

11281

UNAM POSGRADO



34

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

PAPEL DE LA CORTEZA DEL CÍNGULO
EN LOS PROCESOS DE DOLOR PATOLÓGICO
EN LA RATA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
P R E S E N T A:

EDGAR TORRES LÓPEZ

ASESOR:
DR. FRANCISCO PELLICER GRAHAM



MÉXICO, D. F. OCTUBRE 2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**PAPEL DE LA CORTEZA DEL CÍNGULO
EN LOS PROCESOS DE DOLOR PATOLÓGICO
EN LA RATA**

TESIS QUE PRESENTA

EDGAR TORRES LÓPEZ

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

DEPARTAMENTO DE NEUROFISIOLOGÍA

DIVISIÓN DE NEUROCIENCIAS

INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA

“RAMÓN DE LA FUENTE”

Director de Tesis

DR. FRANCISCO PELLICER GRAHAM

México, D.F., 13 de febrero de 2001.

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar,
UNAM
P R E S E N T E

Esimado Ing. Silva,

Después de haber evaluado la Tesis titulada "**PAPEL DE LA CORTEZA DEL CÍNGULO EN LOS PROCESOS DE DOLOR PATOLÓGICO EN LA RATA**" del alumno, **Edgar Torres López** con número de cuenta **9885156-2** y número de expediente **12981708**, inscrita en el Doctorado en Ciencias Biomédicas y aspirante al grado de **Doctor en Ciencias**, considero que la Tesis reúne los requisitos suficientes y la acepto para ser presentada en el examen de grado. Por tanto emito mi VOTO APROBATORIO al respecto.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente,



DR. RICARDO TAPIA IBARGÜENGOYTIA

PRESIDENTE DEL JURADO
PARA EXAMEN DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

México, D.F., 13 de febrero de 2001.

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar,
UNAM
P R E S E N T E

Estimado Ing. Silva,

Después de haber evaluado la Tesis titulada "PAPEL DE LA CORTEZA DEL CÍNGULO EN LOS PROCESOS DE DOLOR PATOLÓGICO EN LA RATA" del alumno, **Edgar Torres López** con número de cuenta 9335156-2 y número de expediente **12981708**, inscrita en el Doctorado en Ciencias Biomédicas y aspirante al grado de **Doctor en Ciencias**, considero que la Tesis reúne los requisitos suficientes y la acepto para ser presentada en el examen de grado. Por tanto emito mi VOTO APROBATORIO al respecto.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente,



DR. MIGUEL LUJAN ESTRADA

VOCAL DEL JURADO
PARA EXAMEN DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

México, D.F., 13 de febrero de 2001.

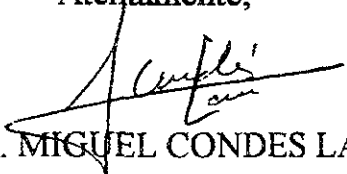
Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar,
UNAM
P R E S E N T E

Esimado Ing. Silva,

Después de haber evaluado la Tesis titulada "**PAPEL DE LA CORTEZA DEL CÍNGULO EN LOS PROCESOS DE DOLOR PATOLÓGICO EN LA RATA**" del alumno, **Edgar Torres López** con número de cuenta **9885156-2** y número de expediente **12981708**, inscrita en el Doctorado en Ciencias Biomédicas y aspirante al grado de **Doctor en Ciencias**, considero que la Tesis reúne los requisitos suficientes y la acepto para ser presentada en el examen de grado. Por tanto emito mi VOTO APROBATORIO al respecto.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente,


DR. MIGUEL CONDES LARA

VOCAL DEL JURADO
PARA EXAMEN DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

México, D.F., 13 de febrero de 2001.

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar.
UNAM
P R E S E N T E

Estimado Ing. Silva,

Después de haber evaluado la Tesis titulada "**PAPEL DE LA CORTEZA DEL CÍNGULO EN LOS PROCESOS DE DOLOR PATOLÓGICO EN LA RATA**" del alumno, **Edgar Torres López** con número de cuenta **9885156-2** y número de expediente **12981708**, inscrita en el Doctorado en Ciencias Biomédicas y aspirante al grado de **Doctor en Ciencias**, considero que la Tesis reúne los requisitos suficientes y la acepto para ser presentada en el examen de grado. Por tanto emito mi **VOTO APROBATORIO** al respecto.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente,



DRA. TALIA HARMONY

SUPLENTE DEL JURADO
PARA EXAMEN DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

México, D.F., 13 de febrero de 2001.

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar,
UNAM
P R E S E N T E

Estimado Ing. Silva,

Después de haber evaluado la Tesis titulada "**PAPEL DE LA CORTEZA DEL CÍNGULO EN LOS PROCESOS DE DOLOR PATOLÓGICO EN LA RATA**" del alumno, **Edgar Torres López** con número de cuenta 9885156-2 y número de expediente 12981708, inscrita en el Doctorado en Ciencias Biomédicas y aspirante al grado de **Doctor en Ciencias**, considero que la Tesis reúne los requisitos suficientes y la acepto para ser presentada en el examen de grado. Por tanto emito mi VOTO APROBATORIO al respecto.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente,



DR. LUIS ANTONIO SALAZAR ZAVALA

VOCAL DEL JURADO
PARA EXAMEN DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

México, D.F., 13 de febrero de 2001.

