



Detección y comparación del efecto antinociceptivo de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) en el modelo PIFIR

Dra. Ma. Eva González-Trujano,*,** QFB Erika Iraiz Peña-Fajardo,*,**
Dra. Rosa Ventura-Martínez,*** Dr. Francisco Javier López-Muñoz****

- * Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz".
- ** Facultad de Química. Departamento de Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de México.
- *** Facultad de Medicina. Departamento de Farmacología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- **** Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-Coapa.

Solicitud de sobretiros:

Francisco J. López-Muñoz
Departamento de Farmacobiología.
Cinvestav-Coapa,
Calz. Tenorios Núm. 235,
Col. Granjas Coapa, 14330, México, D.F.
Teléfono: 525 50 61 28 53
Fax: 525 50 61
Correo electrónico: flopez@cinvestav.mx

Recibido para publicación: 25-07-05

Aceptado para publicación: 26-09-05

RESUMEN

Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae) es una planta medicinal que en México se usa para el alivio del dolor reumático o muscular. En el presente estudio, el efecto de la administración del extracto etanólico (300 y 3,000 mg/kg, vía oral) de *R. officinalis* se evaluó en el dolor de tipo artritis gotosa inducido por disfunción en ratas (modelo PIFIR). El efecto antinociceptivo producido por el extracto se comparó con el de tramadol (10 y 31.62 mg/kg, vía intraperitoneal) en un curso temporal de 4 h. Los resultados muestran que el extracto produjo una disminución de la respuesta dolorosa en un 60% en ambas dosis, efecto que se redujo a 40 y 20% en el transcurso de 1.5 y 2.5 h, correspondientemente. Los datos de área bajo la curva (ABC), que muestran el efecto antinociceptivo total durante 4 h, fueron de $164 \pm 28\%$ /h y $112 \pm 19\%$ /h, respectivamente. En cuanto al tramadol, la respuesta dolorosa se redujo en un 80% en ambas dosis, efecto que disminuyó a 60 y 15% al paso de 2 y 3 h, finalizando con una ABC de $284 \pm 17\%$ /h y $144 \pm 32\%$ /h, respectivamente ($p < 0.05$). El efecto de ambas dosis del extracto fue significativamente diferente de la dosis de 31.62 mg/kg ($p < 0.05$) pero semejante al producido por la dosis de 10 mg/kg de tramadol. Los resultados de este estudio preliminar confirman el efecto analgésico del *R. officinalis*, reforzando su uso en la medicina tradicional.

Palabras clave: Analgésicos, *Rosmarinus officinalis*, modelo PIFIR, medicina tradicional mexicana.

SUMMARY

Rosmarinus officinalis L. (rosemary, Lamiaceae) is a plant used in Mexican traditional medicine to relieve muscular and arthritic pain. In this study, an ethanol extract of *R. officinalis* (300 and 3,000 mg/kg, p.o.) was tested in a model to assess analgesic activity known as pain-induced functional impairment model in the rat (PIFIR). The antinociceptive effect of the extract was compared to that produced by tramadol (10 and 31.62 mg/kg, i.p.) over 4 h. The results demonstrated that the extract produced a 60% reduction in the painful response with both doses tested. This effect decreased to 40 and 20% after 1.5 and 2.5 h, respectively. Area under the curve (AUC) data showing the total antinociceptive effect were $164 \pm 28\%$ /h and $112 \pm 19\%$ /h, respectively. In the case of tramadol, the painful response was reduced 80% with both doses tested. This effect decreased to approximately 60 and 15% at 2 and 3 h, ending with an AUC = $284 \pm 17\%$ /h and $144 \pm 32\%$ /h, respectively ($p < 0.05$). The effect of the extract with either of the doses tested was significantly different to tramadol 31.62 mg/kg ($p < 0.05$), but similar to tramadol 10 mg/kg. The results in this

preliminary study confirm the analgesic effect of *R. officinalis* and support its use in folk medicine.

