

# Revista Mexicana de Anestesiología

Volumen 27  
Volume

Número 1  
Number

Enero-Marzo 2004  
January-March

*Artículo:*

Evaluación del modelo PIFIR en dolor neuropático. Comparación de tres esquemas antinociceptivos en ratas

Derechos reservados, Copyright © 2004:  
Colegio Mexicano de Anestesiología, AC

**Otras secciones de este sitio:**

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

*Others sections in this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



**Edigraphic.com**

## Evaluación del modelo PIFIR en dolor neuropático. Comparación de tres esquemas antinociceptivos en ratas

Antonio C Tamayo-Valenzuela,\* Francisco Javier López-Muñoz,\*\*  
Uriah Guevara-López,\*\*\* Argelia Lara-Solares\*\*\*\*

\* Médico Anestesiólogo. Algólogo adscrito a la Unidad de Medicina del Dolor y Paliativa, INCMNSZ.  
\*\* Investigador Titular y Coordinador del Laboratorio “Dolor y Analgesia”. Departamento de Fármaco-Biología. CINVESTAV.  
\*\*\* Médico Anestesiólogo y Algólogo, Jefe del Servicio de la Unidad de Medicina del Dolor y Paliativa INCMNSZ.  
\*\*\*\* Médico Anestesiólogo, Algólogo y Paliativista adscrita a la Unidad de Medicina del Dolor y Paliativa INCMNSZ.

*Solicitud de sobretiros:*  
Antonio C. Tamayo-Valenzuela  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición  
“Salvador Zubirán”  
Vasco de Quiroga No. 15 Delegación Tlalpan  
CP. 14000  
Tel.: 55730611 Ext. 5008.

Recibido para publicación: 10-02-03  
Aceptado para publicación: 19-01-04

### RESUMEN

**Objetivos:** (1) Valorar la eficacia del modelo PIFIR en dolor neuropático. (2) Comparar el efecto antinociceptivo de tres analgésicos para controlar el dolor inducido. **Material y métodos:** Se distribuyeron las ratas en cinco grupos de seis ratas cada uno. Se determinó que uno de los grupos (el Grupo A) actuara como control y, por tanto, no se produjo lesión a ninguno de sus miembros. Al resto de las ratas se les ligó el nervio ciático. Igualmente se decidió que otro grupo (el Grupo B) funcionara como control sin fármacos. A las ratas de otro grupo (el Grupo C) se le administró parecoxib; a las del grupo D, ketorolaco más tramadol y a las del grupo E, ketamina. Se evaluó la funcionalidad de las patas mediante el método PIFIR. Los valores obtenidos se analizaron con las pruebas T de Student y de Mann-Whitney. **Resultados:** Se pudo observar que en los grupos C y D no hubo diferencias significativas en la mejoría de la funcionalidad con respecto al grupo control ( $p = 0.129$  y  $0.13$  respectivamente); simplemente asomó una tendencia hacia la mejoría. En el grupo E, se apreció una mejoría significativa en términos estadísticos ( $p = 0.043$ ). **Conclusiones:** (1) El modelo PIFIR es útil para evaluar la funcionalidad en ratas con dolor neuropático inducido. (2) No se observó mejoría con la aplicación de parecoxib. (3) Con el tramadol + ketorolaco se presentó una tendencia hacia la mejoría nada significativa. (4) Por lo contrario, con la ketamina se apreció una mejoría significativa.

**Palabras clave:** Dolor neuropático, modelo PIFIR, parecoxib, tramadol, ketorolaco y ketamina.

### SUMMARY

**Objective:** (1) To assess the effectiveness of the PIFIR model in neuropathic pain. (2) To compare the antinociceptive effect of three analgesic regimes for the control of induced pain. **Material and methods:** Five groups with six rats each were formed. Group A was the control group and underwent no nerve injury. All the remaining rats underwent a ligation of the sciatic nerve. Rats in Group B received no drugs. Rats in Group C were given parecoxib; rats in Group D received tramadol plus ketorolac; and rats in group E received ketamine. Function of the hind limbs was studied with the PIFIR method. Results were analyzed using the Student's t test and the Mann-Whitney rank sum test. **Results:** Groups C (parecoxib) and D (tramadol plus ketorolac) showed no significant difference ( $p = 0.129$  and  $0.13$ , respectively) vs. the group with no drug, although Group D showed a slight improvement. Group E showed a statistically significant improvement ( $p = 0.043$ ). **Conclusions:** (1) The PIFIR model is useful to evaluate function in rats with induced neuropathic pain. No improvement was observed after parecoxib was adminis-

tered. Although slight improvement was observed with tramadol plus ketorolac, it was not conclusive. Ketamine achieved a significant improvement.