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez.
Director General de Administración Escolar,
UNAM
P R E S E N T E

Estimado Ing. Silva,

Después de haber evaluado la Tesis titulada "**PAPEL DE LA CORTEZA DEL CÍNGULO EN LOS PROCESOS DE DOLOR PATOLÓGICO EN LA RATA**" del alumno, **Edgar Torres López** con número de cuenta **9885156-2** y número de expediente **12981708**, inscrita en el Doctorado en Ciencias Biomédicas y aspirante al grado de **Doctor en Ciencias**, considero que la Tesis reúne los requisitos suficientes y la acepto para ser presentada en el examen de grado. Por tanto emito mi **VOTO APROBATORIO** al respecto.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente,



DR. FRANCISCO LÓPEZ MUÑOZ

SUPLENTE DEL JURADO
PARA EXAMEN DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres por todo lo que invirtieron en mí con el último fin de preocupaciones económicas y el primero de realizar mis sueños.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera aprovechar estas líneas para dar un reconocimiento y expresar mi más profundo agradecimiento a las personas que hicieron posible esta investigación y sobre todo a las personas que me enseñaron el quehacer científico no como una disciplina rígida y fría sino como una filosofía abierta, llena de sentido común y sobretodo de sentido humano.

Gracias Dr. Francisco Graham por tener siempre su puerta abierta para la discusión y análisis de cualquier duda por ínfima que pudiera ser, por el tiempo de charlas, por sus consejos como amigo y por las invitaciones a disfrutar la vida en el laboratorio y en la vela.

Gracias Dra. Martha León Olea por su paciencia y cariño que extendió más allá de los muros del laboratorio. También quisiera constar mis disculpas por los múltiples accidentes tenidos en regata.

Gracias Dr. Alfredo Saldívar González por sus críticas, correcciones y comentarios en el desarrollo de ésta tesis.

Gracias Rosendo del Ángel, Francisco Sotres y Alberto López por la disposición prestada en cualquier momento que se les requirió, por sus contribuciones y sugerencias a lo largo de nuestras investigaciones y por concederme su amistad.

Gracias a las personas que sin tener que mencionar su nombre saben la ayuda, la compañía y los buenos momentos que compartimos a lo largo del tiempo invertido para la terminación de esta tesis.

A todos ellos muchas gracias.

Edgar Jones López

COMUNICACIONES A REVISTAS CIENTÍFICAS

Esta tesis ha dado lugar a los siguientes artículos científicos:

- Edgar Torres-López, Rosendo del Ángel, Francisco Pellicer. Thalamic anteromedial and mediodorsal nuclei stimulation enhances the self-injury behaviour induced by an inflammatory process in the rat. *Analgesia*; 5: 67-73, 2000.
- Francisco Sotres-Bayón, Edgar Torres-López, Alberto López-Ávila, Rosendo del Ángel, Francisco Pellicer. Lesion and stimulation the ventral tegmental area modifies self-injury behaviour induced by chronic inflammatory process in the rat. *Brain Research*; 898: 342-349, 2001.
- Francisco Pellicer, Alberto López-Ávila, Edgar Torres-López. Electric stimulation of the cingulum bundle precipitates onset of autotomy induced by inflammation in rat. *European Journal of Pain*; 3: 287-293, 1999.

ÍNDICE.

Dedicatoria.....	I
Agradecimientos.....	II
Comunicaciones en revistas científicas.....	III
Índice.....	IV
Abreviaturas.....	VI
Resumen.....	2
Introducción.....	7
Dolor Patológico.....	12
Autotomía: Modelo de Dolor Patológico.....	14
Génesis de la conducta de autotomía.....	16
Mecanismos celulares relacionados con el dolor patológico.....	18
Vías relacionadas con el dolor neuropático.....	19
Anatomía funcional de estructuras relacionadas con la Corteza Anterior del Cíngulo que participan en el Dolor Patológico.....	21
Núcleos Anteromedial y Medial Dorsal del Tálamo en la Transmisión de la Información Nociceptiva.....	25
Relación del Sistema Mesocortical Dopaminérgico con la Corteza Anterior del Cíngulo.....	28
Corteza Anterior del Cíngulo en la Sensación y Percepción Dolorosa.....	32
Planteamiento del Problema.....	37
Hipótesis General.....	38
Experimento A.....	39
Objetivo.....	39
Hipótesis.....	39
Material y Método.....	39
Análisis Estadístico.....	43
Resultados.....	45
Experimento B.....	51
Objetivo.....	51

Hipótesis.....	51
Material y Método.....	51
Análisis Estadístico.....	53
Resultados.....	54
Discusión.....	57
Bibliografía.....	64
Anexos.....	72

Abreviaturas

5-APV.- 2-amino-5-fosfonovalerato.

AM.- Núcleo anteromedial del tálamo; grupo experimental estimulado en el núcleo anteromedial del tálamo.

AMPA.- Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico.

ATV.- Área tegmental ventral.

CAC.- Corteza anterior del cíngulo.

CAR.- Carragenina.

DA.- Dopamina

L-NAME.- NG-nitro-L-arginina metil ester.

MD.- Núcleo mediodorsal del tálamo; grupo experimental estimulado en el núcleo mediodorsal del tálamo.

MK-801.- 1-(4-clorobenzoil)-piperazin-2,3-dicarboxilato.

NMDA.- N-metil-D-arginina.

ON.- Óxido nítrico.

ONT.- Otros núcleos del tálamo.

SAM.- Grupo experimental sham en el núcleo anteromedial del tálamo.

SMD.- Grupo experimental sham en el núcleo mediodorsal del tálamo.

SNC.- Sistema nervioso central.

SONT.- Grupo experimental sham en otros núcleos del tálamo.

RESUMEN.

