



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

PAPEL DEL AREA TEGMENTAL VENTRAL Y LA DOPAMINA EN LA CORTEZA ANTERIOR DEL CINGULO, EN UN MODELO DE DOLOR CRONICO EN LA RATA.

T E S I S

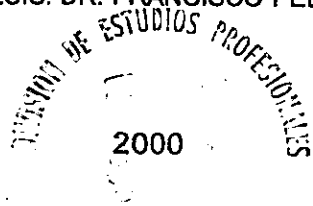
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE BI O L O G O P R E S E N T A :

FRANCISCO XAVIER SOTRES BAYON



FACULTAD DE CIENCIAS UNAM

DIRECTOR DE TESIS: DR. FRANCISCO PELLICER GRAHAM



FACULTAD DE CIENCIAS SECCION ESCOLAR

279702



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO  
Jefa de la División de Estudios Profesionales  
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

" Papel del área tegmental ventral y la dopamina en la corteza anterior del cíngulo, en un modelo de dolor crónico en la rata".

realizado por Francisco Xavier Sotres Bayón

Con número de cuenta 9450307-0 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de tesis Propietario	Dr. Francisco Pellicer Graham
Propietario	Dra. María Luisa Fanjul de Moles
Propietario	Dr. José María Calvo y Otálora
Suplente	Dr. Julio Morán Andrade
Suplente	Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte

*(Firma: F. Pellicer Graham)*  
*(Firma: Dra. María Luisa Fanjul de Moles)*  
*(Firma: Dr. José María Calvo y Otálora)*  
*(Firma: Dr. Julio Morán Andrade)*  
*(Firma: Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte)*

FACULTAD DE CIENCIAS  
U N A M.

Consejo Departamental de Biología

*(Firma: Edna María Suárez Díaz)*  
DRA. EDNA MARIA SUAREZ DIAZ



DEPARTAMENTO  
DE BIOLOGIA



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO  
Jefa de la División de Estudios Profesionales  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"Papel del área tegmental ventral y la dopamina en la corteza anterior del cíngulo, en un modelo de dolor crónico en la rata".

realizado por Francisco Xavier Sotres Bayón

Con número de cuenta 9450307-0, pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de tesis	Dr. Francisco Pellicer Graham
Propietario	
Propietario	Dra. María Luisa Fanjul de Moles
Propietario	Dr. José María Calvo y Otálora
Suplente	Dr. Julio Morán Andrade
Suplente	Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte

FACULTAD DE CIENCIAS  
U N A M.

Consejo Departamental de Biología

*Edna M. Suárez Díaz*

DRA. EDNA MARIA SUAREZ DIAZ



DEPARTAMENTO  
DE BIOLOGIA

Esta tesis fue realizada en el Departamento de Neurofisiología de la División de Investigaciones en Neurociencias del Instituto Mexicano de Psiquiatría, bajo la dirección del **Doctor Francisco Pellicer Graham**.

El trabajo experimental fue parcialmente subvencionado por los proyectos de esta misma institución IMP 3230 y por la beca de CONACyT 28696 M.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo dieron lugar a las siguientes comunicaciones a congresos y publicaciones:

-Pellicer F, Torres-López, Sotres-Bayón F, del-Ángel R. "*Lesion and Stimulation of the Ventral Tegmental Area Modifies Pathologic Pain Process Induced By A Painful Inflammatory Process In The Rat*". 9<sup>th</sup> World Congress on Pain. Viena, Austria.

Agosto 22-27 de 1999.

-Sotres-Bayón F, Torres-López, del-Ángel R, Pellicer F. "*La Lesión y La Estimulación del Área Tegmental Ventral Modifica El Proceso de Dolor Patológico Inducido por un Proceso Inflamatorio en la Rata*". XLII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Zacatecas, Zac. Septiembre 26-30 de 1999.

-Sotres-Bayón F y Pellicer F. "*Papel del sistema mesolímbico dopaminérgico en el componente afectivo del dolor crónico*". Salud Mental 23(1): 23-29, (Feb) 2000.

A mi tío  
Alejandro Bayón  
(1949-1992)  
*in memoriam*

**Agradecimientos:**

A mi tutor y amigo.  
Dr. Francisco Pellicer Graham

A Rosendo y a mis compañeros de laboratorio

A los miembros del comité examinador  
Dra. María Luisa Fanjul de Moles  
Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte  
Dr. José María Calvo y Otálora  
Dr. Julio Morán Andrade

A mi madre  
A mi padre  
A mi hermana  
A mis abuelos  
A mis amigos

A mi guerita preciosa



# Í N D I C E

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
HISTORIA DEL DOLOR.....	2
DEFINICIONES Y CLASIFICACIONES DEL DOLOR.....	5
VÍAS NEUROFISIOLÓGICAS DEL DOLOR.....	7
TIPOS DE DOLOR: AGUDO Y CRÓNICO.....	10
MODELOS ANIMALES DE DOLOR CRÓNICO.....	12
CONDUCTA DE AUTO LESIÓN.....	15
DISESTESIA.....	17
SISTEMA LÍMBICO.....	18
CORTEZA ANTERIOR DEL CÍNGULO.....	21
ÁREA TEGMENTAL VENTRAL.....	25
DOPAMINA.....	30
ANEXO –INFLAMACIÓN-.....	32
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	33
<b>HIPÓTESIS GENERAL</b> .....	33
<b>EXPERIMENTO A. ESTIMULACIÓN DEL ÁREA TEGMENTAL VENTRAL</b>	
OBJETIVO.....	34
HIPÓTESIS PARTICULAR.....	34
<b>MATERIAL Y MÉTODO</b>	
Preparación Experimental.....	35
Estimulación Eléctrica.....	35
Inducción del Proceso Inflamatorio.....	36
Grupos.....	36
Clasificación de la Conducta de Auto Lesión.....	37
Verificación Histológica.....	38
Análisis Estadístico.....	39
<b>RESULTADOS</b> .....	40

**EXPERIMENTO B. MICROINYECCIÓN DE DOPAMINA EN LA CORTEZA ANTERIOR DEL CÍNGULO**

OBJETIVO .....	45
HIPÓTESIS PARTICULAR .....	45
MATERIAL Y MÉTODO	
Preparación Experimental .....	46
Microinyección .....	46
Inducción del Proceso Inflamatorio .....	47
Grupos .....	47
Clasificación de la Conducta de Auto Lesión .....	47
Verificación Histológica .....	48
Análisis Estadístico .....	48
RESULTADOS .....	49
<b>DISCUSIÓN</b>	
GENERAL .....	56
ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL ATV .....	57
MICROINYECCIÓN DE DA EN LA CAC .....	62
<b>CONCLUSIONES</b>	
ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL ATV .....	68
MICROINYECCIÓN DE DA EN LA CAC .....	68
GENERAL .....	68
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	69

## RESUMEN

Los componentes somatosensoriales y afectivos del dolor son transmitidos por diferentes sistemas neurales. Por un lado, se ha propuesto que el componente somatosensorial es transmitido por el sistema espinotalámico lateral hasta la corteza somatosensorial. Por otro lado, se ha propuesto que el componente afectivo del dolor es transmitido por el sistema espinotalámico medial hasta el sistema límbico. Una de las estructuras que forman parte del sistema espinotalámico medial y también del sistema límbico es la corteza anterior del cíngulo.

La corteza anterior del cíngulo, como parte del sistema límbico, juega un papel crucial en la expresión de las emociones. Existe evidencia que muestra que dicha corteza límbica juega un papel de relevancia en el procesamiento de la información del componente afectivo del dolor. Por ejemplo, por más de cuarenta años se ha usado la ablación del cíngulo (cingulotomía) en el manejo de pacientes con dolor crónico intratable.

Para definir el papel de la corteza anterior del cíngulo en el componente afectivo del dolor es necesario determinar los neurotransmisores y las estructuras cerebrales que modulan la actividad de las neuronas de dicha corteza. Se ha reportado que el área tegmental ventral tiene proyecciones dopaminérgicas a la corteza anterior del cíngulo mediante el haz medial del cerebro anterior. Mas aún, la estimulación eléctrica de esta área tegmental es capaz de inhibir la actividad de hasta 73 % de las neuronas de la corteza anterior del cíngulo.

Para determinar la participación de la dopamina *per se* y el área tegmental ventral en la actividad de la corteza anterior del cíngulo, como elementos moduladores del componente afectivo del dolor, se realizaron los siguientes experimentos. Por un lado, se estimuló eléctricamente el área tegmental ventral, por seis días durante veinte minutos diarios. Por otro lado, se microinyectaron diario durante seis días, tres diferentes dosis de dopamina (una por cada grupo) en la corteza anterior del cíngulo.

Para evaluar el dolor en las ratas, se utilizó el modelo de dolor crónico por hiperestimulación. Este modelo consiste en provocar, mediante la inyección subcutánea en la pata de la rata de un agente inflamatorio (carragenina), un dolor crónico que a su vez provoca la conducta de auto lesión. En este trabajo, la inyección de carragenina se realizó únicamente el primer día, en la pata contralateral al sitio de las manipulaciones experimentales. Para evaluar el dolor provocado a los animales se registró el grado de auto lesión diariamente por siete días. Asimismo, se midió el proceso de inflamación de la pata infiltrada con carragenina, durante siete días.

Los resultados de la estimulación eléctrica diaria del área tegmental ventral y los resultados de la aplicación diaria de la dosis "alta" de dopamina en la corteza anterior del cíngulo muestran un retraso de un día en el inicio de la conducta de auto lesión.

Los resultados obtenidos sugieren que la estimulación eléctrica diaria del área tegmental ventral y el aumento diario de dopamina (con la dosis más "alta") en la corteza anterior del cíngulo inhiben parte de la información del componente afectivo del dolor crónico, evaluado en este trabajo por la conducta de auto lesión.

Los resultados de ambas manipulaciones experimentales sugieren una modulación de la información inhibitoria del componente afectivo del dolor. Mas aún, este fenómeno podría estar relacionado con la modulación de la información inhibitoria en el fenómeno de analgesia disociativa ascendente.

## INTRODUCCIÓN



*“El dolor es el medio por el que uno se descubre a uno mismo y una manera de entender la verdad básica con relación a uno mismo; sufro por lo tanto soy”*

*Julien Teppe.*

### HISTORIA DEL DOLOR.

El dolor es una experiencia perceptual efectiva, a través de la cual el individuo reconoce un daño a la integridad física de su cuerpo. El dolor es la sensación evocada por estímulos nocivos, que nos alerta de un daño. En él interviene un sistema sensorial especializado en dar la señal de alarma. Este fenómeno ha sido concebido de diferentes formas por las más diversas culturas.

El problema conceptual del dolor ha estado presente desde el inicio de la civilización. Existen evidencias escritas de que civilizaciones tan antiguas como la asiro-babilónica y en especial la civilización egipcia, tenían la creencia de que el dolor del interior del cuerpo provenía de los espíritus muertos, de la intervención divina o de los fluidos mágicos. Para la cultura hebreo cristiana sin embargo, el dolor era el producto de un pecado cometido, un castigo divino (Tu, 1980).

La enfermedad y en particular el dolor se relacionaba con causas supranaturales hasta la aparición de la civilización griega. Alcmeón de Cretona definió el dolor como enfermedad en términos físicos. Sin embargo, la mayor contribución griega al concepto de dolor fue dada por Platón y Aristóteles. La principal contribución de estos dos pensadores fue la propuesta de la existencia de una clara relación entre el dolor y el placer. Aristóteles reconoció cinco sentidos (visión, oído, tacto, olor y gusto), e identificó al dolor como un incremento en la sensibilidad del tacto. Por el contrario, Hipócrates sugirió que el dolor es provocado por un desbalance de los humores endógenos. Por su parte, Galeno propuso que los nervios llenos de pneuma psíquico, que cumplieran la característica de ser cortos, son los que transportan de manera exclusiva al dolor.

Durante la Edad Media prevalecieron las ideas Aristotélicas. No fue sino hasta el Renacimiento que surgieron nuevas formas de pensar con relación al dolor. Leonardo Da Vinci y Andrea Vesalius dan inicio a la anatomía moderna y a la fisiología de la sensación, pero continúan relacionando

directamente al dolor con la sobre estimulación del tacto. René Descartes dedicó mayor atención a la explicación del dolor en su libro *De Homine Figuris* (1644). Su postura fue claramente esquematizada en la figura de la alarma de campana. Concibió al fenómeno del dolor como un canal directo de la piel al cerebro, aportando así la primera teoría del dolor (Figura 1). Casi doscientos años después, gracias a la evolución de la fisiología experimental, J. Muller (1842) desarrolló la doctrina de la energía específica de los nervios, donde cada modalidad sensorial tiene una representación celular específica en el cerebro, instancia que resulta modular la información sensorial. En 1894, Max Von Frey amplió la teoría de Muller implicando al dolor como una cuarta modalidad cutánea (tacto, calor, frío y dolor) con un receptor específico, fundamentando la teoría específica moderna con diferentes tipos de receptores especializados (corpúsculos de Meissner, Ruffini, Paccini y terminaciones libres); teoría que prevalece hasta nuestros días, apoyada y ampliada por Bishop (1946), Mountcastle (1959), Zotterman (1962) y Sinclair (1964) que demostraron la existencia de fibras y de receptores altamente específicos para algunas modalidades sensoriales. Relacionaron la correspondencia de la modalidad sensorial de dolor con las fibras A-delta y C. Por otro lado, la teoría de patrones (antítesis de la especificidad de receptores) de Weddell (1955), propone que la activación del dolor depende de un patrón espacio-temporal específico de terminaciones sensoriales no específicas. Tesis que no ha prevalecido a pesar de que trataba de explicar estados clínicos complejos de dolor crónico (dolor post-herpético, causalgia, miembro fantasma, etc.) y que en realidad resulta complementaria a la teoría de la especificidad de receptores. Por su parte, Livingston abordó el problema desde otra perspectiva al proponer un mecanismo específico central para explicar el fenómeno de sumación central. Esto es como resultado de la activación de circuitos reverberantes en la médula espinal, donde ocurre el relevo medular doloroso, que Keele (1957) había descrito anteriormente. A dicho modelo se le conoce como teoría de la sumación (Procacci, 1980; Rey, 1995; Pellicer y Olea, 1998).

A partir del rápido avance en el estudio experimental del dolor en la última mitad del siglo, surge el controvertido modelo del "sistema de control por compuerta" que proponen Melzack y Wall en 1965 (citado por Melzack, 1993). Este modelo revolucionó la manera en la que se han venido realizando los abordajes experimentales en el campo del dolor hasta nuestros días.

**Figura 1.** Grabado publicado en el libro *Homine Figuris* (1644), donde René Descartes, define su concepto de la vía del dolor. Al respecto escribe: " Si por ejemplo, el fuego (A) está cerca del pie (B), las minúsculas partículas de este fuego, que como se sabe se mueven a gran velocidad, tienen el poder de mover un punto de la piel del pie cuando la tocan, y de esta forma jalar unos delicados hilos (c) que se encuentran fijos en un punto de la piel, ellos abren, al mismo tiempo, en la parte superior del poro (d, e, F) que hacen sonar una campana que se encuentra en el otro extremo de la cuerda".



## DEFINICIONES Y CLASIFICACIONES DEL DOLOR.

Todos hemos experimentado dolor, pero su definición no es del todo simple. Muchos tratan el dolor simplemente sin molestarse en definirlo. La mayoría de nosotros concebimos el dolor como una sensación desagradable que se origina en tejidos traumatizados y nos avisa de un daño, que también tiene cualidades emocionales (Chapman, 1996). Algunos filósofos antiguos consideraban al dolor como una emoción. Aristóteles lo consideraba la pasión del alma. Pero, ¿qué es el dolor científicamente? Es un complejo fenómeno fisiológico difícil de definir satisfactoriamente en humanos, y difícil de interpretarlo en animales no humanos (Levitt, 1985). El conocimiento científico de la percepción del dolor en animales ha sido obtenido señalando las analogías con base en la anatomía comparada, fisiología, patología y por inferencias basadas en respuestas subjetivas del dolor experimentado por humanos (Erickson, 1997; Melzack, 1980; Melzack y Fuchs, 1997). Si los animales de diferentes especies perciben el dolor en una forma similar a los seres humanos, sigue siendo debatido (Carli, 1980).

A pesar de la importancia del dolor en medicina y biología, resulta sorprendente descubrir que la palabra dolor no ha sido definida satisfactoriamente. Se han propuesto muy diversas definiciones que difícilmente engloban el contenido total de la experiencia dolorosa. Por una parte, algunas definiciones incluyen puramente el contenido sensorial y otras se abocan a describir el dolor en términos conductuales (Melzack y Wall, 1996). Con fines de crear consenso en las definiciones del dolor, la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) lo define de la siguiente manera: "el dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño real o potencial del tejido, que incluye una serie de conductas relacionadas al dolor, visibles o audibles que pueden ser modificadas por el aprendizaje" (Merskey y Bodguk, 1994). A lo anterior se puede añadir: "la experiencia del dolor es la actividad coordinada de un conjunto de neuronas centrales, normalmente activadas como consecuencia de un tejido dañado o estímulos amenazadores, donde la cualidad del dolor está determinada por cambios en los patrones de descarga central, su orquestación y su distribución precisa" (Devor et al., 1982) o bien, que "la emoción no es simplemente una consecuencia de la sensación dolorosa que ocurre después de que llega un mensaje sensorial nocivo a la corteza somatosensorial, es una parte fundamental de la experiencia dolorosa" (Chapman, 1996). Como veremos más adelante, esta última definición coincide y es fundamental en la tesis aquí propuesta.

El dolor es un proceso complejo que involucra un componente sensorial y otro emocional importante. Por tal motivo, para facilitar su estudio, se han propuesto diferentes clasificaciones. Fordyce y Loeser (Fordyce, 1995; Loeser, 1980) consideraron cinco componentes o niveles del dolor. 1) el nociceptivo, de daño de tejido potencial o real activado por estímulos periféricos térmicos,

mecánicos o químicos que actúan sobre terminales nerviosas especializadas de fibras C y A-delta. En estudios con animales este término es el más usado dado que es posible detectar la reacción motora conductual que tienen los individuos a estímulos que comprometen su integridad. 2) El dolor como la nocicepción percibida. 3) El sufrimiento asociado, definido como la respuesta afectiva generada por regiones superiores del sistema nervioso en respuesta al dolor u otras situaciones asociadas como: miedo, ansiedad, aislamiento, depresión, etc. El término sufrimiento, no es comúnmente aplicable en experimentos con especies no humanas por la dificultad de obtener pruebas objetivas de lo que siente el animal; y 4) la conducta dolorosa que se refiere a toda forma de comportamiento generada por el individuo, que comúnmente se entiende que refleja la presencia de nocicepción, por ejemplo: postura, vocalización, etc. (Coderre et al., 1993a). Finalmente es de considerar la importancia de los factores ambientales que alteran la conducta sin importar la etiología del dolor.

Por otro lado, Melzack (Melzack, 1990b), propone dimensiones del dolor en su afán de discriminar los factores sensoriales de la cualidad afectiva desagradable. Esta cualidad afectiva, que en sí es lo que motiva al organismo a desarrollar una actividad que esta dirigida a detener el dolor tan rápido como sea posible. Para hacer la clasificación toma en cuenta evidencias fisiológicas, estudios de comportamiento y psicología experimental, lo que llevó a proponer los factores multidimensionales del dolor: a) sensorial-discriminativa, que se refiere al sistema somatosensorial de conducción rápida; b) motivacional-afectiva, correspondiente a estructuras reticulares y límbicas influenciadas por sistemas espinales de conducción lenta; y c) cognoscitivo-evaluativa, representada por estructuras neocorticales que ejercen actividad sobre las dimensiones a) y b).

Por otro lado Chapman (Chapman y Nakamura, 1999), considera que la verdadera clasificación y definición del concepto del dolor debe darse en una explicación coherente del dolor, que cubra varios niveles de descripción desde la neurofisiología celular a la psicología, con el fin de ofrecer una guía o perspectiva jerárquica; empezando con el nivel molecular (substancias algogénicas), terminaciones sensoriales (nociceptores), fibras primarias aferentes (fibras C y A-delta), vías centrales (vías anterolaterales), redes (circuitos del hasta dorsal), mapas (neuromatriz de Melzack)(Melzack, 1990a), percepción (sufrimiento doloroso), conductas complejas (funcionamientos) y al nivel de individuo cuando sea posible (introspección) (Chapman y Nakamura, 1999). Por todo lo anterior, se puede apreciar que falta mucho por aprender acerca de los mecanismos de dolor antes de que se pueda definir con precisión (Melzack and Wall, 1996).



## VÍAS NEUROFISIOLÓGICAS DEL DOLOR.

Los grandes avances en el conocimiento sobre el dolor, consisten básicamente hasta ahora, en los niveles elementales de descripción: terminaciones sensoriales, fibras primarias aferentes, vías centrales, circuitos del asta dorsal y vías centrales generales. Estos se describen brevemente a continuación.

Existen diversos receptores específicos para distintas modalidades sensoriales que transmiten diferente información periférica. Por ejemplo, existen receptores que transmiten información táctil no dolorosa en la piel a alta velocidad (40-70 m/s), como las fibras A-alfa y A-beta (Kandel et al., 1991). Los receptores dolorosos -nociceptores- en su mayoría son "silentes" es decir, están inactivos y son poco responsivos en circunstancias normales (es decir, tienen un umbral muy alto a estímulos inespecíficos). Estos se encuentran localizados en los músculos, articulaciones, vísceras y la piel, y transducen la información nociva al ser afectados por altas cantidades de energía mecánica, térmica o química. Para estos receptores, existen distintos canales sensoriales que dependen del tejido innervado (Wall, 1997). Incluyen dos grandes categorías de receptores cutáneos asociados al dolor que reciben su nombre de acuerdo a la fibra aferente primaria que los inerva: 1) los nociceptores A-delta (también localizados en membranas mucosas) que corresponden a las fibras monomodales (llamadas así por sólo responder a estímulos mecánicos) con un diámetro de 2-7 micras, y mielinizadas que conducen la información a una velocidad de 5-30 m/s, dando como resultado un dolor bien definido y punzante; y 2) fibras polimodales no mielinizadas con un diámetro de 0.4-1.2 micras que conducen a 0.5-2m/s. Estos responden a estímulos mecánicos, térmicos ( $> 45\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $< 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y químicos de alta intensidad que provocan una sensación ardiente en tejido profundo o en la piel (Kandel et al., 1991; Pellicer y Olea, 1998) (Tabla 1).

Tabla 1.

