

UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

División Académica De Ciencias De La Salud



“Participación local y sistémica del Transportador GLT-1 en el dolor de tipo inflamatorio en la rata: Evidencia farmacológica”

**Tesis que para obtener el grado de la
Maestría en Ciencias Biomédicas**

Presenta

Guadalupe del Carmen Baeza Flores

Directores

Dr. Jorge Elías Torres López

Mtra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego

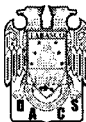
Villahermosa, Tabasco.

Febrero, 2019



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División
Académica
de Ciencias de
la Salud

Dirección



Of. No. 0979/DACS/CP
11 de septiembre de 2018.

ASUNTO: Autorización impresión de tesis

C. Guadalupe del Carmen Baeza Flores
Maestría en Ciencias Biomédicas
Presente

Comunico a Usted, que ha sido autorizada por el Comité Sinodal, integrado por los profesores investigadores Dra. Ángela Ávila Fernández, Dra. Claudia Ivonne Araiza Saldaña, Dr. Jorge Luis Blé Castillo, Dra. Isela Esther Juárez Rojop y la M.GS. Flor del Pilar González Javier, impresión de la tesis titulada: **"Participación local y sistémica del Transportador GLT-1 en el dolor tipo inflamatorio en la rata: Evidencia farmacológica"**, para sustento de su trabajo recepcional de la *Maestría en Ciencias Biomédicas*, donde fungen como Directores de Tesis el Dr. Jorge Elías Torres López y la M. en C. Crystell Guadalupe Guzmán Priego.

Atentamente


M. en C. Alejandro Jiménez Sastre
Director



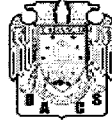
C.c.p.- Dr. Jorge Elías Torres Lóez.- Director de Tesis
c.c.p.- M. en C. Crystell Guadalupe Guzmán Priego.- Director de Tesis
C.c.p.- Dra. Ángela Ávila Fernández.- Sinodal
C.c.p.- Dra. Claudia Ivonne Araiza Saldaña.- Sinodal
C.c.p.- Dr. Jorge Luis Blé Castillo.- Sinodal
C.c.p.- Dra. Isela Esther Juárez Rojop.- Sinodal
C.c.p.- M.GS. Flor del Pilar Gonzalez Javier.- Sinodal

C.c.p.- Archivo
MC/AJS/MGS/PGJ/lkrd*



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División
Académica
de Ciencias de
la Salud

Coordinación de
Posgrado



ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la ciudad de **Villahermosa Tabasco**, siendo las **19:00** horas del día **11** del mes de **septiembre** de **2018** se reunieron los miembros del Comité Sinodal (Art. 71 Núm. III Reglamento General de Estudios de Posgrado vigente) de la **División Académica de Ciencias de la Salud** para examinar la tesis de grado titulada:

"Participación local y sistémica del Transportador GLT-1 en el dolor tipo inflamatorio en la rata: Evidencia farmacológica"

Presentada por el alumno (a):

Baeza Flores Guadalupe del Carmen
Apellido Paterno Materno Nombre (s)

Con Matricula


1	6	1	E	5	7	0	0	8
---	---	---	---	---	---	---	---	---


Aspirante al Grado de:

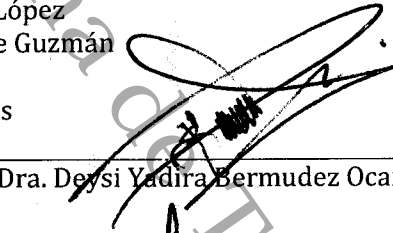
Maestría en Ciencias Biomédicas

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS** en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

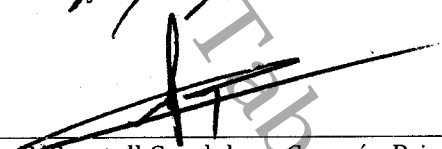
COMITÉ SINODAL



Dr. Jorge Elias Torres López
M. en C. Crystell Guadalupe Guzmán Priego
Directores de Tesis

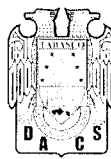

Dra. Ángela Avila Fernández


Dra. Deysi Yadira Bermudez Ocaña


Dra. Claudia Ivonne Araíza Saldaña


M. en C. Crystell Guadalupe Guzmán Priego


MGS Flor del Pilar González Javier



Carta de cesión de derechos

En la ciudad de Villahermosa Tabasco el día 24 del mes de agosto del año 2018, el que suscribe, Guadalupe del Carmen Baeza Flores, alumna del programa de la Maestría en Ciencias Biomédicas, con número de matrícula 161E57008 adscrito a la División Académica de Ciencias de la Salud, manifiesta que es autor intelectual del trabajo de tesis titulada: **"Participación local y sistémica del Transportador GLT-1 en el dolor de tipo inflamatorio en la rata: Evidencia farmacológica"** bajo la Dirección de Dr. Jorge Elías Torres López y la Mtra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego.

Conforme al Reglamento del Sistema Bibliotecario Capítulo VI Artículo 31. El alumno cede los derechos del trabajo a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficos o datos del trabajo sin permiso expreso del autor y/o director del trabajo, el que puede ser obtenido a la dirección: ba_lupitabaeza@hotmail.com, Si el permiso se otorga el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Guadalupe del Carmen Baeza Flores

Nombre y Firma

DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS DE LA SALUD



JEFATURA DEL ÁREA DE
ESTUDIOS DE POSGRADO

Sello



AGRADECIMIENTOS

Al mis queridos directores el Dr. Jorge Elías Torres López y a la Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego por su apoyo, confianza y paciencia.

Al Dr. Vinicio Granado Soto por todo su soporte en la parte experimental, A la Mtra. Lupita Vidal y a todos los integrantes del Laboratorio 12 del CINVESTAV sede sur por su hospitalidad, amistad y compañerismo.

A la Dra. Ángela Ávila Fernández, la Dra. Claudia Ivonne Araiza Saldaña, la Dra. Deysi Yadira Bermúdez Ocaña, la Dra. Leova Pacheco Gil, y a la Dra. Isela Esther Juárez Rojop, quienes enriquecieron mi trabajo con sus aportaciones.

Al CONACYT.



DEDICATORIAS

A mis Padres por su cariño y confianza.

A Daniel por su amor y paciencia.

A mis profesores por su compromiso.

A mis amigos.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.



ÍNDICE

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
GLOSARIO	III
ABREVIATURAS	IV
INTRODUCCIÓN	1
DOLOR	1
COMPONENTES ESTRUCTURALES DEL DOLOR	1
NOCICEPCIÓN	2
DOLOR INFLAMATORIO	4
GLUTAMATO	5
GLUTAMATO PERIFÉRICO	8
TRANSPORTADORES DE GLUTAMATO	9
GLUTAMATO EN CONDICIONES PATOLÓGICAS	13
GLUTAMATO Y DOLOR	15
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
JUSTIFICACIÓN	18
HIPÓTESIS	19
OBJETIVOS	20
OBJETIVO GENERAL	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
MATERIAL Y MÉTODOS	21
ANIMALES	21
FÁRMACOS INDUCTORES DE EAAT2/GLT-1	21
MODELO DE DOLOR	21
DISEÑO EXPERIMENTAL	22
1. ESTANDARIZACIÓN DE LA PRUEBA DE FORMALINA	22
2. CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO LOCAL DE CEFTRIAXONA	23
3. CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO AGUDO INTRAPERITONEAL DE CEFTRIAXONA	23



4. CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO CRÓNICO DE CEFTRIAXONA INTRAPERITONEAL.....	24
5. CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO AGUDO DE AMPICILINA INTRAPERITONEAL.....	24
6. CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO CRÓNICO DE AMPICILINA INTRAPERITONEAL.....	25
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	26
RESULTADOS.....	27
ESTANDARIZACIÓN DE LA PRUEBA DE FORMALINA	27
CURVA DOSIS RESPUESTA DE TRATAMIENTO AGUDO LOCAL DE CEFTRIAXONA	29
CURVA DOSIS RESPUESTA DE TRATAMIENTO AGUDO INTRAPERITONEAL DE CEFTRIAXONA	30
CURVA DOSIS RESPUESTA TRATAMIENTO CRÓNICO DE CEFTRIAXONA INTRAPERITONEAL.....	31
CURVA DOSIS RESPUESTA DE TRATAMIENTO AGUDO INTRAPERITONEAL DE AMPICILINA	35
.....	35
CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO CRÓNICO CON AMPICILINA.....	36
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45



TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Tracto espinotalámico.....	3
Figura 2. Mediadores periféricos.....	6
Figura 3. Transportador de Glutamato.....	10
Figura 4. Transportadores de glutamato.....	12
Figura 5. Neurotransmisión glutamatérgica en condiciones fisiológicas y patológicas	13
Figura 6. Comportamiento nociceptivo inducido por diferentes concentraciones de formalina (0.5, 1, 2.5 y 5%) en la rata.....	28
Figura 7. Efecto de la administración local de ceftriaxona sobre la conducta de sacudidas inducida por formalina.....	29
Figura 8. Efecto de la administración sistémica de ceftriaxona sobre la conducta de sacudidas inducida por formalina.....	30
Figura 9. Efecto del pretratamiento con ceftriaxona sobre la conducta de sacudidas inducida por formalina.....	32
Figura 10. Efecto del pretratamiento de ceftriaxona cada 24 horas por 3 días sobre la conducta de sacudidas de para inducido por formalina.....	33
Figura 11. Efecto del pretratamiento de ceftriaxona cada 24 horas por 7 días sobre la conducta de sacudidas de para inducido por formalina.....	34
Figura 12. Efecto del pretratamiento con ampicilina sobre la conducta de sacudidas de pata inducido por formalina.....	35
Figura 13. Efecto del pretratamiento con ampicilina cada 24 horas sobre la conducta de sacudidas de pata inducido por formalina.....	36
Figura 14. Efecto del pretratamiento con ampicilina cada 24 horas durante 3 días sobre la conducta de sacudidas inducida por formalina.....	37



RESUMEN

Título: Participación local y sistémica del Transportador GLT-1 en el dolor de tipo inflamatorio en la rata: Evidencia farmacológica.

Introducción: El glutamato es el neurotransmisor excitatorio esencial del sistema nervioso central relacionado con funciones como aprendizaje y memoria, sin embargo la hiperactividad del sistema glutamatérgico es una fuente adicional de daño neuronal. Los transportadores de glutamato desempeñan un papel elemental en la transmisión sensorial normal y en estados patológicos.

Objetivo: Evaluar el efecto de la ceftriaxona y ampicilina sobre la conducta dolorosa inducida por inflamación en la rata.

Material y métodos: Se utilizaron ratas cepa Wistar hembra entre 180 y 200g, ceftriaxona y ampicilina en presentación comercial como fármacos inductores, el modelo de inducción de dolor fue formalina.

El diseño experimental consistió en 6 grupos de experimentos: estandarización de la prueba, administración local, administración aguda y crónica intraperitoneal de ceftriaxona y administración intraperitoneal aguda y crónica de ampicilina.

Resultados: La inyección subcutánea de formalina dio la conducta típica de sacudidas dependiente de la concentración. La administración local de ceftriaxona redujo de forma no dependiente de dosis la conducta de sacudidas de pata. El pretratamiento sistémico de ceftriaxona y ampicilina agudo y crónico produjeron efecto antinociceptivo dependiente de dosis.

Conclusiones: El tratamiento agudo y crónico con los fármacos ceftriaxona y ampicilina mostraron efecto antinociceptivo lo que sugiere la inducción de la expresión del transportador GLT-1.

Palabras Clave: Prueba de formalina, Transportador GLT-1, Fármaco inductor



ABSTRACT

Title: Local and systemic participation of the GLT-1 Transporter in inflammatory-type pain in the rat: Pharmacological evidence.

Introduction: Glutamate is the essential excitatory neurotransmitter of the central nervous system with functions such as learning and memory, however, the hyperactivity of the glutamatergic system is an additional source of neuronal damage.

The glutamate transporters play an elementary role in normal sensory transmission and pathological states.

Objective: To evaluate the effect of ceftriaxone and health on the painful behavior induced by inflammation in the rat.

Material and methods: Female Wistar strain rats between 180 and 200 g, ceftriaxone and ampicillin in commercial presentation were used as induction drugs, the pain induction model was formalin.

The experimental design consisted of 6 groups of experiments: standardization of the test, local administration, acute and chronic intraperitoneal administration of ceftriaxone and acute and chronic intraperitoneal administration of ampicillin.

Results: Subcutaneous injection of formalin gave the typical behavior of concentration-dependent shaking. The local administration of the wording of the non-dose-dependent form of paw shake behavior. The systemic pretreatment of ceftriaxone and acute and chronic ampicillin produces dose-dependent antinociceptive effect.

Conclusions: Acute and chronic treatment with the ceftriaxone and ampicillin drugs have an antinociceptive effect that implies the induction of GLT-1 transporter expression.

Keywords: Formalin test, GLT-1 transporter, drug inducer.



GLOSARIO

Analgesia	Ausencia de dolor sin pérdida simultánea de la consciencia.
Analgésico	Fármaco que atenúa el dolor.
Anestesia	Ausencia de sensaciones normales, especialmente de la sensibilidad para el dolor.
Alodinia	
Aminoácido	Sustancia química orgánica compuesta de uno o más grupos amínicos básicos y uno o más grupos carboxílicos ácidos.
Ampicilina	Aminopenicilina semisintética, antibiótico para tratar organismos grampositivos y algunos gramnegativos.
Ceftriaxona	Antibiótico de tipo cefalosporina parenteral.
sódica	
Dolor	Sensación desagradable provocada por la estimulación perjudicial de las terminaciones nerviosas sensitivas. Es un síntoma fundamental de la inflamación y resulta valioso para el diagnóstico de muchos trastornos y enfermedades.
Glutamina	Aminoácido no esencial presente en numerosas proteínas del organismo. Actúa como un donador de aminas en muchas reacciones y también es un transportador no tóxico del amoníaco.
Hiperalgnesia	Sensibilidad extrema al dolor.



- Neurotransmisor** Mediador químico que modifica o produce impulsos nerviosos entre la sinapsis.
- Nociceptivo** Perteneciente a un receptor para estímulos dolorosos.
- Nociceptor** Terminación nerviosa libre que reacciona a lesiones tisulares que también pueden ser excitadas por sustancias químicas endógenas.
- Nocivo** Daño, lesivo o que afecta negativamente sobre la salud.
- Receptor** Estructura química. Proteína celular específica a la que se debe unir una molécula antes de desencadenar la respuesta celular.



ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de la Varianza
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-metil-4-5-isoxazol propiónico
ARNm	Ácido Ribonucleico mensajero
ATP	Trifosfato de Adenosina
EA	Enfermedad de Alzheimer
EAAT	Transportador Aminoácido Excitador
ELA	Esclerosis Lateral Amiotrófica
EP	Enfermedad de Parkinson
FAP	Fibra Aferente Primaria
GLT-1	Transportador de Glutamato 1 de Alta Afinidad Glial
GRD	Ganglio de la Raíz Dorsal
IASP	Asociación Internacional para el Estudio del Dolor
NF κ β	Factor Nuclear Kappa β
NMDA	<i>N</i> -metil- <i>D</i> -aspartato
SNC	Sistema Nervioso Central



INTRODUCCIÓN

DOLOR

El dolor se encarga de alertar al individuo sobre la presencia de estímulos potencialmente dañinos (Costigan y Woolf, 2000), la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP por sus siglas en inglés) lo define como “una experiencia *sensorial y emocional* desagradable, asociada a un daño tisular real o potencial que puede ser descrita en términos de dicho daño” (Loeser y Treede, 2008).

El dolor se clasifica de acuerdo a la duración, la etiología, la ubicación anatómica, frecuencia, intensidad (Cole, 2002; OMS, 2012) y de acuerdo a su mecanismo neurobiológico es: nociceptivo, inflamatorio y patológico (Neuropático y Disfuncional) (Woolf, 2010).

COMPONENTES ESTRUCTURALES DEL DOLOR

La integración sensorial y emocional del dolor requiere de procesos eléctricos y químicos simultáneos (Dubin y Patapoutain, 2010) en respuesta a un estímulo inocuo o nocivo detectado por un subconjunto de neuronas periféricas de alto umbral o nociceptores (Costigan y Woolf 2000).

Los nociceptores o fibras aferentes primarias (FAP) transmiten la información sensorial al asta dorsal de la medula espinal, las FAP se clasifican en: C, A δ y A β , de acuerdo a las diferencias en su estructura, diámetro y velocidad de conducción del estímulo (Millán, 1999). Las fibras A β codifican estímulos inocuos a diferencia de las fibras C y



Añ que son las encargadas de propagar estímulos nocivos (Millán, 1999; Perena, Perena, Rodrigo & Romera, 2000).

Las FAP tienen una morfología pseudounipolar, el cuerpo se localiza en el ganglio de la raíz dorsal, una terminación axonal en la periferia y otra el asta dorsal de la medula espinal. El asta dorsal se divide en 10 láminas donde se establece la sinapsis con las neuronas de segundo orden que se proyectan a niveles superiores a través de 5 haces diferentes: espinotalámico, espinoreticular, espinomesencefálico, cervicotalámico y espinohipotalámico a centros superiores: tálamo desde donde se proyectan neuronas hacia la corteza somatosensorial primaria, secundaria, la insula, la corteza cingulada anterior, y la corteza prefrontal (Steeds, 2009; Moreno, 2013) [Figura 1].