**Key words:** Neuropathic pain, PIFIR model, parecoxib, tramadol, ketorolac, ketamine.

## INTRODUCCIÓN

Las lesiones de estructuras nerviosas son causantes de síndromes dolorosos neuropáticos. Estos síndromes fueron descritos, por primera vez, por Weir- Mitchel durante la Guerra Civil Norteamericana<sup>(1)</sup>. Cuando se lesionan un nervio aparecen disparos neuronales anómalos con la posible formación de un neuroma<sup>(2)</sup>, una conducción nerviosa aberrante, trastornos en la conducción iónica y gemaciones en las neuronas aferentes. Estas aferencias estimulan constantemente el sistema nervioso, favoreciendo la sensibilidad central y cambios neuroplásticos<sup>(2,3)</sup>. Con la formación del neuroma se incrementa la actividad de canales de sodio y calcio y, en consecuencia, la sensibilidad mecánica y química<sup>(4,5)</sup>. Por otro lado, se presenta una proliferación de tejido vascular y de inervación simpática<sup>(6)</sup>. Las fibras A $\beta$  invaden la lámina II en la que habitualmente se encuentran terminales de fibras C<sup>(7,8)</sup>. En las células lesionadas se observa una disminución en la expresión de receptores de glicina o de GABA<sup>(9)</sup>.

Con el daño de las fibras sensitivas se pueden apreciar cambios en la expresión genética de los neurotransmisores producidos por las fibras dañadas<sup>(10)</sup>. El ácido glutámico es el principal neurotransmisor excitatorio liberado por las terminales centrales de neuronas aferentes tras la aplicación de un estímulo nociceptivo, estimulando a los receptores NMDA<sup>(4)</sup>.

En modelos animales se ha alcanzado un progreso importante en la elaboración y validación. De esta forma es posible la reproducción de los fenómenos que ocurren ante la presencia de un síndrome doloroso neuropático. De estos modelos existen muchas variedades. En uno se liga parcialmente el nervio ciático con seda<sup>(11)</sup>. Otro modelo, ampliamente utilizado, liga el nervio ciático de manera que el nudo permanezca relativamente suelto y con la reacción inflamatoria resultante se restringe la irrigación del nervio<sup>(12)</sup>. Otro modelo goza de gran popularidad, consiste en ligar los nervios espinales L5 y L6 a una distancia discretamente distal al ganglio de la raíz dorsal<sup>(13)</sup>.

A pesar de los avances de los últimos años, el tratamiento del dolor neuropático continúa siendo desafiante. Diversos fármacos han sido empleados para su control. Los antidepresivos tricíclicos y los anticonvulsivos, como la carbamacepina, han sido los agentes tradicionalmente empleados para el control de estos síndromes dolorosos<sup>(14)</sup>.

Los opioides alivian parcialmente el dolor neuropático<sup>(15)</sup>. El tramadol, análogo sintético de la codeína, tiene doble

mecanismo de acción (agonista  $\mu$  e inhibidor de la recaptura de serotonina y noradrenalina)<sup>(16)</sup>; posee biodisponibilidad del 68% cuando se administra por vía oral y, 99%, cuando se administra por vía intramuscular<sup>(16)</sup>. El enantiómero (+) se une a los receptores  $\mu$  e inhibe la recaptura de serotonina. Por su parte, el enantiómero (-) inhibe la recaptura de noradrenalina y estimula receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos<sup>(16)</sup>. Debido a su mecanismo dual de acción, este compuesto ha probado eficacia en el control del dolor neuropático, a diferencia de otros opioides<sup>(16,17)</sup>.