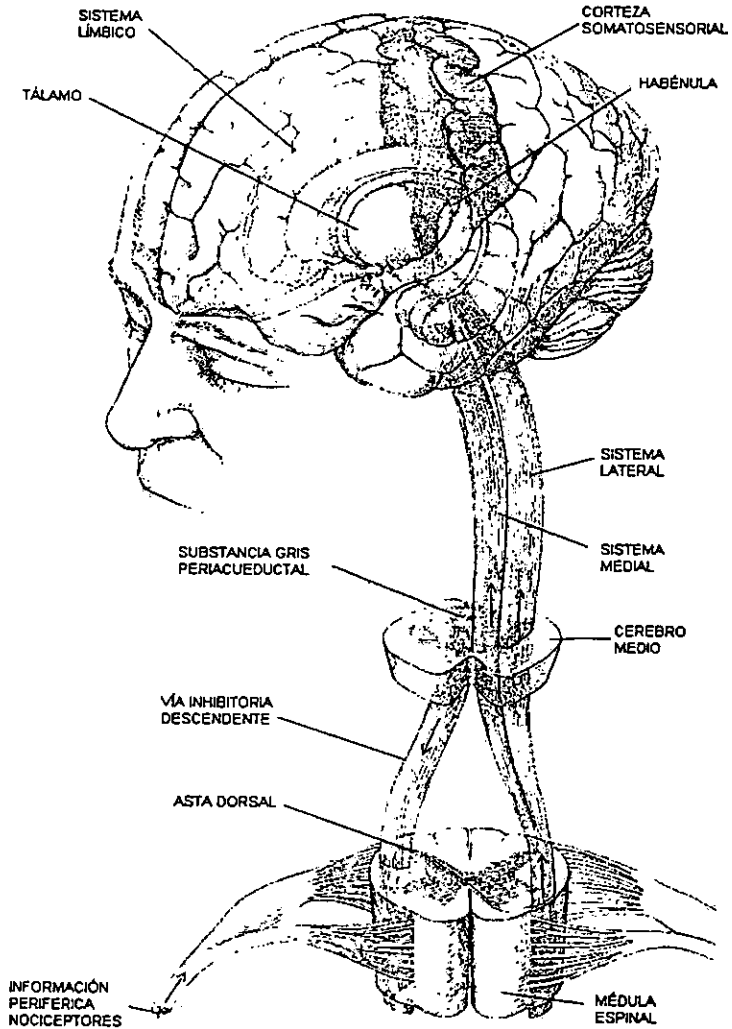
Tipo de fibra	Diámetro en micras	Velocidad de Conducción	Función
A alfa ( $\alpha$ )	12-20	70-130	Propiocepción
Beta ( $\beta$ )	8-12	40-70	Tacto, Presión
Delta ( $\delta$ )	2-7	12-40	Dolor, Temperatura, Tacto
Fibras C	0.4-1.2	0.5-2	Dolor, Respuesta refleja

De estas fibras nociceptivas aferentes, se transmiten los impulsos nerviosos para el procesamiento de la información nociceptiva al nivel de la médula espinal. Desde el asta dorsal de la médula espinal las redes de interneuronas transmiten la información hacia a otro relevo espinal, donde se localizan motoneuronas flexoras y proyecciones neurales nociceptivas (Melzack, 1993).

Existen muchos componentes y vías anatomofuncionales del dolor a considerar, pero el presente estudio está enfocado al análisis del componente afectivo del dolor. Con respecto a este componente se han enunciado argumentos que intentan diferenciar los componentes sensoriales de los componentes afectivos del dolor. Se ha propuesto que el inicio de la diferenciación de la información sensorial de la afectiva puede estar dada tanto a nivel de las astas dorsales de la médula espinal (Chapman, 1996), como al nivel del tallo cerebral en el cerebro medio (Melzack, 1990b).

A pesar de esta controversia existe consenso en cuanto que por un lado, la información sensorial es transmitida por la vía espinotalámica (Peschanski y Weil-Fugacza, 1987) o vía lateral espinotalámica (Melzack, 1990b), que proyecta fibras de neuronas a los núcleos intralaminares del tálamo, que son núcleos de relevo para enviar la información a la corteza somatosensorial. Por otra parte, la información nociceptiva sigue la vía espinoreticular (Chapman, 1996) o vía medial espinotalámica (Melzack, 1990b) para llegar a las regiones cerebrales donde se integran los procesos afectivos de la información nociceptiva. Este tracto medial contiene también vías aferentes somatosensoriales y viscerosensoriales que llegan a diferentes niveles del tallo cerebral.

El verdadero procesamiento de las señales nociceptivas que producen el componente afectivo comienza en las vías que van de la formación reticular a la corteza cerebral (Chapman, 1996). Cuatro son las vías aferentes que proyectan a la neocorteza: el haz noradrenérgico dorsal originado en el locus coeruleus; las fibras serotoninérgicas originadas en el núcleo del raquí; las neuronas colinérgicas que surgen principalmente del núcleo basal de la sustancia innominata; y las vías dopaminérgicas del área tegmental ventral (ATV) y la sustancia nigra (Chapman, 1996). En cuanto a la integración central de la información dolorosa, ésta emplea ambas vías: la espinotalámica medial (espinotalámica) y la espinotalámica lateral (espinoreticular) (Villanueva et al., 1989; Villanueva et al., 1990), para elaborar una respuesta compleja, tanto motora como de inhibición descendente ejercida por la sustancia gris periacueductal y los núcleos del raquí (Pellicer y Olea, 1998; Perl, 1997). Figura 2.



**Figura 2.** Principales sistemas neuronales del dolor. Sistema medial (espinotalámico medial). Sistema lateral (espinotalámico lateral). Sistema inibidor descendente. Melzack 1990b.

## TIPOS DE DOLOR: AGUDO Y CRÓNICO.

La palabra dolor es usada para describir un amplio rango de experiencias sensoriales desagradables. Las teorías actuales tienden a adscribir todas las formas de dolor a un solo mecanismo neurofisiológico (Cervero y Laird, 1991). Esto puede ser la causa de que teorías funcionales del dolor no logren alcanzar consenso en este tema. Los diferentes estados del dolor son consecuencia de diversas expresiones de los sistemas nociceptivos que dependen de la intensidad, de la temporalidad y de la localización sensorial.

Por tal motivo, los mecanismos neurofisiológicos que intervienen en los sistemas nociceptivos han sido divididos en tres fases por Cervero y colaboradores (Cervero y Laird, 1991): 1) La primera fase el dolor provocado por estímulos nociceptivos breves, actúa como una señal de alarma sobre un daño potencial o existente en el organismo, sin importar la intensidad. La sensación es de corta duración y desaparece cuando se suprime la causa que lo produce. 2) En la segunda fase: sistemas nociceptivos normales actúan debido a la estimulación nociva prolongada: tejido dañado e inflamación, lesión y daño de tejido debidos a estímulos mecánicos, térmicos o químicos, que evocan una reacción inflamatoria como parte del proceso de curación. Por último, 3) la tercera fase se establece como una percepción dolorosa anormal, que en algunas ocasiones se desarrolla inicialmente a consecuencia de un mal funcionamiento del sistema nervioso periférico o central. La fase 1 podría asociarse al dolor agudo y la fase 2 al dolor crónico, y su clara distinción como mecanismos neurofisiológicos diferentes es crítica. Figura 3.

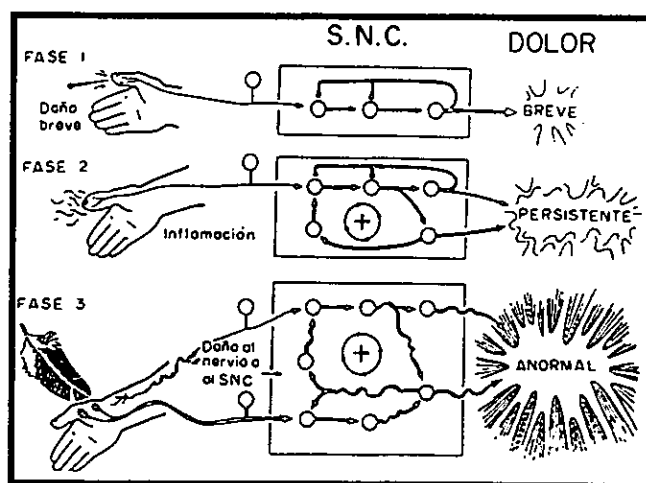


Figura 3.  
Fases del  
dolor.  
Cervero 1991.

Ninguna medida describe adecuadamente al dolor. La palabra dolor cubre un basto rango de fenómenos que van de la bien conocida sensación aguda que dispara una respuesta nociceptiva, a un dolor difuso y de larga duración o dolor crónico que puede transformarse en un estado patológico. Por un lado, cuando ocurre una lesión da lugar al dolor agudo conducido por el sistema lateral (Melzack, 1990b) que es breve y rápidamente surge y decae en intensidad (por ejemplo: al pincharse un dedo). Esta fase súbita es de conducción rápida y provee una localización somatotópica precisa. Este tipo de dolor normal está presente en todos los individuos, es útil y es un componente necesario de nuestro repertorio sensorial. Sin este tipo de sensación protectora dolorosa, nuestra vida diaria, aun la supervivencia, sería difícil como evidencian algunos padecimientos que cursan con analgesia congénita (Sweet, 1981). Este dolor es evocable por pruebas experimentales tales como: plancha caliente, cola pinchada y movimiento reflejo de la cola (Mantz et al., 1989; Saadé et al., 1997).

El dolor tónico o crónico es evocado por otro sistema neural. Este dolor es persistente, se genera después de una lesión en un nervio o inflamación y se conduce por el sistema medial que pasa por los tractos centrales del tallo cerebral y los núcleos intralaminares talámicos. Muchos de estos tractos mandan impulsos al sistema límbico que incluye regiones subcorticales del cerebro, responsables de los procesos afectivos. Según Melzack (Melzack, 1990b, Melzack y Fuchs, 1997), este sistema es el responsable del componente emocional o afectivo del dolor que produce las cualidades desagradables (para una interpretación contraria ver (Wall, 1997)). El sistema medial conduce señales lentas y no provee información precisa durante las emergencias. Por el contrario, se ajusta más a producir sensaciones que ayuden a asegurar la sobrevivencia del individuo que fue herido, sufre y debe permanecer inactivo hasta curarse. En ocasiones, los cambios en el sistema nervioso central persisten después de la lesión. Este dolor puede tener efectos importantes en el sistema nervioso periférico y central como provocar la sensibilización, es decir se incrementa la excitabilidad, al grado que el sistema puede ser activado por estímulos inocuos (Coderre et al., 1993b; Miller y Woolf, 1997).

Estos cambios pueden durar horas o más en la ausencia de estímulos presentes. Esta excitabilidad aumentada ha sido observada en neuronas espinales y cerebrales (Coderre et al., 1993b; Condés-Lara et al., 1996; Dubner et al., 1987; Gilbaund et al., 1990). En estas condiciones la inmediata correlación entre descargas de nociceptores periféricos y la sensación de dolor se pierde. Esta fase se caracteriza por impulsos centrales inicialmente generados por la entrada de información periférica, pero no necesariamente mantenida por ellos (Cervero y Laird, 1991). Es decir, ocurren cambios centrales plásticos debidos a la activación de este sistema (Coderre et al., 1993b).

## MODELOS ANIMALES DE DOLOR CRÓNICO.

El dolor crónico es de gran importancia médica, social y económica. Se estima que un tercio de la población económicamente activa de los países desarrollados sufre de dolor crónico (Fordyce, 1995).

Se han desarrollado varios modelos animales de dolor crónico, para entender la complejidad de las condiciones dolorosas en humanos y sus posibles tratamientos para aliviarlo (Albe-Fessard et al., 1990). Esquemáticamente se clasifican en tres grupos:

*Foco Central Irritativo:* las aferentes no son modificadas y se crea un foco excitatorio en centros nerviosos. Este modelo puede ser desarrollado formando focos irritativos en el núcleo del trigémino aplicando gel de aluminio. También se ha reportado que es posible crear focos excitatorios a partir de la aplicación tópica de estricnina y mediante la inyección intracerebral de sustancias que suprimen el efecto central inhibitorio como lo son: la toxina de tétanos, la estricnina y la penicilina (Levitt, 1985). En este modelo se ha observado que se presentan respuestas anormales a la estimulación táctil y en ocasiones conductas de auto-agresión. Este comportamiento producido por focos irritativos centrales se ha interpretado como dolor creado por la hiperestimulación de vías centrales nociceptivas.

*Deafferentación:* modelo en el que se suprime la entrada de información periférica. Este modelo pretende reproducir dolores humanos por constricción, corte de raíz dorsal, rizotomía, (Lombard et al., 1979), ligadura (Bennett y Xie, 1988) o denervación de un nervio (Wall et al., 1979). A causa de este trauma en el nervio, se desarrolla la conducta de auto mutilación aparentemente relacionada con dos factores: activación ectópica del neuroma que se forma al cortar el nervio (Devor y Raber, 1983) y a la supresión de información periférica aferente. Se ha sugerido que la posible causa de la aparición de esta conducta anormal es la existencia de una zona de total insensibilidad rodeada por una zona hiperalgésica. Este es un modelo que ha sido ampliamente discutido en el campo del dolor por las implicaciones éticas que conlleva la conducta de auto mutilación, donde el animal se desprende de partes de su cuerpo.

Existe un amplio debate de este modelo de anestesia dolorosa. Algunos investigadores defienden la postura de que los animales se comen la extremidad como respuesta a un dolor disestésico discontinuo parecido al experimentado en padecimientos humanos como el miembro fantasma doloroso, plexos braquial doloroso, etc. (Coderre et al., 1986; Devor et al., 1982). Por el contrario, existen otros investigadores que proponen que éste, es un modelo en el que el animal ataca a su propio cuerpo por considerar la zona afectada un apéndice insensible. Para discusión y revisión del tema ver (Coderre et al., 1986).

*Hiperestimulación:* se incrementa la información periférica. El modelo se produce mediante la inyección de carragenina o formalina. Estas sustancias son inyectadas subcutáneamente, generalmente en la pata del animal. La inyección tiene por objeto provocar un dolor cutáneo mediante un proceso inflamatorio.

Una de las maniobras experimentales más usadas con base en el modelo de hiperestimulación es la prueba por infiltración subcutánea de formalina. Esta es una prueba ampliamente usada como modelo de dolor tónico (Coderre et al., 1993a; Wheeler-Aceto et al., 1990). Consiste en provocar inflamación local en la pata de la rata causada por la inyección de formalina (solución diluida de formaldehído y solución salina). Este estímulo difiere de otras pruebas de dolor en cuanto que produce una lesión moderada del tejido, y ha sido asociado con escalas subjetivas basadas en la postura del animal. (Coderre et al., 1993a) (Wheeler-Aceto et al., 1990). Lo ideal sería tener un comportamiento espontáneo que pudiera ser cuantificado "objetivamente" (Levitt, 1985). El curso temporal de esta prueba está definido por una primera fase temprana que empieza desde el momento de la inyección continuando por aproximadamente 5 minutos de dolor agudo, después de lo cual la nocicepción se reduce considerablemente. La segunda fase o fase tardía está caracterizada por el aumento del nivel doloroso de moderado a alto y que comienza a partir de los 10-15 min después de la inyección de formalina. Los comportamientos asociados al dolor en esta fase tardía persisten por hasta 1hr. o más, dependiendo de la concentración de formalina. La primera fase se piensa se debe a una activación directa de los nociceptores periféricos; mientras que la fase tardía se cree puede estar relacionada con el desarrollo de la inflamación y la sensibilización de neuronas centrales nociceptivas. La infiltración de esta sustancia induce conductas relacionadas al dolor donde: la rata eleva la pata, la lame repetidamente y algunas veces la muerde o la sacude.

La inyección de la formalina como agente inflamatorio nociceptivo, comparte muchas características con la carragenina (CAR). Sin embargo, el tiempo de aparición (1hr) y la duración de la hiperalgesia (2-4hrs) provocado por la infiltración de carragenina es considerablemente mayor que el de formalina (0 y 1hr respectivamente) (Albe-Fessard et al., 1990). Por consiguiente, con este último modelo, es posible evaluar la conducta asociada a un estímulo doloroso tónico de mayor intensidad y duración. En comparación con otros modelos animales de dolor crónico como el de denervación y producción de un foco irritativo, el modelo de hiperexcitabilidad por infiltración de carragenina o formalina no compromete la integridad física del animal. La eficacia de la carragenina en producir procesos de dolor tónico, ha sido corroborada en varios estudios (Condés-Lara et al., 1996; Fletcher et al., 1996).

Se ha descrito que la inflamación puede causar la sensibilización de fibras nociceptivas que generalmente están "silentes" o inactivas, desarrollando descargas espontáneas, y siendo más sensibles a estimulación periférica (Miller y Woolf, 1997; Wall, 1997). La sensibilización de los nociceptores depende de una cascada de segundos mensajeros, desencadenada por mediadores inflamatorios liberados por el tejido dañado como: las bradiquininas, las prostaglandinas, la serotonina y la histamina (ver anexo -inflamación-). Dos mecanismos operan en la sensibilización nociceptiva; primero, un cambio en la sensibilidad de transducción de los nociceptores terminales en la periferia, y segundo, un cambio en la sensibilidad de las neuronas en la médula espinal. Estos mecanismos representan la sensibilización periférica y central (Miller y Woolf, 1997). La hiperalgesia primaria se cree debida a la sensibilización de los nociceptores durante el proceso inflamatorio nocivo y a un bajo umbral de dolor, lo que provoca incremento del dolor en la lesión y en ocasiones genera conductas en respuesta a este proceso.

En el modelo de hiperestimulación, la conducta del animal es medida como un parámetro para evaluar la presencia y la intensidad del dolor. Esta puede consistir en una reacción hiperalgésica o un verdadero dolor crónico. La conducta clásica que se correlaciona con el dolor es la vocalización, así como rasquidos y mordeduras del área periférica involucrada, es decir, conductas de auto lesión (Albe-Fessard et al., 1990).



## CONDUCTA DE AUTO LESIÓN.

La conducta auto lesiva o conducta de auto lesión (CAL) se considera como una señal que evidencia el dolor. Se ha propuesto que dicha conducta refleja la entrada de información periférica de mensajes nociceptivos persistentes a estructuras centrales (Albe-Fessard et al., 1990 ). El complejo patrón de comportamiento sugiere un esfuerzo a escapar de las sensaciones desagradables. Sin embargo, la conducta se presenta de manera espontánea, como un proceso no continuo, por lo que no se le considera como un dolor permanente y severo.

La CAL se ha definido como el desorden en el que la lesión es producida por el mismo individuo sobre partes de su cuerpo por mordeduras o rascaduras intensas (Levitt, 1985). Ha sido denominada de diferentes maneras dentro de la literatura científica. Existen artículos que la definen como conducta (de): autodestrucción, auto-dirigida, auto-ataque (Levitt, 1985), auto lesión (Gualtieri y Schroeder, 1990; Okamura et al., 1997; Winchel y Stanley, 1991) , auto-agresión, mordeduras y rasguños (Levitt, 1985). Para fines prácticos, en esta tesis se utiliza el término más comúnmente usado de CAL. La CAL se ha descrito detalladamente en pacientes humanos con el síndrome de Lesh-Nyhan (Goldstein et al., 1986), síndrome de Gills de la Tourette (Buitelaar, 1993), con analgesia congénita (Sweet, 1981), así como en otros desordenes psiquiátricos como: trastorno obsesivo compulsivo (TOC), esquizofrenia y depresión (Sandyk, 1992).

Los investigadores han desarrollado modelos animales para el dolor crónico en un intento de replicar síndromes que afligen a los humanos. Dichos modelos nos permiten identificar y caracterizar los mecanismos que subyacen a los trastornos humanos, usando técnicas invasivas que no se usan en investigaciones con sujetos humanos. Sin embargo, como se discute en el trabajo de revisión de Levitt (Levitt, 1985) este fenómeno conductual (auto lesión) ha sido reportado en algunos artículos de manera anecdótica o tangencial pero no ha sido debidamente caracterizado. Por ejemplo, los veterinarios observan comúnmente que los animales se soban, rascan vigorosamente, se lamen, acicalan o auto mutilan, como signo de un dolor que va de moderado a alto (Levitt, 1985). Por otra parte, también existen investigaciones en los que se han documentado diferentes manipulaciones experimentales que pueden evocar esta conducta. Ejemplos de estas manipulaciones se pueden resumir esquemáticamente en: el modelo de poliartritis, la creación de focos epilépticos, mediante la infiltración de agentes irritativos, inflamatorios o alrogénicos (Levitt, 1985) e hipersensibilización de vías centrales dopaminérgicas (Feenstra et al., 1992; Goldstein et al., 1986; Gualtieri y Schroeder, 1990; Okamura et al., 1997). Existe evidencia sustancial que sugiere que esta conducta auto dirigida es una respuesta, de los animales no humanos a estímulos periféricos nocivos, pero también es reflejo de una

sensación aversiva en respuesta a la excitación local central (Levitt, 1985). Más aún, la CAL es un signo de dolor crónico en el animal (Kupers et al., 1992).

Se sabe muy poco del repertorio de conductas evocadas por estímulos desagradables, sin embargo son pocos los estudios que se han dedicado a tratar de desentrañar las causas probables y el significado de estos comportamientos. Esta CAL refleja el más elevado nivel de integración de un patrón complejo natural de conductas relacionadas a estímulos dolorosos, y debe de ser estudiado a mayor profundidad (Levitt, 1985). Se ha sugerido que esta conducta no solo está asociada a los enigmas del dolor crónico, sino también a dolores disestésicos. En animales experimentales al igual que en humanos, se ha sugerido la presencia de disestesia en la parte del cuerpo que es agredida.

## **DISESTESIA.**

Algunas formas de dolor crónico son reconocidas como dolor disestésico por lo que comparten muchas características. El término disestesia se ha definido como una experiencia corporal anormal no agradable. Una sensación aversiva, anormal, quemante y apretujante. La característica más distintiva de la disestesia es su anormalidad, pues es un fenómeno subjetivo sensorial relacionado anormalmente con la estimulación del cuerpo. Se ha mencionado por algunos investigadores que estas sensaciones se deben parcial o enteramente a la excitación patofisiológica de nervios periféricos (Levitt, 1985). Asimismo, se ha sugerido que las disestesias dolorosas iniciadas por estimulación de nervios periféricos, con el tiempo se convierten en disestesias dolorosas crónicas, mantenidas por otras funciones neurales centrales. Lo anterior provoca que se establezcan circuitos actividad auto-sostenida que abarcan extensas regiones del cuerpo, es decir, se desencadenan fenómenos de plasticidad neuronal.

Una lesión olvidada por un hombre puede causar una vida de agonía para otro. Esta es otra de las características que comparten los dolores disestésicos y el dolor crónico, la variabilidad. Este elemento es uno de los enigmas persistentes del dolor, ya que la cantidad de dolor o disestesia sufrida por diferentes individuos a consecuencia de los mismos estímulos intensos o lesiones, es muy diferente (Melzack y Wall, 1996). Es importante hacer notar, que esta variabilidad se da en la incidencia y en el curso temporal de la sensación desagradable entre individuos. En este tipo de sensaciones dolorosas desagradables así como en el dolor crónico se ven claramente involucrados factores genéticos, cognoscitivos y afectivos no muy bien identificados hasta el momento. En cuanto al factor afectivo, el sistema límbico ocupa un lugar importante en referencias asociadas al papel que juega este sistema en los procesos cerebrales relacionados con la emoción.