NOCICEPCIÓN

Nocicepción, es el término utilizado para describir el componente neurológico sensorial (Linley, Rose, Ooi, & Gamper, 2010; Ellison, 2017), es el proceso fisiológico que incluye la localización y detección de estímulos potencialmente dañinos o el sitio de lesión y propaga la información al Sistema Nervioso Central (SNC) (Basbaum, Bautista, Scherrer, Julius, 2010) a través de los procesos: transducción, conducción, transmisión y percepción (Meeks, Glass, & Carroll, 2015).

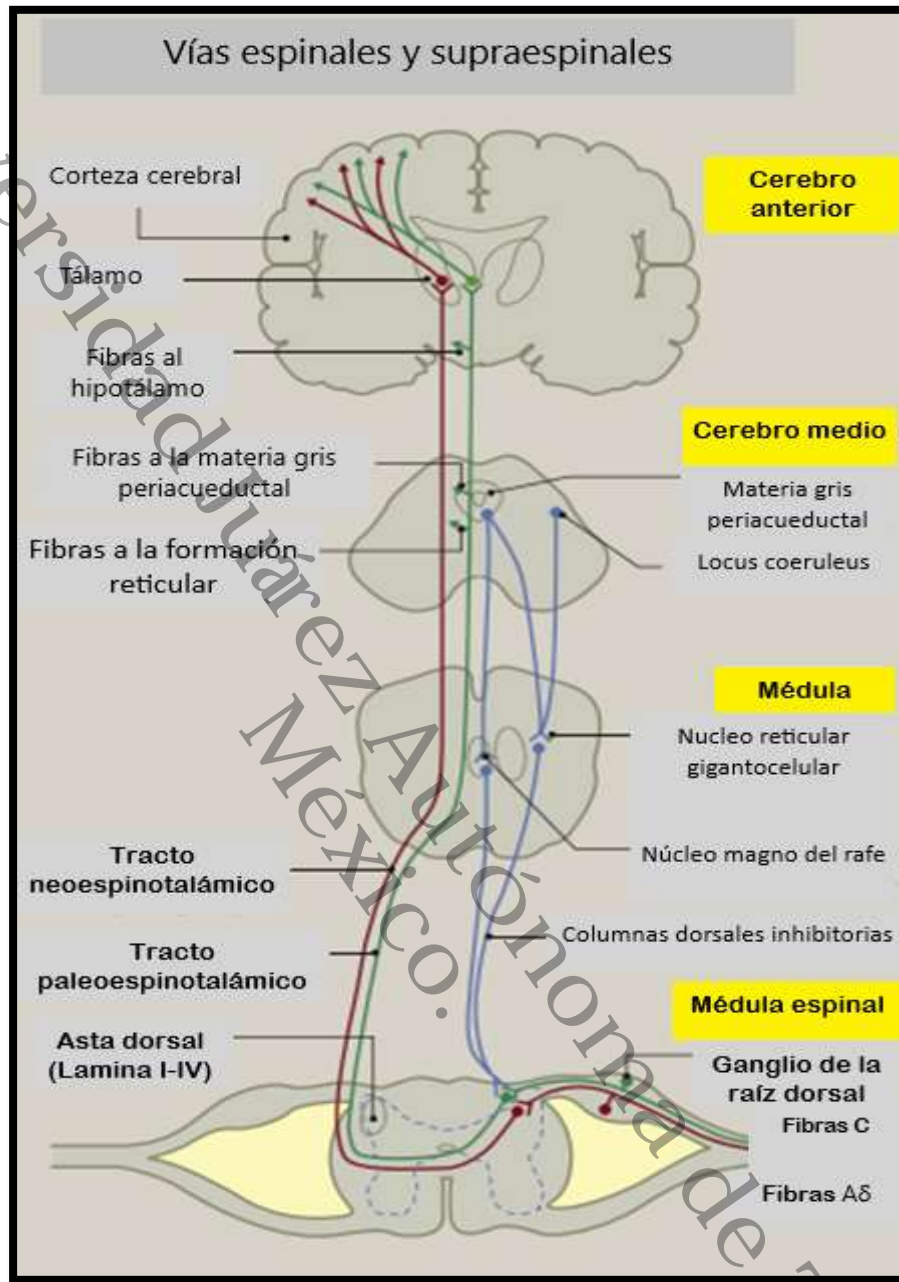


Figura 1. Tracto espinotalámico.

Principal vía nociceptiva, los cuerpos celulares de las neuronas de primer orden se encuentran en el ganglio de la raíz dorsal, los axones se dirigen a la periferia y a la médula espinal. En la medula espinal hacen sinapsis con la neurona de segundo orden ascendiendo a través del núcleo magno del rafe, formación reticular, sustancia gris periacueductal hasta el tálamo donde se establece la sinapsis con la neurona de tercer orden que lleva la información para integrarla en la corteza sensorial. (Basbaum, Bautista, Scherrer y cols., 2009).



Los nociceptores cumplen con funciones aferentes y eferentes. La función aferente es cuando el estímulo nocivo es detectado por las terminaciones libres periféricas que detectan y activan canales iónicos regulados por voltaje (transducción); la información sensorial de la terminal periférica se propaga a la médula espinal a través de la neurona de primer orden (conducción), estas hacen sinapsis en láminas específicas del asta dorsal de la medula con la neurona de segundo orden (transmisión) (Kidd y Urban, 2001; Basbaum y cols., 2010) por último la información es integrada en la región supraespinal (percepción).

La principal función eferente, es la liberación de neuropéptidos que inducen vasodilatación, extravasación de plasma, edema local, atracción de macrófagos, degranulación de mastocitos y liberación retrograda de sustancias proinflamatorias, proceso conocido como inflamación neurogénica (Durnet y Vasko, 2002).

DOLOR INFLAMATORIO

La inflamación es el resultado de la liberación de una compleja mezcla de citocinas y otros agentes neuroactivos en el sitio de daño tisular asociado a infección y activación del sistema inmune (Costigan y Woolf, 2000; Woolf, 2010). El dolor inflamatorio es persistente, adaptativo y protector (Woolf, 2010), además, tiene como resultado sensibilización periférica y central (Chen, Yang y Grosser, 2013).

Después que la integridad del tejido se interrumpe, los mastocitos, macrófagos y las células de Schwann liberan aminas, metabolitos de ácido araquidónico, citocinas y



factores de crecimiento que participan en la regulación de las reacciones inflamatorias (Chen, Yang y Grosser, 2013).

Las citocinas proinflamatorias que juegan un papel central en el dolor son IL-1 β , IL-6 y TNF- α (Jun-Ming y Jianxiong, 2009), las sustancias endógenas inductoras de dolor, que incluyen: bradicinina, histamina, serotonina, prostaglandinas, sustancia P, ATP, factor de crecimiento, protones, óxido nítrico, citocinas y glutamato (Kidd y Urban 2001; Linley, Rose, Oil y cols. 2010), incrementando la sensibilidad en la terminal periférica que contribuye a la hiperalgesia e hipersensibilidad, estimulando la liberación de neurotransmisores en la terminal central (Chen, Yang y Grosser, 2013) [Figura 2].

En la vía nociceptiva, las fibra A y C transducen información mecánica, química y térmica a una actividad eléctrica que resulta en la liberación de glutamato en cerca del 40% de las sinapsis (Costigan y Woolf, 2000; Kim, Lee, Kegelman, Su y cols., 2011).

GLUTAMATO

El glutamato es el neurotransmisor excitatorio esencial del SNC relacionado con funciones cerebrales superiores como la consolidación de la memoria, aprendizaje (Shimamoto, 2008) plasticidad y potenciación a largo plazo (Fontana, 2015).

Es sintetizado a partir de su precursor α -cetoglutarato en el astrocitoa través del metabolismo de glucosa (Chiang, Sessle y Dostrovsky, 2012; Niciu, Kelmendi y Sanacora, 2012).

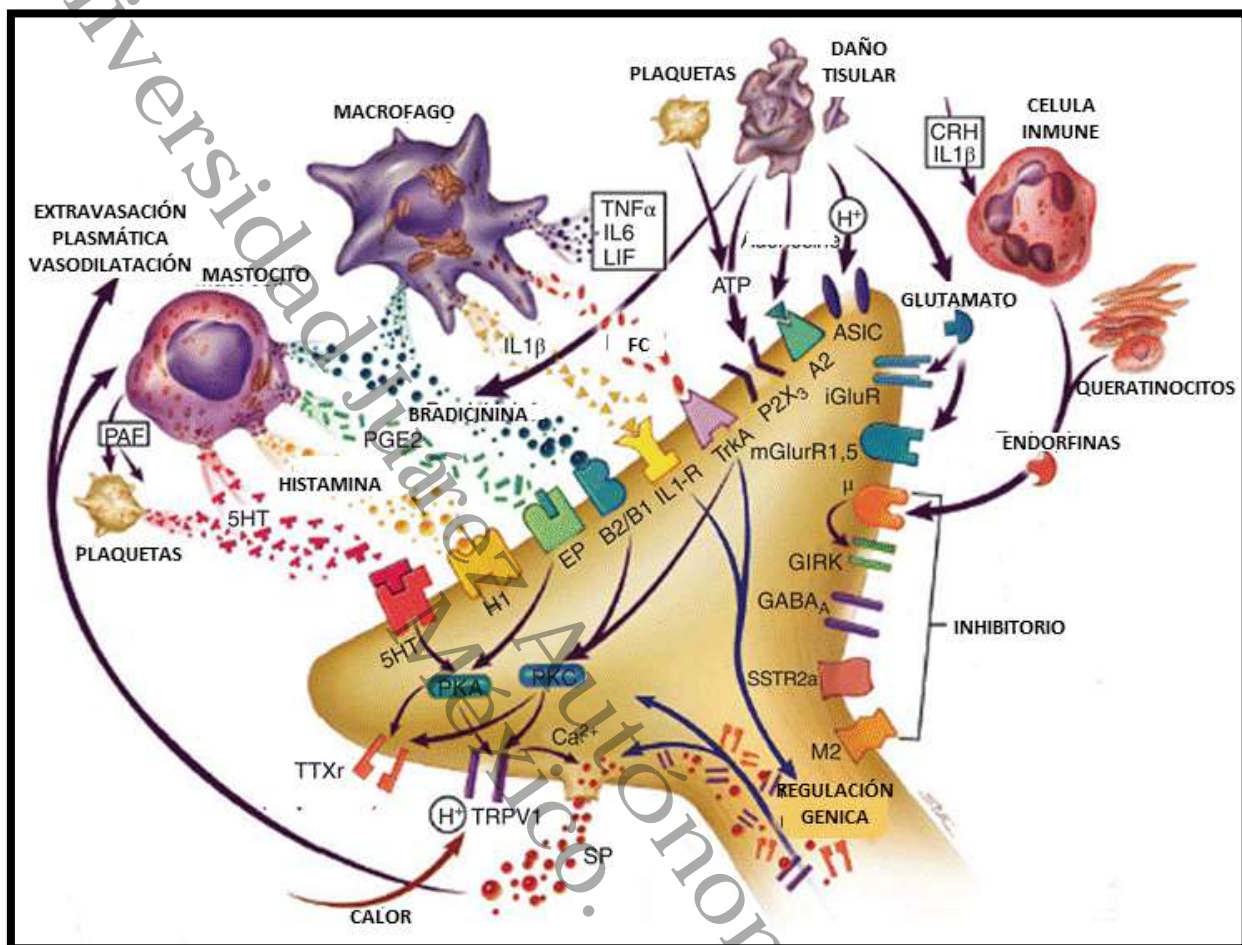


Figura 2. Mediadores periféricos.

En el sitio de lesión, la célula tisular dañada, libera productos químicos como histamina, bradicinina, glutamato, interleucinas como IL-6, IL-1, TNF- α que actúan de forma directa e indirecta en la sensibilización de las terminales nerviosas periféricas para producir potencial de acción e inflamación. (Recuperado de: Meyer, Rinkamp, Campbell et al., 2014).



El glutamato en la hendidura sináptica lleva acabo la función de señalización entre neuronas actuando sobre los receptores que se encuentran en la superficie de las neuronas postsinápticas (Danbolt, 2001; Fonnum, 1984) y es absorbido rápidamente por transportadores que se encuentran en la membrana presináptica y astrocitos perisinápticos para terminar la neurotransmisión (Fontana, 2015).

Los receptores de glutamato identificados incluyen a tres familias de proteínas expresadas en las superficies de las células, que se dividen en dos categorías: ionotrópicos y metabotrópicos (Zhou & Danbolt, 2014).

De acuerdo a estas categorías existen 3 subtipos de receptores ionotrópicos, el *N-metil D-Aspartato* (NMDA), el *α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico* (AMPA) y Kainato que son canales iónicos permeables a Na⁺ y Ca²⁺.

De acuerdo a la homología de su secuencia, al mecanismo de transducción de señal y a la farmacología se han identificado 8 receptores metabotrópicos (mGlu1-8), acoplados a proteína G que conducen a la formación de segundos mensajeros (Fundytus, 2001).

La interacción existente entre la liberación de glutamato y la recaptura a través de los transportadores de glutamato de alta afinidad se regula la concentración de glutamato en la hendidura sináptica y el potencial de acción generado por la actividad resultante de los receptores ionotrópicos (Kim, Kegelman, Su y Cols., 2011).



En el proceso de transmisión nociceptiva el neurotransmisor glutamato está estrechamente relacionado con la amplia distribución de sus receptores en la neurona postsináptica (Sevostianova y Danysz, 2006).

Durante el fenómeno de sensibilización periférica hay cambios restringidos en el sitio de lesión que conducen a la activación de fibras de tipo C; en el asta dorsal de la médula espinal se encuentra implicada la activación de los canales iónicos y receptores metabotrópicos mecanismos que contribuyen en la transmisión nociceptiva y sensibilización central (Ji, Kohno, Moore y cols., 2003; Fundytus, 2001).

Se ha demostrado que los receptores metabotrópicos (mGlu1 y mGlu5) y NMDA de tipo ionotrópico tienen un papel clave en los mecanismos implicados en dolor crónico (Christoph, Reibmüller, Schiene y cols., 2005). También hay evidencia que la inyección periférica local de antagonistas del receptor de glutamato reduce el comportamiento nociceptivo inducido por formalina o capsaicina de tal manera que se refuerza la relación del sistema glutamatérgico y el dolor de tipo inflamatorio (Carlton y Coggeshall, 1999).

GLUTAMATO PERIFÉRICO

El conocimiento del glutamato como neurotransmisor y su acción en la terminal sináptica de la FAP es muy amplio, sin embargo se ha demostrado la liberación de glutamato en la porción periférica de la FAP como consecuencia de estímulos eléctricos, químicos e inflamatorios (Miller, Hofman, Sutharshan y cols., 2011).



Se ha demostrado que sitios no neuronales son fuentes de glutamato periférico como la células de la dermis, epidermis (Wen, Chang y Jean, 2015), páncreas, tejido óseo, tejido pulmonar y en el tracto gastrointestinal (Skerry y Genever, 2001).

El fenómeno de señalización de glutamato periférico incrementa de forma particular en la inflamación ocasionando la despolarización de una mayor cantidad de Fibras C que contienen receptores metabotrópicos de grupo I (Carlton, 2001) y ionotrópicos de tipo NMDA y no NMDA (Petrenko, Yamakura, Baba, &Shimoji, 2003) favoreciendo la experiencia sensorial del dolor (Omote, Kawamata, Kawamata y Namiki, 1998).

La activación de los receptores periféricos NMDA contribuye a la activación y sensibilización de los nociceptores (Du, Zhou, Coggeshall & Carlton, 2003).

TRANSPORTADORES DE GLUTAMATO

La concentración de glutamato en el espacio extracelular se mantiene a niveles fisiológicos a través de bombas de membrana o transportadores de alta afinidad necesarios para la supervivencia y función normal de las neuronas (Shimamoto, 2008; Kim, Kegelman, Su y cols., 2011; Chiang, Sessle y Dostrovsky, 2012) [Figura 3].

La activación excesiva de receptores de tipo NMDA conduce a muerte apoptótica por la liberación excesiva de Ca^{2+} en la neurona postsináptica. El glutamato extracelular es absorbido en los astrocitos perisinápticos por los transportadores de glutamato (Hsu, Hung, Chang, Liao, Ho & Ho, 2015).

