de la administración. En ambos casos existe una diferencia significativa en la nocicepción producida por la combinación de morfina + metamizol en comparación con los fármacos por separado. Por lo anterior, podemos decir que es evidente el efecto de potenciación de la coadministración.

Discusión

En el modelo experimental PIFIR es posible generar diversos niveles de dolor o nocicepción al administrar diferentes concentraciones de ácido úrico intraarticular a las ratas.²⁰ Al ser determinados los efectos antinociceptivos de morfina en ratas con ácido úrico a 30 % (para inducir dolor bajo) y 50 % (para inducir dolor intenso), se puede observar que la morfina no modifica importantemente sus efectos antinociceptivos, mientras que compuestos analgésicos de tipo AINEs modifican importantemente la eficacia antinociceptiva mostrada,²⁰ pero no hay estudios que den a conocer los efectos que produce la combinación morfina + metamizol (3.2 + 177.8 mg/kg, vía subcutánea) cuando es generada la artritis a las ratas con ácido úrico a 50 %. De ahí la im-

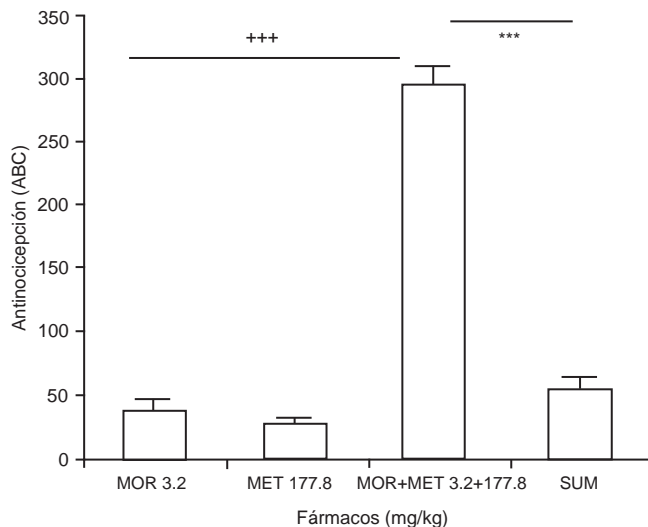


Figura 2. Efecto antinociceptivo agudo de 3.2 mg/kg de morfina subcutánea, 177.8 mg/kg de metamizol subcutáneo, y la combinación morfina + metamizol. Los datos son expresados como área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales correspondientes. Las barras son la media \pm error estándar de seis animales. +++ , *** La diferencia significativa ($p < 0.001$) fue determinada por ANOVA de una vía seguida de una prueba de Tukey, o por t de Student con corrección de Bonferroni.

portancia de evaluar la utilidad de una combinación que ha mostrado potenciación en ratas con ácido úrico a 30 %.

La combinación de dos o más agente analgésicos frecuentemente es utilizada a nivel clínico para incrementar la eficacia analgésica (tanto en efecto máximo como en duración de los efectos), así como para reducir los efectos adversos.³ Mezclas que contengan un analgésico opioide con un analgésico AINEs pudieran contribuir cada uno con sus propios mecanismos de acción, y con ello proporcionar alivio del dolor por diferentes mecanismos de acción.⁷ Estudios preclínicos han demostrado que el metamizol aumenta la antinocicepción inducida por morfina cuando ambos fármacos son coadministrados.^{3,15,16} Similares estudios han sido reportados para la coadministración intravenosa o espinal de varios analgésicos AINEs y morfina.^{21,22} También es reconocido el efecto de la combinación de analgésicos opioides con AINEs a nivel clínico.^{23,24} La combinación de analgésicos que actúan a nivel central y periférico tiene justificación teórica porque esos compuestos tienen diferentes mecanismos de acción. La morfina y otros fármacos opioides interactúan con los receptores μ -opioidérgicos y producen analgesia por el mismo mecanismo de acción que las encefalinas. Adicionalmente, la morfina puede interactuar con receptores opioides locales en estructuras supraespinales activando el sistema supraespinal.²⁵⁻²⁸ Existe evidencia que soporta el papel de la activación de rutas inhibitorias serotoninérgicas y noradrenérgicas a nivel bulboespinal.²⁹⁻³¹ Adicionalmente, la morfina tiene efecto directo sobre estados inflamatorios hiperalgésicos.^{32,33}

Se sabe que el metamizol, al igual que otros analgésicos AINE's, inhibe la síntesis de prostaglandinas,^{34,35} tanto a nivel