La ketamina, descrita por Stephens en 1963<sup>(18)</sup>, pertenece al grupo de la fenilciclidina. Este fármaco es ópticamente activo. En México se consigue como mezcla racémica. El compuesto es estable a temperatura ambiental<sup>(19)</sup>; tiene una baja unión a proteínas y alta liposolubilidad por lo que mantiene un volumen de distribución elevado. El fármaco es un antagonista de los receptores NMDA con propiedades análgicas y anticonvulsivantes<sup>(18)</sup>. El fármaco ha sido empleado satisfactoriamente en seres humanos en el tratamiento de dolor neuropático<sup>(19)</sup>. La ketamina en dosis de 0.5 mg/kg prolonga el tiempo de retiro al calor en ratas con dolor neuropático inducido<sup>(20)</sup>.

Con modelos de dolor neuropático se puede reproducir condiciones similares a las que se observan en cursos clínicos. En estos modelos se han establecido cambios de sensibilidad de estructuras periféricas y centrales e inflamatorios<sup>(21)</sup>. Debido a la presencia de fenómenos inflamatorios a este nivel, se han empleado agentes antiinflamatorios tópicos (como la aspirina y otros agentes antiinflamatorios no esteroideos) con resultados aparentemente satisfactorios; pero que requieren más estudio<sup>(22)</sup>. El parecoxib, inhibidor selectivo de la ciclooxygenasa 2 (COX2), es un pro-fármaco hidrosoluble que se biotransforma en valdecoxib<sup>(23)</sup>. La concentración máxima de valdecoxib se alcanza de una a tres horas después de su administración<sup>(23)</sup>.

En la génesis del dolor neuropático se observa mayor sensibilidad a sustancias inflamatorias como a las prostaglandinas<sup>(4,24)</sup>. Aunque los antiinflamatorios no esteroideos (AINS) tradicionales no muestran gran eficacia en el manejo de estos síndromes.

El PIFIR<sup>(25)</sup> (*Pain Induced Functional Impairment Model in Rats*) es un modelo para la evaluación objetiva del dolor en ratas. Con este modelo podemos observar la evolución del episodio doloroso y la respuesta a la terapia analgésica empleada<sup>(25)</sup>. El PIFIR tiene la ventaja de no requerir

metodologías complicadas para su empleo y que no crea una conducta de aprendizaje en las ratas, como sucede en otros modelos animales.

El modelo requiere la colocación de electrodos en cada una de las patas traseras de la rata y se le pone a caminar en un “sin fin” de treinta centímetros de diámetro. El cilindro gira a una velocidad constante de cuatro revoluciones por minuto, obligando a la rata a caminar durante dos minutos. El tiempo de contacto de los electrodos se registra en un sistema de cómputo<sup>(25)</sup>. Este modelo se emplea para valorar la actividad analgésica, así como la acción de diversos fármacos y sus combinaciones<sup>(26-29)</sup>. Sin embargo, en estos trabajos únicamente se ha evaluado el dolor somático de tipo artrítico inducido. En el presente trabajo procuramos encontrar cuál es el perfil de disfunción que se produce al ligar el nervio ciático y analizar el efecto de tratamientos en un curso de 13 días. De encontrarse mayor utilidad en uno u otro esquema terapéutico, podríamos guiarnos para determinar el manejo racional del dolor neuropático agudo. Nos interesa evaluar la utilidad del modelo PIFIR para valorar dolor neuropático, así como comparar la eficacia analgésica del tramadol más ketorolaco, parecoxib, y ketamina para el control del dolor neuropático.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron treinta ratas Wistar machos con peso fluctuante entre 180 y 210 g. Los animales fueron mantenidos en condiciones controladas de clima y luz, con alimento y agua de libre acceso. En el experimento seguimos las recomendaciones del Comité para la Investigación y Ética de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor<sup>(30)</sup> y las Guías y Estándares Éticas para la Investigación del Dolor Experi-

mental en Animales<sup>(31)</sup>. Se formaron cinco grupos de ratas; cada uno con seis. Todos los grupos fueron evaluados en el modelo PIFIR dos minutos diarios durante trece días.