## SISTEMA LÍMBICO.

Charles Darwin, en "La expresión de las emociones en el hombre y los animales", escribió sobre la expresión de las emociones como comportamientos sujetos a procesos de evolución. Darwin distinguió a las expresiones faciales como caracterizaciones de las distintas emociones como el dolor, la pena y el gozo, que extendidas hacia peldaños inferiores en la escala zoológica tienen un significado evolutivo importante, puesto que comunican inmediatamente a otros individuos, si una situación particular es fuente potencial de peligro o placer (Darwin, 1872). Darwin fue de los primeros que dirigió la atención a los procesos emotivos. En esta misma época (1878) Pierre Paul Broca, afamado antropólogo y neurólogo sentó las bases anatómicas de lo que él llamaba el "gran lóbulo límbico", refiriéndose al anillo de tejido que forma la pared medial de cada hemisferio cerebral y la circunvolución del hipocampo, así como otras estructuras del cerebro medio. Asimismo, sugirió que este procesa la información y que dicha información es llevada dorsalmente al giro cingulado, donde podría ser que se formaran las asociaciones con dolor y placer (Schiller, 1992).

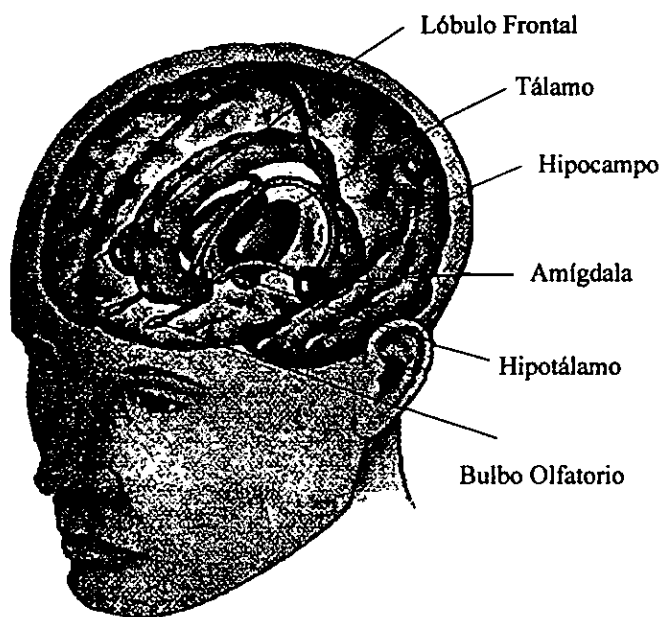
Posteriormente en 1937, Papez (Papez, 1995) relacionó el cerebro límbico con las emociones. En 1952 McLean, (McLean, 1990) expande la visión de este concepto; sugiere que el lóbulo límbico está involucrado en la elaboración de las expresiones de las emociones y acuña el término de sistema límbico para referirse a este circuito funcional. El mismo McLean en 1990 (McLean, 1990), propuso que este lóbulo límbico está constituido por un anillo filogenéticamente antiguo que da el componente emocional de lo que sentimos.

El sistema límbico incluye estructuras corticales: corteza olfativa, formación hipocampal, giro cingulado y giro subcalloso; así como estructuras subcorticales: amígdala, septum, hipotálamo, epítálamo núcleos anteriores del tálamo y parte de los ganglios basales. Ahora es claro, que el sistema límbico no es un área tan bien definida en realidad, pues comparte conexiones directas con numerosas regiones del sistema nervioso central, influenciando mecanismos de conducta, autonómicos y neuroendócrinos (Chapman, 1996; Swanson, 1997). El sistema límbico trabaja en colaboración con otros sistemas cerebrales. Por lo tanto, una teoría completa de la función del sistema límbico puede ser desarrollada sólo en conjunción con un mayor entendimiento del cerebro entero. Debe notarse que aunque mucho de la circuitería límbica se ha identificado, la contribución específica de cada circuito a conductas emocionales y cognoscitivas no han sido bien identificadas hasta el momento (Clark y Boutros, 1999).

El sistema límbico está identificado como un elemento crucial para la explicación de la de los substratos neurales de la emoción. Este sistema es importante en la integración y expresión de las emociones. "Ningún aspecto de nuestra vida mental es más importante que nuestras emociones. Ellas definen quienes somos en nuestro propio ojo mental, así como en los ojos de los demás. Intentos de relacionar la emoción al cerebro son intentos de entender la esencia de la existencia" (LeDoux, 1997). Así, en las investigaciones de dolor el componente emocional debe ser fundamental pues al parecer soporta la adaptación y la supervivencia facilitando aprendizaje, memoria y procesos cognoscitivos relacionados.

Más aún, existen claras evidencias de que los componentes afectivos del dolor contribuyen al aprendizaje operante (estímulos reforzadores) y condicionamiento clásico (asociación de estímulos). La asociación dolor-emoción influencia la memoria (McLean, 1997; LeDoux, 1997). El sistema límbico controla mucha de la formación de la memoria. A mayor emoción mayor aprendizaje. Es increíble que hoy en día, investigadores interesados en los mecanismos de dolor se enfoquen casi exclusivamente a procesos sensoriales, ignorando simplemente la pregunta de porque los disturbios del dolor nos perturban y compelen para buscar alivio.

Existe una fuerte evidencia de que la formación reticular de tallo cerebral y el sistema límbico que reciben proyecciones de componentes espinoreticulares y espinotalámicos de las vías anterolaterales somatosensoriales, juegan un papel particularmente importante en la dimensión afectiva del dolor (Chapman, 1996). La evidencia actual muestra que las estructuras límbicas (Figura 4) además de jugar un papel en muchas otras funciones, proveen una base neural para el componente aversivo y afectivo del dolor (Chapman, 1996; LeDoux, 1997; McLean, 1997). Aunque aún no se han identificado, por completo, las relaciones funcionales y las conexiones entre el procesamiento nociceptivo y el procesamiento límbico, existen evidencias psiquirúrgicas, electrofisiológicas y de imágenes funcionales que apuntan a que uno de los candidatos de integración de la experiencia dolorosa es la corteza anterior del cíngulo (CAC).



**Figura 4.** Principales estructuras del Sistema Límbico (hipocampo, núcleos anteriores del tálamo, amígdala, hipotálamo) y estructuras asociadas a este sistema (bulbo olfatorio y lóbulo frontal. En el lóbulo frontal se encuentra la corteza anterior del cíngulo).

## **CORTEZA ANTERIOR DEL CÍNGULO.**

La corteza del cíngulo esta localizada en la superficie medial del cerebro superior y lateral al cuerpo calloso. Es un componente mayor del sistema límbico y está involucrado en el procesamiento de la información afectiva, cognoscitiva, sensorimotora, visuoespacial, procesos atentos y funciones de aprendizaje y memoria.

La región posterior y la anterior de la corteza del cíngulo son muy diferentes en estructura, conexiones y funciones. La corteza anterior del cíngulo es citoarquitectónicamente agranular, y posee prominentes neuronas piramidales en la lámina cinco que proyectan a muchas partes de los sistemas motores incluyendo la médula espinal dorsal, el núcleo rojo, el estriado, el tallo cerebral, el núcleo pontino y la sustancia gris periacueductal. Está involucrada en las llamadas funciones ejecutivas incluyendo la regulación autonómica y esquelotomora, comportamientos relacionados al afecto y procesos cognoscitivos asociados a los eventos premotores (Devinsky et al., 1995; Vogt, 1997).

La nomenclatura citoarquitectónica de Brodmann para la corteza del cíngulo ha sido usada muy frecuentemente en el último siglo y permanece como la norma para estudios en el cerebro humano. La CAC en todas las especies de mamíferos contiene las áreas: rostroventral 25, rostral 24 y dorsal al cuerpo calloso, y un área de transición de la corteza frontal al cíngulo, el área 32. En la rata a estas regiones se les ha asignado otra nomenclatura. De acuerdo al mapa de Paxinos y cols. (Paxinos y Watson, 1982) se subdivide en: área 2 de la corteza frontal (Fr2), áreas 1-3 de la corteza del cíngulo (Cg1, Cg2 y Cg3) y la corteza infralímbica (IL).

Por no tener una contribución uniforme en la actividad cerebral, la CAC se divide funcionalmente en componente cognoscitivo y afectivo. La división cognoscitiva incluye las áreas 24 caudal y 32 de Brodmann, las áreas motoras del cíngulo que envían información a la médula espinal y también a la corteza nociceptiva involucrada en la selección de respuesta y procesamiento de información para su integración cognoscitiva. Por su parte, la región afectiva incluye las áreas 25, 33 y 24 rostral. Esta división tiene abundantes conexiones con la amígdala y la sustancia gris periacueductal, y parte de éstas se proyectan a los núcleos motores autonómicos del tallo cerebral para regular funciones autonómicas. Más aún, la CAC regula funciones endocrinas; está involucrada en el aprendizaje emocional condicionado, vocalizaciones asociadas a la expresión de estados emocionales, valoración de contenido motivacional y al balance emocional de estímulos externos e internos (Porrino y Goldman-Rakic, 1982).

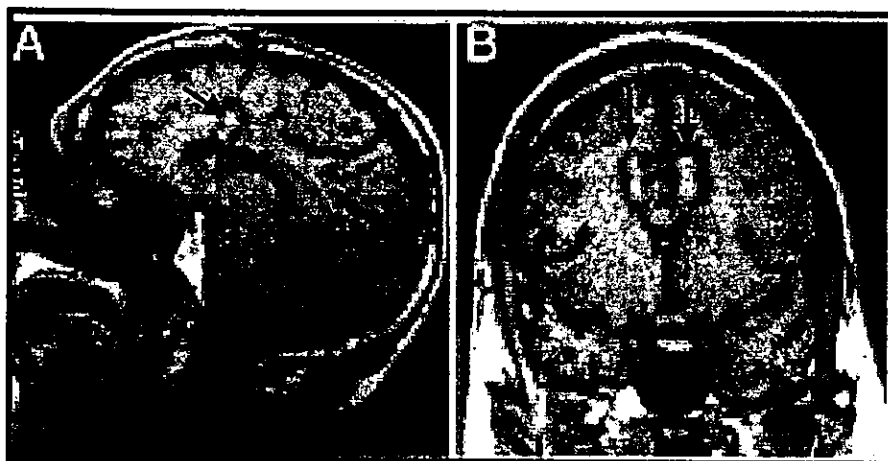
La CAC se encuentra en posición para filtrar y controlar la relación entre el sistema límbico y las estructuras esquelomotoras y autonómicas del sistema nervioso. La CAC está involucrada en el planeamiento de actividad motora (funciones promotoras), la memoria y la selección de respuestas motoras y autonómicas asociadas con la emoción incluyendo, respuestas a estímulos nocivos. La actividad de la CAC ocurre unos milisegundos antes de la ejecución del comportamiento, esto sugiere que participa en la planeación, inicio y ejecución del comportamiento. La CAC junto con los ganglios basales representan el sistema anterior de la atención. Este sistema juega un papel ejecutivo en el control de varias áreas del cerebro para llevar a cabo tareas cognitivas complejas. La CAC no es el sitio anatómico donde se percibe la emoción, pero sí contribuye a la respuesta emocional completa o activación de estados viscerales y somáticos que son importantes en la experiencia de la emoción (Clark y Boutros, 1999).

La CAC es un componente mayor del sistema medial del dolor. La región parece no participar en la localización somatotópica, ya que los estímulos nocivos aplicados en cualquier parte del cuerpo provocan la activación de estas neuronas. La activación generalizada, junto con el hecho que la CAC recibe proyecciones del núcleo talámico medial, hace de la CAC parte del sistema medial del dolor. La CAC parece estar involucrada en valorar el contenido afectivo de estímulos nocivos, en seleccionar una respuesta motora al estímulo, y en el aprendizaje asociado a la predicción y evitación del estímulo. Se ha propuesto que la CAC organiza la respuesta apropiada al dolor. La CAC proyecta al mesencéfalo y sustancia gris periacueductal, un área reconocida en la regulación de la percepción del dolor (Clark y Boutros, 1999).

En general la CAC parece ser crucial en fenómenos de iniciación, motivación y conductas dirigidas a una meta. La actividad excesiva de esta área, como durante una descarga epiléptica, se ha observado que altera los estados de conciencia, estados afectivos, la expresión de las emociones, así como la actividad esquelomotoras y autonómicas. En patologías clínicas se ha descrito que la hiperactividad del cíngulo provoca conductas psicopáticas, sociopáticas así como tics, comportamiento social aversivo, síndromes como el de Gills de la Tourette y trastorno obsesivo compulsivo (Devinsky et al., 1995). Por el contrario, la ausencia o disminución de la actividad del cíngulo, producida por lesiones quirúrgicas o infartos, contribuye a desordenes que incluyen el mutismo aquinético y la disminución en: la percepción de autoconsciencia, la iniciación motora, la depresión, así como la reducción del comportamiento aversivo y la respuesta al dolor (Foltz y White, 1962).



La evidencia de que el cíngulo está relacionado con el procesamiento de las emociones fue establecida por Papez en la década de los 30. Por más de cuatro décadas se ha utilizado la ablación de la CAC (cingulectomía) o la sección del haz del cíngulo (cingulotomía) en el manejo de pacientes con cáncer, así como para pacientes con dolor crónico, que presentan dolor refractario al tratamiento farmacológico. También se ha utilizado en pacientes psiquiátricos con trastornos de neurosis obsesivo compulsiva y en pacientes con depresión. Los pacientes con cingulotomía reportan que pueden identificar la fuente de la estimulación sensorial nociva en su cuerpo, pero el dolor ya no les importa, es decir pierde el dolor su cualidad de alarma desagradable (Foltz y White, 1962) (Figura 5). Estos hechos ponen de manifiesto el importante papel que juegan estructuras prefrontales, como la corteza del cíngulo en el matiz afectivo de procesos relacionados con dolor persistente (Davis et al., 1994; Hassenbusch et al., 1990; Hurt y Ballantine, 1974).



**Figura 5.** Cingulotomía. Procedimiento quirúrgico en el que se lesiona o secciona la corteza del cíngulo. La flecha ( → ) indica el lugar en el que se realizó la lesión por radiofrecuencia en este paciente. A. Corte Sagital de la imagen de resonancia magnética del cerebro del paciente al que se le realizó la cingulotomía. B. Corte Coronal de la imagen de resonancia magnética del mismo paciente.

Recientemente, en estudios de dolor con tomografía por emisión de positrones y resonancia magnética funcional, se ha mostrado la activación de la CAC en respuesta a diferentes estímulos nocivos (Casey et al., 1994). Como ejemplo de estos trabajos tenemos el de Rainville, que observa aumento de la actividad de la CAC, cuando los pacientes reportan una asociación displacentera con un estímulo térmico (Rainville et al., 1997). Asimismo, Craig y cols. en otra investigación, destacan la importancia de la CAC como componente en el procesamiento de lo desagradable de la información dolorosa, al ver activada esta área en un individuo al cual se le presenta una ilusión sensorial no algésica, pero que el individuo reporta como dolorosa (Craig et al., 1996).

En experimentos con animales no humanos, las lesiones y estimulaciones de la CAC han arrojado resultados interesantes. Se ha visto que la lesión o interrupción funcional de la CAC provoca la disminución de la sensación al dolor y por otro lado, su activación provoca el aumento de la sensación nociceptiva, evaluada a través de la conducta de autotomía (Vaccarino y Melzack, 1991; Vaccarino y Melzack, 1989). Asimismo, la estimulación previa y simultánea a un proceso inflamatorio crónico, facilita la conducta de autotomía (Pellicer et al., 1999a). También se ha observado que hasta un 70% de las neuronas de la CAC responden a estímulos nociceptivos (Pirrot et al., 1996). Otros experimentos han mostrado además que algunas neuronas de esta área responden a estímulos nociceptivos eléctricos, mecánicos, térmicos y químicos, tanto de forma contralateral, como ipsilateral al lado de la estimulación. Aunado a esto, es importante hacer notar que la CAC también ha sido asociada al procesamiento de información atenta y de preparación motora en múltiples estudios (Derbyshire et al., 1998).

Todos estos fenómenos bien podrían estar activando un complejo de redes neuronales para la preparación y respuesta, como procesos aislados o bien relacionados con la diversidad de las respuestas a estímulos nocivos. Esto indica la alta complejidad y selectividad de la CAC al procesamiento de información nociceptiva asociada al componente afectivo cognoscitivo del dolor.

Por otro lado, una de las estructuras estrechamente relacionadas con el sistema límbico es el ATV, cuyas proyecciones dopaminérgicas hacia la CAC, son de interés para el estudio del dolor, como se muestra en el presente trabajo.

## ÁREA TEGMENTAL VENTRAL.

Los ganglios basales (GB) han sido tradicionalmente involucrados casi de manera exclusiva con el control del movimiento (Hall y Robinson, 1998; Mink, 1999). Sin embargo, en estudios neurofisiológicos, clínicos y conductuales recientes se indica que los GB procesan la información somatosensorial nociva y no nociva (Chudler y Dong, 1995). Aunque su significado funcional no está del todo clara, ahora es ampliamente aceptado que los GB contribuyen a una variedad de funciones conductuales cognoscitivas y de procesos límbicos, aunados además a la regulación del control motor (planeamiento y producción) (Mink, 1999), incluyendo el control oculo-motor, (Crutcher, 1997).

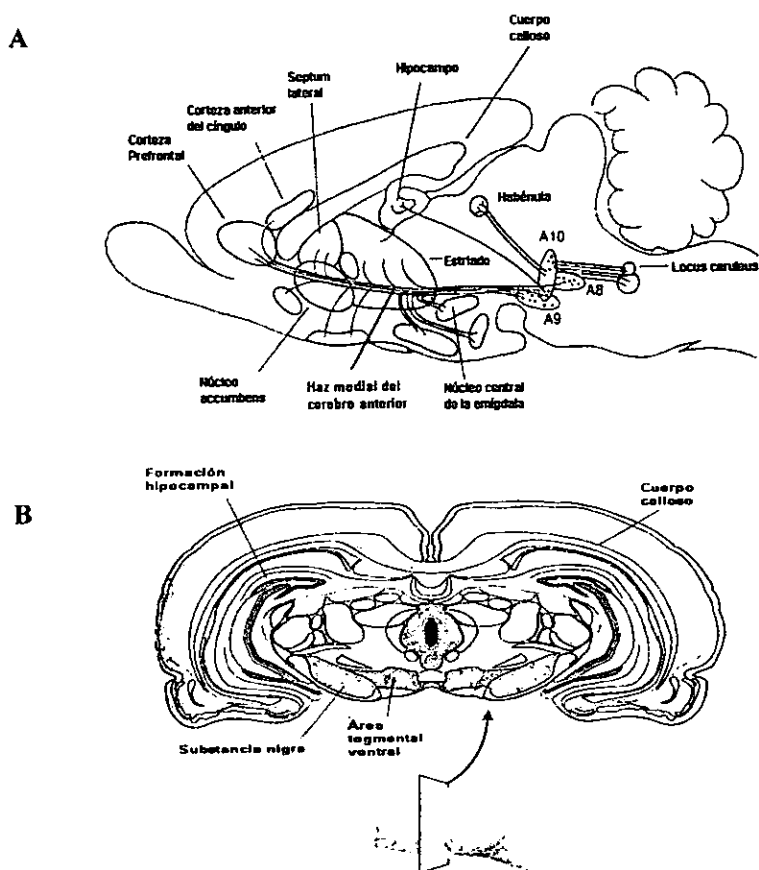
Los GB están conformados por muchos componentes. Los componentes tradicionales de los GB son el globus pallidus, el putamen y núcleo caudado (Crutcher, 1997). Por sus similitudes en origen embriológico, citología y conectividad, otros núcleos se han considerado como parte de los GB. Los núcleos incluyen núcleo accumbens, partes del tubérculo olfativo ,pallidum ventral, núcleo subtalámico, substancia nigra (Crutcher, 1997) y recientemente, área tegmental ventral (ATV) (Clark y Boutros, 1999). Aunque muchos consideran al ATV como parte del cerebro medio, y las demás estructuras del GB son parte del cerebro anterior, las estructuras del los GB están íntimamente ligadas al ATV en términos anatomofuncionales (Crutcher, 1997).

El ATV contiene al grupo A10 de neuronas dopaminérgicas que consiste de un pequeño grupo heterogéneo de células que subyacen juntas, cerca de la línea media en la base del tegmentum del cerebro medio (mesencéfalo) (Oades y Halliday, 1987). Aparece como una extensión ventromedial de la substancia nigra compacta, por lo que también se le ha identificado dentro del "complejo nigral" (Clark y Boutros, 1999). Las neuronas del ATV han sido agrupadas en diferentes núcleos: el núcleo paranigralis, el núcleo interfascicularis, el núcleo parabrachialis pigmentosus y el núcleo linearis rostral y caudal. Cerca de sus bordes poco definidos se encuentran neuronas dopaminérgicas (A8, A9- substancia nigra, A11- grupos de células talámicas) y neuronas que contienen 5-HT (B8). El ATV ha sido localizado en peces y aves. También, en mamíferos que van de los roedores al hombre (rata, conejo, perro, gato, primates no-humanos y el hombre) se ha encontrado una gran similitud en este núcleo.

Alrededor y a través del núcleo A10 pasan fibras de naturaleza noradrenérgica, serotoninérgica, peptidérgica y dopaminérgica (Oades y Halliday, 1987). El ATV proyecta fibras neuronales a una gran variedad de núcleos. Setenta porciento de las proyecciones del ATV son dopaminérgicas cuyas principales terminales están en: amígdala, neocórtex, septum lateral, núcleo accumbens (Na) . tubérculo olfativo, corteza olfatoria ,corteza prefrontal (CPF) y corteza del

cíngulo. Dentro de las conexiones eferentes dopaminérgicas del ATV se han distinguido dos diferentes sistemas por su distribución y función : i) Sistema mesolímbico: que proyecta del ATV al componente medial del sistema límbico, el Na, el núcleo de la estria terminalis, los núcleos de la amígdala, el hipocampo, el núcleo septal lateral y medial frontal, la CAC y la corteza etorrinal; y ii) Sistema mesocortical: con proyecciones a la neocorteza, y más densamente a la corteza prefrontal, área involucrada en la motivación, la planeación, la organización temporal del comportamiento, la atención y la conducta social. Estos dos sistemas se han asociado a síntomas de diferentes enfermedades neurológicas y psiquiátricas como: esquizofrenia, Parkinson, Gills de la Tourette, trastorno obsesivo compulsivo etc. (Kandel et al., 1991). Estas evidencias anatomofuncionales muestran que el sistema dopaminérgico del ATV está en una posición clave para jugar un papel importante en las relaciones fisiológicas entre el sistema límbico, los ganglios basales y la corteza.