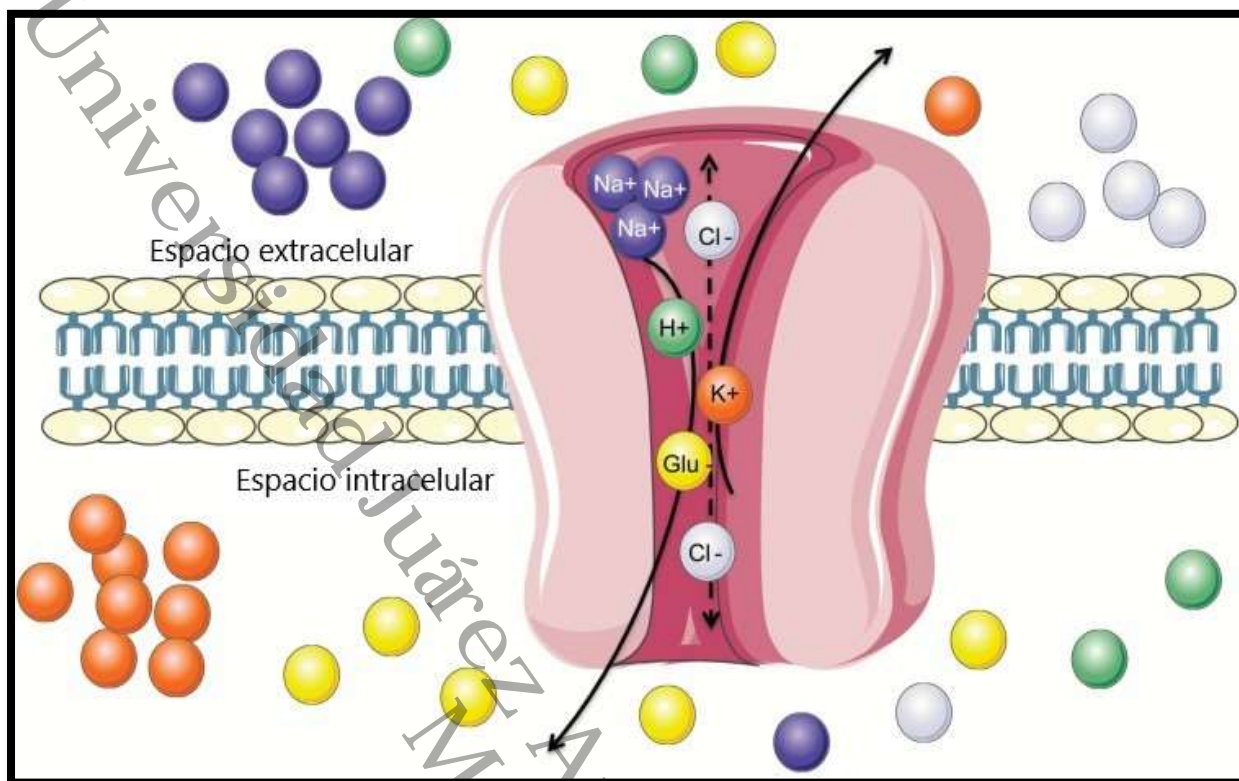


Figura 3. Transportador de Glutamato

El transportador de glutamato son bombas de membrana que mantienen la concentración fisiológica de glutamato intracelular que se acopla con 3 moléculas de sodio (Na^+), Hidrógeno (H^+), potasio (K^+) al espacio intracelular y flujo desacoplado de ion cloro (Cl^-), raras veces en EAAT2. (Spencer & Kalivas, 2017).

La regulación de glutamato se realiza por 3 familias de proteínas o transportadores; los Transportadores Aminoácido Excitadores (EAAT's), los Transportadores de Glutamato Vesicular (VGLUT's) y el Intercambiador Glutamato-Cisteína (Vandenberg & Ryan, 2013). Se han identificado 5 subtipos de transportadores aminoácido excitadores en tejido humano que son especialmente relevantes en la regulación de la recaptura de glutamato en regiones del sistema nervioso central EAAT1, EAAT2, EAAT3, EAAT4 y EAAT5 (Gegelashvili y Bjerrum, 2014).



La localización de los transportadores es diferente para cada tipo, EAAT1/GLAST y EAAT2/GLT-1 se han identificado predominantemente en astrocitos, EAAT3/EAAC1, EAAT4 y EAAT5 en neuronas (Danbolt, 2001). El EAAT2 es el más importante en la homeostasis del glutamato, responsable de más del 95% de captación total, suministra glutamato a la neurona adyacente y produce energía (Takashi, Foster y Glenn, 2015).

Sin embargo, existe evidencia de la presencia de transportadores de glutamato en tejido conectivo (Wen, Chang y Jean, 2015), en los queratinocitos epidérmicos (Skerry y Genever, 2001). En la epidermis los transportadores encargados de limitar los efectos tóxicos de glutamato son EAAC1 y GLT1 (Genever, Maxfield, Skerry y cols., 1999).

El glutamato absorbido por los astrocitos puede utilizarse en 3 rutas metabólicas paralelas, en el ciclo del ácido tricarboxílico, síntesis de proteínas o la transformación a glutamina (Zhou y Danbolt, 2014). La glutamina es exportada a las neuronas y transformada a glutamato por acción de la enzima mitocondrial glutaminasa, empaquetado en vesículas, liberado y difundido a la terminal sináptica como resultado a estímulos específicos (Gegelashvili y Schousboe, 1997; Niciu, Kelmendi y Sanacora, 2012) [Figura 4].

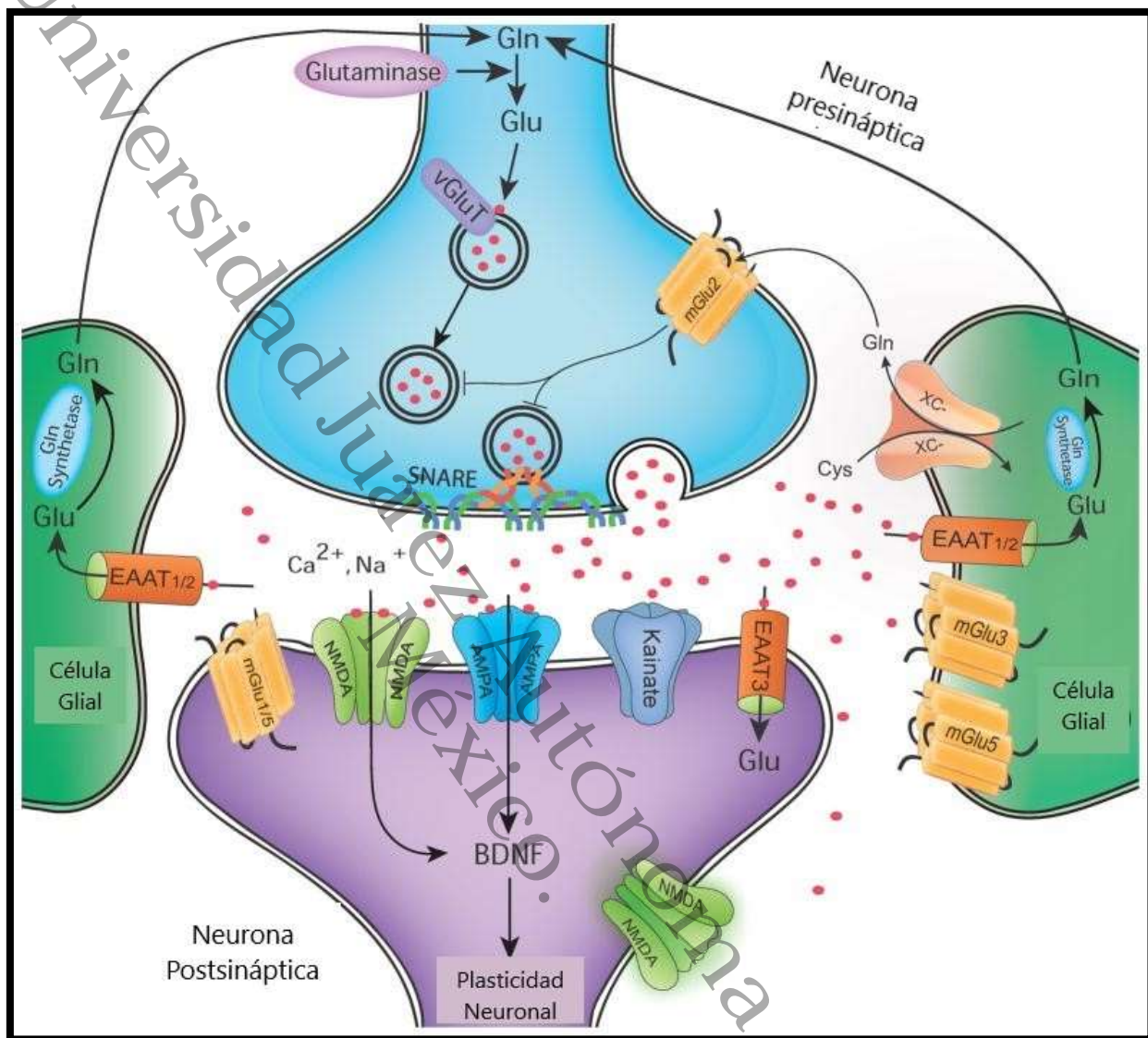


Figura 4. Transportadores de glutamato.

El potencial de acción abre los canales de Ca^{2+} en la terminal presináptica ocasionando el movimiento de vesículas, que liberan el neurotransmisor glutamato a la hendidura sináptica. La neurona postsináptica tiene receptores de tipo ionotrópico (AMPA, NMDA y Kainato) y metabotrópicos (acoplados a proteína G) en su superficie, que al interactuar con la molécula de glutamato generaran un potencial de acción. En el astrocito localizado en la periferia de la sinapsis se encuentran los transportadores de alta afinidad de glutamato (EAAT1 y EAAT2 principalmente) los que se encargan de limitar el potencial excitotóxico de glutamato (Recuperado de: Niciu, 2012).

GLUTAMATO EN CONDICIONES PATOLÓGICAS

La hiperactividad del sistema glutamatérgico es una fuente adicional de daño neuronal, excitotoxicidad, pérdida de memoria y muerte neuronal influida por glutamato (Kim, Kegelman, Su y cols., 2011; Hsu, Hung, Chang y cols., 2015). El mal funcionamiento, deterioro o desregulación del sistema de captación dado por los transportadores de glutamato en los astrocitos contribuye en la neurodegeneración (Gegelashvili y Bjerrum, 2014; Takashi, Foster y Glenn, 2015) [Figura 5].

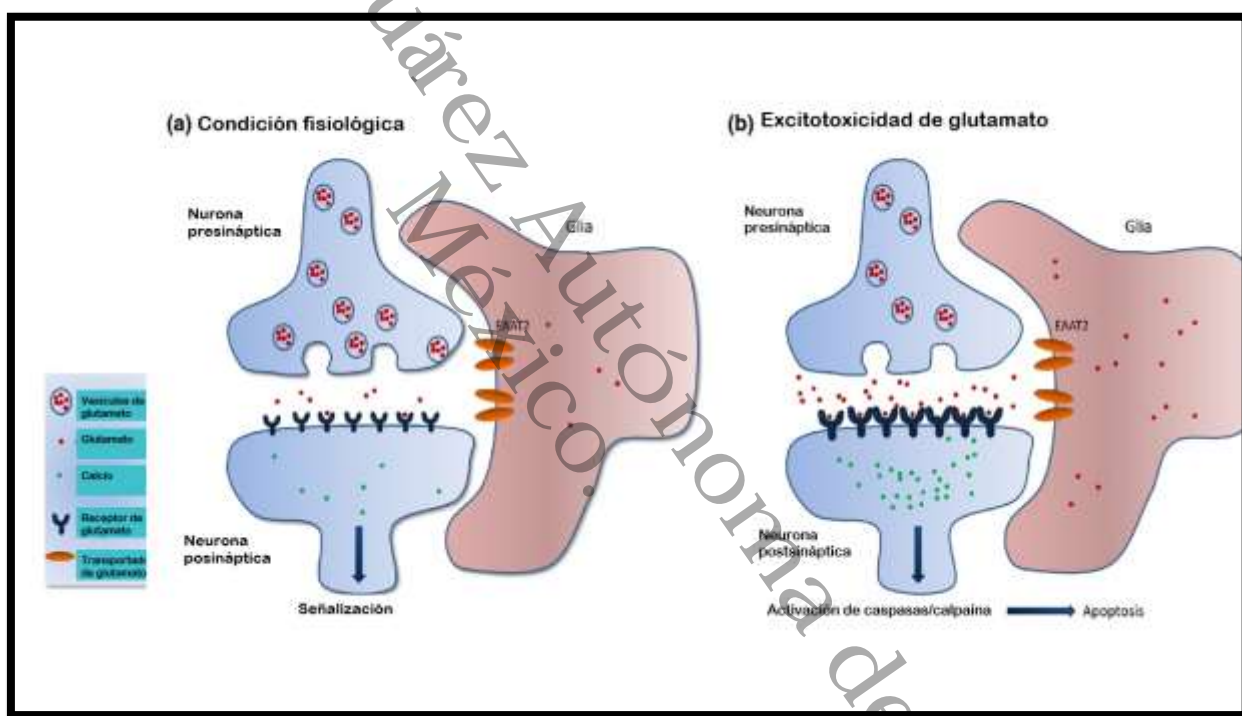


Figura 5. Neurotransmisión glutamatérgica en condiciones fisiológicas y patológicas. En el panel a se observa la neurotransmisión glutamatérgica en condiciones fisiológicas, en la neurona presináptica se encuentran las vesículas con glutamato dirigiéndose a la terminal para ser liberado en la hendidura sináptica y ejercer una función señalizadora en los receptores localizados en la membrana postsináptica, en la periferia se encuentran los astrocitos que expresan proteínas transportadoras de glutamato, encargadas de reciclar las moléculas de glutamato y limitar su acción excitadora. En el panel se encuentra esquematizada la excitotoxicidad del glutamato representado por aumento en la liberación y activación de receptores de glutamato. (Recuperado de: Fontana, 2015)



El glutamato y la función alterada de los EAAT's están involucrados en enfermedades asociadas con daño neuronal severo, como apoplejía y lesión cerebral traumática (Beart y O'Shea, 2007). La excitotoxicidad crónica y/o la hiperexcitabilidad están relacionadas con enfermedades neurológicas crónicas y enfermedades psiquiátricas, como la Enfermedad de Alzheimer (EA), la Enfermedad de Parkinson (EP), la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), el trastorno depresivo mayor y la adicción.

Se ha documentado que la reducción de la expresión y función de los transportadores de glutamato se encuentra asociada a la patogénesis de desórdenes neurológicos como isquemia, epilepsia, daño medula espinal, Esclerosis Lateral Amiotrófica, enfermedad de Alzheimer (Mao, 2005). En modelos experimentales se ha identificado que la disminución en la capacidad de transporte de glutamato también se relaciona con hiperalgesia, alodinia y tolerancia a morfina (Rawls, Zielinski, Patel y cols., 2011; Gegelashvili y Bjerrum, 2014).

Algunos autores han propuesto que regular los niveles de glutamato y mejorar el transporte para incrementar su eliminación del entorno sináptico extracelular es crucial para el buen funcionamiento del sistema nervioso (Beart y O'Shea, 2007; Kim, Kegelman, Su y cols., 2011). La reducción de glutamato extracelular puede evitar la excitotoxicidad en numerosas enfermedades neurológicas y psiquiátricas (Takashi, Foster y Glenn, 2015).



La inducción de la expresión de EAAT2/GLT-1 atenúa la hipertermia ocasionada por el aumento de la liberación de glutamato en regiones del sistema nervioso central que regulan la temperatura corporal tras la administración de morfina (Rawls, Tallarida, Robinson y cols., 2007),

GLUTAMATO Y DOLOR

En la última década se ha demostrado que mantener baja la concentración de glutamato extracelular después del aumento de la proteína del transportador GLT-1 atenúa el dolor.

La baja regulación de GLT-1 se encuentra asociado a lesión nerviosa. En el modelo animal de neuropatía diabética inducida por estreptozotocina se demostró tras la administración repetida de ceftriaxona (fármaco inductor) se obtuvieron efectos antialodínico y Antihiperalgésico a partir del día 3 de tratamiento (Gunduz, Oitulu, Buldum y cols., 2011).

La evidencia científica muestra que la transferencia génica espinal del GLT-1 a través de una infusión intraespinal reduce la hiperalgesia mecánica y alodinia en la rata (Maeda, Kawamoto, Yatani y cols., 2008).

También que en el modelo inflamatorio inducido por carragenina se demostró que la administración aguda de un inductor de la expresión no tuvo efecto antialodínico a los 30 minutos, sin embargo se obtuvo diferencia estadísticamente significativa en la administración continua a las 24 horas (Ochoa, Ventura, Sotomayor y cols., 2018).



En el modelo de dolor neuropático en rata similar a la condición patológica por compresión crónica de nervio se encontró que la administración repetida de un inductor mostró actividad antialodínica y antihiperalgésica (Hajhashemi, Hosseinzadeh y Amín, 2012).

Se han observado efectos antinociceptivos en un modelo de dolor inflamatorio asociado al aumento de la expresión del transportador de glutamato GLT-1 en un modelo animal (Macaluso, Bernabucci, Trabucco y cols., 2013), la antihiperalgesia/antinocicepción en dolor somático y visceral después de 7 días de tratamiento con un inductor de la expresión de GLT-1 (Stepanovic, Micov, Maja y cols., 2014).

No hay mucha evidencia del tratamiento con inductores en humanos sin embargo, hay registro que en la cirugía de descompresión de nervio mediano en humanos hubo efectos antinociceptivos después de la administración profiláctica de un fármaco inductor de la expresión de GLT-1 (Macaluso, Bernabucci, Trabucco y cols., 2013).



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los transportadores de glutamato desempeñan un papel elemental en la transmisión sensorial normal y en estados de dolor patológico. El aumento en la expresión y actividad del transportador EAAT2/GLT-1 se ha relacionado con efectos neuroprotectores, de manera que la sobreexpresión de GLT-1 contrarresta la acumulación de glutamato en el líquido extracelular y previene el desarrollo de la tolerancia a morfina, la hipersensibilidad inducida por opioides, potencia el efecto analgésico de la morfina y entre otras cosas atenúa la alodinia táctil (Gegelashvili, Bjerrun, 2014).