### Modelo PIFIR

El modelo PIFIR requiere la colocación de un electrodo en cada una de las patas traseras de las ratas, en un “sin fin” de treinta de diámetro que gira a una velocidad de cuatro RPM. El tiempo de contacto de cada electrodo se registra en un sistema de cómputo programado especialmente para tal propósito. A los animales se les hace caminar en el “sin fin” durante dos minutos con quince minutos de descanso. Este proceso se repite tres veces. El método permite comparar el tiempo de contacto de la superficie de la pata sana con la lesionada (Figura 1).

### Grupos:

- Control (grupo A). A las ratas se les hizo una incisión en la pata derecha bajo anestesia general, empleando pentobarbital. Se visualizó el nervio ciático, pero no se realizó ninguna intervención en él (Figura 2).
- A las demás ratas (grupos B, C, D y E) se les ligó el nervio ciático con seda de 000, en tres porciones del nervio (Método de Bennett modificado)<sup>(12)</sup>.

### Tratamiento farmacológico:

- El tratamiento farmacológico fue administrado tres días después de la cirugía.
- El grupo B también se empleó como control; a las ratas se les ligó el nervio ciático, pero no se les administró ningún fármaco.



Figura 1. Imagen del modelo PIFIR.

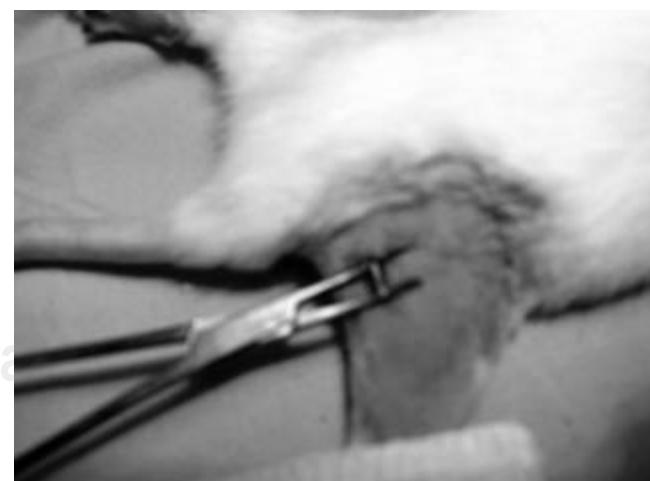
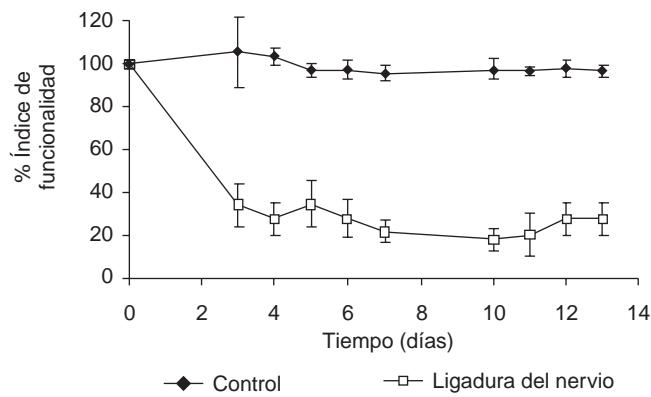
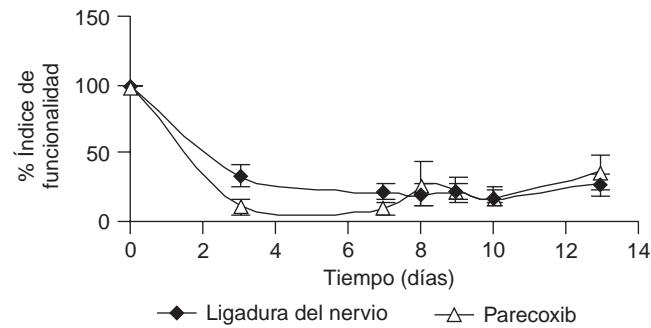


Figura 2. Disección quirúrgica del nervio ciático.