Como parte de la definición de dolor se encuentra la característica de presentarse como una experiencia emocional displacentera. En años recientes, se ha explorado el componente cognoscitivo-afectivo del dolor, el cual se ha asociado con estructuras cerebrales del sistema límbico. Desde hace 40 años, se ha reportado que la cingulotomía quirúrgica disminuye el componente aversivo o desagradable del dolor en pacientes con dolor intratable. Mediante nuevas técnicas de neuroimagen se ha observado que la estimulación nociceptiva produce activación de la corteza anterior del cíngulo (CAC). Estos hechos confirman la participación de la corteza del sistema límbico en el procesamiento de la información nociceptiva. Sin embargo, no existe evidencia que indique la vía por la cual esta información alcanza la CAC. Una de las estructuras que probablemente participen en este relevo es el tálamo, el cual tiene conexiones recíprocas con la CAC a través de varios núcleos talámicos entre los que se encuentran el anteromedial (AM) y el mediodorsal (MD), principalmente. Las eferencias de estos núcleos son directas y viajan por el haz del cíngulo. Otra estructura en estrecha relación con la CAC, que se ha relacionado con la modulación de la nocicepción, y que también forma parte del sistema límbico es el área tegmental ventral (ATV), la cual tiene proyecciones directas dopaminérgicas a la CAC.

El modelo experimental para el estudio del dolor patológico que se utiliza en esta tesis, es la inducción de una conducta anormal, llamada autotomía, mediante un proceso inflamatorio doloroso provocado por la inyección intraplantar de carragenina en la extremidad inferior de la rata. Esta conducta consiste en un auto-daño sobre la zona donde se produjo la inflamación.

El propósito de este trabajo es determinar si la estimulación eléctrica de los núcleos AM y MD, y si la lesión del ATV anticipan y potencian la conducta de autotomía.

Se realizaron dos experimentos para la comprobación de estos dos objetivos:

Experimento A. En ratas Wistar, macho, adultas se implantaron, estereotáxicamente, electrodos bipolares en el AM, en el MD y en otros núcleos del tálamo (ONT) v. gr. centromedial, paratenial y reticularis, para aplicar estimulación eléctrica mientras que a otras no (*sham*). Los grupos estimulados fueron: AM (n=17), MD (n=12) y ONT (n=12); y los sham de los núcleos AM (SAM, n=6), MD (SMD, n=8) y ONT (SONT, n=7). A estos grupos se les indujo el proceso inflamatorio mediante la inyección de carragenina (CAR) intraplantar (250 μ l al 1%) 60 minutos antes de la primera estimulación o de la falsa estimulación. Los parámetros de estimulación fueron: 10 min diarios por 10 días (100 Hz, 1 s, cada 5 s). Como control (C; n=17) se utilizó un grupo, no implantado, solo con la inducción del proceso inflamatorio. La severidad de la conducta de autotomía se clasificó en 5 grados, de la cual se calculó el índice de autotomía y la autotomía acumulada. Los resultados muestran una anticipación en la aparición de la autotomía en el AM comparado con sus respectivos grupos sham y control. Además, la autotomía acumulada en los grupos AM y MD fue mayor que el de los grupos sham y control, sin diferencias entre estos últimos.

Experimento B. En ratas Wistar, macho, adultas se lesionó el ATV (n=8), bilateralmente mediante radiofrecuencia. La inducción del proceso inflamatorio fue cuatro días después a la lesión mesencefálica. El grupo control fue el mismo que el utilizado en el experimento anterior, al igual que la forma de inducir el proceso inflamatorio y de clasificar los grados de autotomía. Los resultados mostraron una anticipación en la aparición de la conducta de autotomía en el grupo ATV y la autotomía acumulada fue significativamente mayor en el grupo ATV al comparar ambos parámetros contra el grupo control.

En un trabajo previo de nuestro grupo se encontró que al estimular el haz del cíngulo, estructura que comunica directamente los núcleos talámicos AM y MD con la CAC, produjo

cambios en la incidencia, aparición e intensidad de la autotomía. De tal forma que si se estimula el probable origen de éstas fibras que forman el haz del cíngulo (a nivel de los núcleos talámicos relacionados) se debería observar cambios en el mismo sentido que se observaron al estimular la vía. Los hallazgos de la presentes tesis señalan que la estimulación de los núcleos talámicos AM y MD modifican la información nociceptiva probablemente a nivel de la CAC, al disminuir la latencia de aparición e incrementar la conducta y la incidencia de la autotomía.

Por otro lado, el ATV, estructura subcortical, que también forma parte del sistema límbico y que tiene aferencias dopaminérgicas inhibitorias hacia la CAC, pareciera ejercer un papel inhibitorio de la conducta de autotomía.

ABSTRACT

As a part of the definition of pain is that it is characterized by an unpleasant emotional experience. Over recent years, it has been explored the affective-cognitive component of pain, which has been associated with cerebral structures of the limbic system. It has been reported that surgical cingulotomy reduces the aversive or unpleasant component of pain in patients with untreatable pain. Recent neuroimaging techniques shown that the nociceptive stimulation activates the anterior cingulate cortex (CAC). These facts confirm the involvement of the limbic system cortex in nociceptive information processes. However, there is no evidence of the pathway by which such information reaches such cortex. Probably, one of those structures involved in this connection is the thalamus, which sends bi-directional projections to the CAC through many thalamic nuclei, mainly the anteromedial (AM) and the mediodorsal (MD) nuclei. The efferent of these nuclei are direct and travel through the cingulum bundle. Another structure related to the modulation of nociception, which is also part of the limbic system and has direct efferents to the CAC, is the ventral tegmental area (ATV), which contains dopaminergic neurons.

The experimental model for the study of pathologic pain in this thesis, is the induction of an abnormal behavior through a painful inflammatory process, called autotomy. This behavior consists in a self-injury over the inflicted inflammatory zone.

The purpose of this work is to determine if the electric stimulation of AM and MD nuclei, and the lesion of the ATV anticipate and potency the autotomy.