El ATV tiene proyecciones dopaminérgicas muy importantes a la CAC (láminas II a V) por el sistema mesolímbico y mesocortical, así como a través del haz medial del cerebro anterior (hmca) (Carlson, 1998; Kandel et al., 1991; Mantz et al., 1988). Este mismo haz de fibras de pequeño diámetro y no mielinizadas que también proyecta fibras noradrenérgicas (NA) al complejo hipotalámico, los GB, el septum lateral y el núcleo amigdalino medial, ha sido involucrado en procesos de reforzamiento y estrés (Carlson, 1998; Chapman, 1996; Franklin, 1989; Kandel et al., 1991). La mayoría de las fibras del ATV ascienden por medio de este haz de fibras. Figura 6.



**Figura 6.** Representación esquemática del cerebro de rata **A.** Sistemas mesolímbico y mesocortical dopaminérgico que tienen como origen el A10. Conexiones neurales del ATV con otros grupos neuronales (Locus ceruleus, habénula, núcleo central amigdalino, septum lateral, estriado, núcleos A8 y A9, hipocampo, corteza prefrontal y CAC; y una estructura de referencia (cuerpo calloso). Kandel et al., 1991; **B.** Corte coronal que muestra la localización neuroanatómica del área tegmental ventral en relación con otras estructuras cerebrales (cuerpo calloso, hipocampo y substancia nigra). Carlson 1998.

Por otro lado, el ATV recibe una muy diversa y prolífica cantidad de información principalmente de las siguientes estructuras: el núcleo rafe, los núcleos catecolaminérgicos ( A1, A5, A6, A7, A8 y A10), el cerebelo, el locus coeruleus, los núcleos oculomotores, la habénula, el hipotálamo, el tálamo medial dorsal, el núcleo rojo, el tubérculo olfatorio, la sustancia innominata, la amígdala, la estria terminalis, el estriado, el Na, el cíngulo, las cortezas infralímbicas (área 25) y la corteza frontal medial (área 32). También recibe proyecciones de la sustancia nigra (SN), la corteza entorrinal, el hipocampo y las fibras del fornix. Muchas de estas estructuras muestran conexiones recíprocas con el ATV.

En estudios anatómicos se muestra claramente que el ATV en general y sus proyecciones dopaminérgicas en particular están estratégicamente organizadas para influenciar la función neural integrativa de diversas regiones del cerebro (Oades y Halliday, 1987). Se le han atribuido diferentes funciones al ATV en diferentes procesos como: el reforzamiento (Carlson, 1998; Clark y Boutros, 1999), la adicción (Franklin, 1989), el estrés (Kandel et al., 1991; Altier y Stewart, 1996) y la relación dolor-analgésia. En este último rubro existe evidencia experimental que señala el claro papel del ATV en la modulación antinociceptiva principalmente atribuible a su carácter dopaminérgico. (Altier y Stewart, 1993).

En experimentos dentro del campo del dolor en los que se ha estimulado eléctricamente el ATV se ha encontrado que las respuestas nociceptivas disminuyen en distintos modelos de dolor agudo y crónico (Saadé et al., 1997). En ratas neurectomizadas, se ha observado que la autoestimulación del ATV causa disminución de la conducta de autotomía (Sarkis et al., 1984), aunque en otro trabajo no se obtuvieron diferencias (Gorea y Lombard, 1984). Se ha reportado que la estimulación eléctrica del ATV incrementa el umbral de la respuesta conductual a la estimulación nociceptiva mecánica (Mayer y Price, 1976) y nociceptiva térmica en la rata (Millan et al., 1987). Mas aún, en cuanto a la relación que guarda con la CAC, existe evidencia electrofisiológica de que el 73 % de la actividad espontánea e inducida de neuronas nociceptivas en la CAC son susceptibles de inhibición por medio de la estimulación eléctrica del ATV (Godbout et al., 1991; Mantz et al., 1988; Mantz et al., 1989; Pirot et al., 1996). Asimismo, se ha encontrado que la estimulación periférica mecánica nociva incrementa la expresión de c-fos (Ma et al., 1993a; Ma et al., 1993b; Smith et al., 1997) e inhibe el 37 % de las células del ATV (Hentall et al., 1991). En cuanto a la aplicación iontoforética de dopamina en el ATV se ha mostrado la disminución de la actividad del 53% de las neuronas de la corteza prefrontal (Godbout et al., 1991). De igual manera, se ha reportado que con la aplicación local de sustancia P, es posible aumentar la actividad de 83% de las células del ATV (West y Michael, 1991). También se ha visto que con la aplicación de

agonistas opiodes , (Manning et al., 1994) y factor liberador de corticotropina (Kalivas et al., 1987) en el ATV, se incrementa la actividad de locomoción y el metabolismo dopaminérgico.

Por el contrario, la lesión del ATV induce un incremento en la conducta de auto mutilación (Gorea y Lombard, 1984; Saadé et al., 1997), aumento en la respuesta conductual en pruebas de dolor agudo (Saadé et al., 1997), potenciación y aceleramiento de la conducta de auto lesión (Pellicer et al., 1999b). En otro contexto, también se ha encontrado que las neuronas dopaminérgicas del ATV median la analgesia inducida por el estrés (Altier y Stewart, 1993; Altier y Stewart, 1996; Enrico et al., 1998).

## DOPAMINA.

Existen varios reportes que sugieren la importancia de los sistemas catecolinérgicos del cerebro en el dolor crónico, disestesias y conductas de auto lesión (Levitt, 1985). Es sabido que la cafeína potencia la acción farmacológica de las catecolaminas y actúa como analgésico a bajas dosis, sin embargo, puede inducir el incremento de la sensibilidad dolorosa y reactividad en ratas a dosis altas (citado en Levitt, 1985). Por otro lado, la efectividad en el alivio del dolor crónico conferida por algunos fármacos psicotrópicos (particularmente antidepresivos) que tienen como mecanismo de acción la inhibición de la recaptura de las aminas, está dada por la acción dopaminérgica en los fenómenos antialgésicos relacionados con procesos cognoscitivo afectivos (Ertas et al., 1998). La dopamina (DA) *per se* (Figura 6), ha sido involucrada como un importante elemento en la modulación del dolor. Por ejemplo, se ha mostrado extensivamente la eficacia de la administración sistémica de levodopa (precursor dopaminérgico) para el tratamiento de diversas condiciones dolorosas crónicas como herpes, dolor por cáncer, dolor en pacientes con enfermedad de Parkinson y otros dolores neuropáticos (Ertas et al., 1998). Sin embargo, en ratas se ha reportado que la L-dopa (levodopa) tiene efectos paradójicos, donde a dosis bajas facilita ligeramente el dolor y a altas dosis provoca, después de una hiperalgesia, una respuesta antinociceptiva (Paalzow, 1992). Se ha observado que la administración de agonistas dopaminérgicos (anfetamina, cocaína, apomorfina), además de evocar hiperactividad y estereotipias conductuales, como morderse o movimientos circulares repetitivos (St-Pierre y Bédard, 1995), provocan analgesia (Akil y Liebeskind, 1975), a tal grado que la administración de anfetamina o cocaína se ha establecido como un modelo para evaluar otros fármacos en condiciones dolorosas (Lin et al., 1989). Paradójicamente se ha reportado que agonistas dopaminérgicos también producen disminución en las conductas antialgésicas asociadas a estímulos nocivos en modelos animales de algesia supraespal (Lyerly et al., 1988). Mas aún, en un trabajo con ratas deaferentadas se encontró que era posible disminuir la conducta de auto mutilación con la administración oral de anfetamina. De igual manera, se ha observado que la inyección de DA intra ventricular aumenta la respuesta conductual analgésica y niveles bajos de DA reducen la analgesia inducida por morfina (Gorey y Lombard, 1984). Por el contrario, la administración de antagonistas dopaminérgicos (haloperidol, pimozide) en ratas, ha mostrado tener un efecto algogénico (Klockgether et al., 1988); o bien, la reducción de conductas relacionadas a la analgesia (Akil y Liebeskind, 1975). Existen muchos trabajos que invitan a profundizar en la investigación de la relación dolor-analgesia de la dopamina, puesto que se ha reportado un posible efectos dosis-dependiente (Grupta et al., 1989) o ningún efecto en algunos núcleos de los GB (Altier y Stewart, 1993).



Todas estas evidencias muestran de manera clara el importante papel del ATV en la nocicepción y en la actividad dopaminérgica de la CAC, que a su vez constituye una parte fundamental del componente afectivo cognoscitivo del dolor.

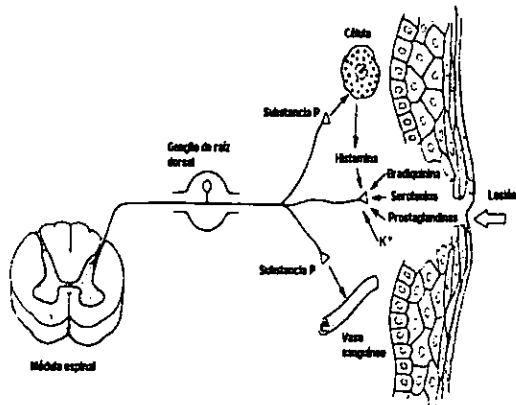
Estas evidencias propiciaron que el presente trabajo se dirigiera hacia la investigación del papel ATV, como parte del sistema dopaminérgico mesolímbico que proyecta al CAC, y la actividad de la dopamina *per se* en la CAC, en un modelo de dolor crónico inducido por la infiltración de CAR en la pata de la rata, evaluado con la CAL.

Aunque el procesamiento de la información del componente afectivo del dolor está gobernado por muchos neurotransmisores y la intervención de diversas vías neurales, la dopamina en particular parece jugar un papel relevante. En esta tesis se hace énfasis en la importancia del sistema mesolímbico dopaminérgico en la compleja experiencia afectiva del dolor.

## ANEXO – INFLAMACIÓN -

La inflamación localizada de un tejido en respuesta a una lesión, produce cambios locales en el volumen (edema), coloración rojiza, calor y dolor. Muchos estímulos pueden provocar inflamación, incluidos el impacto, la abrasión, la irritación química, la infección de patógenos o las temperaturas extremas (caliente o frío). El factor común es que cada uno de estos estímulos mata a las células y daña fibras del tejido conectivo. Estos cambios alteran la composición química del fluido intersticial. Células dañadas liberan prostaglandinas, proteínas (heparina etc.), iones de potasio, y la lesión en sí puede introducir proteínas extrañas al cuerpo y patógenos. A este tiempo se da también dilatación de las venas, incrementando en el flujo de sangre y aumento de permeabilidad en las mismas. Los cambios en el ambiente intersticial disparan un complejo proceso llamado respuesta inflamatoria. El proceso inflamatorio promueve que se dé una reparación temporal en el lugar del daño, previniendo el acceso a otros patógenos. También provoca una dispersión lenta de patógenos lejos del sitio de lesión y finalmente provoca que se movilicen defensas locales, regionales y sistemáticas para facilitar la regeneración (Martini, 1998). Figura 7.

**Figura 7.** Proceso inflamatorio. Mediadores químicos pueden sensibilizar las terminaciones nociceptivas. La lesión o el daño tisular libera mediadores químicos que activan y sensibilizan nociceptores. La activación de nociceptores lleva a la liberación de sustancia P y otros péptidos. La sustancia P actúa en células vecinas que provocan la excitación de los nociceptores. La sustancia P también produce vaso dilatación y el resultante edema causa mas liberación de bradiquinina. Kandel *et al*, 1991.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de la importancia del dolor crónico en medicina y biología, el componente afectivo involucrado no ha sido analizado con precisión hasta el momento. Existe evidencia sustancial psicoquirúrgica, electrofisiológica y de imágenes funcionales que apuntan a que uno de los candidatos para la integración de la experiencia afectiva dolorosa es la corteza anterior del cíngulo, componente mayor del sistema medial del dolor. En animales de experimentación se ha reportado que el bloqueo del haz del cíngulo con anestésicos locales, retarda la aparición de la autotomía (Vaccarino y Melzack, 1989). Por el contrario, nuestro grupo reportó la facilitación de la conducta de auto lesión mediante la estimulación eléctrica del haz del cíngulo, previa y simultáneamente a la inducción de un proceso inflamatorio crónico (Pellicer et al., 199a). Para definir el papel de la corteza anterior del cíngulo en el procesamiento de la información nociceptiva es necesario determinar las estructuras cerebrales, sus proyecciones y los neurotransmisores involucrados en la emisión y modulación de información a este componente mayor del sistema límbico. En esta tesis se propone la participación del ATV y la actividad de la dopamina, en la emisión y modulación de la información nociceptiva a la CAC.

## HIPÓTESIS GENERAL

Todo lo anterior nos permitió postular las siguientes hipótesis.

a) La activación de la corteza anterior del cíngulo mediante un proceso de dolor crónico inflamatorio desencadena la conducta de auto lesión.

b) La activación reiterada y por tiempos prolongados del sistema mesolímbico dopaminérgico, ya sea por estimulación eléctrica de la estructura donde se origina este sistema (ATV) o por la actividad local de la dopamina en la CAC, disminuye la excitabilidad en las neuronas de esta área de la corteza (evocada por un proceso de dolor crónico inflamatorio), lo que se refleja en una disminución de la conducta de auto lesión.

Para probar o refutar las hipótesis mencionadas, en el presente estudio se llevaron a cabo las series de experimentos que a continuación se describen.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de la importancia del dolor crónico en medicina y biología, el componente afectivo involucrado no ha sido analizado con precisión hasta el momento. Existe evidencia sustancial psicoquirúrgica, electrofisiológica y de imágenes funcionales que apuntan a que uno de los candidatos para la integración de la experiencia afectiva dolorosa es la corteza anterior del cíngulo, componente mayor del sistema medial del dolor. En animales de experimentación se ha reportado que el bloqueo del haz del cíngulo con anestésicos locales, retarda la aparición de la autotomía (Vaccarino y Melzack, 1989). Por el contrario, nuestro grupo reportó la facilitación de la conducta de auto lesión mediante la estimulación eléctrica del haz del cíngulo, previa y simultáneamente a la inducción de un proceso inflamatorio crónico (Pellicer et al., 199a). Para definir el papel de la corteza anterior del cíngulo en el procesamiento de la información nociceptiva es necesario determinar las estructuras cerebrales, sus proyecciones y los neurotransmisores involucrados en la emisión y modulación de información a este componente mayor del sistema límbico. En esta tesis se propone la participación del ATV y la actividad de la dopamina, en la emisión y modulación de la información nociceptiva a la CAC.

## HIPÓTESIS GENERAL

Todo lo anterior nos permitió postular las siguientes hipótesis.

- a) La activación de la corteza anterior del cíngulo mediante un proceso de dolor crónico inflamatorio desencadena la conducta de auto lesión.
- b) La activación reiterada y por tiempos prolongados del sistema mesolímbico dopaminérgico, ya sea por estimulación eléctrica de la estructura donde se origina este sistema (ATV) o por la actividad local de la dopamina en la CAC, disminuye la excitabilidad en las neuronas de esta área de la corteza (evocada por un proceso de dolor crónico inflamatorio), lo que se refleja en una disminución de la conducta de auto lesión.

Para probar o refutar las hipótesis mencionadas, en el presente estudio se llevaron a cabo las series de experimentos que a continuación se describen.

## EXPERIMENTO A

### ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL ÁREA TEGMENTAL VENTRAL

#### OBJETIVO:

Determinar si la estimulación eléctrica diaria en el área tegmental ventral, durante 6 días, modifica la conducta de auto lesión evocada por un proceso de dolor crónico inflamatorio.

#### HIPÓTESIS PARTICULAR:

La activación reiterada y por tiempos prolongados del área tegmental ventral provoca la inhibición de las neuronas de la corteza anterior del cíngulo (activadas por un proceso de dolor crónico inflamatorio), lo cual se refleja en una disminución de la conducta de auto lesión. Figura 8.

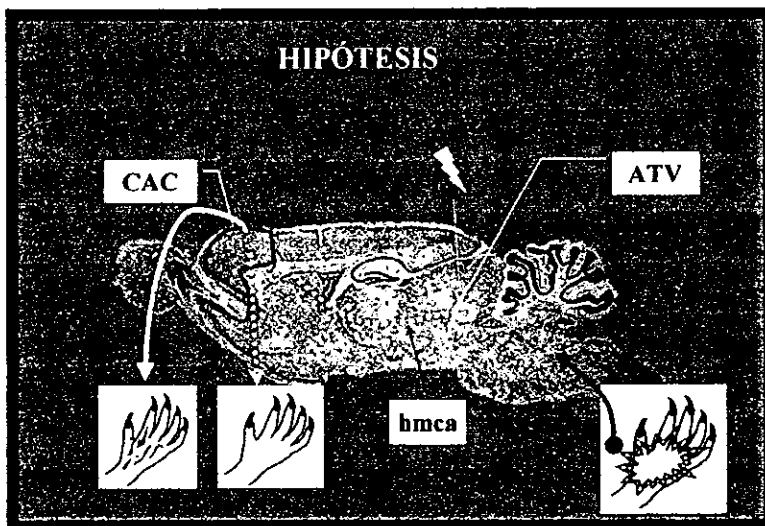



Figura 8. Representación esquemática de la hipótesis del efecto de la estimulación eléctrica del ATV sobre el dolor crónico evaluado por la CAL. Corte sagital de cerebro de rata. Donde  es la estimulación eléctrica; Área Tegmental Ventral (ATV); Corteza Anterior del Cíngulo (CAC) y el haz medial del cerebro anterior (hmca). La inflamación de la pata de la rata provoca de manera "normal" la CAL (→). La hipótesis consiste en que la estimulación eléctrica del ATV, cuya información se transmite por el hmca a la CAC, provoca un proceso analgésico, evaluado en esta tesis por la CAL (←...→).

## MATERIAL Y MÉTODO:

Los experimentos que se presentan en esta tesis fueron llevados a cabo de acuerdo con los lineamientos éticos de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (Zimmerman, 1983), y aprobados por los comités de Investigación y de Ética del Instituto Mexicano de Psiquiatría.

### *Preparación experimental*

Se utilizaron ratas Wistar macho (250-350 g) (n=24). A 16 de las 24 ratas se les implantaron estereotáxicamente electrodos bipolares dirigidos al ATV (A: 4.2 mm; H: 1.6 mm; L: -1.0 mm) (Paxinos y Watson, 1982). El electrodo se fijó a la superficie del cráneo con acrílico dental. El procedimiento quirúrgico se realizó bajo anestesia con pentobarbital sódico (60 mg/kg). Después de la cirugía y en los siguientes días del experimento, los animales se colocaron individualmente en cajas de acrílico transparente, bajo condiciones de luz-oscuridad con ciclos de 12 horas y con alimentación e hidratación *ad libitum*. El periodo de recuperación después de la cirugía fue de 84 hrs en promedio para todos los animales.

### *Estimulación Eléctrica*

La estimulación se inició inmediatamente después de la infiltración de CAR. Los parámetros de estimulación fueron: pulsos rectangulares monofásicos de 0.2 ms a 100 Hz, durante 1 s cada 5 s, por 20 min diarios. La corriente utilizada fue ajustada para cada animal. El promedio de la corriente utilizada fue de 100  $\mu$ A. La cantidad de corriente para cada animal fue fijada a 10 microampers ( $\mu$ A) por debajo del umbral, definido como cualquier manifestación motora como parpadeo, guiño de un ojo o congelamiento del movimiento. Cada animal fue estimulado individualmente, a la misma hora, dentro de cajas de acrílico transparentes para la mejor observación de la conducta durante la estimulación.

El patrón de estimulación que se utiliza en el experimento obedece principalmente a que este mismo parámetro fue utilizado previamente con buenos resultados por nuestro grupo en otros experimentos (Pellicer, 1999a). También se escogió dicho patrón de estimulación dado que existe gran variedad de patrones de estimulación en la literatura y nuestro patrón de estimulación parece conveniente ya que se observa una respuesta motora inmediata que refleja la estimulación del ATV.

### *Inducción del proceso inflamatorio*

El proceso inflamatorio se indujo mediante la infiltración de carragenina (CAR) lambda intraplantar (Sigma Chemical , Co, USA; 250  $\mu$ l, al 1% en solución salina), inyectada subcutáneamente en la palma de la pata trasera derecha, contralateral al sitio del electrodo de estimulación. Se registró diariamente la medición del perímetro plantar a nivel del metatarso utilizando un hilo y aproximando la medición al milímetro más cercano (Fletcher et al., 1996). La medición se realizó antes de la aplicación de la CAR, inmediatamente después y cada 24 hrs en los siguientes 7 días.

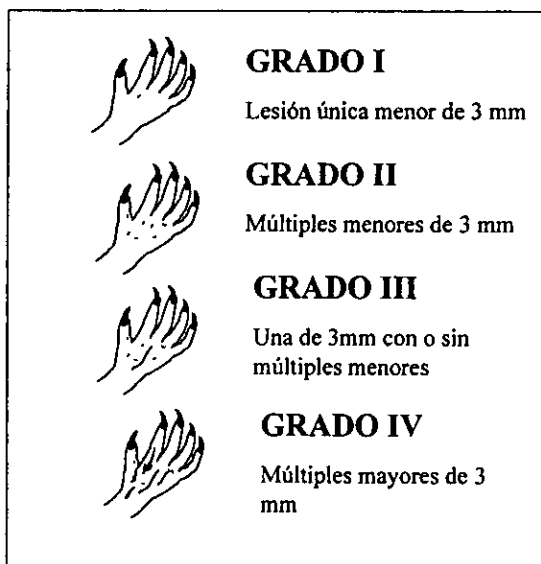
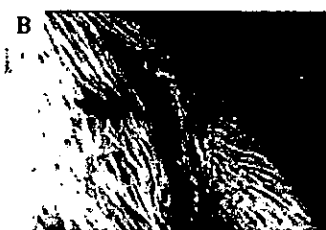
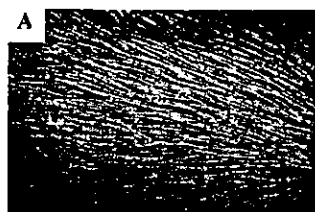
### *Grupos*

Se conformaron tres grupos: grupo experimental (Est ATV; n=8) que fue implantado, infiltrado con el agente inflamatorio y estimulado eléctricamente. Dos grupos controles: el grupo "falso control" o Sham (n= 8) implantado e inyectado pero no estimulado; y por último el grupo "control verdadero" o Naive (n=8) al que únicamente se le indujo el proceso inflamatorio.