Fármacos destinados a atacar gran cantidad de condiciones patológicas exhiben propiedades analgésicas y en paralelo aumentan la expresión y/o actividad de los transportadores de glutamato como es el caso de los betalactámicos por lo que derivado del contexto anterior surge la siguiente pregunta de investigación: ¿El aumento de la expresión del transportador GLT-1 disminuye la intensidad de dolor inflamatorio?



JUSTIFICACIÓN

Se ha propuesto que reducir el glutamato extracelular a través de la sobreexpresión del transportador de glutamato (EAAT2/GLT-1) es una estrategia terapéutica innovadora para tratamientos de enfermedades asociadas al glutamato; entre ellas el dolor (Stepanovic y cols., 2014). El transportador EAAT2/GLT-1 es el principal mecanismo de recaptura de glutamato (Lin y cols., 2011), y por lo tanto se considera un mecanismo de neuroprotección.

Se ha descrito que los antibióticos betalactámicos; ceftriaxona y ampicilina, tienen la capacidad de aumentar la expresión del transportador EAAT2/GLT-1, (Rothstein y cols., 2005; Ochoa y cols., 2018). Por lo cual, existe evidencia científica que la ceftriaxona disminuyó el dolor neuropático, dolor visceral y de origen inflamatorio. Sin embargo no existen reportes en la literatura de la administración sistémica o local de estos antibióticos puedan disminuir la conducta dolorosa inducida por formalina en la rata.



HIPÓTESIS

La administración local y sistémica de los inductores de la expresión del transportador GLT-1 disminuye la conducta dolorosa inducida por inflamación en la rata.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la ceftriaxona y ampicilina sobre la conducta dolorosa inducida por inflamación en la rata.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de la administración local de ceftriaxona sobre la conducta dolorosa de sacudidas de la pata de la rata.
- Evaluar el efecto agudo de la administración intraperitoneal ceftriaxona y ampicilina sobre la conducta dolorosa de sacudidas de la pata de la rata.
- Evaluar el efecto crónico de la administración intraperitoneal ceftriaxona y ampicilina sobre la conducta dolorosa de sacudidas de la pata de la rata.



MATERIAL Y MÉTODOS

ANIMALES

Se utilizaron ratas cepa Wistar hembra, entre 180 y 200 g, procedentes del bioterio del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV) sede sur. Los animales fueron alojados en grupos de 6, a temperatura y humedad controladas, el acceso a agua y alimentos fue a libre demanda, una vez terminada la fase experimental se sacrificaron en cámara de CO₂ en apego a las guías éticas para investigación animal (Zimmermann, 1993).

FÁRMACOS INDUCTORES DE EAAT2/GLT-1

Los fármacos utilizados como inductores de la expresión del transportador GLT-1 fueron las presentaciones comerciales de los betalactámicos: ceftriaxona y ampicilina que se disolvieron en solución salina para su administración intraperitoneal. La preparación de los fármacos fue diaria y se disolvieron antes de la administración intraperitoneal a un volumen final de 2 ml/kg de peso.

MODELO DE DOLOR

Como modelo experimental de dolor se usó la prueba de la formalina, útil para el estudio de los mecanismos neurobiológicos periféricos y espinales involucrados en el dolor (Tjølsen, Berge, Huskaar y cols., 1992)

Las ratas se colocaron de manera individual durante 60 minutos en cilindros de acrílico transparente con espejos en un ángulo de 45° para su adaptación al ambiente.



Transcurrido el tiempo de adaptación se sujetaron suavemente para la administración subcutánea 50 μ l de formalina al 1%. e inmediatamente se devolvieron a los cilindros para iniciar el conteo de sacudidas durante 1 minuto cada 5 minutos durante 60 minutos.

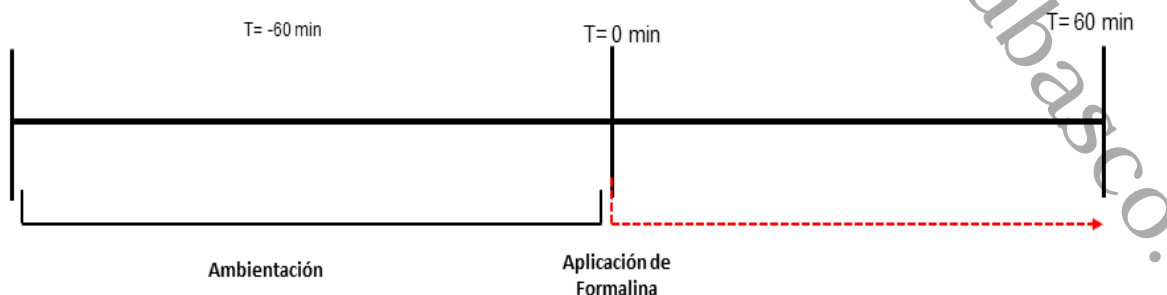
La disminución o aumento en el número de sacudidas como consecuencia del tratamiento experimental se interpreta como efecto antinociceptivo o pronociceptivo, respectivamente.

DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental consistió en 6 grupos de experimentos. En el primero se realizó la estandarización de la prueba de formalina, en el segundo la administración local de ceftriaxona, en el tercero la administración aguda intraperitoneal de ceftriaxona, en el cuarto la administración crónica intraperitoneal de ceftriaxona, el quinto y sexto grupo consistieron en la administración aguda y crónica de ampicilina.

1. ESTANDARIZACIÓN DE LA PRUEBA DE FORMALINA

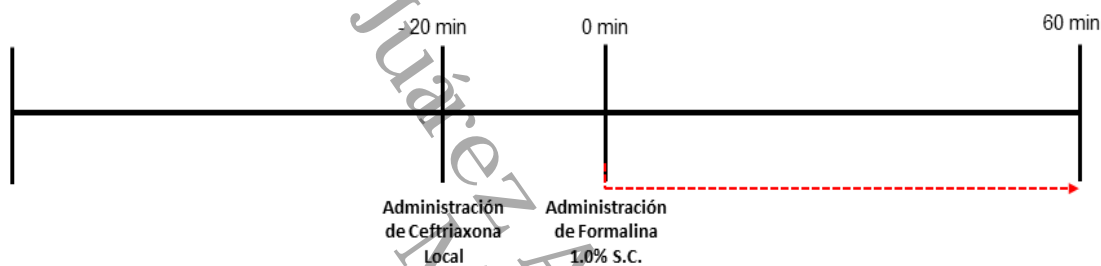
Se destinaron 4 grupos de ratas ($n=6$) para estandarización de la prueba de formalina, las concentraciones que se utilizaran son 0.5, 1.0, 2.5 y 5.0% que se administraron en 50 μ l en la región dorsal de la pata trasera derecha.





2. CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO LOCAL DE CEFTRIAXONA

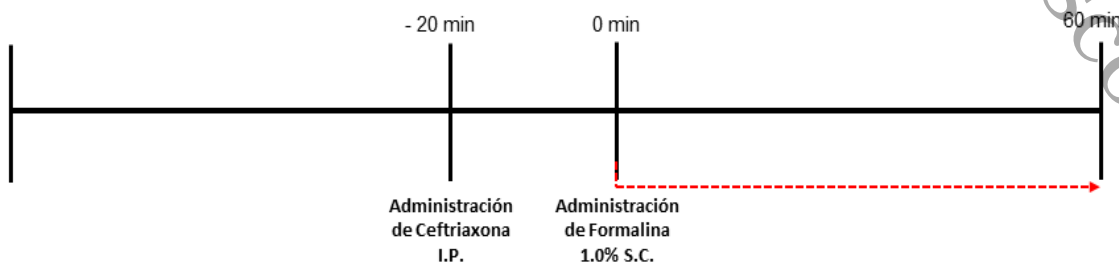
De la misma forma, se construyó una curva dosis-respuesta para ceftriaxona a dosis de 400 y 800 µg/pata. Se administró la dosis correspondiente en la región dorsal de la pata trasera derecha 20 minutos después se inyectó formalina y se llevó a cabo el conteo de las sacudidas de pata de acuerdo a lo descrito en el modelo, tal como se muestra en el esquema.



3. CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO AGUDO INTRAPERITONEAL DE CEFTRIAXONA

Se construyó una curva dosis-respuesta para la ceftriaxona, a dosis de 50, 100, 200 y 400 mg/kg vía intraperitoneal.

Cada grupo estuvo constituido por 6 ratas (n=6), 20 minutos previos a la administración de formalina se le inyectó concentración de ceftriaxona intraperitoneal correspondiente y transcurrido el tiempo se le inyectó formalina al 1% para la evaluación de la respuesta nociceptiva.

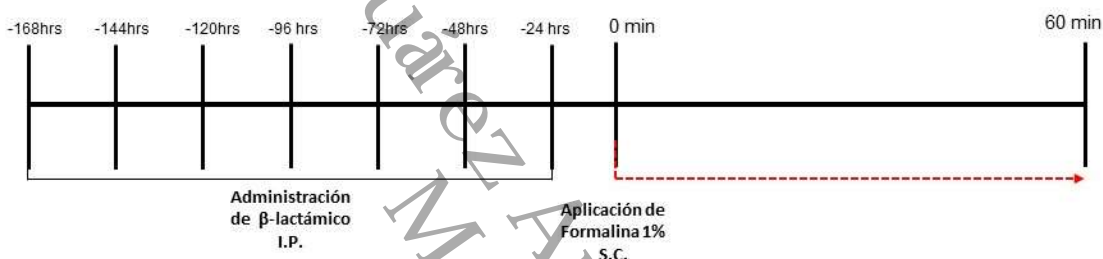




4. CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO CRÓNICO DE CEFTRIAXONA

INTRAPERITONEAL

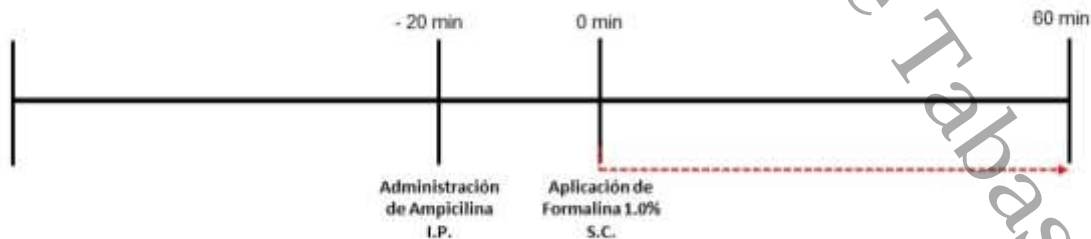
El tratamiento crónico consistió en la administración intraperitoneal cada 24 h del fármaco en las concentraciones antes descritas o vehículo durante 7 días y se evaluó la conducta de sacudidas producida por formalina al día 1, 4 y 8.



5. CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO AGUDO DE AMPICILINA

INTRAPERITONEAL

El tratamiento agudo de ampicilina consistió en administrar las dosis de 100, 200, 400 y 800 mg/kg vía intraperitoneal 20 minutos previos a la evaluación de formalina.



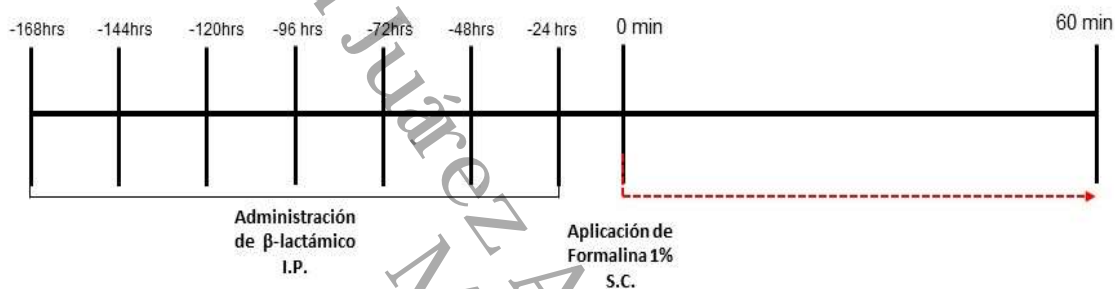


6. CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO CRÓNICO DE AMPICILINA

INTRAPERITONEAL

En este mismo orden de ideas el tratamiento crónico consistió en la administración intraperitoneal de ampicilina o vehículo cada 24 h durante 7 días, la evaluación de la prueba de formalina se realizó al día 1, 4 y 8.

La dosis de ampicilina fue de 100, 200, 400 y 800 mg/kg respectivamente.





ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los resultados experimentales se muestran como medias de 6 animales \pm el error estándar de la media.

Se registró el número de sacudidas durante 1 minuto cada 5 minutos durante 60 minutos. Se construyeron cursos temporales graficando en el eje de las Y el número de sacudidas y en el eje de las X el tiempo. De los cursos temporales se calculó el área bajo la curva (ABC) por método de trapezoide de la fase II de la prueba de formalina, como una expresión de la duración e intensidad del efecto antinociceptivo.

Los datos de ABC de cada rata individual se transformaron a porcentaje (%) de máximo efecto posible con la ecuación siguiente:

$$\% \text{ de antinocicepción} = \frac{(ABC \text{ promedio del control}) - (ABC \text{ individual del tratamiento})}{ABC \text{ promedio del control}} \times 100$$

Las curvas dosis-respuesta se construyeron graficando el ABC en función de la dosis.

Los datos fueron analizados por el análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de la prueba de Bonferroni. Se consideró $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.



RESULTADOS

ESTANDARIZACIÓN DE LA PRUEBA DE FORMALINA

La inyección subcutánea dio como resultado un comportamiento bifásico donde la conducta típica de sacudidas aumentado posterior a la inyección que disminuye rápidamente hasta casi desaparecer al minuto 10 aproximadamente identificada como fase 1 o de respuesta neurogénica que continua con un aumento sostenido hasta alcanzar su pico máximo alrededor de los 30 minutos hasta volverse esporádica o desaparecer asociada a la respuesta inflamatoria (Figura 6).

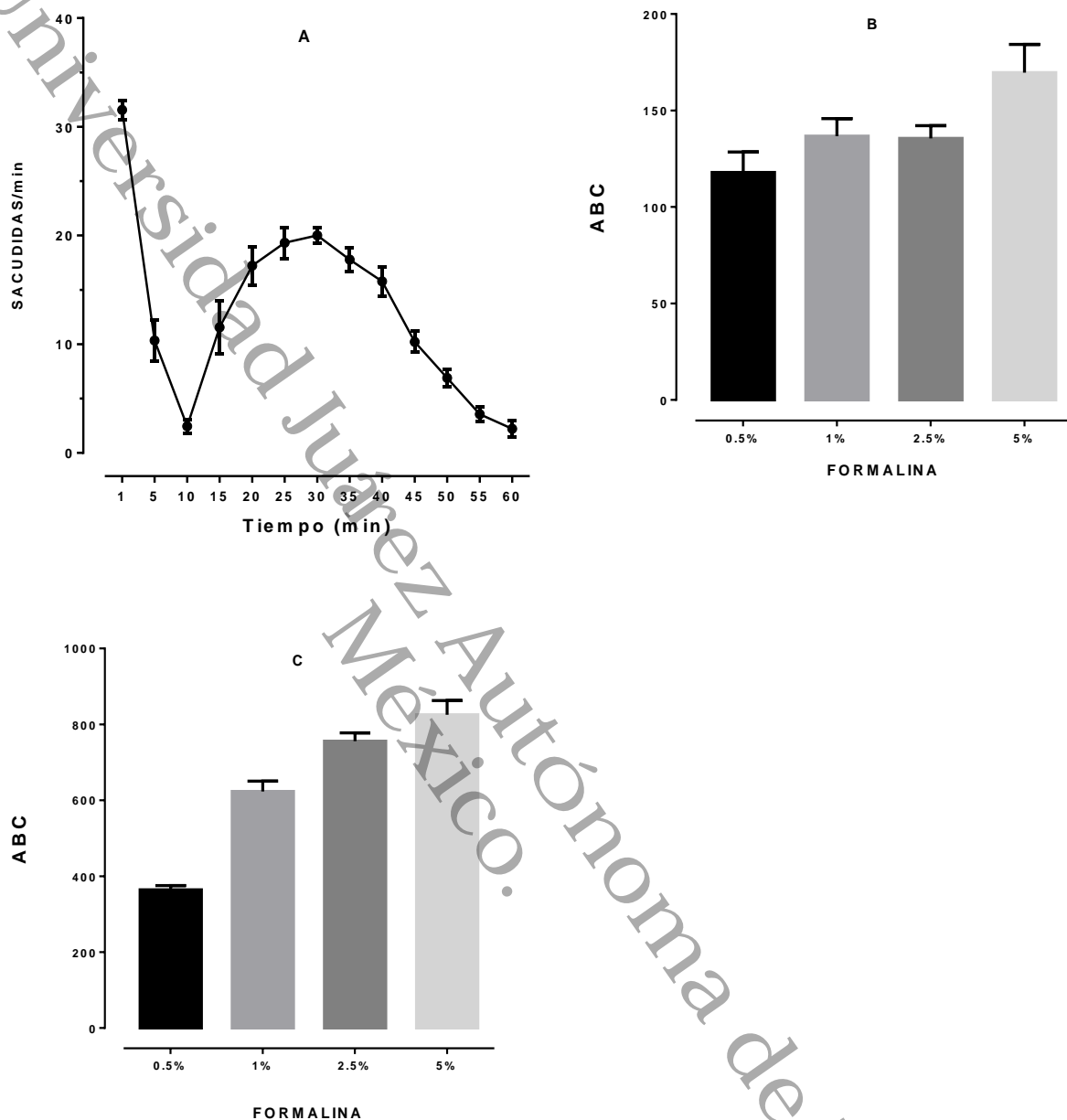


Figura 6. Comportamiento nociceptivo inducido por diferentes concentraciones de formalina (0.5, 1, 2.5 y 5%) en la rata

El panel A muestra el curso temporal formalina 1% que representa el desarrollo de dolor de tipo inflamatorio después de la inyección de formalina. Los paneles B y C corresponden a la fase 1 y 2 del modelo y expresan la curva dosis respuesta (CDR) para la inyección de diferentes concentraciones de formalina. Los datos de la CDR se expresan como área bajo la curva (ABC) el panel B de la fase 1 y el panel C fase 2. Los datos son expresados como la media del número de sacudidas \pm error estándar de 6 animales por grupo.