Two experiments were performed to prove these two objectives: Experiment A. Rats Wistar, male, adult, were stereotaxically implanted with bipolar electrodes in the AM, the MD and other thalamus nuclei (ONT) v. gr. centromedial, paratenial and reticularis; some were stimulated and others were not (sham). The stimulated groups were: AM (n=17), MD (n=12)

and ONT (n=12); and the sham of the nuclei AM (SAM, n=6), MD (SMD, n=8) and ONT (SONT, n=7). The inflammatory process was induced to these groups through an intraplantar carragenin (CAR) injection (250 µl at 1%) 60 minutes before the first stimulation. The stimulation parameters were: 10 minutes every day for 10 days (100 Hz, 1 s, every 5 s). The control (C; n=17) was a non-implanted group, only with the induction of the inflammatory process. The severity of the autotomy was classified in five grades, and based on this classification it was calculated an autotomy index and the accumulated autotomy. The results showed anticipation on the autotomy onset in the AM group compared to their respective sham and control groups. Also, the accumulated autotomy in the AM and MD groups was higher than in the sham and control groups, without any difference between this last two.

Experiment B. Rats Wistar, male, adult was injured the ATV (n=8), bilaterally by radiofrequency. The induction of the inflammatory process was done four days after the mesencephalic lesion. The control group was the same as for the experiment A, as well as the induction of the inflammatory process and the way of classifying the autotomic grades. The results showed anticipation on autotomy onset time of the ATV and the accumulated autotomy was significantly higher in the AVT at the moment of comparing both parameters against the control group.

Previous works indicate that the CAC is related to the affective-cognitive component of pain and the induction pathological pain-behavior, autotomy. The results of the present thesis point out that the stimulation of AM and MD thalamic nuclei probably modify the nociceptive information at the CAC level, by decreasing the onset time and increasing the incidence and the intensity of autotomy. It also suggests that the ATV plays an inhibitory role of the autotomy by blocking the activation of the CAC produced by the nociceptive stimulation.

INTRODUCCION.

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. En los animales se utiliza el término nocicepción, el cual se refiere a la presencia de conductas, reacciones motoras de evitación y vocalizaciones producidas por la estimulación nociva¹.

La percepción del dolor tiene las siguientes características importantes: es un evento reconocible; es localizable topológicamente; es desagradable y aversivo una vez que se experimenta; tiene una duración definible², e involucra un componente sensorial y otro emocional, lo que lo convierte en un proceso complejo.

Para su estudio, se han propuesto diferentes clasificaciones. Fordyce y Loeser^{3,4} consideraron cinco componentes o niveles del dolor: 1) el nociceptivo, 2) la nocicepción percibida, 3) el sufrimiento asociado, 4) la conducta dolorosa y 5) los factores ambientales relacionados con el estímulo doloroso.

El nivel nociceptivo se entiende como la sensación de daño potencial o real del tejido activado por estímulos periféricos térmicos, mecánicos o químicos que actúan sobre terminales nerviosas especializadas de fibras C y A-delta.

El sufrimiento asociado se define como la respuesta afectiva-cognoscitiva generada por regiones superiores del sistema nervioso en respuesta al dolor u otras situaciones asociadas como: miedo, ansiedad, aislamiento, depresión, etc. Este término no es aplicable en experimentos con especies no humanas por la dificultad de obtener pruebas objetivas de lo que siente el animal.

La conducta dolorosa se refiere al comportamiento generado por la presencia de un estímulo nociceptivo (ejemplo: postura, vocalización, etc.)⁵.

Finalmente es de considerar la importancia de los factores ambientales o socioculturales que alteran la conducta sin importar la etiología del dolor.

Otra clasificación involucra los mecanismos neurofisiológicos que intervienen en la nocicepción. En ésta, los mecanismos neurofisiológicos se dividieron en tres fases⁶ (Figura 1):

1) En la primera fase el dolor provocado por estímulos nociceptivos breves actúa como señal

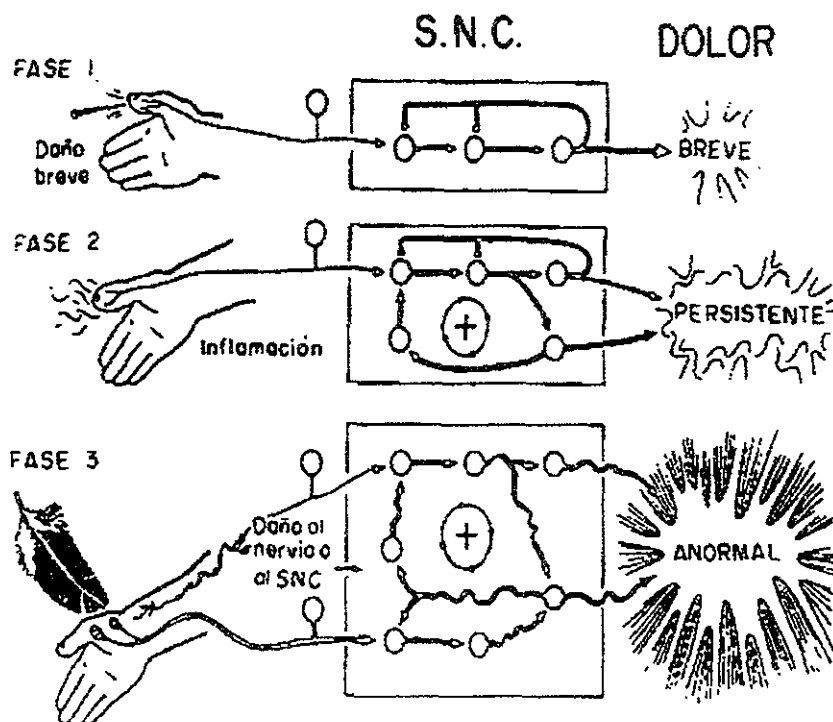


Fig. 1. El esquema representa las fases de los mecanismos fisiológicos del dolor (Cervero,1991). 1) En la fase 1 se representa el dolor provocado por un estímulo nociceptivo breve, la sensación es de corta duración y desaparece cuando cesa el estímulo. En la fase 2 se representa un estímulo nocivo persistente, y los mecanismos de sumación como la sensibilización central. Y por último, en la fase 3 se representa una percepción dolorosa anormal que se desarrolla a consecuencia de una disfunción del sistema nervioso periférico o central, donde hay una pérdida de la correlación entre el estímulo no nocivo y la sensación dolorosa conocido como alodinia.