Key words: Analgesic drugs, *Rosmarinus officinalis*, PIFIR model, Mexican folk medicine.

INTRODUCCIÓN

El dolor se define como sensación desagradable y experiencia emocional asociada a un daño tisular potencial o presente descrita en términos de dicho daño⁽¹⁾. La prevalencia del dolor aumenta a medida que progresla la enfermedad, lo cual se considera uno de los factores que más afecta la calidad de vida del paciente. El término reumatismo se emplea para describir el dolor y la rigidez de las articulaciones u otras estructuras musculares y óseas. No se trata de una enfermedad específica, sino de un conjunto de síntomas, causados por otras dolencias, como son la artritis o la fibrosis. Las causas que producen el reumatismo se relacionan con tejido muscular y ligamentos, que pueden corresponder desde dolores agudos hasta procesos fibromusculares crónicos, osteoartrosis y espondiloartropatías inflamatorias. La prevalencia tiende a aumentar con la edad, llegando a más del 50% en las personas mayores de 60 años. En el caso específico de la gota, esta enfermedad es causada por un aumento de la cantidad de ácido úrico en el organismo y, con frecuencia se localiza en articulaciones. Esta dolencia es incapacitante y, si no se trata, puede originar alteraciones articulares destructivas.

Entre las alternativas terapéuticas de las enfermedades, no sólo se considera la terapia farmacológica, sino también el uso de plantas medicinales⁽²⁾. De hecho, el descubrimiento de los primeros fármacos fue el resultado de la interacción de la gente primitiva con su ambiente. La mayoría de los productos de origen vegetal fueron encontrados al ser disponibles como alimento, pero otros pudieron haber sido pocións de utilidad medicinal⁽³⁾. Las plantas medicinales han sido origen de diversas sustancias terapéuticas durante siglos. Sin embargo, sustancias como la morfina, ácido salicílico, entre otros fueron aislados hasta el siglo XIX. Con el desarrollo de técnicas analíticas y de síntesis⁽⁴⁾, los químicos han modificado las estructuras de sustancias activas en un intento de aumentar su potencia y disminuir los efectos adversos⁽⁵⁾. Sin embargo, no siempre es necesario aislar un principio activo. Algunas plantas ejercen su efecto como un todo, ya que sus componentes producen sinergismos que conllevan al efecto farmacológico final.

De acuerdo a los datos difundidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS), las plantas siguen siendo la principal fuente de sustancias para el cuidado general de la salud de la mayoría de la población mundial (80%)⁽⁶⁾. Este fenómeno refleja también en la medicina moderna

que se utilizan cerca de 121 sustancias químicas de origen natural, derivadas todas de 95 plantas diferentes y de las cuales, aproximadamente el 60% son de origen tradicional latinoamericano⁽⁷⁾. Se estima que el recientemente integrado mercado mundial de fitofármacos (basado en extractos de plantas medicinales de origen tradicional) asciende ya a unos 50 mil millones de dólares anuales, e incluye tanto a los países en vías de desarrollo como a las naciones más industrializadas⁽⁸⁾.

Rosmarinus officinalis L., comúnmente conocida como "romero", es originaria del sur de Europa, pero se cultiva en México. Algunos de sus usos en la medicina tradicional son para tratar el dolor de tipo reumático tras la aplicación tópica del extracto obtenido en alcohol, o bien, como antiespasmódico o para la dismenorrea con la administración oral de la decocción^(9,10). Sin embargo, no existen estudios científicos que demuestren sus efectos analgésicos. El propósito del presente estudio fue evaluar el efecto analgésico de un extracto etanólico de las partes aéreas de *Rosmarinus officinalis* en comparación con el tramadol (analgésico ampliamente empleado en clínica) utilizando el modelo de alteración funcional inducida por dolor en ratas (PIFIR, por sus siglas en inglés).

MATERIAL Y MÉTODOS

Para los experimentos se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar con un peso que osciló entre 180 a 200 g, se mantuvieron en condiciones estándar de ciclo luz/oscuridad de 12 h y temperatura de 22 ± 1°C, con alimento y agua *ad libitum*; dejándose únicamente con acceso al agua 12 horas antes del experimento.