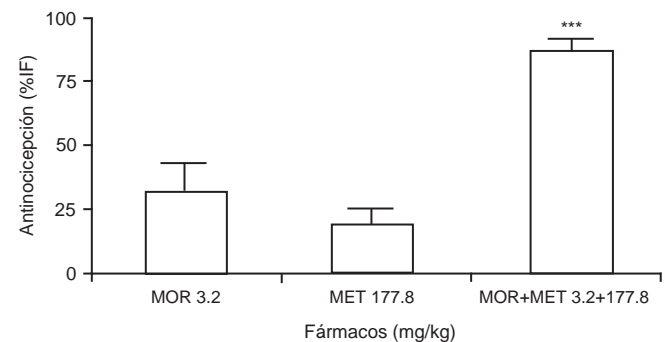


Figura 3. Efecto antinociceptivo agudo de 3.2 mg/kg de morfina subcutánea, 177.8 mg/kg de metamizol subcutáneo, y la combinación morfina + metamizol. Los datos son expresados como índice de funcionalidad (IF %) a los 30 minutos, determinado de las curvas del curso temporal, representando el máximo efecto antinociceptivo obtenido durante el experimento. Las barras son la media \pm error estándar de seis animales. *** La diferencia significativa ($p < 0.001$) fue determinada por ANOVA de una vía seguida de una prueba de Tukey.

central como periférico.^{36,37} Otro mecanismo de acción al parecer involucrado en el efecto antinociceptivo de este fármaco es la activación de la ruta óxido nítrico-GMPc a nivel periférico.^{33,38} Mientras que a nivel central, otro mecanismo es la activación del sistema opioidérgico, porque este efecto antinociceptivo es bloqueado por naloxona,³⁹ y hay evidencias de que este fármaco es capaz de estimular la liberación de β -endorfinas de la pituitaria e hipotálamo.⁴⁰ También ha sido sugerida una posible interferencia del metamizol a nivel central con la actividad nociceptiva por glutamato.⁴¹

Un posible mecanismo que explique la potenciación de la antinocicepción de morfina + metamizol, es la participación de la ruta óxido nítrico-GMPc. La participación de la ruta óxido nítrico-GMPc fue supuesta porque se ha reportado que la administración local de inhibidores de la síntesis de óxido nítrico, así como de un inhibidor soluble de la guanilato ciclasa bloquean el efecto antinociceptivo tanto de la morfina como del metamizol. Además, se ha observado que inhibidores de la síntesis de óxido nítrico bloquean la antinocicepción producida por morfina,³⁸ sugiriendo que la activación de receptores opioidérgicos periféricos provoca la liberación de óxido nítrico.

Un factor limitante del uso clínico de los analgésicos opioides es el desarrollo de tolerancia analgésica cuando son usadas administraciones repetidas, por lo que cabe mencionar que estudios previos sugieren que coadministraciones repetidas de morfina con metamizol significativamente atenúan el desarrollo de tolerancia a la morfina.^{9,16} Otro efecto adverso que presentan los

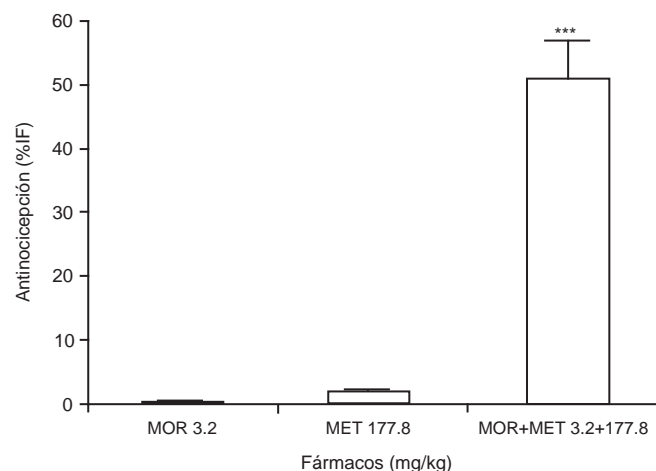


Figura 4. Efecto antinociceptivo agudo de 3.2 mg/kg de morfina subcutánea, 177.8 mg/kg de metamizol subcutáneo, y la combinación morfina + metamizol. Los datos son expresados como índice de funcionalidad (IF %) a las cuatro horas de la administración, y determinados en las curvas del curso temporal. Las barras son la media \pm error estándar de seis animales. *** La diferencia significativa ($p < 0.001$) fue determinada por ANOVA de una vía seguida de una prueba de Tukey.

opioides es la inhibición del tránsito gastrointestinal; el análisis experimental de estos efectos adversos ha demostrado que la combinación inhibe el tránsito gastrointestinal en un grado similar al efecto producido por la morfina sola, sugiriendo que el metamizol no potencia la constipación inducida por morfina.⁹

En resumen, la coadministración de metamizol + morfina en ratas con dolor intenso (modelo PIFIR, ácido úrico a 50 %) produce potenciación del efecto antinociceptivo (tanto en efecto máximo como en cobertura antinociceptiva a través del tiempo), superior al mostrado por cualquiera de los fármacos individuales (morfina o metamizol). Esto puede tener importantes beneficios en el tratamiento del dolor intenso.