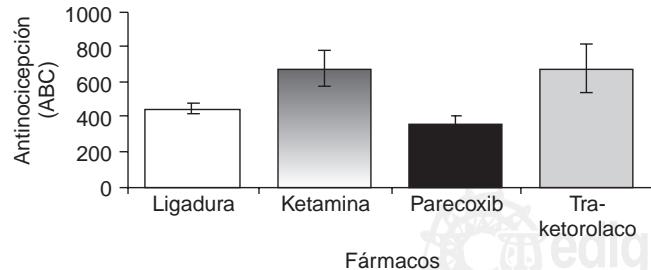
CT: Curso temporal n. ciático: nervio ciático. Índice de funcionalidad expresado en porcentaje (%). Tiempo expresado en días.

**Figura 3.** CT cirugía del nervio ciático vs control.



CT: Curso temporal n. ciático: nervio ciático. Índice de funcionalidad expresado en porcentaje (%). Tiempo expresado en días.

**Figura 4.** CT Parecoxib vs cirugía del nervio ciático.



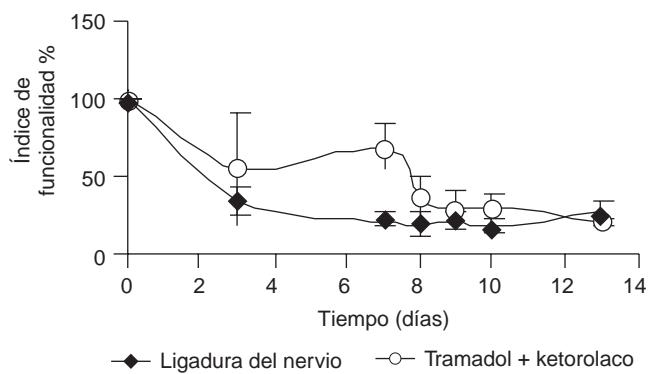
ABC: áreas bajo la curva (índice de funcionalidad por tiempo) Tra + ketorolaco: tramadol más ketorolaco. Ligadura: Ratas con ligadura del nervio que no recibieron fármacos.

**Figura 5.** Áreas bajo la curva.

- A las ratas del grupo C se les administró parecoxib por vía subcutánea en dosis de 31.6 mg/ kg administrando un volumen de 2 ml/kg de peso.
- A las ratas del grupo D se les administró por vía oral una mezcla con ketorolaco 1.778 mg/kg con tramadol 5.6 mg/kg aplicando un volumen de 4 ml/kg; una hora después se inició la valoración de su funcionalidad en el modelo PIFIR por dos minutos diarios.
- A las ratas del grupo E se les administró por vía intraperitoneal clorhidrato de ketamina en una dosis de 0.5 mg/kg de peso con un volumen de 2 ml/kg.

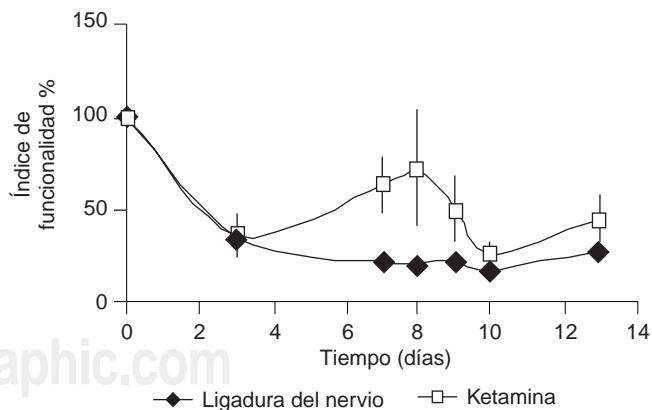
#### Análisis de los resultados

Los registros obtenidos en el sistema de cómputo fueron analizados con la prueba T de Student o con la prueba de Mann-Whitney.



CT: Curso temporal n. ciático: nervio ciático. Índice de funcionalidad expresado en porcentaje (%). Tiempo expresado en días.

**Figura 6.** CT ligadura del n. ciático vs tramadol + ketorolaco.



CT: Curso temporal n. ciático: nervio ciático. Índice de funcionalidad expresado en porcentaje (%). Tiempo expresado en días.