Los experimentos se realizaron siguiendo las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio de la Secretaría Mexicana de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (Norma-062-ZOO-2000) y por el Comité Local de Ética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, así como siguiendo las recomendaciones del Comité de Investigación y Ética de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor⁽¹¹⁾.

El extracto de *R. officinalis* se preparó por maceración en etanol absoluto a temperatura ambiente y se resuspendió en el vehículo, el cual consistió de tween 80 al 0.2% en solución salina. Debido a que el extracto es insoluble su administración se realizó por la vía esofágica en dosis de 300 y 3,000 mg/kg en un volumen de 2 ml/100 g de peso corporal

(concentración de las soluciones: 15 y 150 mg/kg, respectivamente). La eficacia antinociceptiva del extracto se comparó con la del analgésico tramadol (Roche, S.A. de C.V), el cual se preparó a partir de una solución de 100 mg/ml diluido con solución salina y se administró por vía intraperitoneal en dosis de 10 y 31.62 mg/kg en un volumen de 0.1 ml/100 g de peso corporal. Las sustancias se administraron siempre de reciente preparación.

Los animales se dividieron en 6 grupos con una "n" de 6 ratas cada grupo. Dos grupos se emplearon como control, los cuales recibieron únicamente el vehículo (tween 80 al 0.2% en solución salina o solución salina sola). A dos grupos se les administró el extracto de *R. officinalis* en una dosis de 300 o 3,000 mg/kg, respectivamente. La dosis de 3,000 mg/kg fue establecida considerando que es la mayor dosis posible de evaluar utilizando la vía esofágica. Dos grupos más recibieron tramadol como fármaco de referencia en dosis de 10 ó 31.62 mg/kg, respectivamente. En el caso de tramadol la dosis de 31.62 mg/kg fue la mayor dosis posible de evaluar debido a que dosis mayores empiezan a generar efectos secundarios como temblor y ataxia.

La actividad nociceptiva se evaluó utilizando el modelo experimental de alteración funcional inducida por dolor (PIFIR). Dicho procedimiento es descrito en detalle por López-Muñoz y col. (1993)⁽¹²⁾.

Los datos obtenidos son expresados como el porcentaje del índice de funcionalidad (% I.F.), en donde el "0" indica que 2.5 h después de la administración intraarticular del ácido úrico, la funcionalidad de la pata tratada con ácido úrico es "0" (nula antinocicepción) en comparación con el 100% de funcionalidad de la pata que no recibe inyección del dicha sustancia (control). Con estos datos se obtienen los índices de funcionalidad en % utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ I.F.} = \left(\frac{\text{TCPD}}{\text{TCPI}} \right) (100)$$

En donde: % I.F. = porcentaje de índice de funcionalidad

TCPD = tiempo de contacto de la pata derecha (con ácido úrico) y

TCPI = tiempo de contacto de la pata izquierda (sin ácido úrico).

Curvas de tiempo vs IF% (es decir cursos temporales) se construyeron y el área bajo la curva (ABC), considerada como la expresión de la actividad antinociceptiva, se obtuvo para cada tratamiento durante el período de 4 h de observación⁽¹²⁾ y las ABC se calcularon por el método de los trapecios descrito en detalle por Rowland y Toser, 1989⁽¹³⁾. Los valores se expresan como la media ± E.E.M. de 6 animales. Para el análisis estadístico de los datos se aplicó la prue-

ba t de Student considerando los efectos significativos para un $p < 0.05$.