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) La segunda fase está asociada generalmente con estímulos nocivos persistentes, como los procesos inflamatorios o el daño tisular. Y por último, 3) la tercera fase se establece como una percepción dolorosa anormal que en algunas ocasiones se desarrolla inicialmente a consecuencia de una disfunción del sistema nervioso periférico o central, resultado de un daño del nervio, la médula espinal o el cerebro. En esta fase hay una pérdida en la correlación entre el estímulo, normalmente no nocivo, y la sensación dolorosa, conocido como alodinia⁶; el proceso patológico persiste mucho tiempo después de que el estímulo ha desaparecido o el daño ha sido reparado, lo que sugiere el desarrollo de cambios plásticos en la función del sistema nervioso central⁷.

Desde hace 20 años se conoce que el dolor espontáneo, la hiperalgesia y la alodinia son el resultado de la sensibilización de neuronas aferentes primarias inducida por daño tisular^{8,9}. Se ha reportado que el daño tisular produce un incremento en la respuesta de las neuronas nociceptivas de la médula espinal¹⁰ y en otras regiones del sistema nervioso central como el tálamo y el cerebro^{7,11,12}. La expresión exagerada o anormal de esta respuesta es uno de los factores que desencadenan el dolor patológico, es decir, la entrada de impulsos tónicos de aferencias nociceptivas primarias (presentes en el dolor por inflamación persistente y en el dolor neuropático) se ha postulado como el factor de la sensibilización central de las vías encargadas de la transmisión y traducción de los estímulos algésicos ocasionando una sensación dolorosa patológica^{7,13}.

Existen síndromes clínicos en el humano clasificados dentro de la fase 3 de Cervero y Laird (1991)⁶, como el dolor por denervación y el dolor central, que se observan solo en una minoría de personas; aún en pacientes con los mismos daños en el SNC (la denervación a nivel

periférico o lesiones a nivel central), pueden no desarrollar síntomas dolorosos⁶. En cambio, el miembro fantasma doloroso otro síndrome doloroso tipo fase 3, se presenta en la mayoría de los pacientes que sufren amputación traumática¹⁴, y en donde la variación se observa en el tiempo de aparición. 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 ellos⁶. Es decir, ocurren cambios plásticos a nivel central debido a la activación de este sistema⁷. Por lo que el desarrollo de la fase 3 del dolor debe involucrar factores genéticos, cognoscitivos y afectivos no identificados hasta el momento^{6,7}.

Por otro lado, Melzack¹⁵ propone dimensiones del dolor para discriminar los factores sensoriales de la cualidad afectiva desagradable. Esta cualidad afectiva es lo que motiva un comportamiento complejo dirigido a detener el dolor tan rápido como sea posible. Para esta clasificación establece que los factores multidimensionales del dolor se dividen en módulos o componentes: a) sensorial-discriminativo, que se refiere al sistema somatosensorial de conducción rápida; b) motivacional-afectivo, correspondiente a estructuras reticulares y límbicas influenciadas por sistemas espinales de conducción lenta; y c) cognoscitivo-evaluativo, representado por estructuras neocorticales que ejercen actividad sobre las dimensiones sensorial-discriminativo y motivacional-afectivo.

Una de las áreas del cerebro relacionada con los componentes afectivo y cognoscitivo es la corteza anterior del cíngulo. Desde 1937, Papez¹⁶ establece la importancia de la corteza del cíngulo en el procesamiento de las emociones. Varios estudios^{17,18} han ligado al cíngulo con áreas límbicas y más precisamente con procesos cognoscitivos y afectivos asociados al dolor. El efecto de la cingulotomía¹⁹ y los estudios de neuroimagen durante la estimulación

somática nociva²⁰⁻²⁵ sugieren la intervención directa de la corteza anterior del cíngulo en el procesamiento de la sensación y percepción dolorosa normal.

Para el estudio del dolor patológico se han utilizados modelos experimentales^{26,27} (para postulados en contra ver Sweet, 1981²⁸), en los cuales se evalúa la presencia y calidad del dolor desencadenado por una lesión nerviosa mediante una conducta de automutilación o autoagresión, llamada también autotomía. Dicha conducta es susceptible de ser modificada mediante diferentes abordajes experimentales a diferentes niveles y estructuras involucradas en la transmisión de la información nociceptiva. Se ha demostrado²⁹ que la infiltración de anestésicos locales en el haz del cíngulo retrasa la aparición y disminuye la intensidad de la autotomía. De acuerdo con esto, nuestro grupo³⁰ encontró que la estimulación eléctrica en el haz del cíngulo previa o simultánea a la inducción de un proceso inflamatorio con carragenina, acelera la aparición y aumenta el grado de la autotomía en la rata. Estos resultados,^{29,30} indican que el haz del cíngulo y estructuras directamente relacionadas con el mismo intervienen directamente en el desarrollo del dolor patológico y la conducta desencadenada como parte del síndrome. El propósito de este trabajo es demostrar la participación de la corteza anterior del cíngulo y sus principales conexiones en el desarrollo del dolor patológico utilizando un modelo de autotomía en la rata.

DOLOR PATOLÓGICO

La palabra dolor se refiere a un vasto conjunto 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.