CURVA DOSIS RESPUESTA DE TRATAMIENTO AGUDO LOCAL DE CEFTRIAXONA

La administración local de ceftriaxona (Dosis 400 y 800 $\mu\text{g/pata}$) redujeron de forma no dependiente de dosis la conducta de sacudidas de la pata un efecto antinociceptivo no dependiente de la dosis (Figura 7).

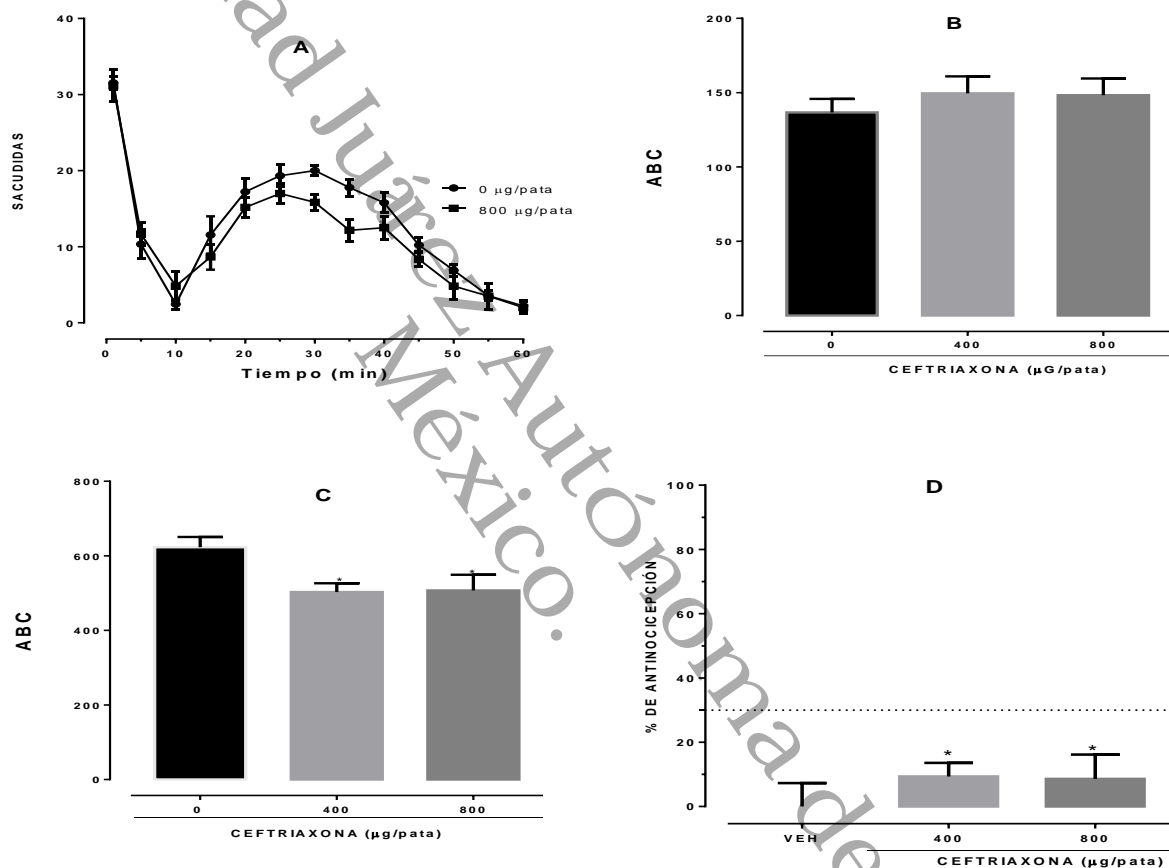


Figura 7. Efecto de la administración local de ceftriaxona sobre la conducta de sacudidas inducida por formalina.

El panel A muestra el comportamiento nociceptivo después de la inyección de formalina al 1% así como el efecto antinociceptivo de la mayor dosis probada de ceftriaxona local ipsilateral. Los paneles B y C representan la CDR de las dos dosis probadas de ceftriaxona local ipsilateral como ABC, (B) de la fase 1 y (C) de la fase 2. En el panel D se expresa el porcentaje de antinocicepción. Todos los puntos graficados se presentan como medias \pm error estándar de seis animales por grupo ($n=6$). * representa las dosis estadísticamente significativo con respecto al grupo control (salina) $p<0.05$ según lo determinado por el análisis de la varianza de una vía seguido por la prueba de Bonferroni.

CURVA DOSIS RESPUESTA DE TRATAMIENTO AGUDO INTRAPERITONEAL DE CEFTRIAXONA

El pretratamiento sistémico de ceftriaxona (Dosis 50, 100, 200 y 400 mg/kg) 20 minutos previos a la inyección de formalina produjo efecto antinociceptivo dependiente de la dosis [Figura 8].

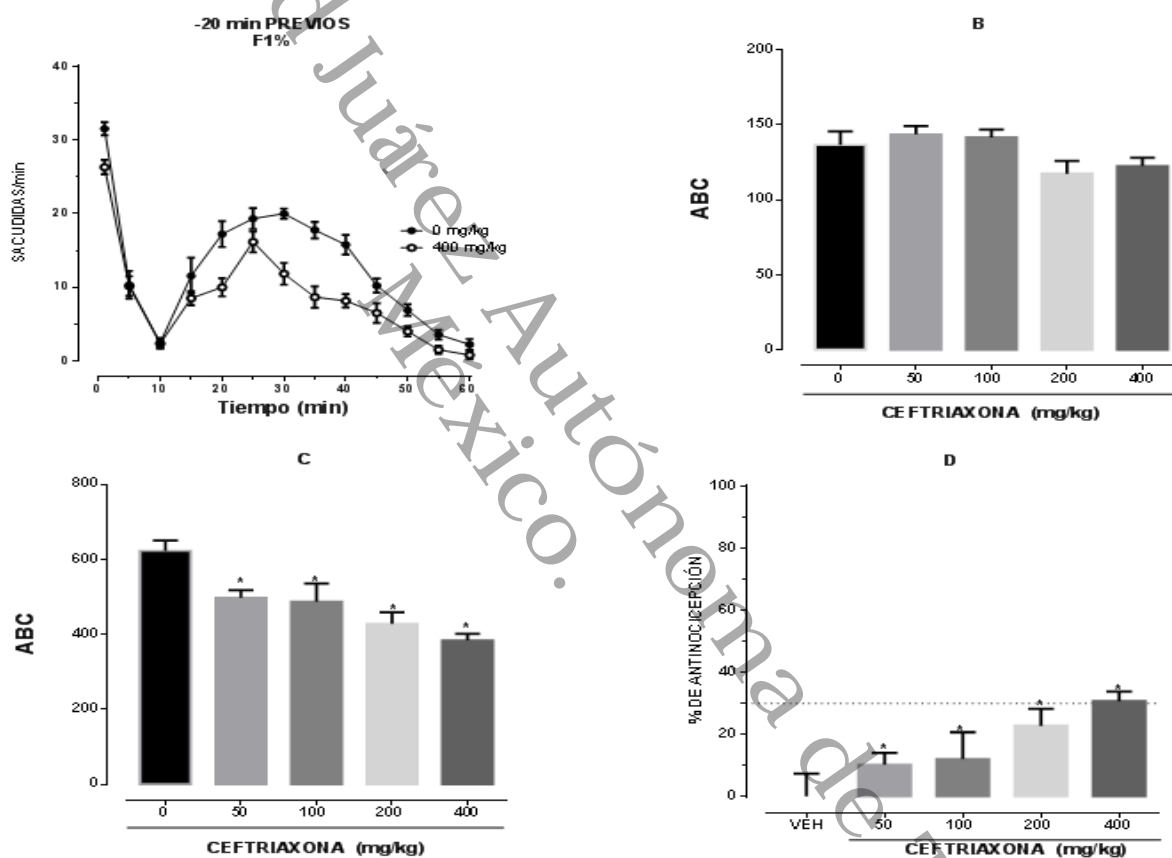


Figura 8. Efecto de la administración sistémica de ceftriaxona sobre la conducta de sacudidas inducida por formalina.

El panel A muestra el comportamiento nociceptivo después de la inyección de formalina al 1% así como el efecto antinociceptivo de la mayor dosis probada de ceftriaxona sistémica (400 mg/kg). Los paneles B y C representan la CDR para la administración de las cuatro dosis probadas de ceftriaxona sistémica, como ABC, (B) de la fase 1 y (C) de la fase 2. En el panel D se expresa el porcentaje de antinocicepción de la ceftriaxona sistémica. Todos los puntos graficados se presentan como medias \pm error estándar de seis animales por grupo ($n=6$). * representa las dosis estadísticamente significativo con respecto al grupo control (salina) $p<0.05$ según lo determinado por el análisis de la varianza de una vía seguido por la prueba de Bonferroni.



CURVA DOSIS RESPUESTA TRATAMIENTO CRÓNICO DE CEFTRIAXONA

INTRAPERITONEAL

El pretratamiento sistémico con ceftriaxona (50, 100, 200 y 400 mg/kg) 24 horas antes de la inyección de formalina produjo efecto antinociceptivo en la fase 2 (Figura 9C). Por el contrario en la fase 1 (Figura 9B) no se modificó la conducta de sacudidas de pata después de la inyección de formalina [Figura 9].

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

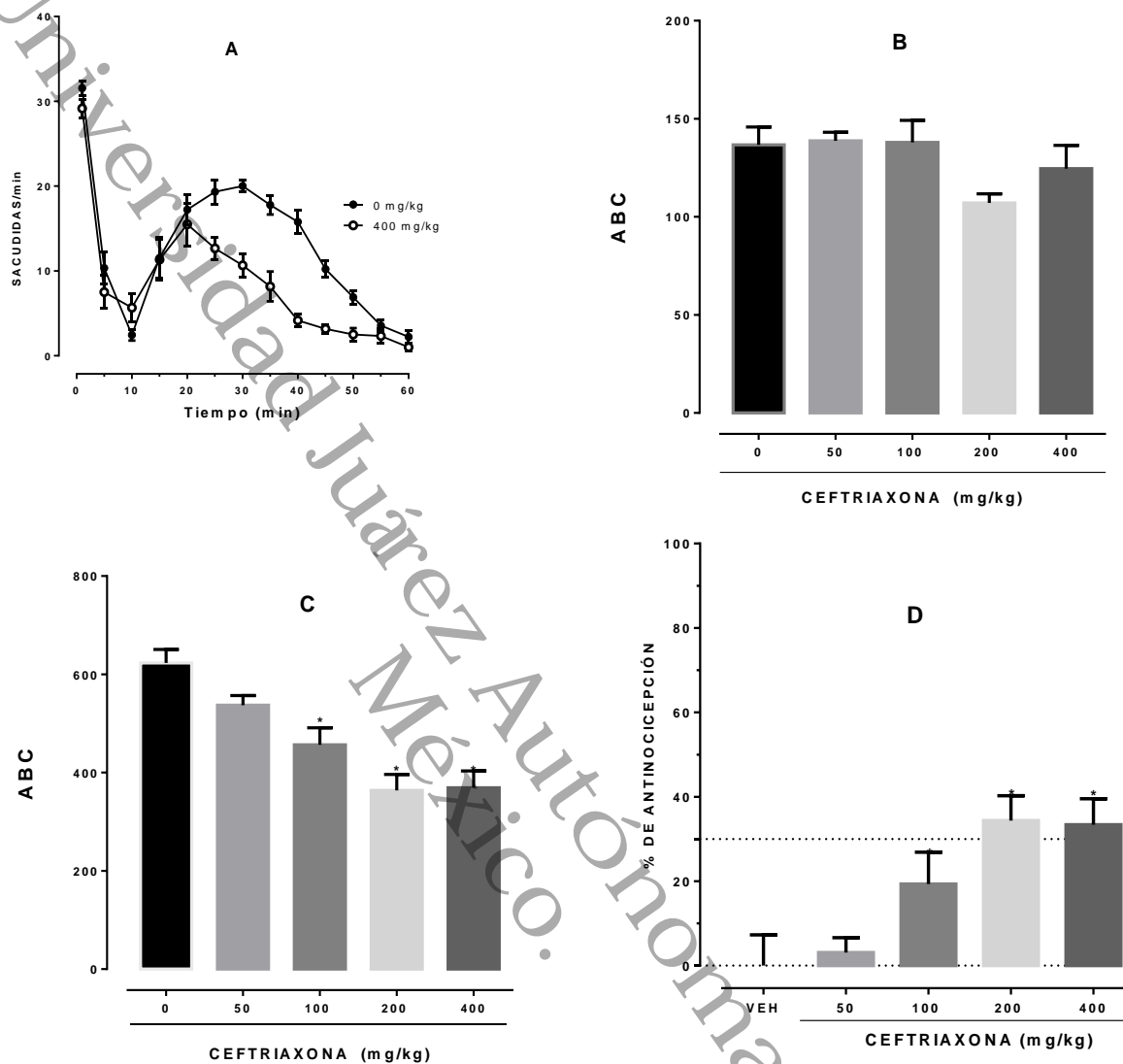


Figura 9. Efecto del pretratamiento con ceftriaxona sobre la conducta de sacudidas inducida por formalina.

El panel A muestra el comportamiento nociceptivo después de la inyección de formalina al 1% así como el efecto antinociceptivo de la mayor dosis probada de ceftriaxona sistémica (400 mg/kg). Los paneles B y C representan la CDR para la administración de las cuatro dosis probadas de ceftriaxona sistémica, como ABC, (B) de la fase 1 y (C) de la fase 2. En el panel D se expresa el porcentaje de antinocicepción de la ceftriaxona sistémica. Todos los puntos graficados se presentan como medias \pm error estándar de seis animales por grupo ($n=6$). * representa las dosis estadísticamente significativo con respecto al grupo control (salina) $p<0.05$ según lo determinado por el análisis de la varianza de una vía seguido por la prueba de Bonferroni.



El pretratamiento sistémico con ceftriaxona (50, 100, 200 y 400 mg/kg) cada 24 horas durante tres días antes de la inyección de formalina produjo efecto antinociceptivo en la fase 2 (Figura 10C). Por el contrario en la fase 1 (Figura 10B) no se modificó la conducta de sacudidas de pata después de la inyección de formalina [Figura 10].

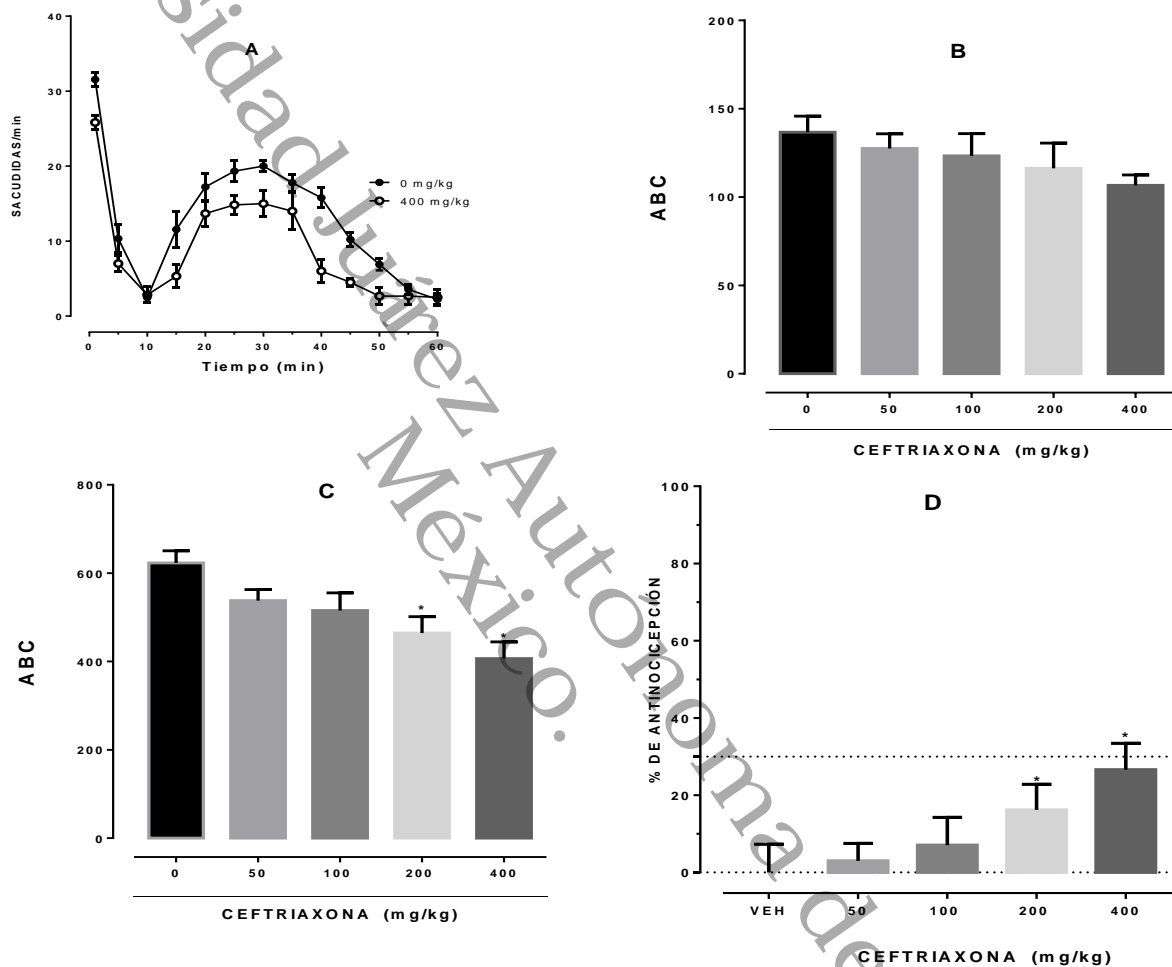


Figura 10. Efecto del pretratamiento de ceftriaxona cada 24 horas por 3 días sobre la conducta de sacudidas de para inducido por formalina.