RESULTADOS

En las figuras 1 y 2 se muestra el % I.F. de la evaluación durante 4 h a partir del inicio de los tratamientos (% I.F.= 0). Como se observa en el curso temporal de los controles [Figura 1 (▲) y Figura 2 (Δ)], no hubo recuperación espontánea de la funcionalidad en todo el tiempo que duró la evaluación experimental. En contraste, los animales que recibieron el extracto (Figura 1) o el tramadol (Figura 2), mostraron un aumento significativo en el índice de funcionalidad en ambas dosis administradas. Para la dosis de 3,000 mg/kg del extracto se observó un máximo efecto antinociceptivo a los 15 min donde el I.F. = 64 ± 11%, este máximo se redujo a 40% al paso de 1.5 h manteniéndose así hasta el final del experimento. Cabe señalar que a esta dosis no se observó manifestación alguna de efectos secundarios tales como disminución de la actividad exploratoria o de la coordinación motora en las ratas, así como depresión o excitación sobre el sistema nervioso central. En el caso de la dosis de 300 mg/kg del extracto, el efecto antinociceptivo máximo se presentó desde los 15 min posteriores a la administración, alcanzando a los 30 min un I.F. = 56 ± 10%. Posteriormente, la reducción de este efecto fue progresiva hasta alcanzar un I.F. = 22 ± 4% al transcurso de 2.5 h y manteniéndose así hasta el final del experimento. En lo que respecta al tramadol (Figura 2), éste produjo un máximo

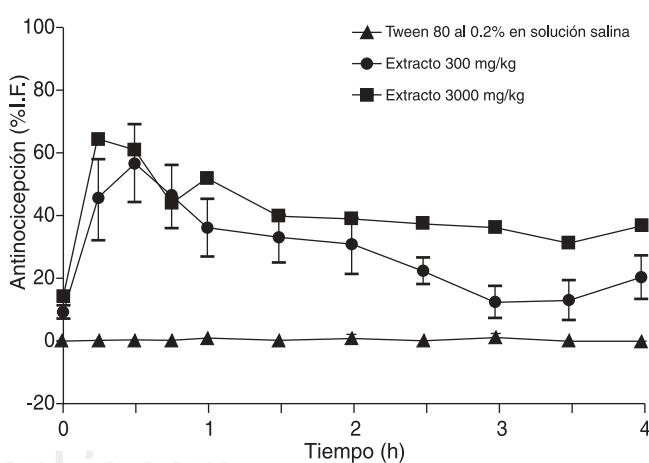


Figura 1. Curso temporal del efecto de la administración del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* en las dosis de 300 (●) y 3,000 mg/kg (■) en comparación con el vehículo tween 80 al 0.2% en solución salina (▲) en la nocicepción inducida con el modelo PIFIR. Cada punto representa el valor promedio ± E.E.M. obtenido de una n = 6 ratas.

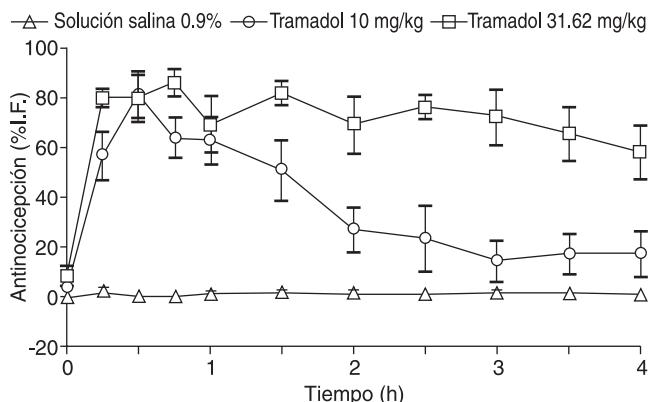


Figura 2. Curso temporal del efecto de la administración del analgésico tramadol en las dosis de 10 (○) y 31.62 mg/kg (□) en comparación con el vehículo solución salina al 0.9% (Δ) en la nocicepción inducida con el modelo PIFIR. Cada punto representa el valor promedio ± E.E.M. obtenido de una n = 6 ratas.

efecto analgésico a los 15 min de su administración, en la dosis de 31.62 mg/kg, con un I.F. = $86 \pm 5\%$. A los 45 min se empezó a ver una disminución en dicho efecto finalizando el experimento con un I.F. = $57 \pm 11\%$. En la dosis de 10 mg/kg, el tramadol indujo un máximo de I.F. = $81 \pm 10\%$ a 30 min después de la administración, con un descenso progresivo hasta alcanzar un I.F. = $14 \pm 8\%$ en el transcurso de 3 h y manteniéndose así en la conclusión del experimento (Figura 2).