El término de dolor patológico se establece cuando se pierde la función primaria del dolor, la cual es la de servir, por un lado como un sistema de alarma que avisa sobre la existencia de un daño potencial o real en el tejido, y por el otro como un sistema para la protección de un tejido lesionado. Por consiguiente, el dolor patológico es una percepción dolorosa anormal, la cual carece de una correlación entre el estímulo y la sensación dolorosa y que persiste tiempo después de que el estímulo ha cesado, o el daño ha desaparecido o reparado.

Existen varios modelos animales de dolor crónico para entender la complejidad de las condiciones dolorosas en los humanos y los posibles tratamientos para aliviarlo²⁷. Para su estudio se clasifican en tres grupos: foco central irritativo, deaferentación e hiperestimulación.

En el foco central irritativo, las vías aferentes están intactas, el foco excitatorio se produce en los centros nerviosos. Algunos ejemplos de este modelo se llevan a cabo mediante la aplicación de diferentes sustancias para provocar los focos irritativos según la localización en donde se apliquen, como el gel de aluminio y la estriknina tópica en el núcleo del trigémino, o la inyección intracerebral de sustancias que suprimen el efecto central inhibitorio como son: la toxina de tétanos, la estriknina y la penicilina³¹. Se ha observado que ante éste tipo de estímulos se presentan respuestas anormales a la estimulación táctil y en ocasiones conductas de auto-agresión. El comportamiento desencadenado por focos irritativos centrales se ha interpretado como dolor creado por la hiperestimulación de vías centrales nociceptivas.

La deaferentación es un modelo donde se suprime la entrada de información periférica, mediante la lesión de las vías aferentes. Esta lesión se lleva a cabo en diferentes niveles: nervio³², raíz dorsal³³, fascículo o tracto³⁴, y de dos formas principalmente: la sección o la constricción³⁵ de la vía.

A pesar de que este tipo de modelo se ha aplicado ya por más dos décadas, aun existe un debate sobre si la conducta de automutilación es una respuesta a un dolor disestésico^{26,36} o una respuesta a un apéndice insensible³⁷. Para discusión y revisión del tema ver Coderre²⁶ y Kaupila³⁸.

En los modelos donde se lleva a cabo la hiperestimulación, es decir un incremento de la información periférica provocada por un dolor tónico, ésta se produce mediante la inyección subcutánea de carragenina o formalina generalmente en la pata del animal. Estas sustancias tienen por objeto provocar un dolor cutáneo mediante un proceso inflamatorio, y son usadas como modelo de dolor tónico^{39,40}. La inflamación local en la pata de la rata produce un dolor constante asociado a la lesión moderada del tejido, y ha sido relacionado con escalas subjetivas basadas en la postura del animal^{5,39,40}. El curso temporal de la prueba de formalina presenta dos fases, una primera fase temprana que va desde el momento de la inyección hasta aproximadamente 5 minutos después, y que se relaciona con un dolor agudo, posteriormente el dolor se reduce de forma considerable. La segunda fase se caracteriza por un incremento del dolor, de moderado a alto, y que comienza a partir de 10-15 min después de la inyección. Durante esta fase tardía aparece un comportamiento de evitación y protección hacia el área afectada que persiste hasta por 1 h o más, dependiendo de la concentración de formalina inyectada. Esta conducta se caracteriza porque la rata eleva, sacude, lame repetidamente, y en algunas ocasiones, muerde la pata inflamada⁴¹.

La carragenina (CAR) comparte muchas características como agente inflamatorio nociceptivo con la formalina. Sin embargo, tienen algunas diferencias como es la latencia de aparición del dolor en la fase tardía (1 h para la carragenina, 10-15 min para la formalina) y la duración de la hiperalgesia (2-4 h para la carragenina, 1 h para la formalina)²⁷.

En los modelos de hiperexcitabilidad, la vía nociceptiva se conserva, así como la integridad del animal, en comparación con los modelos por foco irritativo central y por denervación. La eficacia de la carragenina en producir procesos de dolor tónico con repercusión a nivel central, ha sido corroborada en varios estudios^{42,43}.

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 rasguños y mordeduras del área periférica involucrada, es decir, conductas de auto lesión²⁷.

AUTOTOMÍA: MODELOS DE DOLOR PATOLÓGICO

A nivel experimental, existe una conducta que se desarrolla en los animales debido a lesiones similares a las que desencadena el dolor por deafferentación en el hombre⁴⁴. La mayoría de los animales neurectomizados comienzan a rasgar, morder o mutilar partes del miembro denervado, fenómeno que se ha denominado como autotomía. Se ha propuesto que este comportamiento es el resultado del dolor patológico desencadenado por el daño del sistema nervioso. Aunque existe controversia en este hecho, varios estudios apuntan a que la conducta de autotomía es una respuesta a la nocicepción más que un comportamiento ante la presencia de un apéndice insensible³⁷, y más aún, hay argumentos experimentales que

demuestran que la cuantificación de la autotomía es una medida apropiada para la valoración de los grados de dolor o disestesia que resultan de la deaferentación del miembro²⁶.

El sujeto de experimentación más utilizado en estos modelos ha sido la rata. En la mayoría de ellos, se produce una sección o daño anatómico a varios niveles de la vía nociceptiva: a nivel de la médula espinal³⁴, de la raíz dorsal³³, o del nervio periférico³²; a los cuales se les conoce como cordotomía, rizotomía dorsal o neurectomía respectivamente. El daño anatómico se realiza con una ligadura floja que constriñe parcialmente el nervio³⁵. Nuestro grupo estableció un modelo de hiperestimulación, en el cual se induce la conducta de automutilación mediante un proceso inflamatorio al inyectar carragenina en tejidos blandos de la pata del animal^{30,45}. La hipótesis que se ha formulado con relación a este hecho, es que la inflamación que resulta de la infiltración de carragenina produce una hiperestimulación periférica que desencadena en algunos animales la conducta de automutilación. Sin embargo, se desconoce exactamente los procesos por lo que se desarrolla esta conducta.