### Clasificación de la Conducta de Auto Lesión

Para el análisis de la intensidad de la CAL se establecieron cinco grados con base en la extensión y la multiplicidad de las lesiones. Grado 0: sin lesión; Grado I: lesión única menor de 3 mm en el eje longitudinal mayor; Grado II: lesiones múltiples menores de 3 mm en el eje longitudinal mayor; Grado III: lesión única mayor de 3 mm en el eje longitudinal mayor, con o sin múltiples lesiones menores; Grado IV: múltiples lesiones mayores de 3 mm en el eje longitudinal mayor (Figura 9). La aparición, grado y progresión de las lesiones fueron registrados diariamente durante 7 días.

### GRADOS DE LESIÓN

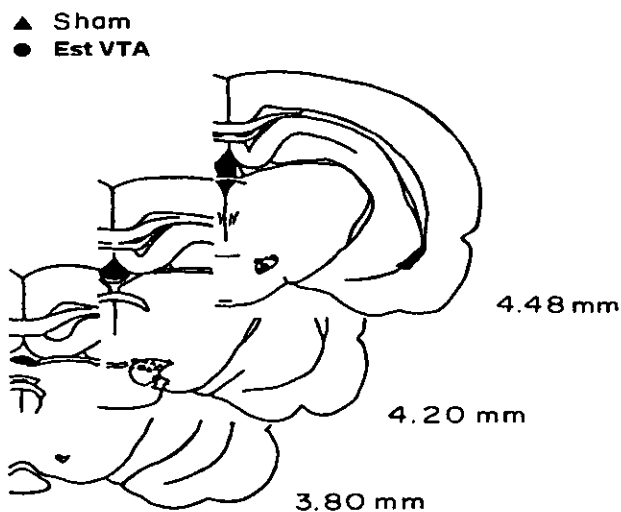


**Figura 9.** Clasificación de la Conducta de Auto Lesión (CAL). Se establecieron cuatro grados para el análisis de la intensidad de la CAL con base en la extensión y multiplicidad de las lesiones. A. Imágen fotográfica de acercamiento de la pata de la rata, en la que se muestra la apariencia de la pata 24 hrs después de la inyección de carragenina (no hay lesión: Grado 0). B. Imágen fotográfica de acercamiento a la pata de la rata a las 24 hrs después de la inyección de carragenina. En esta fotografía se puede observar una lesión típica de Grado III.



### Verificación Histológica

Para la verificación de la localización del sitio de implante del electrodo de estimulación, se utilizó la técnica de procedimiento rápido (Sánchez-Álvarez et al., 1988). Los animales fueron anestesiados (pentobarbital sódico: 65 mg/kg), perfundidos (ic) con solución salina fisiológica, seguido por formaldehído al 10 % en solución fisiológica. El cerebro de cada animal fue removido, para ser fijado durante dos días antes del procedimiento histológico. Únicamente se incluyeron en el análisis de datos los electrodos que se encontraran en el ATV. La localización de las marcas hechas por las puntas de los electrodos se muestra en la Figura 10.



**Figura 10.** Esquema de cortes cerebrales que muestran la localización de las marcas hechas por las puntas de los electrodos, tomando en cuenta la anterioridad (mm) con respecto a bregma del mapa estereotáxico de Paxinos y Watson, 1982.

### *Análisis Estadístico*

Mediante el registro diario de los grados de la CAL obtuvimos la proporción de la incidencia (número de animales que presentaron la conducta sobre el total de animales de ese grupo), el día promedio de inicio de la conducta y la CAL acumulada; calculada como el promedio de los grados de CAL por día por cada grupo, sumado con el promedio del día anterior, tomando en cuenta la clasificación de cinco grados de la CAL.

Para el análisis de la incidencia se utilizó la prueba exacta de proporciones de Fisher. Los datos de inicio de la CAL fueron analizados usando la prueba de t de Student. Los datos de CAL acumulada primero fueron transformados a logaritmo con el fin de poder ser procesados por una prueba paramétrica (t de Student). Para el análisis de la intensidad de la CAL (Gráfica de Evolución de CAL) se utilizó la prueba de análisis de varianzas para muestras repetidas (MANOVA) con una transformación logarítmica previa de los datos. Mediante esta prueba se obtuvieron las diferencias entre tratamientos así como diferencias entre días. Como análisis posterior para definir la diferencia entre días por grupo se utilizó una prueba de t de Student.

En el caso de la evolución del proceso inflamatorio se tomó el incremento del perímetro plantar sobre la medición basal obteniéndose así un porcentaje, estos datos se analizaron mediante una MANOVA.

Se observaron las conductas desplegadas por los animales durante el proceso de estimulación eléctrica, diariamente por siete días.

## RESULTADOS

### EFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL ÁREA TEGMENTAL VENTRAL EVALUADO MEDIANTE LA CONDUCTA DE AUTO LESIÓN.

Los animales estimulados en el ATV presentaron una incidencia del 50% (4/8) en la CAL. En contraste, los grupos control presentaron una incidencia mayor; en el grupo Sham 75% (6/8) y en el grupo Naive 87% (7/8) de los sujetos. Sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas, entre ninguno de los grupos, en esta variable evaluada de la CAL (Tabla 1, Gráfica 1).

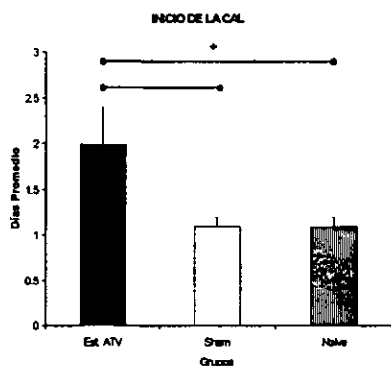
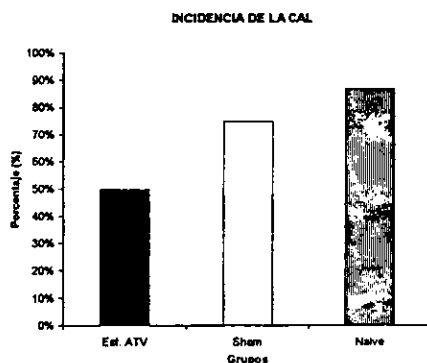
Con respecto al inicio de la CAL, se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el grupo Est. ATV (2.0 +/-0.4) y el grupo Naive (1.14 +/-0.1) ( $p=0.038$ ), lo que evidencia un retraso de 24 hrs en la aparición de la CAL. Sin embargo, el grupo Sham (1.16 +/-0.1) ( $p=0.060$ ) no mostró diferencias significativas con respecto al grupo Est. ATV (Tabla 1, Gráfica 2).

En cuanto a la variable de la CAL acumulada, se encontraron diferencias significativas en la comparación del grupo experimental *versus* los controles. Se presentó un promedio menor de la CAL acumulada en el grupo Est. ATV (0.6 +/-0.2), que en los grupos controles: Sham (1.6 +/- 0.5) ( $p=0.0487$ ) y Naive (2.2 +/- 0.4) ( $p= 0.003$ ). (Tabla 1, Gráfica 3).

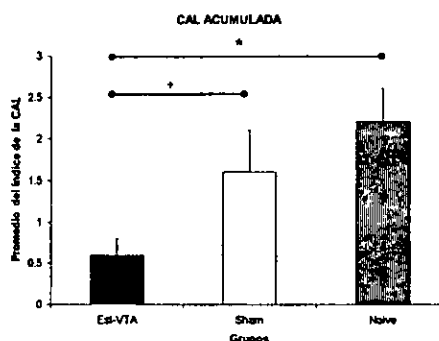
GRUPOS	N	INCIDENCIA DE LA CAL (En 7 días)		INICIO DE LA CAL (Días +/- E.E.)	GRADO MÁXIMO DE LA CAL (a 7 días) (+/- E.E.)
EST. ATV	8	4/8	50%	2.0 (+/-0.4) <sup>b</sup>	0.6 (+/- 0.2) <sup>a</sup>
SHAM	8	6/8	75%	1.1 (+/- 0.1) <sup>b</sup>	1.6 (+/- 0.5) <sup>a</sup>
NAIVE	8	7/8	87%	1.1 (+/- 0.1) <sup>b</sup>	2.2 (+/- 0.4) <sup>a</sup>

**Tabla 1. Resultados de las Variables de la CAL en el experimento de Estimulación Eléctrica diaria del ATV.** En la comparación de los dos grupos control (Sham= "falso operado" y Naive= "control verdadero) vs el experimental (Est. ATV), en las distintas variables, se aprecian tendencias y resultados de diferencias estadísticamente significativas. En la variable de incidencia se observa una diferencia menor del grupo experimental. El grupo experimental refleja una tendencia de una mayor incidencia que la de los grupos control. La diferencia es de 15% con respecto al grupo control Sham y 27% con respecto al grupo Naive. Sin embargo, estas tendencias no son estadísticamente significativas mediante la prueba exacta de proporciones de Fisher. En el inicio de aparición de la CAL, los resultados muestran un retraso de un día del grupo experimental. Se muestran las diferencias estadísticas (prueba de t de Student) Est. ATV vs Naive (+)( $p \leq 0.05$ ) y Est. ATV vs Sham<sup>b</sup> (\*) ( $p \leq 0.05$ ); resultados +/- error estándar (E.E.). Los resultados de la variable del grado máximo de la CAL a los 7 días del experimento muestran que el grupo experimental alcanzó una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los grupos control; Est. ATV vs Sham (+) y Est. ATV vs Naive<sup>a</sup> (\*) (prueba de t de Student  $p \leq 0.05$ ).

Gráfica 1



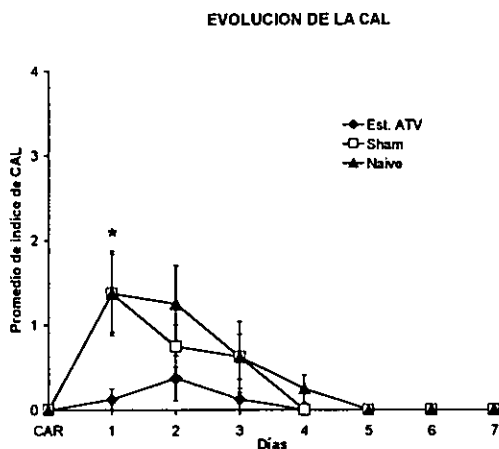
Gráfica 2



Gráfica 3

**Resultados de las Variables de la CAL del experimento de Estimulación Eléctrica diaria del ATV (expresado en histogramas). Gráfica 1:** En esta gráfica se muestra la comparación de la variable de incidencia de los dos grupos control (Sham= "falso operado" y Naive= "control verdadero) vs el experimental (Est. ATV). Se aprecia una tendencia de una menor incidencia del grupo experimental (menor en un 15% (con respecto al grupo Sham) y 27% (con respecto al grupo Naive)). **Gráfica 2:** En esta gráfica se muestran los resultados de la variable de inicio de la CAL. Se observa un retraso de un día en la aparición de la CAL en el grupo experimental. También se muestra la significancia estadística del día promedio en el inicio de la CAL (prueba de t de Student) y las barras de error estándar positivas. Est. ATV vs Naive (+)( $p \leq 0.05$ ) y Est. ATV vs Sham (\*) ( $p \leq 0.05$ ). **Gráfica 3:** En esta variable (grado máximo de la CAL a los 7 días) se obtuvieron diferencias significativas (prueba de t de Student  $p \leq 0.05$ ); diferencias entre Est. ATV vs Sham (+) y Est. ATV vs Naive (\*).

En la Evolución de la CAL (Gráfica 4) se observan diferencias significativas entre tratamientos. El grupo Est. ATV es diferente a los grupos control, con una intensidad menor en el desarrollo de la CAL a lo largo del proceso experimental (Est. ATV vs Sham vs Naive:  $p=0.020$ ;  $F=4.758$ . Est. ATV vs Sham:  $p=0.050$ ;  $F=4.510$ . Est. ATV vs Naive:  $p=0.002$ ;  $F=15.415$ ). Sin embargo, únicamente existen diferencias entre días por grupo en el primer día, 24 hrs después de la infiltración de CAR. Las diferencias se dieron entre los grupos Est. ATV vs Naive ( $p=0.012$ ) y Est. ATV vs Sham ( $p=0.020$ ). Estos últimos datos representan un retraso estadísticamente significativo de 24 hrs, en el inicio de la CAL. En la gráfica de evolución, se muestra una tendencia a la disminución de la CAL en los días subsiguientes, sin embargo no se encontraron diferencias significativas. También, se observa que en promedio por día por grupo, el último día que se presenta la CAL es el cuarto día. En los días quinto, sexto y séptimo ninguno de los grupos presenta la CAL.



**Gráfica 4. Evolución de la CAL.** Efecto de la estimulación diaria del ATV en el promedio de la calificación de la CAL. Se produce un retraso de 24 hrs en la aparición de la CAL, comparado contra Sham y Naive. Diferencia significativa entre grupos por día mediante una t de Student. :  $p \leq 0.05$ . Únicamente en el día uno existen diferencias significativas: Est. ATV vs Naive ( $p=0.012$ ) y Est. ATV vs Sham ( $p=0.020$ ) (\*).

## EXPERIMENTO B

### MICROINYECCIÓN DE DOPAMINA EN LA CORTEZA ANTERIOR DEL CÍNGULO:

#### OBJETIVOS:

Determinar si la microinyección de dopamina en la corteza anterior del cíngulo, diaria durante 6 días, modifica la conducta de auto lesión inducida por un proceso de dolor crónico inflamatorio.

#### HIPÓTESIS PARTICULAR:

La aplicación repetida de la dopamina en la corteza anterior del cíngulo inhibe la conducta de auto lesión (evocada mediante un proceso de dolor crónico inflamatorio). Figura 11.

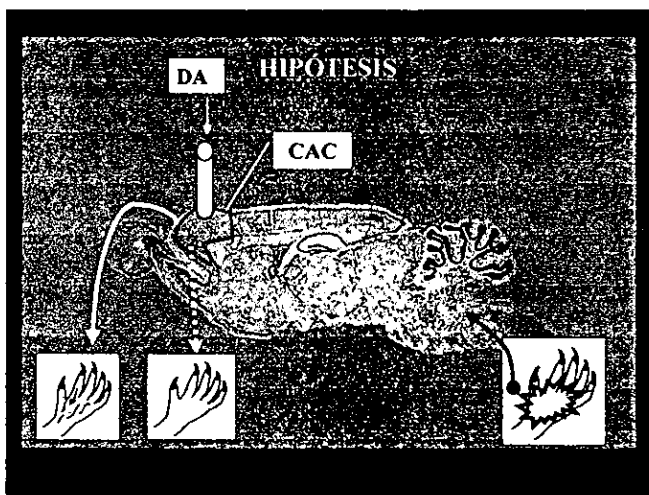


Figura 11. Representación esquemática de la hipótesis del efecto de la microinyección de dopamina (DA) en la corteza anterior del cíngulo (CAC), sobre el dolor crónico evaluado por la CAL. Corte sagital de cerebro de rata. Donde es la cánula de microinyección. La inflamación de la pata de la rata provoca de manera "normal" la CAL (→). La hipótesis consiste en que la aplicación diaria de DA en la CAC, provoca un proceso analgésico, evaluado en este trabajo por la CAL (\*\*\*▶).

## MATERIAL Y MÉTODO:

### *Preparación Experimental*

Se utilizaron ratas Wistar macho (250- 350 g)(n=40). A 32 de las 40 ratas se les implantaron estereotáxicamente (lado izquierdo del cerebro) cánulas guía, previamente sonicadas (con el objeto de esterilizar la cánula), de acero inoxidable (0.22 mm diámetro externo; 1.4 cm de largo. Small Parts Inc. USA) dirigidas hacia la CAC unilateralmente (A: 8.7 mm; H: al contacto con la dura madre ; L: -0.8 mm) (Paxinos y Watson, 1982). La cánula guía fue fijada a la superficie del cráneo con acrílico dental. Inmediatamente después de la cirugía se insertaron mandriles (bloqueadores) previamente sonicados, de acero inoxidable (33 mm de diámetro; 2.5cm de largo, doblado:0.5 cm) que alcanzan el final de las cánulas guía. El procedimiento quirúrgico fue realizado bajo anestesia con pentobarbital sódico (60 mg/kg). Al término de la cirugía, se le inyectaron a cada animal 0.15 unidades de mililitro de Penicilina para evitar infecciones. Después de la cirugía y en los siguientes días del experimento los animales fueron colocados individualmente en cajas de acrílico transparente, bajo condiciones de luz-oscuridad con ciclos de 12 horas y con alimentación e hidratación *ad libitum*. El periodo de recuperación después de la cirugía fue de tres a cuatro días para todos los animales.

### *Procedimiento de la Microinyección*

El procedimiento de microinyección se realizó con ratas en libre movimiento. Inmediatamente después de que las ratas recibieran la inyección de CAR y se les removiera el mandril de su respectiva cánula guía, se les reemplazo con la aguja de inyección (acero inoxidable; 0.22 mm de diámetro; 1.5 cm de largo). Ésta se extiende 1.2 mm más allá de la punta de la cánula guía, para alcanzar una posición de 1 mm arriba de la CAC. La aguja de inyección se conectó vía un tubo de polietileno (PE-10, 0.22 mm, 41 cm de largo) a una jeringa de 10  $\mu$ l (Hamilton Co. Reno, NV) que a su vez fue montada en una bomba de infusión (Harvard Apparatus, MA.USA). En el caso de los grupos experimentales, el tubo de polietileno se llenó con la concentración de dopamina respectiva a cada grupo experimental. El tubo y la jeringa de microinyección fueron recubiertos con papel aluminio para evitar la degradación por luz de la dopamina. Para todos los animales el volumen de inyección (descendiendo 1mm en la CAC) fue de 2  $\mu$ l a una tasa de 0.5  $\mu$ l/min; parámetros que según se ha reportado, no provocan lesión tisular y la substancia se difunde 2.4 mm por más de una hora (Peterson, 1998). La aguja de inyección se dejó en su lugar por un 1 min adicional para reducir la posibilidad de reflujo retrógrado y después removerla. Cada animal fue inyectado individualmente, a la misma hora,



dentro de cajas de acrílico transparente para la mejor observación de la conducta durante la inyección. Después de cada inyección por animal, para evitar contaminación se colocó la aguja de inyección y el mandril en alcohol al 70% por dos minutos y se dejaron secar al aire. El procedimiento completo de microinyección se realizó diario por seis días para cada rata por cada uno de los grupos.

### *Inducción del proceso inflamatorio*

La inducción del proceso inflamatorio mediante la infiltración de CAR intraplantar, así como el registro diario de la evolución inflamatoria se realizó de la misma forma que en el experimento de Estimulación Eléctrica del ATV.

### *Grupos*

Se conformaron cinco grupos. Dos grupos de animales control: "control verdadero" o Naive (n=8) que corresponde a los animales que fueron únicamente inyectados con CAR; y otro grupo control "falso operado" que fue implantado, inyectado con CAR y microinyectado con solución salina estéril e isotónica (al 9%) (Sol Sal; n=8). Los grupos experimentales fueron infiltrados con CAR e inmediatamente después microinyectados en la CAC con diferentes dosis de dopamina (DA) (3,4-hidroxifenilamina; Dopamina. Sigma Chemical Co. USA) disuelta en solución salina estéril e isotónica. i) Dosis 1 (dosis media) (n=8): 0.25  $\mu\text{g}$  de DA en 0.5  $\mu\text{l}$  de solución salina (2.64  $\mu\text{M}$ ); ii) Dosis 2 (dosis baja) (n=8): 0.025  $\mu\text{g}$  de DA en 0.5  $\mu\text{l}$  de solución salina (0.264  $\mu\text{M}$ ); y iii) Dosis 3 (dosis alta) (n=8): 2.5  $\mu\text{g}$  de DA en 0.5  $\mu\text{l}$  de solución salina (26.4  $\mu\text{M}$ ). La razón por la que se utilizaron las dosis mencionadas responde principalmente a los resultados de un experimento en el que se utilizó una dosis de 2.5  $\mu\text{g}$  de agonistas o antagonistas dopaminérgicos en 0.5  $\mu\text{l}$  de solución salina. En estos trabajos la dosis mencionada produjo cambios conductuales importantes que reflejan el papel de la dopamina en la CAC (Klockgether et al., 1988) y corteza prefrontal medial (Altier et al., 1993).

### *Clasificación de la Conducta de Auto Lesión*

Se estableció la misma clasificación, así como el mismo método de evaluación de la aparición, grado y progresión de la CAL que en el experimento de Estimulación Eléctrica del ATV.

### *Verificación Histológica*

Para la verificación de la localización del sitio de implante de la cánula y aguja de inyección, se infiltró el colorante Blue Direct (mismo volumen y misma tasa de inyección que la que se le aplicó a las ratas experimentales y sham) a cada animal antes de ser sacrificado. Se utilizó la técnica de procedimiento rápido para la verificación histológica (Sánchez-Álvarez et al., 1988). Los animales fueron anestesiados (pentobarbital sódico: 65 mg/kg), perfundidos intracardialmente (ic) con solución salina fisiológica, seguido por formaldehído al 10 % en solución fisiológica. El cerebro de cada animal fue removido para su fijación. Permaneció en fijación por dos días antes del procedimiento histológico. Sólo se incluyeron en el análisis de datos los animales en los que las agujas de inyección se encontraron dentro de los límites de la CAC.

### *Análisis Estadístico*

Mediante el registro diario de los grados de la CAL obtuvimos la proporción de la incidencia (número de animales que presentaron la conducta sobre el total de animales de ese grupo), el promedio de inicio de la conducta y la CAL acumulada. Calculada como el promedio de los grados de CAL por día por cada grupo sumado con el promedio del día anterior, tomando en cuenta la clasificación de cinco grados de la CAL.

Para el análisis de la incidencia se utilizó la prueba exacta de proporciones de Fisher. Los datos de inicio de la CAL fueron analizados usando la prueba de t de Student. Los datos de CAL acumulada primero fueron transformados a logaritmos con el fin de poder procesarlos con una prueba paramétrica (t de Student). Para el análisis de la intensidad de la CAL se utilizó una prueba de análisis de varianzas para muestras repetidas (MANOVA) con una transformación logarítmica previa de los datos. Mediante esta prueba se obtuvieron las diferencias entre tratamientos así como diferencias entre días. Como análisis posterior para definir la diferencia entre días por grupo se utilizó una prueba de t de Student.

En el caso de la evolución del proceso inflamatorio se tomó el incremento del perímetro plantar sobre la medición basal obteniéndose así un porcentaje.

Se observaron las conductas desplegadas por los animales durante el proceso de microinyección. diariamente por siete días. Se estableció una clasificación arbitraria (baja +, moderada ++, alta +++), con el fin de evaluar la presencia e intensidad de conductas observadas.