En la Figura 3 se muestra el ABC del efecto antinociceptivo a lo largo de las 4 h que duró el experimento para cada tratamiento y dosis, respectivamente. El extracto causó un efecto antinociceptivo correspondiente a una $\text{ABC} = 164 \pm 28\%/\text{h}$ para la dosis de 3,000 mg/kg y $\text{ABC} = 112 \pm 19\%/\text{h}$ para la dosis de 300 mg/kg, por lo que se observa que el efecto antinociceptivo tiende a ser dosis dependiente ($p < 0.05$). Mientras que el tramadol promovió analgesia con $\text{ABC} = 284 \pm 17\%/\text{h}$ en la dosis de 31.62 mg/kg y $\text{ABC} = 144 \pm 32\%/\text{h}$ en la dosis de 10 mg/kg, efecto que también fue dosis dependiente ($p < 0.05$). El análisis de los cursos temporales permite advertir que aun cuando el extracto se administró por vía oral, los efectos máximos se presentaron casi de inmediato (15 min posteriores a la administración). En tanto que el tramadol tendió a presentar sus efectos máximos entre 15 y 30 min después de la administración, aun cuando se dosificó por vía intraperitoneal. El efecto antinociceptivo generado por el extracto en ambas dosis son significativos ($p < 0.05$) y equivalentes en magnitud y perfil a los producidos por tramadol en la dosis de 10 mg/kg ($p < 0.05$) en comparación con el control.

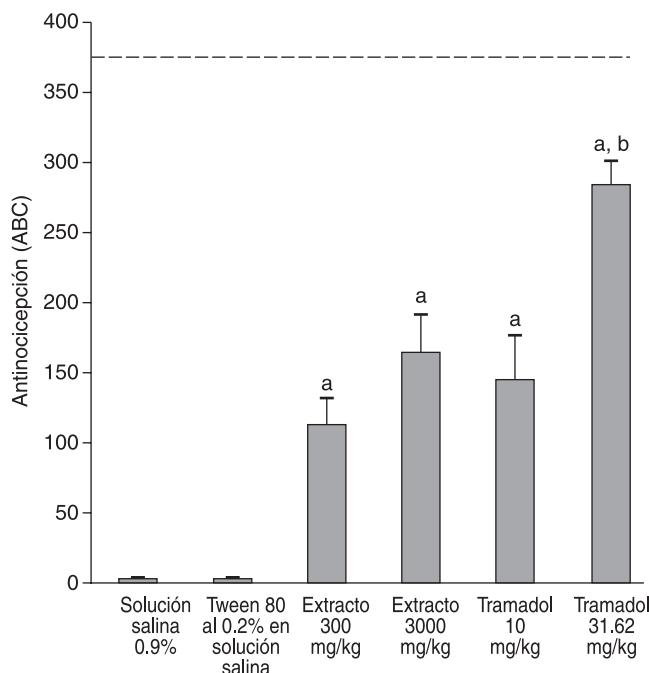


Figura 3. Gráfica que muestra las áreas bajo la curva (ABC) obtenidas de los cursos temporales del efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. y el tramadol en comparación con los controles. Prueba t de Student, ^a $p < 0.05$ en comparación con el control, ^b $p < 0.05$ en comparación con los tratamientos. La línea punteada representa el ABC de la antinocicepción máxima posible de observar en el modelo experimental.