Los modelos por deaferentación prácticamente siguen el mismo patrón de conducta, las pequeñas variaciones en el patrón de autotomía, entre los diferentes tipos de lesión nerviosa, se encuentran principalmente en la latencia de aparición y evolución de la autotomía. En los modelos por deaferentación la automutilación es progresiva, de distal a proximal, iniciando con las uñas y que continúa con las falanges, metatarso, etc. Aparece en un intervalo de 10 a 37 días³². En cambio, en el modelo por inflamación, la automutilación se presenta con lesiones topológicamente lineales y se encuentran predominantemente en la región dorsal de la pata. Estas lesiones aparecen en un intervalo de tiempo de entre 1 a 5 días. Debido a estas diferencias en la autotomía hubo la necesidad de crear una clasificación *ad hoc* para la autotomía inducida por el proceso inflamatorio resultante de la infiltración de carragenina.

Se establecieron cinco grados fundamentados en la extensión y multiplicidad de las lesiones (*vide infra*: material y método experimento A).

GÉNESIS DE LA CONDUCTA DE AUTOTOMÍA

Si bien, aun no se ha entendido por completo la fisiopatología de la conducta de autotomía, sí se han logrado avances en el conocimiento de la génesis y en factores que estimulan o inhiben la aparición y la intensidad de la conducta. Estos avances se han conseguido sobre todo en modelos por deafferentación, en los cuales se ha observado que cuando las fibras sensoriales son dañadas, emiten una descarga de impulsos de alta frecuencia que tiene una duración de minutos³⁸. A pesar de su corta duración, se ha sugerido que esta primera descarga subsiguiente a la lesión interviene en la aparición e intensidad de la autotomía, debido a que esta conducta se modifica al bloquear o al prolongar la descarga inicial posterior a la lesión. En este sentido, se ha demostrado que al prevenir la descarga, utilizando anestésicos locales para bloquearla antes del corte del nervio, aumenta la latencia de inicio y disminuye la intensidad de la conducta⁴⁶. Por el contrario, la prolongación de dicha descarga, mediante una estimulación eléctrica de la suficiente intensidad para ser conducida a través de fibras A delta y C o a una frecuencia de 0.5 Hz (que produce una sumación temporal, o “wind up”, en la respuesta de algunas neuronas nociceptivas del asta dorsal) previamente a la lesión nerviosa, acorta la latencia de inicio e incrementa la intensidad de la autotomía⁴⁷. Aunado a esto, se ha observado que un estímulo nocivo previo a la neurectomía en el área denervada incrementa la conducta de la autotomía⁴⁸⁻⁵⁰ y que la sustancia P y la somatostatina, neuropéptidos que se liberan de las terminales aferentes primarias del asta dorsal por un estímulo nocivo, están involucrados en este proceso, dado que al administrar estas sustancias en la médula espinal, también se aumenta la conducta⁵¹. Estos hechos sugieren que la

autotomía resulta de la activación neural central, con efectos a largo plazo, inducida por la lesión nerviosa; y que puede ser influida por un tipo de memoria nociceptiva establecida previamente en estas neuronas.

Después de ésta primera descarga y secundariamente al daño nervioso, se presenta una serie de cambios en el extremo proximal del nervio que igualmente participan en la aparición de la conducta de autotomía³⁸. Esto se ha observado mediante la resección quirúrgica o farmacológica del neuroma que se forma en la porción proximal del nervio lesionado, lo cual suprime, parcial o totalmente, la autotomía^{36,52}. Además, se han registrado descargas espontáneas en el neuroma, que aparecen, dependiendo del tipo de lesión, entre los 4 y los 10 días posteriores al daño nervioso⁵³. El patrón de descarga espontánea hallado en estas fibras presenta una frecuencia variable (0-100 Hz) con descargas rítmicas, que pueden ser activadas por estimulación mecánica del neuroma⁵³. Otro sitio donde también se ha encontrado modificaciones en la actividad espontánea, es en las neuronas de la raíz dorsal⁵⁴. En estas se ha observado un incremento en la actividad espontánea, las cuales disparan a baja frecuencia (0.25-14 Hz) con actividad irregular, aún después de extirpar o anestesiarse localmente el neuroma⁵⁴. El análisis subsiguiente de la velocidad de conducción de las fibras mostró que los responsables de la conducción de estos impulsos son pequeños filamentos mielinizados, de tipo A delta⁵⁵.

Los mecanismos anteriores desencadenan cambios electrofisiológicos, que involucran modificaciones a largo plazo, en las neuronas del asta dorsal, registradas de 9 a 10 días posteriores a la lesión nerviosa. Estos cambios muestran: a) una respuesta prolongada (> 10 min) ante estímulos nocivos breves (< 15 s); b) una hiperactividad ante estímulos no nocivos, (estimulación mecánica gentil y movimientos de flexión-extensión de la pata); y c) alta actividad

espontánea de algunas de estas neuronas acompañadas de modificaciones en el campo receptivo periférico⁵⁴.

MECANISMOS CELULARES RELACIONADOS CON EL DOLOR PATOLÓGICO

Los mecanismos celulares que han sido relacionados con los cambios electrofisiológicos neurales que involucran modificaciones a largo plazo, son los procesos de plasticidad sináptica denominados sensibilización central y wind up⁷. En estos procesos se ha propuesto que está involucrado un reclutamiento gradual de receptores N-metil-D-arginina (NMDA) activados por la sumación de potenciales excitatorios lentos mediados por receptores de la sustancia P (y péptidos relacionados a ésta)⁵⁶ o por la apertura de canales lentos de calcio que forma parte del receptor metabotrópico glutamatérgico en neuronas específicas de la médula espinal^{57,58}. En relación con este planteamiento, se ha observado que al administrar, de forma sistémica o intratecal, antagonistas no competitivos del receptor NMDA (MK-801: 1-(4-clorobenzoil)-piperazin-2,3-dicarboxilato o 5-APV: 2-amino-5-fosfonovalerato) antes o durante los primeros tres días del daño nervioso, produce un efecto inhibitorio sobre la conducta de autotomía^{59,60}; el mismo efecto se ha observado con la aplicación subcutánea de magnesio 30 min antes de la lesión nerviosa⁶¹. Por el contrario, al bloquear la inhibición glicinérgica del receptor NMDA con estriknina se aumenta notablemente la conducta de autotomía⁶⁰. Lo que indica, claramente, que en el desarrollo de la autotomía intervienen directamente la activación de receptores NMDA y las corrientes de calcio relacionadas a éste, en neuronas de la médula espinal.