## RESULTADOS

### EFECTOS DE LA MICROINYECCIÓN DE DOPAMINA EN LA CORTEZA ANTERIOR DEL CÍNGULO EVALUADO POR LA CONDUCTA DE AUTO LESIÓN.

Los resultados de evaluación de la CAL muestran que dentro de la variable de incidencia, a pesar de existir claras tendencias, no existe diferencia estadística significativa. La tendencia en esta variable indica la presencia de menor número de individuos que presentan la CAL en animales microinyectados con las Dosis 1 (50% 4/8) y Dosis 2 (50% 4/8) de dopamina. Una mayor incidencia de la CAL se observa en los animales de los grupos: Dosis 3 (87% 7/8), Sol Sal (75% 6/8) y Naive (87% 7/8). (Tabla 1, Gráfica 1).

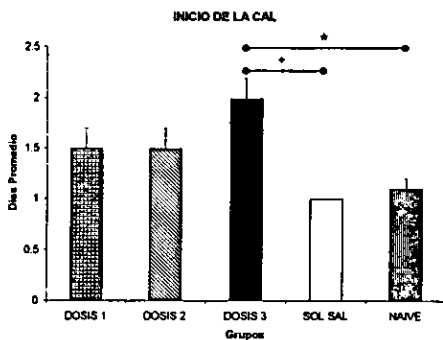
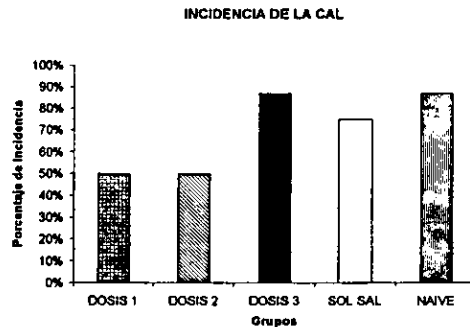
Con respecto al inicio de la CAL, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo experimental Dosis 3 en relación con los grupos control. Se presenta un retraso de un día (24 hrs) en la aparición de la CAL del grupo Dosis 3 (2.0 +/-0.2) con respecto a los grupos: Sol Sal (1.0 +/-0.0) ( $p=0.050$ ) y Naive (1.1 +/-0.1) ( $p=0.05$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos Dosis 1 (1.5 +/- 0.2) y Dosis 2 (1.5 +/- 0.2) comparados individualmente contra el grupo Dosis 3 (2.0 +/-0.2) (Tabla 1, Gráfica 2).

En cuanto a la variable del grado máximo de CAL o conducta acumulada, únicamente refleja datos con diferencias significativas, mediante una *t* de Student previa transformación logarítmica, entre la Dosis 2 (1.1 +/-0.5) y la Dosis 3 (2.75 +/-0.5) ( $p=0.047$ ) (Tabla 1, Gráfica 3).

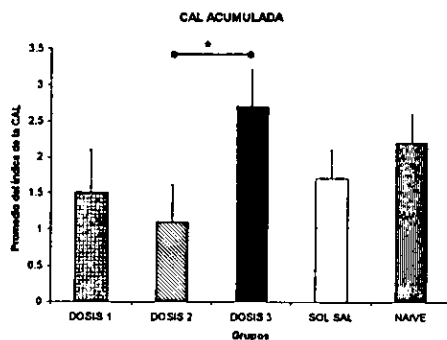
<b>GRUPOS</b>	<b>N</b>	<b>INCIDENCIA DE LA CAL</b> (En 7 días)		<b>INICIO DE LA CAL</b> (Días +/- E.E.)	<b>GRADO MÁXIMO DE LA CAL</b> (a 7 días) (+/- E.E.)
DOSIS 1	8	4/8	50%	1.5 (+/-0.2)	1.5 (+/-0.6)
DOSIS 2	8	4/8	50%	1.5 (+/- 0.2)	1.1 (+/-0.5) <sup>a</sup> ↑ *
DOSIS 3	8	7/8	87%	2.0 (+/- 0.2) <sup>b</sup> ↓	2.75 (+/- 0.5) <sup>a</sup> ↓
SOL SAL.	8	6/8	75%	1.0 (+/- 0.0) <sup>b</sup> ↓ *	1.75 (+/- 0.4)
NAIVE	8	7/8	87%	1.1 (+/- 0.1) <sup>b</sup> ↓	2.25 (+/- 0.4)

**Tabla II. Resultados de las Variables de la CAL en experimento de Microinyección de DA en la CAC.** En la tabla se muestran los efectos en la Incidencia, el Inicio de la CAL y el Grado Máximo de la CAL al séptimo día. Los resultados de incidencia muestran tendencias pero no diferencias significativas. En estos resultados se aprecia que los grupos de la Dosis 1 y 2 comparados contra los grupos control (Sol Sal y Naive) y contra la Dosis tres la diferencia es de entre 25 y 37%. En cuanto al Inicio de la CAL se observa que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos: Dosis 3 vs SOL SAL ( $p=0.05$ )(+) y Dosis 3 vs NAIVE<sup>b</sup> ( $p=0.05$ )(\*). Esta diferencia representa un retraso de un día en la aparición de la CAL en la Dosis 3. Los resultados de la variable de grado máximo de la CAL a los siete días, muestran que la Dosis 3 tiene diferencias significativas con el grupo de Dosis 2<sup>a</sup> ( $p=0.047$ )(+). Las pruebas estadísticas se hicieron mediante una prueba de t-Student<sup>a y b</sup> ( $p \leq 0.05$ ).

Gráfica 1



Gráfica 2



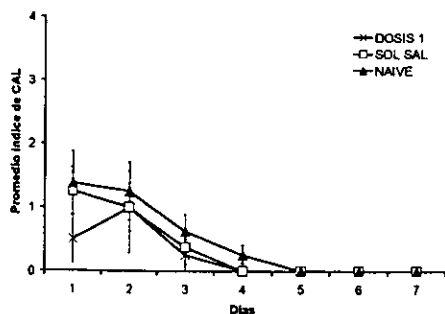
Gráfica 3

**Resultados de las Variables de la CAL en experimento de Microinyección de DA en la CAC (expresados en histogramas).** Gráfica 1. En esta gráfica se muestran los efectos de la microinyección de DA en la CAC sobre Incidencia de la CAL. Los resultados de la variable de incidencia muestran tendencias pero no diferencias significativas. Las tendencias se observan en la comparación de la Dosis 1 y 2 contra los grupos control (Sol Sal y Naive) y la Dosis 3. Se aprecia la diferencia como tendencia de 37% de los grupos Dosis 1 y 2 contra el grupo control Naive y la Dosis 3; y una diferencia de 25 % en la comparación de los grupos Dosis 1 y 2 contra el grupo control Sol Sal. Gráfica 2. En los resultados de la variable del inicio de la CAL se muestra la diferencia significativa únicamente entre los grupos: Dosis 3 vs SOL SAL ( $p=0.05$ )(+) y Dosis 3 vs NAIVE ( $p=0.05$ )(\*). Esto representa un retraso de un día en la aparición de la CAL del grupo Dosis 3 comparado contra los grupos control (Naive y Sol Sal). Gráfica 3. Los resultados de la variable del grado máximo de la CAL muestran que la Dosis 3 es significativamente diferente con respecto al grupo Dosis 2 ( $p=0.047$ )(\*). Las pruebas estadísticas se hicieron mediante una prueba de t de Student ( $p \leq 0.05$ ). También se muestran las barras de error estándar positivas en las gráficas 2 y 3.

Por otro lado, las gráficas que reflejan la evolución de la CAL muestran el efecto evaluado por la CAL de las microinyecciones diarias de DA en el CAC a diferentes dosis. No existen diferencias significativas entre los grupos Dosis 1 y Dosis 2 comparados entre sí, ni contra los controles (Sol Sal y Naive). Sin embargo, en las gráficas se observa que en el día uno, existe una tendencia de los grupos Dosis 1 y Dosis 2 a disminuir el promedio del índice de la CAL con respecto a los controles (Gráfica A y B). Por el contrario, diferencias importantes se encontraron en el análisis comparativo de la Dosis 3 contra los grupos control. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas, en los días uno y dos. En el día uno, disminuyó significativamente el promedio de la CAL en la Dosis 3. Las diferencias sucedieron entre los grupos Dosis 3 vs Sol Sal ( $p=0.028$ ) y Dosis 3 vs Naive ( $p=0.050$ ). Por otro lado, en el día dos ocurrió un sorpresivo aumento en el promedio de la CAL. La diferencia sólo se dio entre el grupo Dosis 3 y Sol Sal ( $p=0.042$ ) (Gráfica C).

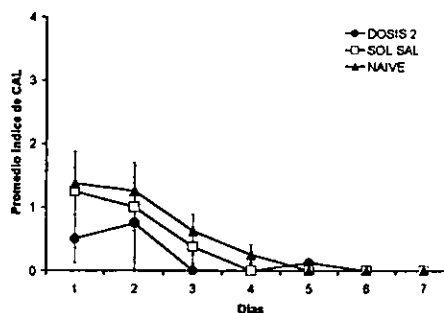
También, se observa que en promedio por día por grupo, el último día que se presenta la CAL en todos los grupos, es el quinto día. En los días sexto y séptimo ninguno de los grupos presenta la CAL (Gráficas A,B y C).

EVOLUCION DE LA CAL



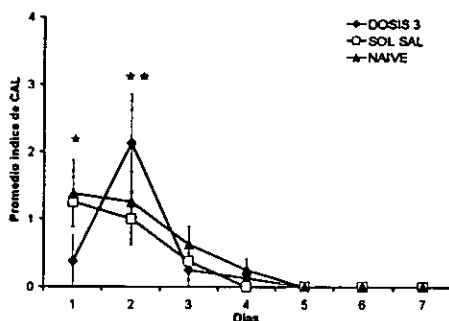
Gráfica A

EVOLUCION DE LA CAL



Gráfica B

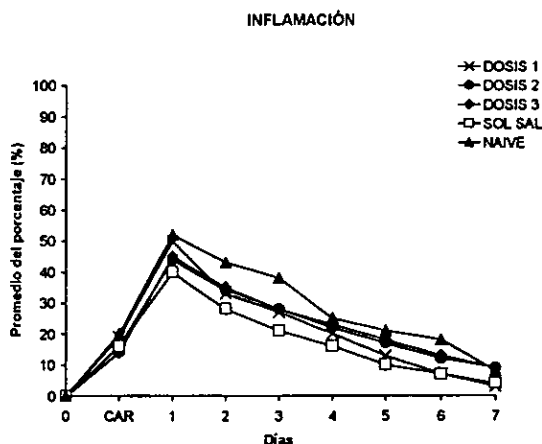
EVOLUCION DE LA CAL



Gráfica C

**Gráficas de Evolución de CAL (A, B, y C)**. Efecto de la inyección de diferentes dosis diarias de DA en la CAC, en el promedio de la CAL después de la inducción del proceso inflamatorio. Gráfica A y B: En estas gráficas se muestra que no hubo efecto estadísticamente significativo en los grupos control (NAIVE y SOL SAL) contra la Dosis 1 ni contra la Dosis 2. La Comparación entre la Dosis 1 y la Dosis 2 tampoco refleja diferencias significativas. Gráfica C: En esta gráfica se muestra el efecto de la microinyección de la Dosis 3 en la CAC sobre el dolor crónico, evaluado por la CAL. Se encontró diferencia significativa en el grupo de Dosis 3 donde se retrasó 24 hrs la aparición de la CAL. Se realizó una MANOVA y se encontraron diferencias significativas en la comparación entre grupos experimentales y controles por tratamiento en el día uno y dos, utilizando una prueba de t de Student para cada día en la comparación de cada control vs cada grupo experimental. En el día uno de las ratas a las que se les aplicó diariamente la Dosis 3 de dopamina se muestran diferencias entre con los grupos NAIVE y SOL SAL ( $p \leq 0.05$ ) (\*); en el segundo día las diferencias se dieron únicamente entre la Dosis 3 vs SOL SAL ( $p \leq 0.05$ ) (\*\*).

Al igual que en el Experimento de la estimulación eléctrica del ATV, no se observaron diferencias en el curso temporal del porcentaje inflamatorio. Todos los grupos tuvieron la misma evolución inflamatoria, con el nivel máximo del edema a las 24 hrs de la infiltración de CAR (Gráfica 4).



**Gráfica 4. Curso temporal del porcentaje de Inflamación.** Comparación de Grupos Experimentales y Controles. La inflamación presentó una evolución semejante en todos los grupos con el nivel máximo de edema a las 24 hrs de la infiltración de carragenina. El dato correspondiente el promedio del porcentaje de inflamación cuando fue inyectada la carragenina (CAR) representa el volúmen aumentado únicamente por la infiltración de CAR y no al proceso inflamatorio *per se*.



### *Observaciones conductuales*

A lo largo del procedimiento de microinyección de DA, se presentaron distintas conductas en los animales. A continuación se enlistan las principales, con sus correspondientes abreviaciones: Estereotipia Bucal (EB), Piloerección (Pe), Aumento de la Frecuencia Respiratoria (AFR), Conducta de Búsqueda (CB), Posición de Canguro (PC), Acicalamiento (Ac), Sacudida de Cabeza (SC), Movimiento Horizontal de Cabeza (MHC), Congelamiento Repentino de actividad motora (CR), Conducta de Enterramiento (CE), Mioclonias (M), Agresividad (Ag), Cola en forma de Antena (CA) e Hiperactividad (H).

Se observaron algunas diferencias conductuales entre los grupos experimentales. A continuación se presentan las conductas promedio por grupo experimental y su intensidad:

Dosis 1 (dosis media) = EB++, Pe++, AFP+, CB++, PC++, Ac++, MHC+, CE+, A+, CA++, H+.

Dosis 2 (dosis baja) = EB+, Pe+, CB+, CR++, CA++.

Dosis 3 (dosis alta) = EB++, Pe+++ , AFP+++ , CB+++ , PC++, Ac+++ , SC++, CR+++ , CE+++ , M+, A++, CA++, H+++.

## DISCUSIÓN

Los componentes sensorial y afectivo del dolor se procesan en paralelo por distintos sistemas neurales. Específicamente, se ha postulado que el tracto espinotalámico lateral, núcleo lateral del tálamo y corteza somatosensorial contribuyen al aspecto sensorial del dolor, mientras que el tracto espinotalámico, núcleo medial y anteriores del tálamo y regiones conectadas con el sistema límbico contribuyen a los aspectos afectivos del dolor (Coghill, 1999). El componente afectivo es cercano a lo que se podría considerar "el sufrimiento del dolor"; éste claramente relacionado con aspectos de la emoción y programación de conductas.

Se ha mostrado en múltiples experimentos la actividad de la CAC como un importante componente de la cualidad afectiva del dolor. Se han reportado muchas áreas y neurotransmisores del cerebro que participan en la actividad de la CAC en diferentes contextos dolorosos (Godbout et al., 1991). Uno de los transmisores neurales que ha recibido mayor atención, por su actividad antialgésica, es la dopamina. Sin embargo, no hay evidencia de datos en la literatura científica de evidencia de los efectos directos de esta sustancia en la CAC en sus repercusiones conductuales dolorosas. Por otro lado, el ATV a pesar de que no forma parte de los núcleos clásicamente descritos en las vías relacionadas con el dolor (Willis y Westlund, 1997), ha sido involucrado como un elemento importante en la modulación del dolor. Pero su papel en el componente afectivo del dolor no ha sido del todo esclarecido.

Los resultados que se muestran en esta tesis relacionan la activación eléctrica del ATV por un lado, y la aplicación de dopamina en la CAC por otro, con el componente afectivo del dolor, evaluado por una conducta de auto lesión que resulta de un dolor crónico inflamatorio.

### ***ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL ÁREA VENTRAL TEGMENTAL:***

Los resultados de este experimento reflejan que es posible alargar el tiempo de aparición por 24 hrs y disminuir significativamente el grado máximo de la CAL, mediante la estimulación eléctrica diaria durante 6 días. Estimulación eléctrica del ATV diaria por un lapso de 20 min.

El efecto de la estimulación eléctrica del ATV en la CAL se evaluó mediante las variables: incidencia, inicio y grado máximo de la CAL. Los datos que arrojan la variable de incidencia no muestran diferencias significativas pero la tendencia es marcada; la incidencia es menor en el grupo experimental comparado contra los controles. El hecho de que no se obtuvieran diferencias significativas en esta variable puede obedecer a distintos factores: 1) El número de muestra por grupo no fue suficiente para marcar las diferencias, y/o 2) La incidencia de la CAL no es una de las variables que se pueden influenciar mediante la estimulación eléctrica (con los parámetros de estimulación utilizados) del ATV.

El inicio de la CAL fue claramente retrasado mediante la estimulación eléctrica del ATV. La significación estadística se observó en la comparación del grupo Est. ATV vs los grupos controles: Sham y Naive. La importancia del hallazgo experimental que corresponde al retraso de la CAL por 24 hrs mediante la estimulación del ATV, podría parecer poco en el contexto de largo plazo que se presenta aquí, pero no es así. En realidad en los experimentos típicos de neurofisiología aguda del dolor, un resultado como el que se obtuvo en esta tesis, reflejaría de manera concreta una inhibición continua de gran cantidad de neuronas. La verdadera importancia de los resultados de este experimento está en verlos como un proceso de modulación inhibitoria que al parecer logra silenciar o disminuir la tasa de disparo, por un tiempo considerable, de neuronas importantes para la percepción del dolor (Jay et al, 1995).

Con lo que respecta al grado máximo de la CAL o conducta acumulada a los 7 días, se observó que en el grupo experimental (Est. ATV), esta variable evaluada se encuentra disminuida comparada contra los grupos controles (Sham y Naive). Esta variable refleja la importante disminución en la intensidad del grupo experimental que resultó ser significativamente diferente en su evolución únicamente a las 24 hrs de la infiltración de CAR.

Por otro lado, se observó la evolución de dicha conducta en un periodo de siete días (Gráfica 4). La intensidad de la conducta en el grupo experimental, el día uno, es significativamente menor que la de los grupos control. En esta gráfica se vuelve a hacer evidente el retraso de la aparición de la CAL en el grupo experimental.

Asimismo, se registró el curso temporal del porcentaje de la inflamación del grupo experimental y controles (Gráfica 5). En trabajos previos de nuestro grupo, en los que se lesionó el ATV, la manipulación central repercutió en el proceso inflamatorio (Pellicer, et al., 1999b). Sin embargo, los datos arrojados en el presente trabajo muestran que las manipulaciones centrales, por estimulación del ATV, no afectan de manera concreta el desarrollo del proceso inflamatorio.

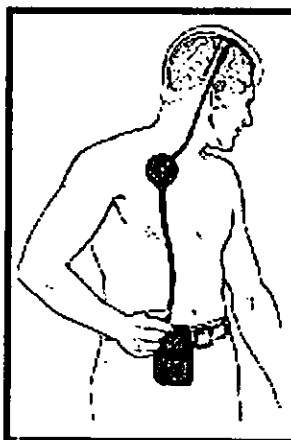
En cuanto a las observaciones conductuales, es notable la cantidad de manifestaciones conductuales que exhibieron los animales que fueron estimulados eléctricamente en el ATV. Muchas de estas conductas han sido registradas cuando se estimulan sistemas dopaminérgicos pero paradójicamente también cuando son hiperestimulados después de ser lesionados. De manera particular, en el experimento de Glenthøj y cols. (1993) se concluyó que las conductas evocadas por la estimulación eléctrica repetida (estimulación bilateral 2s diarios por 70 días: trenes de 2s con pulsos de 1 ms a 60 Hz) del ATV eran dependientes de la intensidad de la corriente aplicada. Las respuestas estereotípicas de las ratas a intensidades de corrientes bajas (5 - 50  $\mu$ A) fueron: estereotipias de la cabeza y una conducta conocida como olfateo. Por otro lado, a intensidades altas responden con locomoción hacia adelante y en algunos casos con movimientos en círculo (Glenthøj et al., 1993). En nuestro experimento, (a pesar de que los parámetros generales de estimulación eléctrica no son iguales) el trabajo de Glenthøj y cols. sirvió para comparar la actividad motora de la rata evocada por la estimulación del ATV. Obedeciendo a estos hallazgos, no se incluyeron en el experimento las ratas que no mostraran algunas de las conductas que se mencionan. Hecho que fue demostrado en el análisis histológico posterior al ver que los animales cuyas puntas de los electrodos estaban fuera del ATV y no mostraron las conductas características, mostraron una tendencia a responder con crisis convulsivas.

Los efectos de retardo en el tiempo de aparición (por 24 hrs) de la CAL y la disminución del grado máximo de la CAL antes mencionados, provocados por la estimulación eléctrica (20 min diarios) del ATV, parecen obedecer a algún tipo de inhibición de la información dolorosa, producida inicialmente por la inflamación crónica local de la pata de la rata. Se ha demostrado que el ATV participa en uno o varios circuitos neuronales que producen analgesia. Lo anterior se fundamenta en experimentos en los que: (1) se ha inducido analgesia por estimulación eléctrica de núcleos del cerebro, (2) inducción de analgesia por estrés, (3) o bien por acupuntura.

(1) Se ha reportado ampliamente la existencia de loci anatómicos en el cerebro con efectos analgésicos. A este fenómeno de reducción del dolor por estimulación eléctrica de algunas zonas discretas del cerebro se le conoce como Analgesia Producida por Estimulación (APE) (Dennis et al., 1980). Los sitios del cerebro que se han propuesto activan sistemas supresores del dolor mediante APE son principalmente: sustancia gris periacueductal, sustancia gris periventricular, núcleo septal,

núcleo dorsolateral del tálamo y ATV (Mayer and Liebeskind, 1974). La estimulación de estas áreas del cerebro puede causar analgesia; pudiendo ser lo suficientemente profunda como para servir como un anestésico para cirugía en ratas. Por ejemplo, Mayer (Mayer y Liebeskind, 1974) reportó que la estimulación eléctrica de la sustancia gris periacueductal produce analgesia en ratas equivalente a lo que producen 10 miligramos de morfina por kilogramo de peso corporal, lo cual es una dosis alta. Esta técnica se ha aplicado para reducir el dolor crónico severo en humanos. Cables finos se implantan quirúrgicamente en diferentes regiones del sistema nervioso central y son adheridos a un aparato de control por radio que permite que el paciente se administre una estimulación eléctrica cuando sea necesario (Carlson, 1998) (Figura 11).

**Figura 11.** Auto estimulación eléctrica mediante un aparato de control por radio que permite que el paciente se administre una estimulación eléctrica (cuando sea necesario), en regiones que producen analgesia.



La actividad de los opioides producen analgesia por la activación de vías descendentes moduladoras del dolor y la APE involucra algunas de las vías de la analgesia por opioides (Kandel et al., 1991), por lo tanto se ha postulado que los núcleos que actúan en la APE lo hacen por lo menos en parte por el bloqueo de la transmisión nociceptiva de la médula espinal mediante opioides (Melzack y Fuchs, 1997). Sin embargo en otros experimentos se ha mostrado la importancia de las catecolaminas en especial la dopamina, en la APE (Akil y Liebeskind, 1975). Al parecer, sistemas opioides y no opioides intervienen en el desarrollo de la APE.