DISCUSIÓN

Este reporte científico demuestra las propiedades antinociceptivas del extracto de *R. officinalis*, el cual se valoró en un modelo de nocicepción que induce disfunción de tipo artritis gótica. Los efectos antinociceptivos fueron comparados con los producidos por el tramadol. La actividad antinociceptiva se demostró para las dosis del extracto de 300 y 3,000 mg/kg del extracto, las cuales redujeron la disfunción producida por el ácido úrico (nocicepción), así como por las dosis de tramadol (10 y 31.62 mg/kg) que generaron típicos efectos antinociceptivos.

En el modelo experimental de disfunción inducida por dolor en rata⁽¹²⁾ se produce una disfunción de tipo artritis gótica por la inyección intraarticular de ácido úrico. Estas características del modelo experimental dan validez a su aplicación para evaluar la actividad antinociceptiva de *Rosmarinus officinalis* de acuerdo al uso que se le da en la medicina tradicional para tratar el dolor de tipo reumático⁽¹⁰⁾. En la disfunción inducida en este modelo se considera que una parte importante es el proceso inflamatorio⁽¹⁴⁾, y esa disfun-

ción es revertida por agentes antiinflamatorios⁽¹⁵⁾; y por fármacos sin actividad antiinflamatoria como la morfina⁽¹⁶⁾ que muestran también eficacia y potencia antinociceptiva debido a otro tipo de mecanismos de acción que involucran. En base a lo anterior, el extracto de *Rosmarinus officinalis* produjo efectos atinocípticos en el modelo PIFIR, efectos comparables a los que produce tramadol, pero este estudio no fue encaminado a determinar los mecanismos de acción involucrados, por lo que se puede sugerir que su efecto podría estar asociado a diversos mecanismos de acción antinociceptivos, los cuales serán dilucidados posteriormente.

En los procesos inflamatorios, una compleja serie de eventos bioquímicos y celulares son activados en respuesta al daño tisular o a la presencia de sustancias extrañas⁽¹⁷⁾. El primer mediador inflamatorio reconocido con propiedades hiperalgésicas potentes fue la bradicinina⁽¹⁸⁾, la cual se genera en respuesta al daño tisular^(19,20), desde entonces, varias citocinas y otros mediadores han sido identificados como hiperalgésicos, se incluyen entre ellos a las prostaglandinas⁽²¹⁾, leucotrienos⁽²²⁾, serotonina^(23,24), adenosina⁽²⁵⁾, histamina⁽²⁶⁾, interleucina -1 e interleucina-8^(27,28), entre otras. Sin embargo, en el dolor inducido con el modelo PIFIR se ha reportado la participación principalmente de prostaglandinas^(29,30), serotonina a través de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT₃ y bradicinina a través de los receptores B1⁽³¹⁾. Este estudio se dirigió para detectar la actividad antinociceptiva del extracto de *R. officinalis* y comparar su eficacia con un fármaco analgésico utilizado en la clínica, por lo que no se determinaron los mecanismos de acción involucrados; sin embargo, como se mencionó antes, sería interesante conocer en un futuro la participación de los mediadores antes mencionados en el efecto producido por *R. officinalis*.

Uno de los usos de *R. officinalis* en la medicina tradicional es para tratar el dolor músculo-esquelético. En la clínica los fármacos que se utilizan generalmente para tratar este tipo de dolor son los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AAINES)⁽³²⁾. Sin embargo, considerando que el modelo PIFIR también ha sido útil en la evaluación de sustancias que pueden ejercer su acción a través del sistema de los opioides endógenos, en este estudio se comparó el efecto de este extracto con el tramadol, un fármaco analgésico que se utiliza