El panel A muestra el comportamiento nociceptivo después de la inyección de formalina al 1% así como el efecto antinociceptivo del pretratamiento con ceftriaxona (400 mg/kg) cada 24 horas durante 3 días. Los paneles B y C representan la CDR para la administración de las cuatro dosis probadas de ceftriaxona sistémica, como ABC, (B) de la fase 1 y (C) de la fase 2. En el panel D se expresa el porcentaje de antinocicepción de la ceftriaxona sistémica. Todos los puntos graficados se presentan como medias \pm error estándar de seis animales por grupo ($n=6$). * representa las dosis estadísticamente significativo con respecto al grupo control (salina) $p<0.05$ según lo determinado por el análisis de la varianza de una vía seguido por la prueba de Bonferroni.



El pretratamiento sistémico con ceftriaxona (50, 100, 200 y 400 mg/kg) cada 24 horas durante siete días antes de la inyección de formalina produjo efecto antinociceptivo en la fase 2 (Figura 11C). Por el contrario en la fase 1 (Figura 11B) no se modificó la conducta de sacudidas de pata después de la inyección de formalina [Figura 11].

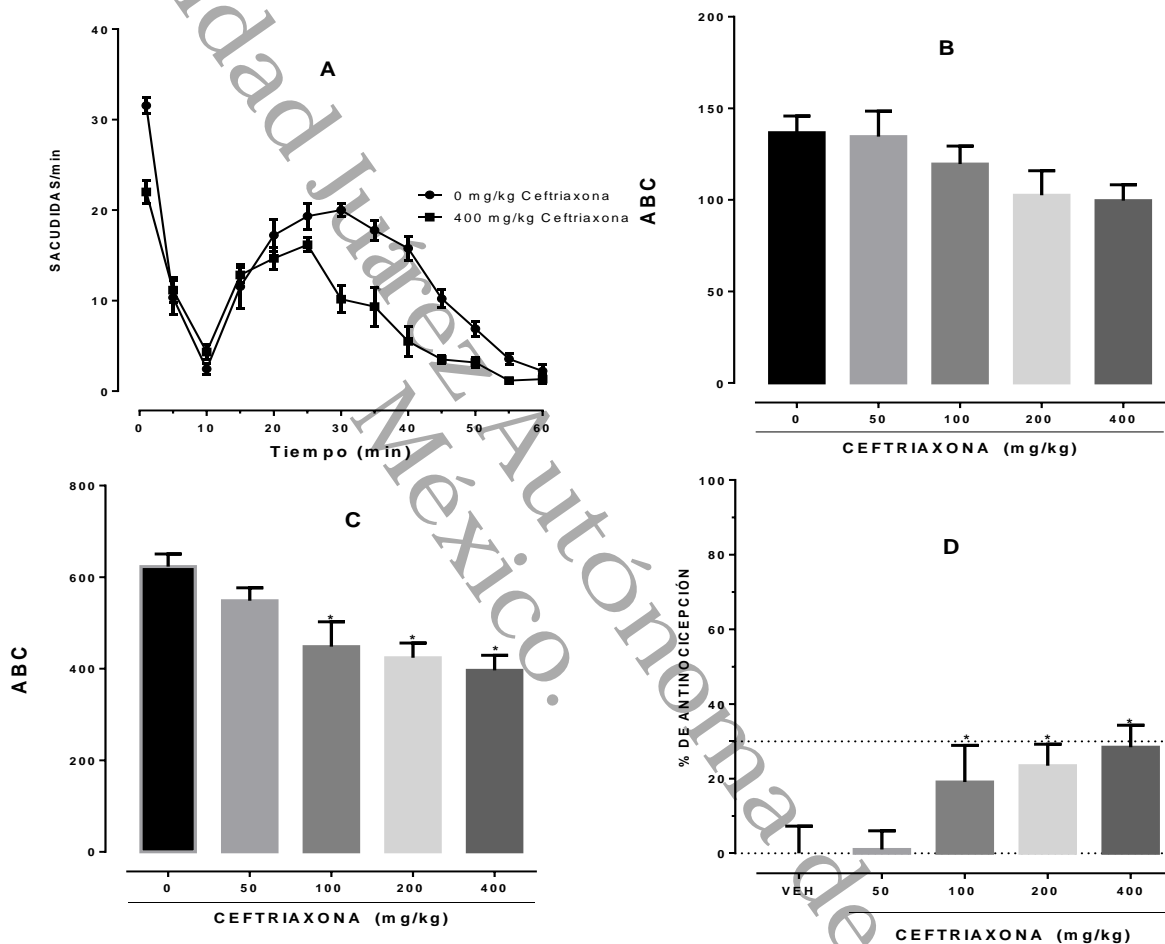


Figura 11. Efecto del pretratamiento de ceftriaxona cada 24 horas por 7 días sobre la conducta de sacudidas de para inducido por formalina.

El panel A muestra el comportamiento nociceptivo después de la inyección de formalina al 1% así como el efecto antinociceptivo del pretratamiento con ceftriaxona (400 mg/kg) cada 24 horas durante 7 días. Los paneles B y C representan la CDR para la administración de las cuatro dosis probadas de ceftriaxona sistémica, como ABC, (B) de la fase 1 y (C) de la fase 2. En el panel D se expresa el porcentaje de antinocicepción de la ceftriaxona sistémica. Todos los puntos graficados se presentan como medias \pm error estándar de seis animales por grupo (n=6). * representa las dosis estadísticamente significativo con respecto al grupo control (salina) $p < 0.05$ según lo determinado por el análisis de la varianza de una vía seguido por la prueba de Bonferroni.



CURVA DOSIS RESPUESTA DE TRATAMIENTO AGUDO INTRAPERITONEAL DE AMPICILINA

El pretratamiento sistémico de ampicilina (100, 200, 400 y 800 mg/kg) 20 minutos previos a la inyección de formalina produjo efecto antinociceptivo dependiente de la dosis [Figura 12].

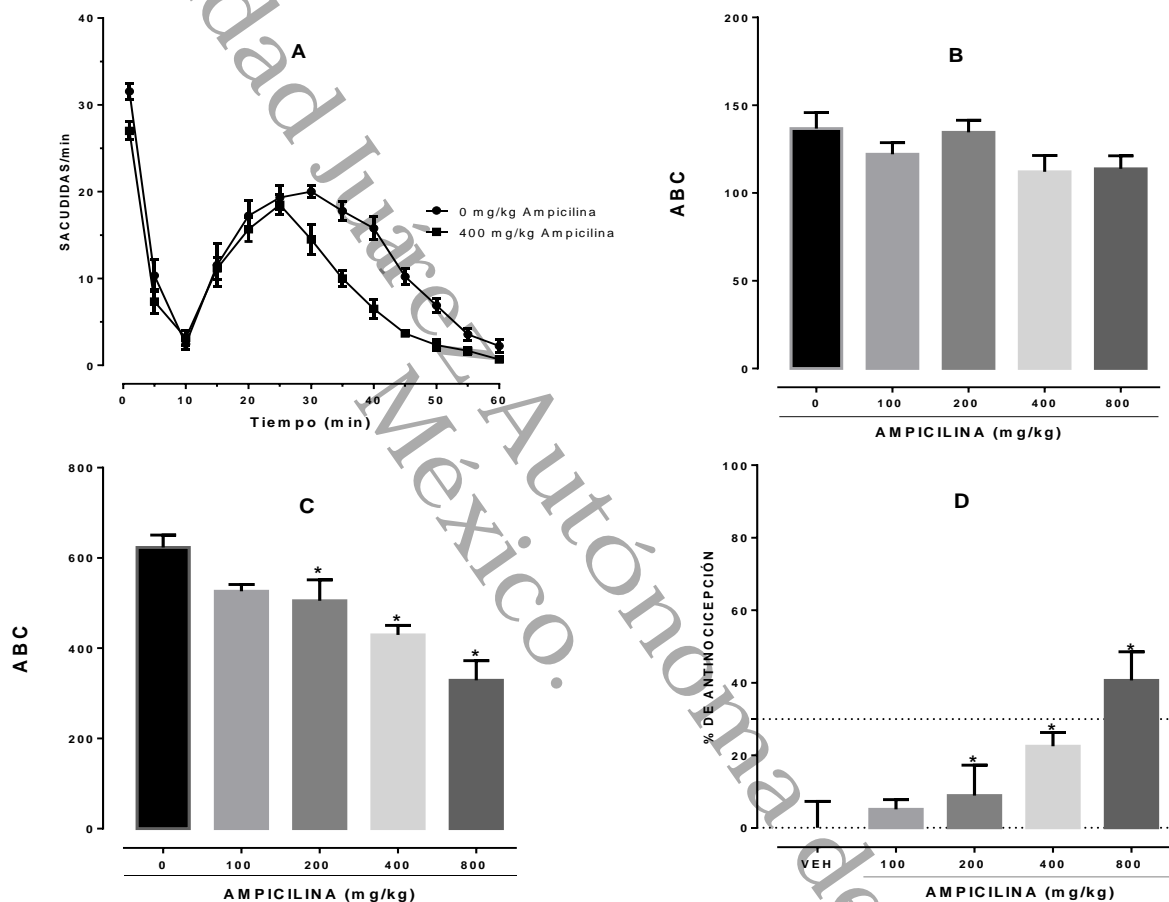


Figura 12. Efecto del pretratamiento con ampicilina sobre la conducta de sacudidas de pata inducido por formalina.

El panel A muestra el comportamiento nociceptivo después de la inyección de formalina al 1% así como el efecto antinociceptivo del pretratamiento con ampicilina (400 mg/kg). Los paneles B y C representan la CDR para la administración de las cuatro dosis probadas de ampicilina sistémica, como ABC, (B) de la fase 1 y (C) de la fase 2. En el panel D se expresa el porcentaje de antinocicepción de la ampicilina sistémica. Todos los puntos graficados se presentan como medias \pm error estándar de seis animales por grupo ($n=6$). * representa las dosis estadísticamente significativo con respecto al grupo control (salina) $p<0.05$ según lo determinado por el análisis de la varianza de una vía seguido por la prueba de Bonferroni

CURVA DOSIS RESPUESTA DEL TRATAMIENTO CRÓNICO CON AMPICILINA

El pretratamiento sistémico de ampicilina (100, 200, 400 y 800 mg/kg) 24 horas previos a la inyección de formalina produjo efecto antinociceptivo dependiente de la dosis en la fase 1 (Fig. 13B) y en la fase 2 (Fig. 13C) del modelo de formalina [Figura 13].

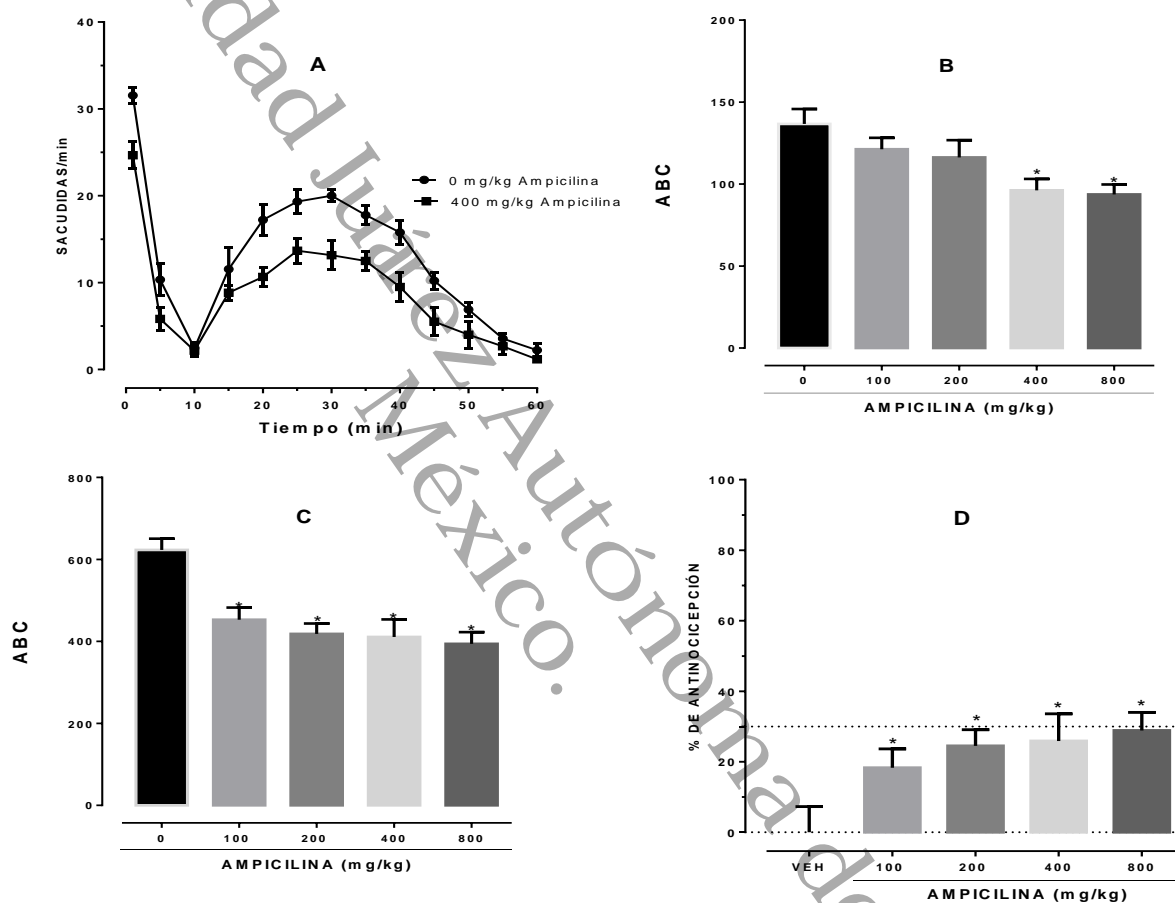


Figura 13. Efecto del pretratamiento con ampicilina cada 24 horas sobre la conducta de sacudidas de pata inducido por formalina.

El panel A muestra el comportamiento nociceptivo después de la inyección de formalina al 1% así como el efecto antinociceptivo del pretratamiento con ampicilina (400 mg/kg) cada 24 horas. Los paneles B y C representan la CDR para la administración de las cuatro dosis probadas de ampicilina sistémica, como ABC, (B) de la fase 1 y (C) de la fase 2. En el panel D se expresa el porcentaje de antinocicepción de la ampicilina sistémica. Todos los puntos graficados se presentan como medias \pm error estándar de seis animales por grupo (n=6). *representa las diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo vehículo (salina) $p < 0.05$ determinado por el análisis de la varianza de una vía seguido por la prueba de Bonferroni.

El pretratamiento sistémico de ampicilina (100, 200, 400 y 800 mg/kg) 24 horas durante 3 días previos a la inyección de formalina tuvo efecto antinociceptivo dependiente de la dosis en la fase 1 (Fig. 14B) y en la fase 2 (Fig. 14C) del modelo de formalina [Figura 14].