Referencias

- López-Muñoz FJ, Castañeda-Hernández G, Villalón CM, Terrón JA, Salazar LA. Analgesic effects of combinations containing opioid drugs with either aspirin or acetaminophen in the rat. *Drug Dev Res* 1993;29:299-304.
- López-Muñoz FJ, Villalón CM, Terrón JA, Salazar LA. Analgesic interactions produced by dipyron and either morphine or D-propoxyphene in the Pain-Induced Functional Impairment Model in Rat. *Drug Dev Res* 1994;32:50-57.
- López-Muñoz FJ, Villalón CM, Terrón JA, Salazar LA. Analgesic interactions produced by combinations of dipyron and morphine in the rat. *Proc West Pharmacol Soc* 1994;37:17-19.
- López-Muñoz FJ, Villalón CM, Terrón JA, Salazar LA. Doses of acetyl salicylic acid and morphine in combination which provided either maximal levels of analgesia or the highest potentiation effect in the rat. *Drug Dev Res* 1995;35:94-101.
- Raffa RB. Pharmacology of oral combination analgesics: rational therapy for pain. *J Clin Pharm Ther* 2001;26:257-264.
- Hernández-Delgadillo GP, Cruz SL. Dipyron potentiates morphine-induced antinociception in dipyron-treated and morphine-tolerant rats. *Eur J Pharmacol* 2004;502:67-73.
- López-Muñoz FJ, Díaz-Reval MI, Terrón JA, Déciga-Campos M. Analysis of the analgesic interactions between ketorolac (NSAID) and tramadol (atypical opioid drug) during arthritic nociception in rat. *Eur J Pharmacol* 2004;484:157-165.
- Gilron I, Max M. Combination pharmacotherapy for neuropathic pain: current evidence and future directions. *Expert Rev Neurother* 2005;5:823-830.
- Domínguez-Ramírez AM, Hernández-Delgadillo GP, Ventura R, Díaz IM, López-Muñoz FJ. Analgesic efficacy of the combination metamizol + morphine after subchronic treatment in rats. *Drug Dev Res* 2000;51:260-267.
- Ergün H, Frattarelli DAC, Aranda JV. Characterization of the role of physicochemical factors on the hydrolysis of dipyron. *J Pharm Biomed Anal* 2004;35:479-487.
- Arcila-Herrera H, Barragán-Padilla S, Borbolla-Escoboza JR, et al. Consenso de un grupo de expertos mexicanos. Eficacia y seguridad del metamizol (dipirona). *Gac Med Mex* 2004;140:99-101.
- Doretto MC, García-Cairasco N, Pimenta NJG, Souza DA, Tatsuo MAK. Dipyron, a novel anticonvulsant agent? Insights from three experimental epilepsy models. *Neuro Report* 1998;9:2415-2421.
- Ergün H, Uzbay IT, Celik T, Kayir H, Yesukyurt Ö, Tulunay FC. Dipyron inhibits ethanol withdrawal and pentylenetetrazol-induced seizures in rats. *Drug Dev Res* 2001;53:254-259.
- Reis GML, Doretto MC, Duarte IDG, Tatsuo MAK. Do endogenous opioids and nitric oxide participate in the anticonvulsant action of dipyron? *Braz J Med Biol Res* 2003;36:1263-1268.