(2) Por muchos años se ha observado que el dolor puede ser modificado por demandas medioambientales que provocan de manera natural la activación de circuitos neurales cuya actividad puede producir analgesia. Como parte importante del repertorio conductual de supervivencia de un animal se encuentra la respuesta ante demandas conductuales surgidas por la exposición a situaciones

estresantes, tales como la depredación, dominancia, o adaptación a un medio ambiente extremo. Así, durante el estrés las reacciones al dolor pueden ser suprimidas favoreciendo otros comportamientos, como correr o pelear. Resulta ser que uno de los centros supraespinales más importantes de la analgesia inducida por estrés (AIE) es el ATV. Existe evidencia de que el estrés puede estimular la analgesia inducida por opiodes y la inducida por no opiodes. Algunos experimentos muestran que la AIE es susceptible de ser bloqueada por naloxona (Millan et al., 1987), pero otros no (Kandel et al., 1991; Liebeskind et al., 1982; Marek et al., 1989).

(3) La entrada de información nociceptiva es, paradójicamente, una manera confiable de activar los sistemas que producen analgesia. De hecho, la acupuntura y otras formas tradicionales de terapia del dolor están sustentadas en el principio de hiperestimulación o contraírritación que al parecer opera en parte por un sistema de conexión propioespinal conocido como Control Inhibidor Nocivo Difuso (CIND) (Fields y Basbaum, 1994). Por otra parte, existe evidencia de que el ATV esta involucrado en la mediación tanto de la analgesia por morfina (Manning et al., 1994; Morgan y Franklin, 1990) como de la producida por la acupuntura. En un estudio reciente se encontró que la electro acupuntura acelera la expresión del protoncogene c-fos en las neuronas dopaminérgicas del ATV en ratas (Ma et al., 1993a).

Por otro lado, uno de los mecanismos centrales en el que parece intervenir fuertemente el ATV es en el reforzamiento. Aunque a este mecanismo se le ha relacionado poco con el dolor, podría formar parte de la misma base neural que la APE, la AIE, acupuntura y ciertamente de los sitios de acción de los opiodes y de la dopamina. Por un lado, todos los analgésicos fuertes tienen un potencial de alto abuso y por otro lado, fuertes reforzadores como la auto estimulación y drogas de abuso tienen propiedades analgésicas, por ejemplo morfina y cocaína. Esto sugiere que la analgesia y el reforzamiento pueden ser procesos relacionados o que comparten el mismo sustrato neural (Franklin, 1989).

Como hemos visto tanto la APE, la AIE, como la acupuntura sugieren la intervención de péptidos opiodes (Altier y Stewart, 1996; Millan et al., 1987). Sin embargo, también se ha demostrado en algunos casos, que los opiodes no son los únicos responsables de estos mecanismos inhibitorios (Vaccarino et al., 1992). Aunque mucha evidencia apunta a que el mecanismo de acción de estos fenómenos es básicamente descendente, también existen evidencias de que podría ser una inhibición ascendente, efectuada por núcleos supraespinales (Ferron et al., 1984; Godbout et al., 1991; Mantz et al., 1988). Parece haber dos tipos de analgésicos. Un tipo de analgésico actúa como antinociceptivo en cuanto que reduce la intensidad de la entrada de información sensorial a nivel del Sistema Nervioso Central (médula espinal—activando el sistema difuso inhibitor descendente) o Periférico (nociceptores-

antiinflamatorios). Otro tipo de analgésicos, algunas veces llamados disociativos, reportado por los pacientes como: “ Lastima pero el dolor ya no me molesta”, podría estar actuando a nivel supraespinal. Igual que hay dos tipos de analgésicos podría haber dos tipos de sistemas que coexisten para producir analgesia al individuo.

Se cree que el ATV esta íntimamente ligado al tipo de analgesia descendente (o así, lo asumen la mayoría de los investigadores) pero poco se ha explorado su papel como analgésico supraespinal. Se sugiere en este trabajo, que el mecanismo de analgesia disociativa podría depender en parte de la neurotransmisión dopaminérgica, en donde las células de dopamina del ATV están involucradas. Al parecer existe considerable cantidad de circuitos neurales dedicados a reducir la intensidad o percepción del dolor, uno de ellos puede ser este.

Se propone entonces, que la actividad del ATV como modulador del dolor, no está dada únicamente por la activación de mecanismos descendentes, sino que gran parte está dada por la actividad de las células dopaminérgicas del ATV, que ejercen su función inhibitoria sobre núcleos del cerebro encargados en dar la señal de alarma del dolor. Un buen candidato para esta función es la CAC. Es por este motivo que se realizó el experimento de microinyección de DA en la CAC que a continuación se discute.

### **MICROINYECCIÓN DE DOPAMINA EN LA CORTEZA ANTERIOR DEL CÍNGULO:**

Los resultados de este experimento muestran que la dosis alta (dosis 3) dio como resultado un importante retardo en la aparición de la CAL, aproximadamente de 24 hrs. Sin embargo, ni la dosis media (dosis 1) ni la dosis baja (dosis 2) de dopamina, aplicadas diariamente (durante 6 días) mediante la técnica de microinyección en la CAC de la rata, logran modificar significativamente las variables evaluadas de la CAL (con respecto a los grupos control: Sham y Naive).

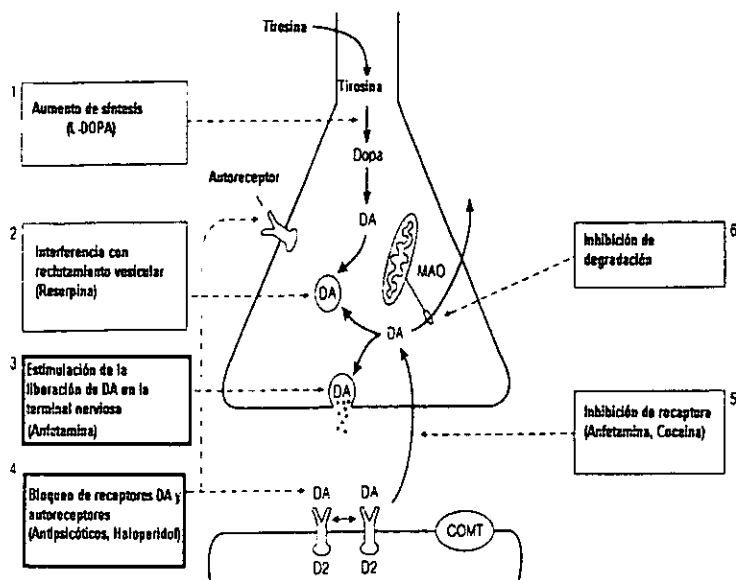
Los datos que arrojan la variable de incidencia no muestran diferencias significativas pero se puede apreciar una tendencia; la incidencia de los grupos Dosis 1 y 2 son apreciablemente menores (50%) con respecto a los grupos control y el grupo experimental Dosis 3 (entre 75- 87%). El hecho de que no se obtuvieran diferencias significativas en esta variable puede obedecer a distintos factores: 1) El número de muestra por grupo no fue suficiente para marcar las diferencias y/o 2) La incidencia de la CAL no es una de las variables que se pueden influenciar mediante la microinyección de dopamina en la CAC.

Debido a que los resultados del proceso inflamatorio mostraron un curso temporal similar en todos los grupos, se hace evidente que el proceso inflamatorio *per se* no es un fenómeno determinante en la diferencia observada de la intensidad y retraso de la CAL.

Dado que el resultado del inicio de la CAL únicamente arrojó datos estadísticamente significativos con respecto a los grupos control y no en relación con los otros grupos experimentales Dosis 1 y Dosis 2, la interpretación de los resultados podría seguir diferentes interpretaciones. Por un lado, el hecho de que no se observaran diferencias entre los grupos experimentales en la variable de inicio de la CAL puede obedecer a que existe la misma tendencia a retrasar el inicio de la CAL mediante la microinyección de dopamina en el CAC en todas las dosis que se aplicaron en el experimento. Si este fuera el caso, entonces las diferencias no se reflejan en los resultados por que el número de muestra de los grupos no fue suficiente como para evidenciarlas. Sin embargo, los resultados también se podrían interpretar de la siguiente manera. Los resultados obedecen a la existencia de una dosis crítica necesaria para inhibir de manera óptima la actividad de las neuronas de la CAC y así retrasar el inicio de la CAL. La dosis alta (dosis 3) es la dosis óptima y por tal motivo es la única dosis que presenta diferencias significativas en la comparación con los grupos control. Las dosis 1 y 2 no logran la diferencia estadísticamente significativa. La dosis 1 (dosis media) y dosis 2 (dosis baja) no proveen de suficiente dopamina como para inhibir adecuadamente la actividad de las células neuronales de la CAC y como resultado se obtiene un inicio de la CAL intermedio entre los grupos control y grupo dosis 3. Se ha propuesto que la poca reactividad de las neuronas de la CAC a



dosis bajas de agonistas o antagonistas dopaminérgicos obedece a la ausencia de autoreceptores en las células presinápticas en la CAC (Fuster, 1997) (Figura 12).



**Figura 12.** Pasos clave para la síntesis y la degradación de la dopamina (DA), y los sitios de acción de varias sustancias psicoactivas en la sinapsis dopaminérgica.

En el experimento que se presenta en esta tesis no se puede descartar ninguna de las dos interpretaciones hasta no hacer más experimentos y determinar los cambios en los receptores pre y postsinápticos, que apoyen una de las interpretaciones mencionadas. Sin embargo, existen muchas evidencias que apoyan la segunda interpretación. A continuación se muestran algunas de estas evidencias.

El papel de la dopamina como inhibidor en la producción de la analgesia, así como las alteraciones en la disposición de este neurotransmisor pueden contribuir al desarrollo e inhibición de los estados de dolor persistente. El sistema nervioso central tiene la habilidad de activar vías endógenas como parte de un mecanismo protector compensatorio, frecuentemente involucrado en el periodo después de una lesión (Hammond, 1999).

Técnicas de fluorescencia muestran que las terminales DA son marcadamente densas en las láminas profundas del cíngulo. Se han identificado diferentes tipos de receptores DA (hasta cinco principales D1- D5) en estructuras cerebrales donde se encontraron terminales axónicas DA. Se ha indicado que el sistema DA prefrontal tiene ciertas propiedades peculiares y que la DA juega, en él de alguna forma, diferentes papeles transmisores y moduladores que en otras partes. Es decir, en comparación con el sistema nigroestriatal, el sistema DA prefrontal se caracteriza generalmente por una alta tasa de recambio, una mayor y más irregular descarga de sus neuronas, y una menor responsividad a agonistas DA y sustancias antagónicas. Algunos autores atribuyen que esto sucede por una aparente ausencia, en células del sistema dopaminérgico, de auto receptores que regulen la producción de DA (Fuster, 1997).

Presumiblemente, la inyección local de DA imita o refuerza los efectos neuronales de la DA liberada localmente por las terminales del sistema dopaminérgico de la CAC. Sin embargo, el nivel de DA en la ejecución de funciones parece ser crítico. Por ejemplo, al margen del campo de la investigación del dolor, la inyección de antagonistas D1 puede potenciar la memoria de trabajo, posiblemente desinhibiendo el efecto excitatorio que normalmente es inhibido por la DA. Pero, dosis excesivas de DA suprimen a los antagonistas dando un efecto opuesto. Pareciera ser como si un nivel óptimo intermedio de DA indujera la inhibición necesaria para funciones cognoscitivas de poblaciones de células prefrontales (Fuster, 1997). De igual manera, en investigaciones que tienen como objetivo desentrañar la complejidad del sistema dopaminérgico en el dolor han reportado los efectos opuestos de la dopamina a diferentes dosis. Se ha señalado que la L-dopa (Paalzow, 1992) tanto como la apomorfina (Grupta et al., 1989) (precursor dopaminérgico y agonista dopaminérgico respectivamente) tienen efectos opuestos dependiendo de la dosis y la vía de administración; las dosis bajas atenúan y las dosis altas potencian respuestas conductuales antinociceptivas. Sin embargo, otros estudios del papel de la DA intracerebral que utilizan como modelo la prueba de formalina y deaferentación (Lyerly et al., 1988) resultan más consistentes en cuanto que han obtenido claras curvas de respuesta dosis dependientes, sin efectos opuestos (Franklin, 1989; Morgan y Franklin, 1991). Estas evidencias apuntan a que algunas de las inconsistencias en los experimentos mencionados podrían deberse en parte al contexto doloroso en el que se evalúa el papel de la dopamina. Obedeciendo en parte a los trabajos mencionados y en parte también a la sorprendente variabilidad de dosis utilizadas, se resolvió utilizar tres dosis (baja, media y alta). Los parámetros que se siguieron respondieron principalmente a lo encontrado en trabajos que relacionaron la actividad de agentes dopaminérgicos en la corteza prefrontal de la rata. La dosis media (0.25 µg de DA en 0.5 µl de solución salina) acordada en el presente trabajo representa la cantidad que se ha microinyectado en diferentes áreas cerebrales como

suficiente para activar neuronas de la corteza del cíngulo midiendo la respuesta conductual (Altier y Stewart, 1993; Klockgether et al., 1988; Okamura et al., 1997; St-Pierre y Bédard, 1995).

La habilidad para desarrollar agentes que puedan facilitar las vías endógenas de la analgesia podría representar un acercamiento alternativo para el desarrollo de nuevos analgésicos. Sería razonable esperar que estos agentes sean altamente específicos para el tipo de lesión y tiempo dependiente siendo que sus efectos son dictados por el proceso endógeno que estos modulan. Así, en el presente trabajo se propone que es solo con la aplicación local diaria de dopamina (dosis 3) en la CAC en un contexto doloroso de dolor persistente, que se pueden ver los efectos analgésicos de la dopamina. A pesar de los efectos opuestos según la dosis que muestra este complejo sistema dopaminérgico, los resultados de la disminución de la CAL observados en los animales a los que se les inyectó una dosis diaria de DA en la CAC coinciden con resultados obtenidos por otro grupo (Okamura, et al., 1997).

Por otro lado, los animales en los que las cánulas fueron localizadas en otros sitios que no fuera la CAC, la CAL no sufre modificaciones comparada con respecto a los grupos controles, lo que sugiere que la actividad nociceptiva a través de otras zonas no influye directamente en las variables evaluadas de la conducta, así como tampoco parece intervenir directamente en la modulación de la información del componente afectivo doloroso relacionado con la CAL.

Con esta aproximación experimental se demuestra que es posible retrasar la CAL inducida por un proceso inflamatorio, mediante la aplicación de una dosis crítica de DA en la CAC. Nuestros resultados sugieren que la inhibición de la CAL resulta de la disminución de la actividad de neuronas de la CAC por la aplicación local de una dosis específica de DA. Queda entonces por probar esta hipótesis, mediante registros unitarios simultáneos a la aplicación tópica de DA en la CAC. También queda por realizar un experimento en el que mediante la técnica de microdiálisis logremos conocer la cantidad de DA que se libera en distintas áreas del cerebro en el curso temporal del dolor agudo y crónico.

Las dos aproximaciones experimentales de esta tesis sugieren el papel inhibitor del ATV y de la dopamina en la CAC en el dolor, ambas áreas vinculadas con la integración de la información del componente afectivo del dolor.

En resumen, la CAC forma parte del sistema límbico. La CAC está involucrada en la evaluación de la información del componente afectivo del dolor. La CAC es en parte responsable de la analgesia disociativa. La CAC recibe proyecciones neurales, principalmente dopaminérgicas, del ATV. Las neuronas de la CAC son susceptibles de ser inhibidas por la activación del ATV. La actividad de las neuronas del ATV están involucradas en mecanismos de analgesia descendente pero por sus importantes proyecciones a la CAC están también involucradas en procesos de analgesia ascendente o disociativa. La mayoría de las proyecciones del ATV son dopaminérgicas.

Con base en lo anterior en el presente trabajo se propone lo siguiente: Por sus conexiones con la CAC, la dopamina que provee el ATV a la CAC podría ser en parte la responsable de dar la cualidad de disociativa a la analgesia que ocurre por inhibición de las neuronas de la CAC.

Concretando, con los resultados obtenidos en el experimento de estimulación eléctrica del ATV, podemos decir que: la estimulación eléctrica del ATV retrasa un día la CAL, disparada por un proceso inflamatorio prolongado. El resultado puede estar dado por la activación de mecanismos de inhibición descendente o bien por mecanismos de inhibición ascendente. Para resolver este problema se necesitaran más experimentos en los que se estimule el ATV y se registre la actividad unicelular de neuronas en la CAC y neuronas en la sustancia gris periacuductal (SGP). También se podrían realizar experimentos, en diferentes protocolos, en los que se estimule el ATV y se bloquee la actividad de estos dos centros cerebrales (CAC y SGP) con un anestésico y se evalúe el cambio de la conducta del animal a lo largo de un tiempo dado. Existe un sin fin de experimentos a realizar para conocer la naturaleza de la analgesia provocada por la estimulación del ATV.

Por otro lado, en el experimento de la aplicación de DA en la CAC, los resultados reflejan concretamente que la dosis alta (2.5  $\mu\text{g}$ ) de DA inyectada en la CAC retrasa un día la CAL evocada por un dolor inflamatorio crónico. Las otras dos dosis empleadas en este experimento no tienen efectos significativos en la CAL.

Aunque en los resultados de ambos experimentos existe un sorprendente paralelismo en cuanto que los efectos significativos de la estimulación eléctrica así como de la aplicación de la dosis alta de DA (retraso de un día de la CAL), es poco probable que respondan al mismo mecanismo de acción.

La CAC y el ATV están involucradas directamente en el procesamiento del componente afectivo del dolor y modulan la señal nociceptiva a través de la DA en la CAC y de mecanismos espinales y supraespinales del que evoca el ATV. Sin embargo, es necesario realizar más experimentos para aclarar el papel ascendente y descendente de estas áreas.

El sistema límbico, sus componentes corticales (CAC) y subcorticales (ATV) modulan la percepción del dolor reflejado en este trabajo por la CAL que se dispara por un proceso de dolor crónico. Las vías inhibitorias que se sugieren en este trabajo podrían tener que ver con la analgesia disociativa que algunos pacientes reportan como: “ me lastima pero el dolor no me molesta”. Sistema que en sí puede evocar una parte del componente afectivo del dolor.

El procesamiento íntegro del dolor es probable que sea por redes de neuronas distribuidas a lo largo de un número de distintas porciones funcionales del sistema nervioso central. El procesamiento bilateral de la información nociceptiva implica un sistema cerebral ampliamente distribuido que participa en el procesamiento del dolor.

Con este marco de distribución del procesamiento del dolor, está claro el grado de especialización de funciones. Sin embargo, dada la tremenda complejidad e interconectividad de las áreas del cerebro que están involucradas en el procesamiento del dolor, es importante darse cuenta que existe raramente (si es que existe) una relación uno a uno entre la activación de una región particular del cerebro y un componente discreto de la experiencia dolorosa. Por el contrario, un creciente cuerpo de evidencias indican que áreas discretas de la corteza cerebral están probablemente involucradas en múltiples, y frecuentemente funciones sobrepuestas, y que múltiples áreas de la corteza cerebral trabajan juntas contribuyendo a aspectos específicos de la experiencia del dolor.

En conclusión, aunque regiones cerebrales individuales y redes de regiones cerebrales exhiben algún grado de especialización funcional, el dolor es claramente procesado por un sistema cerebral altamente distribuido.

## CONCLUSIONES

### *Estimulación Eléctrica del Área Tegmental Ventral.*

- El tiempo de inicio de la Conducta de Auto Lesión es susceptible de ser retrasado un día mediante la estimulación eléctrica del Área Tegmental Ventral
- El Área Tegmental Ventral como parte fundamental del sistema mesolímbico-mesocortical dopaminérgico juega un papel central en la inhibición del procesamiento de la información nociceptiva.

### *Microinyección de Dopamina en la Corteza Anterior del Cíngulo.*

- El tiempo de inicio de la Conducta de Auto Lesión es susceptible de ser retrasado un día mediante la microinyección de una dosis alta de Dopamina en la Corteza Anterior del Cíngulo.
- La Dopamina de la Corteza Anterior del Cíngulo juega un papel importante en la inhibición de la integración de la información nociceptiva.

### *Generales.*

- La actividad de neuronas del Área Tegmental Ventral y de la Dopamina en la Corteza Anterior del Cíngulo podrían estar relacionadas con la modulación dolorosa ascendente inhibitoria del componente afectivo del dolor.
- La actividad de las neuronas del Área Tegmental Ventral y de la Dopamina en la Corteza Anterior del Cíngulo podrían estar relacionadas con el componente afectivo de la analgesia disociativa.
- La estimulación eléctrica del Área Tegmental Ventral y la aplicación de Dopamina en la Corteza Anterior del Cíngulo podrían utilizarse como medios terapéuticos para inhibir el componente afectivo del dolor.

## BIBLIOGRAFÍA

- Akil, H. y J. Liebeskind. 1975. Monoaminergic mechanisms of stimulation-produced analgesia. *Brain Research*. 94:279-96.
- Albe-Fessard, D., M.A. Giamberardino y O. Rampin. 1990. Comparison of different animal models of chronic pain. *En: Advances in pain research and therapy*. Vol. 13. R. Press, editor. S. Lipton, New York. 11-27.
- Altier, N. y J. Stewart. 1993. Intra-VTA infusions of the substance P analogue, DiMe-C7, and intra-accumbens infusions of amphetamine induce analgesia in the formalin test for tonic pain. *Brain Research*. 628:279-85.
- Altier, N. y J. Stewart. 1996. Opioid receptors in the ventral tegmental area contribute to stress-induced analgesia in the formalin test for tonic pain. *Brain Research*. 718:203-6.
- Bennett, G. y Y. Xie. 1988. A peripheral mononeuropathy in the rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*. 33:87-107.
- Buitelaar, J.K. 1993. Self-injurious behaviour in retarded children: clinical phenomena and biological mechanisms. *Acta Paedopsychiatr*. 56:105-11.
- Carli, G. 1980. The existence of pain in animals. *En: Pain and Society*. H.W. Kosterlitz y L.V. Tenerius, editores. Verlag Chemie, Berlin. 3-12.
- Carlson, N.R. 1998. *Physiology of behavior*. Ally & Bacon, Boston.
- Casey, K., S. Minoshima, K. Berger, R. Koeppe, T. Morrow, y K. Frey. 1994. Positron emission tomographic analysis of cerebral structures activated specifically by repetitive noxious heat stimuli. *J Neurophysiol*. 71:802-807.
- Cervero, F. y J.M.A. Laird. 1991. One pain or many pains? A new look at pain mechanisms. *News In Physiological Sciences*. 6:268-273.
- Clark, D.L. y N.N. Boutros. 1999. *The brain and behavior: An introduction to behavioral neuroanatomy*. Blackwell Science, Massachusetts, USA. 214 pp.
- Coderre, T.J., M.E. Fundytus, J.E. McKenna, S. Dalal, y R. Melzack. 1993. The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioural pain rating. *Pain*. 54:43-50.
- Coderre, T.J., R.W. Grimes y R. Melzack. 1986. Deafferentation and chronic pain in animals: an evaluation of evidence suggesting autotomy is related to pain. *Pain*. 26:61-84.
- Coderre, T.J., J. Katz, A.L. Vaccarino y R. Melzack. 1993b. Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. *Pain*. 52:259-85.