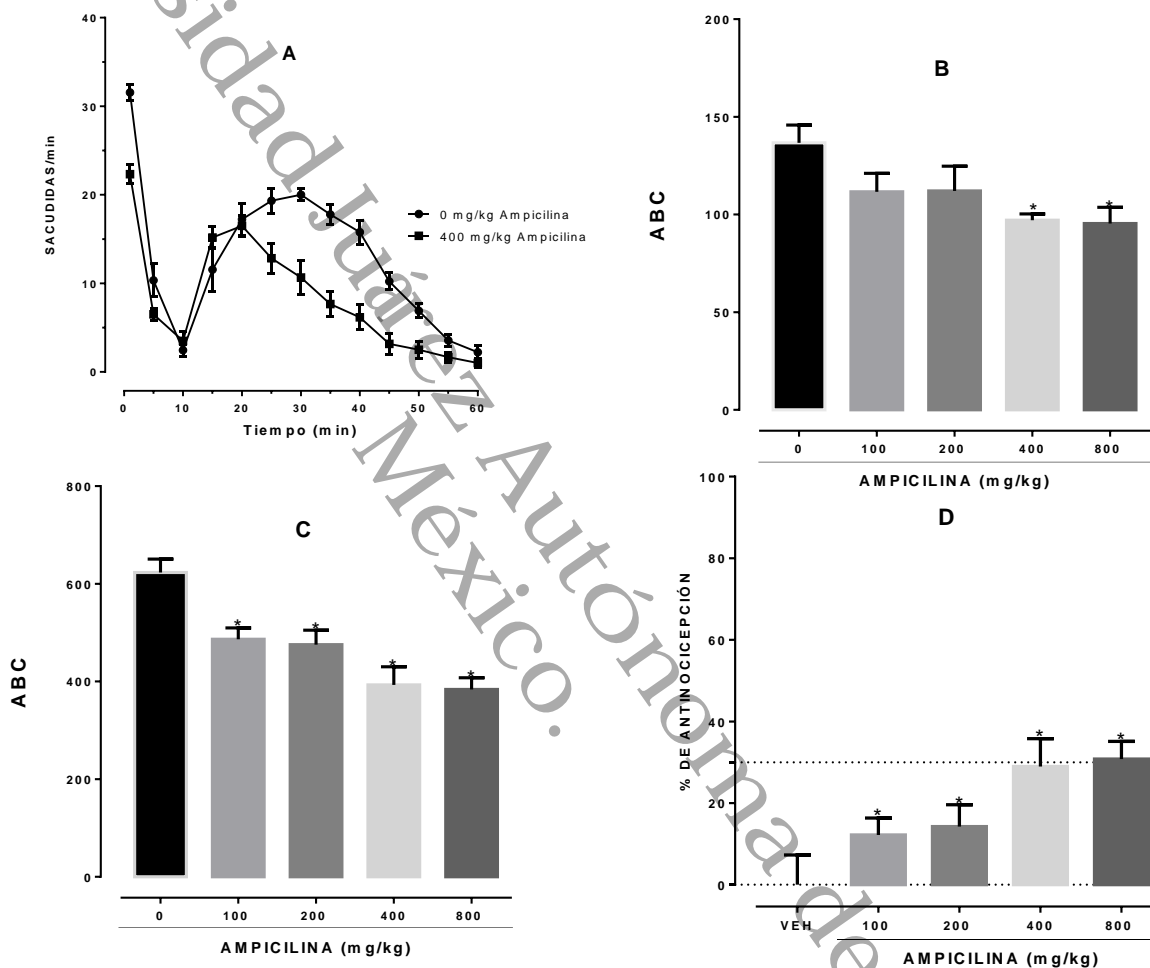


Figura 14. Efecto del pretratamiento con ampicilina cada 24 horas durante 3 días sobre la conducta de sacudidas inducida por formalina.

El panel A muestra el comportamiento nociceptivo después de la inyección de formalina al 1% así como el efecto antinociceptivo del pretratamiento con ampicilina (400 mg/kg) cada 24 horas durante 3 días. Los paneles B y C representan la CDR para la administración de las cuatro dosis probadas de ampicilina sistémica, como ABC, (B) de la fase 1 y (C) de la fase 2. En el panel D se expresa el porcentaje de antinocicepción de la ampicilina sistémica. Todos los puntos graficados se presentan como medias \pm error estándar de seis animales por grupo ($n=6$). * representa las diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo vehículo (salina) $p<0.05$ determinado por el análisis de la varianza de una vía seguido por la prueba de Bonferroni.

El pretratamiento sistémico de ampicilina (100, 200, 400 y 800 mg/kg) 24 horas durante 7 días previos a la inyección de formalina tuvo efecto antinociceptivo dependiente de la dosis en la fase 1 (Fig. 15B) y en la fase 2 (Fig. 15C) del modelo de formalina [Figura 15].

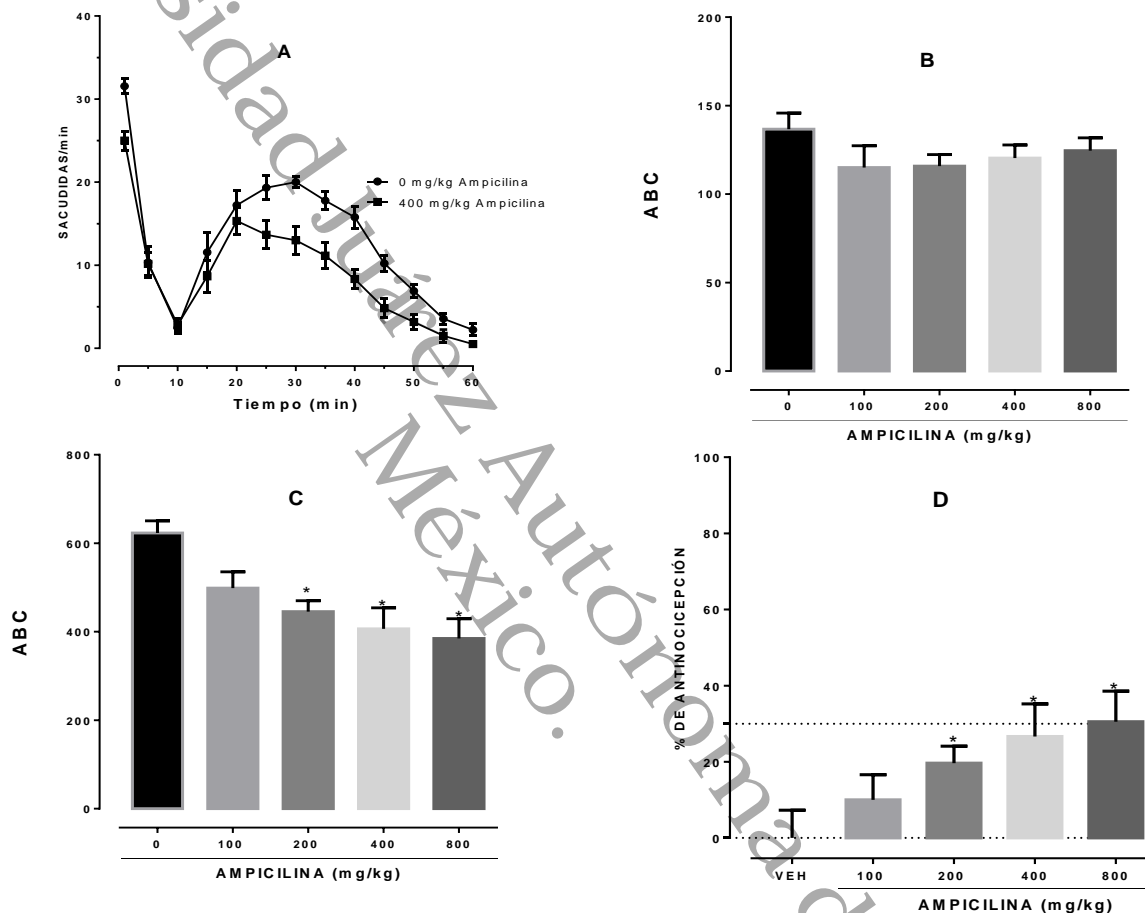


Figura 15. Efecto del pretratamiento con ampicilina cada 24 horas durante 7 días sobre la conducta de sacudidas inducido por formalina

El panel A muestra el comportamiento nociceptivo después de la inyección de formalina al 1% así como el efecto antinociceptivo del pretratamiento con ampicilina (400 mg/kg) cada 24 horas durante 7 días. Los paneles B y C representan la CDR para la administración de las cuatro dosis probadas de ampicilina sistémica, como ABC, (B) de la fase 1 y (C) de la fase 2. En el panel D se expresa el porcentaje de antinocicepción de la ampicilina sistémica. Todos los puntos graficados se presentan como medias \pm error estándar de seis animales por grupo ($n=6$). * representa las diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo vehículo (salina) $p<0.05$ determinado por el análisis de la varianza de una vía seguido por la prueba de Bonferroni.



DISCUSIÓN

La prueba de formalina es utilizada ampliamente para conocer el efecto y mecanismos tanto centrales como periféricos de los analgésicos implicados en el dolor agudo de tipo inflamatorio en la rata (Tjølsen y cols., 1992; Roca y cols., 2018).

El modelo experimental utilizado para obtener la evidencia farmacológica del transportador de glutamato GLT-1 fue desarrollado en ratas hembra ya que está descrito que la formalina y la ligadura de nervio espinal produce el mismo patrón en ratas macho y hembra (Caram y cols., 2007; Cervantes y cols., 2016).

Esta investigación se realizó para determinar el efecto de los betalactámicos ceftriaxona y ampicilina en la conducta de sacudidas de pata inducido por formalina y se demostró que la respuesta se reduce de forma dependiente de dosis.

Los sistemas glutamatérgicos periféricos desempeñan un papel significativo en el dolor de tipo inflamatorio. En los modelos de carragenina, formalina y capsaicina se demostró que hay aumento de receptores de tipo ionotrópicos y liberación de glutamato en tejido de pata de rata mostrando mayor sensibilidad al glutamato local contribuyendo a la aparición de hiperalgesia y alodinia (Carlton y Coggeshal, 1999).

La inyección de formalina aumenta el nivel de glutamato libre en la periferia de lado ipsilateral (Omote, Kawamata, Kawamata y cols., 1998) y permanece aumentado durante ~3 horas, asociado a la lesión cutánea y a la activación de receptores de tipo TRPA1.

Las implicaciones del tratamiento con ceftriaxona proporcionan una amplia gama de aspectos para discutir. Los antibióticos betalactámicos constituyen el grupo más grande



de fármacos utilizados para tratar infecciones para una amplia variedad de espectros antibacterianos. La Ceftriaxona es un antibiótico ampliamente utilizado para infecciones bacterianas y meningitis y hasta el momento no se han descrito efectos tóxicos sustanciales en el sistema nervioso central a dosis antibacterianas normales, además ha demostrado que reduce efectivamente la concentración de glutamato extracelular a dosis de 200 mg/kg (Rasmussen, Baron, Kim y cols., 2009).

La ampicilina es otro antibiótico betalactámico usado ampliamente en el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos gram-positivos y gram-negativos, su vida media de 1.7 ± 0.3 h, la eficacia en la profilaxis quirúrgica (Assawapalangool, Kasatpibal, Sirichotiyakul y cols., 2018), además, estimula la expresión y función del transportador GLT-1 (Rothstein y cols., 2005) y reduce el daño neuronal después de la isquemia transitoria de forma dependiente de dosis (Lee, Kim, Cho y cols., 2008).

Varias líneas de evidencia sugieren que reducir el glutamato extracelular a través de la sobreexpresión del transportador EAAT2/GLT-1 es un enfoque innovador para el tratamiento de patologías del SNC (Yang, Roman, Chen, y cols., 2011).

No se conoce el comportamiento del transportador GLT-1 en el modelo de dolor inflamatorio con formalina, sin embargo, la administración local de ceftriaxona 20 minutos previos a la administración de formalina revirtió moderadamente el comportamiento sacudidas de la pata en la fase 2 del modelo de formalina, y con respuesta antinociceptiva evidente en la administración intraperitoneal aguda y crónica lo que demuestra la importancia de esta línea de investigación asociada a los fármacos que sobre estimulan la inducción del transportador GLT-1.



En el modelo de constricción crónica de nervio reduce la expresión de GLT-1 en un 50% aproximadamente (Ramos, Lewis, Morgan y cols., 2011) que condiciona a la aparición exagerada a estímulos no nocivos (Woolf y Mannion, 1999), no obstante, la administración intraperitoneal de dosis repetidas de CEF durante 7 días en un tiene un efecto protector (Hajhashemi, Hosseinzadeh y Amín, 2012), e intratecal diaria durante 20 días atenúan de manera significativa la alodinia trasera en ratas.

Estudios recientes indican que el antibiótico CEF y el adyuvante ácido clavulánico (CA) muestran efecto antialodínico y antiinflamatorio 24 horas después de la administración (Ochoa, Ventura, Sotomayor y Cols. 2018). La CEF disminuye la sensibilidad conductual x regulación negativa de GFAP y regulación positiva de GLT-1 (Nicholson, Gilliland y Winkelstein, 2013) Además los reportes revelan que CEF y CA tienen la capacidad de modular las concentraciones séricas de TNF- α (Amin, Hajhashemi, Hosseinzadeh y Cols. 2012; Ochoa, Ventura, Sotomayor y Cols. 2018).

El CA disminuye el número de contracciones abdominales inducidas por ácido acético en el ratón, también disminuye el número de lamidas de pata en la fase 1 y 2 del modelo de formalina, mostrando un efecto similar o menor 40 mg/kg de CA versus 10 mg/kg de morfina (Hashashemi y Dehdashti, 2014).

Además la inyección intraperitoneal cada 24 horas de CEF o subcutánea 2 veces al día durante 10 días de CA tienen el potencial de revertir la alodinia e hiperalgesia en ratas (Kristensen, Gegelasvilli, Heegaard y Cols., 2017).



La actividad protectora de la CEF también se reportó en un modelo de nocicepción visceral disminuye en cerca del 70% la respuesta visceromotora (Roman, Yang y Stephens, 2013) sin embargo, altera de manera significativa la cantidad de lactobacilos sin ocasionar efectos motores negativos en la rata (Lin, Roman, Foust, y Cols. 2011).

Entre otros beneficios de los antibióticos betalactámicos se ha reportado que CEF tiene el potencial para tratar la neurodegeneración y la demencia (Weng, Tikhonova, Chen y Cols. 2016), En el modelo de isquemia Chu. y colaboradores en el 2007 describieron que la expresión del ARNm GLT-1 y de la proteína GLT-1 alcanzan los puntos máximos a los 3 y a los 5 días respectivamente después de la administración de ceftriaxona (Chu, Lee, Sinn y Cols. 2007).

También la administración continua de 200 mg de ceftriaxona produce efecto antialodínico 24 horas después de la administración, en el análisis de citocinas proinflamatorias se identificó un descenso significativo a las 3 horas de admistración en la concentración de TNF- α en suero, pero no de IL-10 (Ochoa, Ventura, Sotomayor y Cols. 2018).

También hay datos que demuestran que la administración en dosis repetidas durante 7 días de ceftriaxona muestra efectos antialodínicos y antiinflamatorios en un modelo de constricción crónica de nervio en la rata (Hajhashemi, Hosseinzadeh y Amín, 2012).Rawls y colaboradores en el 2011, definieron que las dosis bajas de ceftriaxona alcanzan efecto antinociceptivo en las pruebas realizadas a ratas en un modelo de tolerancia a morfina por ello la indicación es que se respete la dosis máxima para alcanzar efecto antibiótico en humanos de 2mg/día para evitar reacciones adversas



(Rawls, Zielinski, Patel y Cols 2011). Dado que el fármaco se ha usado con seguridad durante mucho tiempo, la farmacocinética de CTX y su patrón de reacciones adversas son universalmente conocidas, cruza fácilmente la barrera hematoencefálica.

Lin y colaboradores han demostrado que el tratamiento prolongado con ceftriaxona la cantidad de lactobacilos pero no altera la función motora en ratas visceral (Lin, Roman, Foust y Cols. 2011). En un modelo de EP en rata se demostró que la ceftriaxona mejora la cognición y la expresión de GLT-1 48 horas después del inicio del tratamiento (Hsu, Hung, Chang y Cols. 2015).

Hay evidencia que la dosis usual de 1 a 2 g en humanos es menor que la utilizada en los estudios pero a la mitad de la concentración se incrementa la expresión del transportador. La participación del transportador GLT-1 es importante para incrementar la antinocicepción y antialodinia sin embargo los estudios publicados siguen pareciendo inconsistentes, existe controversia de acuerdo al tiempo de duración del aumento en la expresión por fármacos inductores ya que no se conoce con precisión el mecanismo de regulación transcripcional del transportador GLT-1. Ramos y colaboradores indican que 7 días después de la última administración de ceftriaxona no había diferencia en la expresión de la proteína GLT-1 entre el inductor y el control (Ramos, Lewis, Morgan y Cols., 2011) en contraste Rasmussen y cols. Muestran que los niveles de glutamato extracelular se mantuvieron disminuidos 20 días después que se suprimió la exposición al fármaco inductor (Rasmussen, Baron, Kim y Cols. 2009).



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con base en los objetivos propuestos se concluye:

1. La administración periférica de ceftriaxona reduce de forma no dependiente de la dosis la conducta de sacudidas de la pata.
2. La administración intraperitoneal de ceftriaxona y ampicilina agudo produjeron efecto antinociceptivo significativo lo que sugiere que mejora la función del transportador GLT-1 durante el desarrollo de la inflamación producida por formalina.
3. La administración intraperitoneal de ceftriaxona y ampicilina crónico mostró efecto antinociceptivo significativo lo que sugiere la inducción de la expresión del transportador GLT-1.