para tratar el dolor moderado a moderadamente severo. El mecanismo de acción del tramadol no ha sido totalmente dilucidado, sin embargo se ha establecido que actúa a través de la modulación de sistemas de monoaminas, noradrenalina y serotonina⁽³³⁾ y del GABA (ácido gamma-aminobutírico)⁽³⁴⁾. Además, se ha descrito una acción parcial a través de los receptores μ a opioides⁽³⁵⁾. Como demuestran los resultados en este estudio, el tramadol no revirtió completamente el efecto nociceptivo inducido con el modelo PIFIR a la dosis de 31.62 mg/kg, dosis máxima que es posible administrar a las ratas para generar efectos antinociceptivos. Mientras que el efecto observado con la dosis de 10 mg/kg de tramadol fue similar al obtenido con la dosis de 300 mg/kg del extracto, aun cuando la vía de administración empleada para el extracto fue oral. Estos datos nos permiten obtener un cernimiento preliminar de la eficacia y potencia del efecto analgésico del extracto de *R. officinalis*, además de permitirnos reafirmar que el uso tradicional que se le da a esta planta es adecuado y que considerando que incluso en la dosis de 3,000 mg/kg no se observan efectos adversos, se podría sugerir que al no alcanzar estas dosis en humanos su uso puede ser seguro. Sin embargo, habrá que determinar las DT₅₀ y DL₅₀ tanto en forma aguda y crónica, así como los análisis correspondientes para poder tener las medidas adecuadas de su perfil farmacológico y toxicológico.

En conclusión, los resultados obtenidos permiten presentar un cernimiento preliminar de la eficacia antinociceptiva que posee el extracto de *R. officinalis* en una situación de dolor agudo e inflamatorio de tipo artritis gótica. La comparación con los efectos producidos por tramadol (curos temporales y efectos globales), establecen la importancia y eficacia antinociceptiva del extracto.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la asistencia técnica del Sr. Huerta Arenas y Sr. Oliva Iraola, así como el apoyo en el análisis de datos del Sr. Sánchez Cervantes. E.I. Peña Fajardo es pasante de la carrera de Q.F.B. de la Facultad de Química de la UNAM, y este trabajo se desarrolló como parte de su tesis de licenciatura. Este proyecto fue apoyado por la Fundación Miguel Alemán.

REFERENCIAS

1. Merskey H, Albe-Fessard DG, Bonica JJ, Carmon A, Dbner R, Kerr L, Lindblon U, Mumford JM, Nathan DW, Nordembos W. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Pain 1979;6:249-252.
2. Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, Soejarto DD, Guo Z. Las plantas medicinales en la terapéutica. Bol Sanit Panam 1989;107:314-329.
3. Akah PA, Nwambie AI. Nigerian plants with anticonvulsant property. Fitoterapia 1993;54:42-44.
4. Harborne JB. Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis. 2nd ed. Chapman and Hall New York 1984.
5. Brinkworth RI, Lloyd EJ, Andrews PR. Brain chemistry and central nervous system drugs. Nat Prod Reports 1988;363-386.
6. Akele O. Summary of Who Guideline for Assessment Herbal Gram. 1993;28:13-20.