**Figura 7.** CT ligadura del n. ciático vs ketamina.

## RESULTADOS

A las ratas del grupo A, a las que se les hizo una incisión hasta localizar el nervio ciático sin ligarlo no generó, produjo alteración en el andar de las ratas, por lo que se mantuvo en el 100% durante los trece días de evaluación, evidenciando que, aunque sufriendo la cirugía, esto no la alteraba; para alterarla era necesario ligar el nervio ciático.

A las ratas del grupo B a las que se les ligó el nervio ciático, pero no se les dio tratamiento farmacológico, desarrollaron una clara disfunción que se cuantificó muy bien en el modelo PIFIR. La funcionalidad disminuyó del 100% hasta quedar sólo en un 20% tres días después de la cirugía. Así se mantuvieron trece días después de la cirugía (Figura 3).

Con la administración del parecoxib no se apreció una diferencia de los valores promedio de este grupo con respecto al grupo que no recibió fármacos (grupo B) y, por tanto, no hubo una diferencia estadísticamente significativa, obteniendo una  $p = 0.129$  (Figuras 4 y 5).

Con la combinación de tramadol + ketorolaco por vía oral se observa, en comparación con las ratas del grupo B, una tendencia de mejoría en cuanto al índice de funcionalidad, pero debido a la variabilidad que se obtuvo, el análisis estadístico de las áreas bajo la curva (ABC) no mostró diferencia significativa ( $p = 0.132$ ) con respecto al grupo B, el cual no había recibido tratamiento farmacológico (Figuras 5 y 6).

Con la aplicación de ketamina se observó la presencia de efectos antinociceptivos en las ratas. Comparando el

grupo E con el grupo B, se aprecia en aquél una mejoría estadísticamente significativa ( $p = 0.043$ ) en la funcionalidad. Igualmente, existe amplia variabilidad; sin embargo, sí se pudieron evidenciar diferencias significativas (Figuras 5 y 7).

## CONCLUSIONES

El modelo PIFIR, tradicionalmente empleado para la evaluación del dolor somático en animales de laboratorio<sup>(25-29)</sup>, fue útil para evaluar la disfunción producida por el dolor neuropático inducido, así como para cuantificar el efecto antinociceptivo de los fármacos empleados.

Por otra parte, se mostró que el parecoxib, inhibidor selectivo de la ciclooxygenasa 2, parece no tener utilidad para el control del dolor neuropático en las dosis empleadas. Esta dosis se ha calculado para los modelos de dolor somático tipogota en animales de laboratorio.

Con la administración del tramadol y ketorolaco, en la dosis seleccionada, se observó una mejoría que a pesar de no ser significativa requiere de un detenido análisis en diferentes dosis para conocer su posible utilidad en dolor neuropático.

Con la ketamina según lo esperado se constató una mejoría estadísticamente significativa de la funcionalidad, lo cual traduce adecuados efectos antinociceptivos confirmando su eficacia en el control del dolor neuropático.