Como recomendación se considera que se deben de realizar estudios moleculares que contribuyan con la evidencia farmacológica sobre el efecto de los betalactámicos sobre la inducción del transportados GLT-1 en la rata.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Assawapalangool S., Kasatpibal N., Sirichotiyakul S., Arora R., Suntornlimsiri W., Apisarnthanarak A. (2018). The efficacy of ampicillin compared with ceftriaxone on preventing cesarean surgical site infections: an observational prospective cohort study. *Antimicrobial resistance & infection control*, 7(13). Recuperado de: <https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-018-0304-6>
- Basbaum A. I., Bauista D. M., Scherrer G., Julius D. (2009). Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. *Cell*, 139(2), 267-284. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2852643/pdf/nihms155644.pdf>
- Beart P.M., O'Shea R. D. (2007). Transporters for L-glutamate: an update on their molecular pharmacology and pathological involvement. *British Journal of Pharmacology*, 150(1), 5-17. Recuperado de: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/sj.bjp.0706949>
- Caram-Salas NL., Reyes-García G., Bartoszyk GD., Araiza-Saldaña Cl., Ambriz-Tututi M., Rocha-González Hl., Arreola-Espino R., Cruz SL., Granados-Soto V. (2007). Subcutaneous, intrathecal and periaqueductal grey administration of asimadoline and ICI-204448 reduces tactile allodynia in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 573(1), 75-83. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299907007455>
- Carlton SM. (2001). Peripheral excitatory amino acids. *Current opinion in pharmacology*, 1(1), 52-56. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471489201000029#BIB40>



- Carlton SM., Coggeshall RE. (1999). Inflammation-induced changes in peripheral glutamate receptor populations. *Brainresearch*, 820(1-2), 63-70. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899398013286>
- Cervantes-Durán C., Vidal-Cantú GC., Godínez-Chaparro B., Granados-Soto V. (2016). Role of spinal 5-HT₂ receptors subtypes in formalin-induced long-lasting hypersensitivity. *Pharmacologicalreports*,68(2), 434-442. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1734114015003576>
- Chen L., Yang G., Grosser T. (2013). Prostanoids and inflammatory pain. *Prostaglandins& other lipid mediators*,104-105, 58-66. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1098882312001165>
- Chiang Y., Sessle J., Dostrovsky O. (2012). Role of astrocytes in pain. *NeurochemicalResearch*, 37(11), 2419-2431. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22638776>
- Christoph T., ReiBmüller E., Schiene K., Englberger W., Chiz B. (2005).Antiallodynic effects of NMDA glycineB antagonists in neuropathic pain: Possible peripheral mechanisms. *BrainResearch*, 1048(1-2), 218-227. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899305006888>
- Chu K., Lee ST., Sinn SI., Ko SY., Kim EH., Kim JM, Kim SJ., Park DK., Jung KH., Song EC., Lee SK., Kim M., Roh JK. (2007). Pharmacological induction of ischemic tolerance by glutamate transporter-1 (EAAT2) upregulation. *Stroke*,38, 177-182. Recuperado de: <http://stroke.ahajournals.org/content/38/1/177.long>



- Cole E. B. (2002). Pain Management: Classifying, Understanding, and Treating Pain. *Hospital physician*, 38(6), 23-30. Recuperado de: http://seminmedpract.com/pdf/hp_jun02_pain.pdf
- Costigan M., Woolf C. J. (2000). Pain: Molecular mechanisms. *The Journal of Pain*, 1(3), 35-44. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1526590000280413>
- Danbolt NC. (2001). Glutamate uptake. *Progress in neurobiology*, 65(1), 1-105. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301008200000678>
- Du J., Zhou S., Coggeshall RE., Carlton SM. (2003). *N-methyl-D-aspartate*-induced excitation and sensitization of normal and inflamed nociceptors. *Neuroscience*, 118(2), 547-562. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452203000095#bBIB47>
- Dubin A. E., Patapoutain A. (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest*, 20(11), 3760-3772. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2964977/>
- Durnet Richardson J., Vasko M. (2002). Cellular Mechanism of Neurogenic Inflammation. *Perspectives in Pharmacology*, 302(3), 839-845. Recuperado de: <http://jpet.aspetjournals.org/content/302/3/839>
- Ellison DL. (2017). Physiology of pain. *Crit Care Nurs Clin N Am*.
- Fontana AC: (2015). Current approaches to enhance glutamate transporter function and expression. *Journal of Neurochemistry*, 134(6), 982-1007. Recuperado de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jnc.13200>



- Fonnum F. (1984). Glutamate: A neurotransmitter in mammalian brain. *Journal of neurochemistry*, 42(1), 1-11.
- Fundyus ME. (2001). Glutamate receptors and nociception. *CNS Drugs*, 25(1), 29-58.
Recuperado de: <https://link.springer.com/article/10.2165/00023210-200115010-00004>
- Gegelashvili G., Bjerrum O. J. (2014). High-affinity glutamate transporters in chronic pain: an emerging therapeutic target. *Journal of Neurochemistry*, 131(6), 712-730.
Recuperado de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jnc.12957>
- Gegelashvili G., Schousboe A. (1997). High affinity glutamate transporters: Regulation of expression and activity. *Molecular Pharmacology*, 52(1), 6-15. Recuperado de: <http://molpharm.aspetjournals.org/content/52/1/6.long>
- Genever PG., Maxfield SJ., Skerry TM., Kennovin GD., Maltman J., Bowgen CJ., Rxworthy MJ. (1999). Evidence for a novel glutamate-mediated signaling pathway in keratinocytes. *Journal of Investigative dermatology*, 112(3), 337-342.
Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15404233>
- Gunduz O., Oltulu C., Buldum D., Guven R., Ulugol A. (2011). Anti-allodynic and anti-hyperalgesic effect of ceftriaxone in streptozotocin-induced diabetic rats. *NeurosciLett*, 491(1), 23-25. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21211547>
- Ji R.R., Kohno T., Moore K. A., Woolf C.J. (2003). Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanism?. *Trends in neurosciences*, (26)12,



- 696-705. Recuperado de:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166223603003370#BIB104>
- Jun-Ming Z., Jianxiong A. (2007). Cytokines, Inflammation and Pain. *IntAnesthesiolClin*,45(2), 27-37. Recuperado de:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2785020/>
- Hajhashemi V., Hosseinzadeh H., Amin B. (2013). Antiallodynia and antihyperalgesia effects of ceftriaxone in treatment of chronic neuropathic pain in rats. *Acta neuropsychiatrica*, 25(1), 27-32. Recuperado de:
<https://www.cambridge.org/core/journals/acta-neuropsychiatrica/article/antiallodynia-and-antihyperalgesia-effects-of-ceftriaxone-in-treatment-of-chronic-neuropathic-pain-in-rats/463C65B6FA9C7A1152222A7B6111D80D>
- Hsu CY., Hung CS., Chang HM., Liao WC., Ho SC., Ho YJ. (2015). Ceftriaxone prevents and reverses behavioral and neuronal deficits in an MPTP-induced animal model of Parkinson's disease dementia. *Neuropharmacology*,91, 43-56. Recuperado de:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390814004390?via%3Dihub>
- Kidd B. L., Urban A. (2001). Mechanisms of inflammatory pain. *British Journal of Anesthesia*,87(1), 3-11. Recuperado de:
<https://academic.oup.com/bja/article/87/1/3/304226>
- Kim K., Lee S. G., Kegelman T. P., Su Z.Z., Das S. S., Dash R., Dasgupta S., Barral P., Hedvar M., Diaz P., Reed J., Stebbins J., Pellicchia M., Sarkar D., Fisher P. (2011). Role of excitatory amino acid transporter-2 (EAAT2) and glutamate in



- neurodegeneration: Opportunities for developing novel therapeutics. *Journal of cellular Physiology*, 226(10), 2484-2494. Recuperado de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.22609>
- Kyung-Eon L., Seul-Ki K., Kyung-Ok C., Seong-Yun K., Pre-ischemic treatment with ampicillin reduces neuronal damage in the mouse hippocampus and neostriatum after transient forebrain ischemia. *Korean J PhysiolPharmacol*, 12, 287-291. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2788649/pdf/kjpp-12-287.pdf>
- Lin Y., Roman K., Foust KD., Kaspar BK., Bailey MT., Stephens RL. (2011). Glutamate transporter GLT-1 upregulation attenuates visceral nociception and hyperalgesia via spinal mechanisms not related to anti-inflammatory or probiotic effects. *Pain Res Treat*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3246297/>
- Linley JE., Rose K., Ooi L., Gamper N. (2010) Understanding inflammatory pain: ion channels contributing to acute and chronic nociception. *Pflugers Arch. European Journal of Physiology*, 459(5), 657-669. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20162302>
- Loeser J.D., Treede R.D. (2008). The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. *Pain*, 137(3), 473-477. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18583048>
- Maeda S., Kawamoto A., Yatani Y., Shirakawa H., Nakagawa T., Kaneko S. (2008). Gene transfer of GLT-1, a glial glutamate transporter, into the spinal cord by



- recombinant adenovirus attenuates inflammatory and neuropathic pain in rats. *Molecular Pain*,4(65). Recuperado de:
- Macaluso A., Bernabucci M., Trabucco A., Ciolli L.,Troisi F., Baldini R., Gradini R., Battaglia., Nicoletti F., Collini S. (2013). Analgesic effect of a single preoperative dose of antibiotic ceftriaxone in humans. *Journal of pain*,14(6), 604-612. Recuperado de: [https://www.jpain.org/article/S1526-5900\(13\)00813-4/abstract](https://www.jpain.org/article/S1526-5900(13)00813-4/abstract)
- Meeks NM., Glass JS., & Carroll BT. (2015). Acute pain management in dermatology. Mechanism and pathways. *Journal of the American Academy of Dermatology*,74(4), 533-540. Recuperado de: [https://www.jaad.org/article/S0190-9622\(15\)01623-0/fulltext](https://www.jaad.org/article/S0190-9622(15)01623-0/fulltext)
- Meyer R., Ringkamp M., Campbell JN., Raja Sn. (2007). Mecanismos periféricos de la nocicepción cutánea. Tratado del dolor. Edición en español. Elsevier.
- Millan M.J. (1999). The induction of pain: an integrative review. *Progress in Neurobiology*,57(1), 1-164. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9987804>
- Miller KE., Hoffman EM., Sutharshan M., Schechter R. (2011). Glutamate pharmacology and metabolism in peripheral primary afferents: Physiological and pathophysiological mechanism. *Pharmacology&Therapeutics*,130(3), 283-309. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725811000222#bb1020>
- Moreno C. Prada D. (2004). Fisiopatología del dolor clínico. *Asociación Médica Colombiana*. Recuperado de: <http://files.sld.cu/anestesiologia/files/2012/09/fisiopatologia-dolor-cronico.pdf>



- Neugebauer V. (2001). Peripheral metabotropic glutamate receptors: fight the pain where it hurts. *Trends in Neurosciences*, 24(10), 550-552. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166223600020075>
- Niciu MJ., Kelmendi B., Sanacora G. (2012). Overview of glutamatergic neurotransmission in the nervous system. *PharmacolBiochemBehav*, 100(4), 656-664. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21889952>
- Ochoa-Aguilar A., Ventura-Martínez R. Sotomayor-Sobrinó MA., Jaimez RC., Jiménez-González A., Balcazar-Ochoa LG., Pérez-Medina-Carballo R., Rodríguez R., Plancarte-Sánchez R. (2018). Ceftriaxone and clavulanic acid induce antiallodynia and anti-inflammatory effects in rats using the carrageenan model. *Journal of Pain Research*, 11, 977-985. Recuperado de: <https://www.dovepress.com/ceftriaxone-and-clavulanic-acid-induce-antiallodynia-and-anti-inflamma-peer-reviewed-fulltext-article-JPR#F1>
- Omote K., Kawamata T., Kawamata M., Namiki A. (1998). Formalin-induced release of excitatory amino acids in the skin of the rat hindpaw. *BrainResearch*, 787(1), 161-164. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899397015680>
- OMS (2012). Guidelines on the Pharmacological Treatment of Persisting Pain in Children with Medical Illnesses. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138356/>
- Perena M.J., Perena M. F., Rodrigo-Royo M. D., Romera E. (2000). Neuroanatomía del dolor. *Rev Soc. Esp. Dolor*, 7(sup2), 5-10. Recuperado de: http://revista.sedolor.es/pdf/2000_10_03.pdf



Petrenko AB., Yamakura T., Baba H., Shimoji K. (2003). The role of *N-Metyl-d-Aspartate* (NMDA) receptors in pain: A Review. *Anesthesia& Analgesia*, 97(4), 1108-1116.

Recuperado de: https://journals.lww.com/anesthesia-analgesia/Fulltext/2003/10000/The_Role_of_N_Methyl_d_Aspartate__NMDA__Receptors.35.aspx

Ramos KM., Lewis MT., Morgan KN., Crysedale NY., Kroll JL., Taylor FR., Harrison JA., Sloane EM., Maier SF., Watkins LR. (2011). Spinal upregulation of glutamate transporter GLT-1 by ceftriaxone: therapeutic efficacy in a range of experimental nervous system disorders. *Neuroscience*, 169(4), 1888-1900. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2918694/>

Rasmussen BA., Baron DA., Kim JK., Unterwald EM. β -lactam antibiotic produces a sustained reduction in extracellular glutamate in the nucleus accumbens of rats. *Amino Acids*, 40(2), 761-764. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2988910/>

Rawls SM., Tallarida R., Robinson W., Amin M. (2007). The beta-lactam antibiotic, ceftriaxone, attenuates morphine-evoked hyperthermia in rats. *British Journal of Pharmacology*, 151(7), 1095-1102. Recuperado de: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/sj.bjp.0707309>

Rawls SM. Zielinski M., Patel H., Sacavage S., Baron DA., Patel D. (2011). Beta-lactam antibiotic reduces morphine analgesic tolerance in rats through GLT-1 transporter activation. *Drug Alcohol Dependence*. 1(107)261-263. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2921944/>



- Roca-Vinaldell A., Berrecoso E., Llorca-Torralba M., García-partida JA., Gibert-Rahola J., Mico JA. (2018). Involvement of 5-HT_{1a/1B} receptors in the antinociceptive effect of paracetamol in the formalin test. *Neurobiology of pain*, 3(2018), 15-21. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452073X17300260>
- Rothstein JD., Patel A., Regan MR., Haenggeli C., Huang YH., Bergles DE., et al. (2005). Beta-lactam antibiotics offer neuroprotection by increasing glutamate transporter expression. *Nature*, 433(7201), 73-77.
- Sevostianova N., Danysz W. (2006). Analgesic effects of mGlu1 and mGlu5 receptor antagonists in the rat formalin test. *Neuropharmacology*, 51(3), 623-630. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390806001298>
- Shimamoto K. (2008). Glutamate transporter blockers for elucidation of the function of excitatory neurotransmission systems. *The chemical record*, 8(3), 182-199. Recuperado de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/tcr.20145>
- Skerry TM., Genever PG. (2001). Glutamate signalling in non-neuronal tissues. *Trends in Pharmacological Sciences*, 22(4), 174-181. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165614700016424#BIB31>
- Spencer S., Kalivas PW. (2017). Glutamate transport: A new bench to beside mechanism for treating drug abuse. *Int J Neuropsychopharmacol*, 20(10), 797-812. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5632313/>
- Steeds C. E. (2009). The anatomy and physiology of pain. *Surgery*, 27(12), 507-511. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0263931909002531>



- Stepanovic-Petrovic R. M., Micov A. M., Tomic M. A., Kovac'evic J. M., Boskovic B. D. (2014). Antihyperalgesic/Antinociceptive effects of ceftriaxone and its synergistic interactions with different analgesics in inflammatory pain rodents. *Anesthesiology*, 120, 737-750. Recuperado de: <http://anesthesiology.pubs.asahq.org/Article.aspx?articleid=1917905>
- Takashi K., Foster J., Glenn C.L. (2015). Glutamate transporter EAAT2: regulation, function, and potential as a therapeutic target for neurological and psychiatric disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(18), 3489-3505. Recuperado de: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00018-015-1937-8>
- Tjølsen A., Berge O., Huskaar S., Rosland J., Hole K. (1992). The formalin test: an evaluation of the method. 51:5-17, Recuperado de https://ac.els-cdn.com/030439599290003T/1-s2.0-030439599290003T-main.pdf?_tid=a87ca608-1291-4085-a6ca-19202e58dccb&acdnat=1528060699_3543afd5d4b444a466681be8f178f333
- Vandenberg R.J., Ryan R.M. (2013). Mechanisms of glutamate transport. *Physiological reviews*, 94(4), 1621-1657. Recuperado de: https://www.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.00007.2013?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed
- Wen ZH., Chang YC., Jean YH. (2015). Excitatory amino acid glutamate: role in peripheral nociceptive transduction and inflammation in experimental and clinical osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*, 23(11), 2009-2016. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1063458415008596>



Woolf C.J. (2010). What is this thing called pain?. *J ClinInvest*, 20(11), 3742-3744.

Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2965006/>

Yang M., Roman K., Chen F., Wang G., Lin Y., Stephens L. (2011). GLT-1 overexpression attenuates bladder nociception and local/cross-organ sensitization of bladder nociception. *American Physiological Society*, 300, 1353-1359.

Recuperado de: <https://www.physiology.org/doi/full/10.1152/ajprenal.00009.2011>

Zhou Y., Danbolt N. (2014). Glutamate as a neurotransmitter in healthy brain. *J Neural Transm*, 121, 799-817. Recuperado de:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00702-014-1180-8>

Zimmermann M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 16(2), 109-110. Recuperado de: [https://www-](https://www-sciencedirect-com.eotechconricyt.idm.oclc.org/science/article/pii/0304395983902014)

[sciencedirect-](https://www-sciencedirect-com.eotechconricyt.idm.oclc.org/science/article/pii/0304395983902014)

[com.eotechconricyt.idm.oclc.org/science/article/pii/0304395983902014](https://www-sciencedirect-com.eotechconricyt.idm.oclc.org/science/article/pii/0304395983902014)