7. Gupta M. La industria de fitofármacos en Latinoamérica. En: Lozoya X y Gómez E (Ed). Fitofármacos. Edit IMSS-Farmasa Schwabe 1997;1:19-70.
8. Marwick C. Growing Use of Medicinal Botanicals Forces Assessment by Drug Regulators. JAMA 1995;273:607-609.
9. Agel MB. Relaxant effect of the volatile oil of *Rosmarinus officinalis* on tracheal smooth muscle. J Ethnopharmacol 1991;33:57-62.
10. Al-Sereiti MR, Abu-Amer KM, Sen P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. Indian J Exp Biol 1999;37:124-130.
11. Committee for Research and Ethical Issues of the International Association for the Study of Pain: Ethical standards for investigation of experimental pain in animals. Pain 1980;9:141-142.
12. López-Muñoz 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;28:169-172.
13. Rowland M, Toser TN. Clinical pharmacokinetics: concepts and applications, 2nd ed. Lea and Febiger, Philadelphia 1989;115-118.
14. Okuda K, Nakahama H, Miyakawa H, Shima K. Arthritis induced in cat by sodium urate: A possible model for tonic pain. 1984;18:287-297.
15. Ferreira SH, Lorenzetti BB, Correa FMA. Central and peripheral antialgesic action of aspirin-like drugs. Eur J Pharmacol 1978;53:39-43.
16. Infante-Cosío G, López-Muñoz FJ, Guevara-López U, Lara-Solares A. Eficacia antinociceptiva de parecoxib vs morfina en el modelo PIFIR. Rev Mex Anestesiol 2005;28:85-90.
17. Levine JD, Taiwo YO. Involvement of the mu-opiate receptor in peripheral analgesia. Neurosci 1989;32:571-575.
18. Armstrong D, Dry RML, Keele CA, Markham JW. Observations on chemical excitant of cutaneous pain in man. J Physiol (London) 1953;120:326-351.
19. Gammon CHM, Allen AC, Morell. Bradykinin stimulates phosphoinositide hydrolysis and mobilization of arachidonic acid in dorsal root ganglion neurons. J Neurochem 1989;53:95-101.
20. Sufka KJ, Roach JT. Stimulus properties and antinociceptive effects of selective bradykinin B₁ and B₂ receptor antagonists in rats. Pain 1996;66:99-103.
21. Seibert K, Zhang Y, Leahy K, Hauser S, Masferrer J, Perkins W, Lee L, Isakson P. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:12013-12017.
22. Griffiths RJ, Pettipher ER, Koch K, Farrell CA, Breslow R, Conklyn MJ, Smith MA, et al. Leukotriene B₄ plays a critical role in the progression of collagen-induced arthritis. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92:517-521.
23. Giordano J, LaVerne R. Peripherally administered serotonin 5-HT₃ receptor antagonists reduce inflammation pain in rats. Eur J Pharmacol 1989;170:83-86.
24. Tokunaga A, Saika M, Senba E. 5-HT_{2A} receptor subtype is involved in the thermal hyperalgesic mechanism of serotonin in the periphery. Pain 1998;76:349-355.
25. Taiwo YO, Levine JD. Direct cutaneous hyperalgesia induced by adenosine. Neuroscience 1990;38:757-762.
26. Simone DA, Alrejo M, LaMotte RH. Psychophysical studies of the itch sensation and itchy skin (allokinesis) produced by intercutaneous injection of histamine. Somatosensory and Motor Res 1991;8:271-279.
27. Ferreira SH, Lorenzetti BB, Bristow AF, Poole S. Interleukin-1β as a potent hyperalgesic agent antagonized by a tripeptide analogue. Nature 1988;334:698-700.
28. Ferreira SH, Lorenzetti BB, Poole S. Bradykinin initiates cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia. Br J Pharmacol 1993;110:1227-1231.
29. Ventura-Martínez R, Díaz MI, Hernández GP, Domínguez AM, Salazar LA, Cabré F, López Muñoz FJ. Role of COX-1 and COX-2- Synthesized Prostaglandins in a Rat Model of Arthritic Pain. Drug Dev Res 2000;51:253-259.
30. Ventura R, Díaz MI, Déciga CM, Terrón JA, Domínguez AM, López-Muñoz FJ. Involvement of peripheral COX-1 and COX-2 in inflammatory pain. J Pharm Pharmacol 2002;54:405-412.
31. Ventura-Martínez R. Participación de algunos mediadores del dolor que intervienen en el modelo PIFIR. Tesis de doctorado. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Departamento de Farmacobiología. 2001.
32. Insel PA. Analgésicos-antipiréticos, antiinflamatorios y fármacos antiguatosos. En: Hardman JG, Limbird LE, eds. Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Vol. 1. México; McGraw-Hill Interamericana, 1996: 682-683.
33. Rojas-Corrales MO, Berrocoso E, Mico JA. Role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in the antinociceptive effect of tramadol. Eur J Pharmacol 2005;511:21-26.
34. Hara K, Minami K, Sata T. The effects of tramadol and its metabolite on glycine, gamma-aminobutyric acidA, and N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. Anesth Analg 2005;100:1400-405.
35. Koga A, Fujita T, Totoki T, Kumamoto E. Tramadol produces outward currents by activating mu-opioid receptors in adult rat gelatinous substance neurones. Br J Pharmacol 2005;145:602-607.