Coghill, R.C. 1999. Brain Mechanisms Supporting the Pain Experience : A Distributed Process System. *En: Pain 1999- An Updated Review. Refresher Course Syllabus.* M. Max, editor. International Association for the Study of Pain, Vienna, Austria. 67-76.

Condés-Lara, M., R.M. Sánchez-Moreno y I. Omana-Zapata. 1996. Cortical facilitatory action on centralis lateralis thalamic activity during the development of carrageenin-produced inflammation. *Archives Of Medical Research.* 27:265-73.

Craig, A.D., E.M. Reiman, A. Evans, y M.C. Bushnell. 1996. Functional imaging of an illusion of pain [see comments]. *Nature.* 384:258-60.

Crutcher, M.D. 1997. Basal ganglia: anatomy and circuitry. *En: Elsevier's Encyclopedia of neuroscience.* G. Adelman y B.H. Smith, editors. Elsevier Science, London.

Chapman, C.R. 1996. Limbic processes and the affective dimension of pain. *Prog Brain Res.* 110:63-81.

Chapman, C.R. y Y. Nakamura. 1999. Pain and Consciousness: A constructivist approach. *submitted to Pain Forum.*

Chudler, E. y W. Dong. 1995. The role of the basal ganglia in nociception and pain. *Pain.* 60:3-38.

Darwin, C. 1872. *The Expression of the Emotions in Man and Animals.* John Murray, London.

Davis, K.D., W.D. Hutchison, A.M. Lozano y J.O. Dostrovsky. 1994. Altered pain and temperature perception following cingulotomy and capsulotomy in a patient with schizoaffective disorder. *Pain.* 59:189-99.

Dennis, S., M. Choiniere y R. Melzack. 1980. Stimulation-produced analgesia in rats: assesment by two pain tests and correlation with self stimulation. *Exp. Neurology.* 68:295-309.

Derbyshire, S.W., B.A. Vogt. y A.K. Jones. 1998. Pain and Stroop interference tasks activate separate processing modules in anterior cingulate cortex. *Exp Brain Res.* 118:52-60.

Devinsky, O., M.J. Morrell, y B.A. Vogt. 1995. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain.* 118 ( Pt 1):279-306.

Devor, M., y P. Raber. 1983. Autotomy after nerve injury and its relation to spontaneous discharge originating in nerve-end neuromas. *Behav Neural Biol.* 37:276-83.

Devor, M., I. Rivka, y R. Govrin-Lipmann. 1982. Genetic Factors in the Development of Chronic Pain. *In: Genetics of the Brain.* I. Liebllich, editor. Elsevier Biomedical, Amsterdam. 273-296.



- Dubner, R., Y. Sharav, y R. Gracely. 1987. Idiopathic trigeminal neuralgia: sensory features and pain mechanisms. *Pain*. 40:93-104.
- Enrico, P., M. Bouma, J.B. de Vries, y B.H. Westerink. 1998. The role of afferents to the ventral tegmental area in the handling stress-induced increase in the release of dopamine in the medial prefrontal cortex: a dual-probe microdialysis study in the rat brain. *Brain Res*. 779:205-13.
- Erickson, H.H. 1997. Animal pain. *en*: Elsevier's Encyclopedia of neuroscience. G. Adelman y B.H. Smith, editores. Elsevier Science, London. Versión CD-ROM.
- Ertas, M., A. Sagduyu, N. Arac, B. Uludag, y C. Ertekin. 1998. Use of levodopa to relieve pain from painful symmetrical diabetic polyneuropathy. *Pain*. 75:257-9.
- Feenstra, M.G., A. Kalsbeek, y H. van Galen. 1992. Neonatal lesions of the ventral tegmental area affect monoaminergic responses to stress in the medial prefrontal cortex and other dopamine projection areas in adulthood. *Brain Res*. 596:169-82.
- Ferron, A., A. Thierry, C.L. Douarin, y J. Glowinski. 1984. Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic system on spontaneous activity or excitatory response induced from thalamic mediodorsal nucleus in the rat medial prefrontal cortex. *Brain Res*. 302:1129-37.
- Fields, H.L., y A.I. Basbaum. 1994. Central nervous system mechanisms of pain modulation. *En*: Textbook of Pain. P.D. Wall y R. Melzack, editores. Churchill Livingstone, London, Great Britain. 243-260.
- Fletcher, D., V. Kayser, y G. Guilbaud. 1996. Influence of timing of administration on the analgesic effect of bupivacaine infiltration in carrageenin-injected rats. *Anesthesiol*. 84: 1129-37.
- Foltz, E., y L. White. 1962. Pain "relief" by frontal cingulotomy. *J Neurosurg*. 19:98-100.
- Fordyce, W.E. 1995. Back pain in the workplace: Management of disability in nonspecific conditions. IASP Press, Seattle, WA. 75 pp.
- Franklin, K.B. 1989. Analgesia and the neural substrate of reward. *Neurosci Biobehav Rev*. 13:149-54.
- Fuster, J.M. 1997. The prefrontal cortex: anatomy, physiology and neuropsychology of the frontal lobe. Lippincott-Raven, Philadelphia, PA. USA. 333 pp.
- Gilbaud, G., J. Benoist, F. Jazat, y M. Gautron. 1990. Neuronal responsiveness in the ventrobasal thalamic complex of rats with an experimental peripheral mononeuropathy. *J Neurophysiol*. 64:1537-1554.
- Glenthøj, B., J. Mogensen, H. Laursen, S. Holm, y R. Hemmingsen. 1993. Electrical sensitization of the meso-limbic dopaminergic system in rats: a pathogenetic model for schizophrenia. *Brain Research*. 619:39-54.

Godbout, R., J. Mantz, S. Pirot, J. Glowinski, y A.M. Thierry. 1991. Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic neurons on their target cells: electrophysiological and pharmacological characterization. *Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 258:728-38.

Goldstein, M., S. Kuga, N. Kusano, E. Meller, J. Danics, y R. Swarcz. 1986. Dopamine agonist induced self-mutilative biting behavior in monkeys with unilateral ventral tegmental lesions of the brainstem: possible pharmacological model for Lesh-Nyhan syndrome. *Brain Research*. 367:114-120.

Gorea, E., y M.C. Lombard. 1984. The possible participation of a dopaminergic system in mutilating behavior in rats with forelimb deafferentation. *Neuroscience Letters*. 48:75-80.

Grupta, Y., A. Chugh, y S. Seth. 1989. Opposing effect of apomorphine on antinociceptive activity of morphine: a dose dependent phenomenon. *Pain*. Feb 36:263-9.

Gualtieri, C.T., y S.R. Schroeder. 1990. Pharmacotherapy for self-injurious behavior: preliminary tests of the D1 hypothesis. *Progress In Neuro-Psychopharmacology And Biological Psychiatry*. 14 Suppl:S81-107.

Hall, M., y D. Robinson. 1998. The human brain: An introductory to the human nervous system. The open university. Springer-Verlag, Heidelberg. Versión CD-ROM.

Hammond, D.L. 1999. Centrally-acting analgesics that mimic endogenous inhibitory neurotransmitters. *en: Pain 1999- An Updated Review*. Refresher Course Syllabus. M. Max, editor. International Association for the Study of Pain, Vienna, Austria. 67-76.

Hassenbusch, S., P. Pillay, y G. Barnett. 1990. Radiofrequency cingulotomy for intractable cancer pain using stereotaxis guided by magnetic resonance imaging. *Neurosurgery*. 27:220-3.

Hentall, I.D., J.L. Kim, y L. Gollapudi. 1991. Responses of neurons in the ventromedial midbrain to noxious mechanical stimuli. *Neuroscience Letters*. 133:215-8.

Hurt, R., y H.J. Ballantine. 1974. Stereotactic anterior cingulate lesions for persistent pain: a report of 68 cases. *Clinical Neurosurg*. 21:334-51.

Kalivas, P.W., P. Duffy, y L.G. Latimer. 1987. Neurochemical and behavioral effects of corticotropin-releasing factor in the ventral tegmental area of the rat. *J. Pharmacol Exp Ther*. 242:757-763.

Kandel, E.R., J.M. Schwartz, y T.M. Jessel. 1991. Principles of neural science. Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut. 1135 pp.

- Klockgether, T., M. Schwarz, L. Turski, y K.H. Sontag. 1988. Catalepsy after microinjection of haloperidol into the rat medial prefrontal cortex. *Exp Brain Res.* 70:445-7.
- Kupers, R., D. Nuytten, M. de Castro-Costa, y J. Gybels. 1992. A time course analysis of the changes in spontaneous behavior in a rat model of neuropathic pain. *Pain.* 50:101-111.
- LeDoux, J. 1997. Emotional circuits in the brain. *en: Elsevier's Encyclopedia of neuroscience.* G. Adelman y B.H. Smith, editores. Elsevier Science, London. Versión CD-ROM.
- Levitt, M. 1985. Dysesthesias and self-mutilation in humans and subhumans: a review of clinical and experimental studies. *Brain Research.* 357:247-90.
- Liebekind, J.C., J.E. Sherman, y T. Cannon. 1982. Neural and neurochemical mechanisms of pain inhibition. *Anaesthesia And Intensive Care.* 10:139-43.
- Lin, Y., T.J. Morrow, J.A. Kiritsy-Roy, L.C. Terry, y K.L. Casey. 1989. Cocaine: evidence for supraspinal, dopamine-mediated, non-opiate analgesia. *Brain Research.* 479:306-12.
- Loeser, J.D. 1980. Proceedings of first world congress on clinical pharmacology and therapeutics. *En: Perspectives on pain.* P. Turner, editor. Macmillan, London. 316-326.
- Lombard, M., B.J. Nashold, D. Albe-Fessard, N. Salman, y C. Sakr. 1979. Deafferentation hypersensitivity in the rat after dorsal rhizotomy: a possible animal model of chronic pain. *Pain.* 6:163-174.
- Lyerly, M.A., J.r. Rossitch E, J. Ovelmen-Levitt, y J.r. Nashold BS. 1988. The deafferentation syndrome in the rat: effects of intraventricular apomorphine. *Experimental Neurology.* 100:188-202.
- Ma, Q.P., Y. Zhou, y J.S. Han. 1993a. Electroacupuncture accelerated the expression of c-Fos protooncogene in dopaminergic neurons in the ventral tegmental area of the rat. *International Journal Of Neuroscience.* 70:217-22.
- Ma, Q.P., Y. Zhou, y J.S. Han. 1993b. Noxious stimulation accelerated the expression of c-fos protooncogene in cholecystokinineric and dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Peptides.* 14:561-6.
- Manning, B.H., M.J. Morgan, y K.B. Franklin. 1994. Morphine analgesia in the formalin test: evidence for forebrain and midbrain sites of action. *Neuroscience.* 63:289-94.
- Mantz, J., C. Milla, J. Glowinski, y A.M. Thierry. 1988. Differential effects of ascending neurons containing dopamine and noradrenaline in the control of spontaneous activity and of evoked responses in the rat prefrontal cortex. *Neuroscience.* 27:517-26.

Mantz, J., A.M. Thierry, y J. Glowinski. 1989. Effect of noxious tail pinch on the discharge rate of mesocortical and mesolimbic dopamine neurons: selective activation of the mesocortical system. *Brain Research*. 476:377-81.

Marek, P., R. Yirmiya, I. Panocka, y J.C. Liebeskind. 1989. Genetic influences on brain stimulation-produced analgesia in mice. I. Correlation with stress-induced analgesia. *Brain Research*. 489:182-4.

Martini, F.H. 1998. Fundamentals of anatomy and physiology. Prentice Hall, New Jersey. 1123 pp.

Mayer, D., y J. Liebeskind. 1974. Pain reduction by focal electrical stimulation of the rat: an anatomical and behavioral analysis. *Brain Res*. 68:73-93.

Mayer, D.J., y D.D. Price. 1976. Central nervous system mechanisms of analgesia. *Pain*. 2:379-404.

McLean, P. 1997. Triune brain. *en: Elsevier's Encyclopedia of neuroscience*. G. Adelman y B.H. Smith, editores. Elsevier Science, London.

McLean, P.D. 1990. The triune brain in evolution: role in paleocerebral functions. Plenum Press, New York.

Melzack, R. 1980. Phylogenetic evolution of pain expression on animals. *en: Pain and Society*. H.W. Kosterlitz y L.V. Tenerius, editores. Verlag Chemie, Berlin. 3-12.

Melzack, R. 1990a. Phantom limbs and the concept of a neuromatrix. *Trends Neurosci*. 13:88-92.

Melzack, R. 1990b. The Tragedy of Needless Pain. *Scientific American*. 262:19-25.

Melzack, R. 1993. Pain: past, present and future. *Canadian Journal Of Experimental Psychology*. 47:615-29.

Melzack, R., y P.N. Fuchs. 1997. Pain, general. *En: Elsevier's Encyclopedia of neuroscience*. G. Adelman y B.H. Smith, editores. Elsevier Science, London. Versión CD-ROM.

Melzack, R., y P.D. Wall. 1996. The challenge of pain. Penguin books, London. 339 pp.

Merskey, H., y N. Bodguk. 1994. Classification of chronic pain: description of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. IASP Press, Seattle. 209-214.

Millan, M., A. Czonkowski, y A. Herz. 1987. Evidence that mu-opioid receptors mediate midbrain "stimulation-produced analgesia" in freely moving rat. *Neuroscience*. 22:885-96.

- Miller, B.A., y C.J. Woolf. 1997. Nociceptive sensitization: The peripheral and central mechanisms responsible for the generation of clinical pain. *En: Elsevier's Encyclopedia of neuroscience*. G. Adelman y B.H. Smith, editores. Elsevier Science, London. Versión CD-ROM.
- Mink, J.W. 1999. Basal Ganglia. *En: Fundamental Neuroscience*. M. Zigmond, F. Bloom, S. Landis, J. Roberts, y L. Squire, editores. Academic Press, New York. 951-972.
- Morgan, M.J., and K.B. Franklin. 1990. 6-Hydroxydopamine lesions of the ventral tegmentum abolish D-amphetamine and morphine analgesia in the formalin test but not in the tail flick test. *Brain Research*. 519:144-9.
- Morgan, M.J., y K.B. Franklin. 1991. Dopamine receptor subtypes and formalin test analgesia. *Pharmacology, Biochemistry And Behavior*. 40:317-22.
- Oades, R.D., y G.M. Halliday. 1987. Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Research*. 434:117-65.
- Okamura, H., T. Murakami, C. Yokoyama, T. Nakamura, y Y. Ibata. 1997. Self-injurious behavior and dopaminergic neuron system in neonatal 6-hydroxydopamine-lesioned rat: 2. Intracerebral microinjection of dopamine agonists and antagonists. *J Pharmacol Exp Ther*. 280:1031-7.
- Paalzow, G.H. 1992. L-dopa induces opposing effects on pain in intact rats: (-)-sulpiride, SCH 23390 or alpha-methyl-DL-p-tyrosine methylester hydrochloride reveals profound hyperalgesia in large antinociceptive doses. *Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 263:470-9.
- Papez, J.W. 1995. A proposed mechanism of emotion. 1937. *Journal Of Neuropsychiatry And Clinical Neurosciences*. 7:103-12.
- Paxinos, G., y C. Watson. 1982. The rat brain stereotaxic coordinates. Academic Press, New York.
- Pellicer, F., A. Lopez-Avila, y E. Torres-Lopez. 1999a. Electrical stimulation of the cingulum bundle precipitates onset of autotomy induced by inflammation in rat. *Eur J of Pain*. 3:287-293.
- Pellicer, F., y M.L. Olea. 1998. Dolor y antialgesia. *En: Sistema nervioso. neuroanatomia funcional, neurohistologia, neurotransmisores, receptores y clinica*. Vol. Capitulo 28. U.d. Valle, editores: Martha Isabel Escobar B y Hernan Jose Pimiento J., Santiago de Cali. 321-331.

- Pellicer, F., E. Torres-López, F. Sotres-Bayón, y R. Del-Angel. 1999b. Lesion and stimulation of the ventral tegmental area modifies pathologic pain process induced by a painful inflammatory process in the rat. *9th world congress on pain*. 1:276-277.
- Perl, E.R. 1997. Pain, its sense organs and noci-reception. *En: Elsevier's Encyclopedia of neuroscience*. G. Adelman y B.H. Smith, editores. Elsevier Science, London.
- Peschanski, M., y J. Weil-Fugacza. 1987. Aminergic and cholinergic afferents to the thalamus: experimental data with reference to pain pathways. *En: Thalamus and Pain*. J. Besson, G. 96. Glibaud, y M. Peschanski, editores. Excerpta Medica, Amsterdam. 127-154.
- Peterson, S. 1998. Drug microinjection in discrete brain regions. David Kopf Instruments, Tujunga, CA. 1-6.
- Pirot, S., J. Glowinski, y A.M. Thierry. 1996. Mediodorsal thalamic evoked responses in the rat prefrontal cortex: influence of the mesocortical DA system. *Neuroreport*. 7:1437-41.
- Porriño, L.J., y P.S. Goldman-Rakic. 1982. Brainstem innervation of prefrontal and anterior cingulate cortex in the rhesus monkey revealed by retrograde transport of HRP. *J Comp Neurol*. 205:63-76.
- Procacci, P. 1980. History of the pain concept. *En: Pain and Society*. H.W. Kosterlitz y L.V. Tenerius, editores. Verlag Chemie, Berlin. 3-12.
- Rainville, P., G.H. Duncan, D.D. Price, B. Carrier, y M.C. Bushnell. 1997. Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex. *Science*. 277:968-71.
- Rey, R. 1995. The history of pain. Harvard University Press, London. 387 pp.
- Saadé, N.E., S.F. Atweh, N.B. Bahuth, y S.J. Jabbur. 1997. Augmentation of nociceptive reflexes and chronic deafferentation pain by chemical lesions of either dopaminergic terminals or midbrain dopaminergic neurons. *Brain Research*. 751:1-12.
- Sánchez-Álvarez, M., M. León-Olea, M. Conds-Lara, M. Briones, y A. Fernandez-Guardiola. 1988. Localization of the microelectrode tip combining a rapid procedure method and marking with pontamine sky blue. *Bol Estud Med Biol*. 36:55-59.
- Sandyk, R. 1992. L-tryptophan in neuropsychiatric disorders: a review. *Int J Neurosci*. 67:127-44.
- Sarkis, D., J.P. Souteyrand, y D. Albe-Fessard. 1984. Self-stimulation in the ventral tegmental area suppresses self-mutilation in rats with forelimb deafferentation. *Neuroscience Letters*. 44:199-204.

- Schiller, F. 1992. Paul Broca: Founder of French anthropology, explorer of the brain. Oxford University Press, New York.
- Smith, W.J., J. Stewart, y J.G. Pfaus. 1997. Tail pinch induces fos immunoreactivity within several regions of the male rat brain: effects of age. *Physiology And Behavior*. 61:717-23.
- St-Pierre, J.A., y P.J. Bédard. 1995. Systemic administration of the NMDA receptor antagonist MK-801 potentiates circling induced by intrastriatal microinjection of dopamine. *European Journal Of Pharmacology*. 272:123-9.
- Swanson, L.W. 1997. Limbic system. *En: Elsevier's Encyclopedia of neuroscience*. G. Adelman y B.H. Smith, editores. Elsevier Science, London. Versión CD-ROM.
- Sweet, W. 1981. Animal models of chronic pain: their possible validation from human experience with posterior rhizotomy and congenital analgesia. *Pain*. 10:275-95.
- Tu, W. 1980. A religio-physiological perspective on pain. *En: Pain and Society*. H.W. Kosterlitz y L.V. Tenerius, editores. Verlag Chemie, Berlin. 3-12.
- Vaccarino, A., P. Marek, W. Stenberg, y J. Libeskind. 1992. NMDA receptor antagonist MK-801 blocks non-opioid stress-induced analgesia in the formalin test. *Pain*. 50:119-123.
- Vaccarino, A.I., y R. Melzack. 1991. The role of the cingulum bundle in self-mutilation following peripheral neurectomy in the rat. *Experimental Neurology*. 111:131-4.
- Vaccarino, A.L., y R. Melzack. 1989. Analgesia produced by injection of lidocaine into the anterior cingulum bundle of the rat. *Pain*. 39:213-9.
- Villanueva, L., Z. Bing, D. Bouhassira, y D. Le Bars. 1989. Encoding of electrical, thermal, and mechanical noxious stimuli by subnucleus reticularis dorsalis neurons in the rat medulla. *Journal Of Neurophysiology*. 61:391-402.
- Villanueva, L., K.D. Cliffer, L.S. Sorkin, D. Le Bars, y W.D.J. Willis. 1990. Convergence of heterotopic nociceptive information onto neurons of caudal medullary reticular formation in monkey (*Macaca fascicularis*). *Journal Of Neurophysiology*. 63:1118-27.
- Vogt, B.A. 1997. Cingulate cortex. *En: Elsevier's Encyclopedia of neuroscience*. G. Adelman y B.H. Smith, editores. Elsevier Science, London. Versión CD-ROM.
- Wall, P., M. Devor, R. Inbal, J. Scadding, D. Schonfeld, Z. Seltzer, y M. Tomkiewicz. 1979. Autotomy following peripheral nerve lesions: experimental anaesthesia dolorosa. *Pain*. 7:103-111.

Wall, P.D. 1997. Pain: Neurophysiological mechanisms. *En: Elsevier's Encyclopedia of neuroscience*. G. Adelman y B.H. Smith, editores. Elsevier Science, London. Versión CD-ROM.

West, C.H., y R.P. Michael. 1991. Substance P injections into the ventral tegmentum affect unit activity in mesolimbic terminal regions. *Brain Research Bulletin*. 26:229-33.

Wheeler-Aceto, H., F. Porreca, y A. Cowan. 1990. The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. *Pain*. 40:229-38.

Willis, W.D., and K.N. Westlund. 1997. Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. *Journal Of Clinical Neurophysiology*. 14:2-31.

Winchel, R.M., and M. Stanley. 1991. Self-injurious behavior: a review of the behavior and biology of self-mutilation. *Am J Psychiatry*. 148:306-17.

Zimmerman, M. 1983. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*. 16:109-110.