## REFERENCIAS

1. Yaksh TL, Chaplan SR. Physiology and Pharmacology of neuropathic pain. *Anesthesiology Clinic of North America* 1997;15: 335-52.
2. Devor M, Seltzer Z. Pathophysiology of damages nerves in relation to chronic pain. In: Wall PD, Melzak R (eds) *Textbook of Pain*, 4th edition. London: Churchill Livingston, 1999. pp. 129-64.
3. McMahon SB. Neuropathic pain Mechanisms, Pain 2002: an Update review: refresher courses syllabus/IASP Scientific Program Committee. Seattle: Iasp Press, 2002. pp 155-65.
4. Bridges D, Thompson SWN, Rice ASC. Mechanisms of neuropathic pain. *British Journal of Anesth* 2001;87:12-26.
5. Devor M, Wall PD, Cathalan S. Systemic lidocain silences ectopic neuroma and DRG discharge without blocking nerve conduction. *Pain* 1992;48:261-8.
6. Chung K, Kim HJ, Na HS. Abnormalities of sympathetic innervation in the area of an injured peripheral nerve in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 1993;162:225-37.
7. Manion RJ, Doubell TP, Coggeshall RE, Woolfe J. Collateral sprouting of uninjured primary afferent A fibers into de superficial dorsal horn of the adult rat spinal cord after topical capsaicin treatment to the sciatic nerve. *J of Neurosci* 1996;16:5189-5195.
8. Woolfe CJ, Slater M. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science* 2000;288:1765-8.
9. Castro-Lopez JM, Tavares I, Coimbra A. GABA decrease in the spinal cord dorsal horn after peripheral neurectomy. *Brain Res* 1993;620:287-91.
10. McMahon SB, Bennett DL. Trophic factors an pain. In: Wall PD, Melzak R (eds) *Textbook of Pain*, 4th edition. London: Churchill Livingston, 1999. pp. 105-28.
11. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 1990;43:205-18.
12. Bennet GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988;33:87-107.
13. Kim Sh, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rats. *Pain* 1992;50:355.
14. Rowbotham MC. Neuropathic pain: From basic science to evidence-based treatment. *Pain* 2002: an Update review: refresher courses syllabus/IASP Scientific Program Committee. Seattle: Iasp Press, 2002. pp. 155-65.
15. Dellmijn P. Are opioids efective in relieving neuropathic pain? *Pain* 1999;80:453-62.

16. Lewis, KS, Han NH. Tramadol: a new centrally acting analgesic. *Am J Health Sys Pharm* 1997;54:643-652.
17. Sindrup SH, Anderson G, Madsen G. Tramadol relieves pain and allodynia in polyneuropathy: a randomized double blind controlled trial. *Pain* 1999;83:85-90.
18. Corsen G. Historical aspects of ketamine: First Clinical experience. In: Domino EF ed. *Status of Ketamine in anesthesiology*. NPP books, 1990. pp. 1-5.
19. Rabben T, Skjelberid P, Oye I. Prolonged analgesic effect of ketamine, an N-Methyl-D-Aspartate inhibitor in patients with chronic pain. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;289:1060-6.
20. Guevara U, Gutierrez B, De Lille R, Tamariz-Cruz O. Effect of Ketamine (Kt) a non competitive, a non competitive NMDA receptor antagonist on perception of neuropathic pain. 12th World Congress of Anesthesiologist Book of Abstracts Canada 2000; p7.4.26.
21. Raja SN, Meyer RA, Campbell JN. Peripheral mechanisms of somatic pain. *Anesthesiology* 1988;68:571-90.
22. King RB. Topical aspirin and chloroform and the relief of pain due to herpes zoster and post herpetic neuralgia. *Arch Neurol* 1993;50:1046-53.
23. Cheer SM, Goa KM. Parecoxib (parecoxib Sodium). *Drugs* 2001;61:1134-43.
24. Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 2001;13:203-10.
25. López-Muños FJ, Salazar LA, Castañeda-Hernández G, Villareal JE. A new model to assess analgesic activity: pain-induced functional impairment in the rat (PIFIR). *Drug Dev Res* 1993;28:169-75.
26. López-Muños FJ, Castañeda-Hernández G, Villalón CM, Terrón JA, et al. Analgesic effects of combinations containing opioid drugs with either aspirin or acetaminophen in rats. *Drug Dev Res* 1993;29:299-304.
27. López-Muños FJ. Surface synergistic interaction between dipyrone and morphine in PIFIR model. *Drug Des Rev* 1994;33:26-32.
28. López Muñoz FJ, Ventura R, Díaz I, Fernández-Guasti A, et al. Antinociceptive effects of S (+)-Ketoprofen and other analgesic drugs in rat model in pain induced by uric acid. *J Clin Pharmacol* 1998;38:11s-21s.
29. López Muñoz FJ, Ventura R, Díaz I, Hernández GP, et al. Analysis of antinociceptive effects of flurbiprofen enantiomers in a rat model of arthritic pain. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2000;22:641-645.
30. Covino B, Dubner R, Kosterlitz H, Liebeskind JC, et al. Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1980;9:141-143.
31. Zimmermann M. Ethical standards for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983;16:109-110.