15. Hernández-Delgado GP, Ventura R, Díaz I, Domínguez AM, López-Muñoz FJ. Metamizol potentiates morphine antinociception but not constipation after chronic treatment. *Eur J Pharmacol* 2002;441:177-183.
16. Hernández-Delgado GP, López-Muñoz FJ, Salazar LA, Cruz SL. Morphine and dipyron co-administration delays tolerance development and potentiates antinociception. *Eur J Pharmacol* 2003;469:71-79.
17. López-Muñoz FJ, Salazar LA, Castañeda-Hernández G, Villarreal JE. A new model to assess analgesic activity: pain-induced functional impairment in the rat (PIFIR). *Drug Dev Res* 1993;28:169-175.
18. Covino BG, Dubner R, Gybels J, et al. Ethical standards for investigation of experimental pain in animals. *Pain* 1980;9:141-143.
19. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983;16:109-110.
20. López-Muñoz FJ. "Análisis de algunos factores que determinan la farmacodinamia de agentes analgésicos". Tesis para obtener el grado de maestro en Ciencias, Departamento de Farmacología y Toxicología del Cinvestav, Mexico, 1986.
21. Malmberg AB, Yaksh TL. Pharmacology of the spinal action of ketorolac, morphine, ST-91, U50488H, and L-PIA on the formalin test and an isobolographic analysis of the NSAID interaction. *Anesthesiology* 1993;79:270-281.
22. Maves TJ, Pechman PS, Meller ST, Gebhart GF. Ketorolac potentiates morphine antinociception during visceral nociception in the rat. *Anesthesiology* 1994;80:1094-1101.
23. Calimlim JF, Wardell WM, Davis HT, Lasagna L, Gillies AJ. Analgesic efficacy of an orally administered combination of pentazocine and aspirin. *Clin Pharmacol Ther* 1976;21:34-43.
24. Bentley KC, Head TW. The additive analgesic efficacy of acetaminophen, 1000 mg, and codeine, 60 mg, in dental pain. *Clin Pharmacol Ther* 1987;42:634-640.
25. Picard P, Bazin JE, Conio N, Ruiz F, Schoeffler P. Ketorolac potentiates morphine in postoperative patient-controlled analgesia. *Pain* 1997;73:401-406.
26. Martin WR. Pharmacology of opioids. *Pharmacol Rev* 1984;35:283-323.
27. Jaffe JH, Martin WR. Opioid analgesics and antagonists. In: Rall TW, Nies AS, Taylor P, eds. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th ed. Elmsford, NY: Pergamon Press;1990. pp. 485-521.
28. Lipp J. Possible mechanism of morphine analgesia. *Clin Neuropharmacol* 1991;14:131-147.
29. Yaksh TL. Direct evidence that spinal serotonin and noradrenalin terminals mediate the spinal antinociceptive effects of morphine in the periaqueductal gray. *Brain Res* 1979;160:180-185.
30. Yeomans DC, Clark FM, Paice JA, Proudfit HK. Antinociception induced by electrical stimulation of spinally projecting noradrenergic neurons in the catecholamine cell group of the rat. *Pain* 1992;48:449-461.
31. Kawamata M, Omote K, Namiki A, Ishitani K. Contribution of descending inhibitory and spinal cholinergic systems to visceral antinociception of morphine. *Anaesthesiology* 1993;79:A701.
32. Lorenzetti BB, Ferreira SH. The analgesic effect of quaternary analogues of morphine and nalorphine. *Braz J Med Biol Res* 1982;15:285.
33. Lorenzetti BB, Ferreira SH. Mode of analgesic action of dipyron: direct antagonism of inflammatory hyperalgesia. *Eur J Pharmacol* 1985;114:375-381.
34. Lim KS, Guzman F, Rodgers DW, et al. Site of action of narcotic and non-narcotic analgesics determined by blocking bradykinin-evoked visceral pain. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1964;152:25-58.
35. Ferreira SH. Prostaglandins, aspirin-like drugs and analgesia. *Nature* 1972;240: 200-239.
36. Campos C, de Gregorio R, García-Nieto R, Gago F, Ortiz P, Alemany S. Regulation of cyclooxygenase activity by metamizol. *Eur J Pharmacol* 1999;378:339-347.
37. Shimada SG, Otterness IG, Stitt JT. A study of the mechanism of action of the mild analgesic dipyron. *Agents Actions* 1994;4:188-192.
38. Duarte ID, Santos IR, Lorenzetti BB, Ferreira SH. Analgesia by direct antagonism of nociceptor sensitization involves the arginine-nitric oxide c-GMP pathway. *Eur J Pharmacol* 1992;217:225-227.
39. Tortorici V, Vázquez E, Vanegas H. Naloxone partial reversal of the antinociception produced by dipyron microinjected into periaqueductal gray of rats: possible involvement of medullary off- and on-cells. *Brain Res* 1996;725:106-110.
40. Vlaskovska M, Surcheva S, Ovcharov R. Importance of endogenous opioids and prostaglandins in the action of analgin (metamizole) and verapamil. *Farmakol Toksikol* 1989;52:25-29.
41. Beirith A, Santos ARS, Rodrigues AL, Creczynski-Pasa TB, Calixto JB. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyron in formalin, capsaicin and glutamate tests: study of the mechanism of action. *Eur J Pharmacol* 1998;345:233-245.