En este tipo de plasticidad sináptica también se ha involucrado al óxido nítrico (ON) como neuromensajero inductor de los cambios plásticos tanto en la neurona presináptica como en la postsináptica, siendo en esta última donde se produce y libera este

neurotransmisor⁶²⁻⁶⁴. Por lo que también se ha propuesto como un factor en el desarrollo de la conducta de autotomía⁶³. De esta forma, utilizando agonistas (L-arginina) y antagonistas (NG-nitro-L-arginina metil ester: L-NAME) para la formación de ON en un modelo de deafferentación del nervio ciático y safeno, se observó que con la infiltración intratecal a nivel lumbosacro del precursor L-arginina, 5 a 10 min previo a la lesión, aumenta la autotomía y disminuye con la infiltración del antagonista L-NAME. La infiltración de los isómeros D-arginina y D-NAME no tuvo efecto alguno sobre la autotomía⁶². Estos resultados sugieren que la autotomía en las ratas puede ser modulada mediante el bloqueo o la facilitación de la producción del ON en las neuronas espinales involucradas en el dolor neuropático.

VÍAS RELACIONADAS CON EL DOLOR NEUROPÁTICO

Los estudios enfocados en determinar las vías ascendentes nociceptivas relacionadas con la conducta de autotomía han encontrado que los fascículos anterolateral y dorsolateral, que intervienen en la transmisión e inhibición del dolor, también están relacionados con la activación de la autotomía. Al respecto, Wall, Saade y colaboradores^{34,65} observaron que la lesión del fascículo anterolateral, ipsi y contralateral, simultánea o previa a la denervación, produce un retraso significativo y una menor intensidad en la autotomía. Por el contrario, la sección del fascículo dorsolateral, acelera la aparición de la autotomía en respuesta a la denervación contralateral del nervio ciático y safeno, sin modificar la conducta ante la sección del fascículo posterior (gracilis y cuneatos). Por lo que estos autores proponen que la señal nociceptiva viaja a través del fascículo anterolateral, algunas fibras se dirigen hacia el bulbo en donde activan neuronas de la sustancia gris periacueductal y rafe dorsal, las cuales proyectan a través del fascículo dorsolateral a neuronas de la lámina I principalmente, cerrando el circuito inhibitorio espino-bulbo-espinal.

Otros estudios de este mismo grupo relacionan estructuras supraespinales subcorticales y corticales con la conducta de autotomía. Las estructuras subcorticales exploradas han sido el área parabraquial y el estriado. Se ha observado que al lesionar el área parabraquial contralateral con ácido iboténico se acelera la aparición y aumenta la intensidad de la conducta; en cambio al lesionar el estriado con ácido kaínico la conducta de autotomía tarda en aparecer y disminuye su intensidad. También se observó un retardo en la aparición y una disminución en la intensidad de la conducta al realizar una hemidecorticación masiva, mediante hemisferectomía subtotal⁶⁶, y al inyectar localmente anestésicos locales en el haz del cíngulo²⁹.

No obstante estos datos, la experimentación con respecto a la identificación de estructuras corticales y subcorticales en relación con los mecanismos fisiopatológicos del dolor patológico son escasos y poco se ha explorado en relación a las estructuras supraespinales involucradas con la transmisión del dolor en general y del dolor patológico en especial.

ANATOMÍA FUNCIONAL DE ESTRUCTURAS RELACIONADAS CON LA CORTEZA DEL CÍNGULO QUE PARTICIPAN EN EL DOLOR PATOLÓGICO.

VÍA ASCENDENTE

Existen muchos componentes y vías anatómo-funcionales del dolor. El presente estudio está enfocado al análisis del componente afectivo del dolor. Hay argumentos que intentan diferenciar los componentes afectivos del dolor de los sensoriales. Aun más, se ha propuesto que la discriminación entre sensación afectiva y sensorial puede estar dada desde las astas dorsales de la médula espinal⁶⁷, así como al nivel del tallo cerebral en el cerebro medio¹⁵.

La información sensorial no nociceptiva es transmitida a través de la vía espinotalámica⁶⁸ o vía espinotalámica lateral¹⁵, que proyecta fibras de neuronas hacia los núcleos del tálamo, que son núcleos de relevo para enviar la información a la corteza somatosensorial. Por otra parte, la información sensorial nociceptiva sigue la vía espinoreticular⁶⁷ o vía espinotalámica medial¹⁵ para llegar a las regiones cerebrales donde se integran los procesos afectivos de la información nociceptiva (Figura 2). Este tracto medial contiene también vías aferentes somatosensoriales y viscerosensoriales que llegan a diferentes niveles del tallo cerebral.

El procesamiento de las señales nociceptivas que producen el componente afectivo comienza en las vías que van de la formación reticular a la corteza cerebral⁶⁷. 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 rafe; 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 nigra⁶⁷. En cuanto a la integración central de la información dolorosa, ésta emplea ambas vías: la espinotalámica medial (espinoreticular) y la espinotalámica lateral (espinotalámica)^{69,70}, para elaborar una

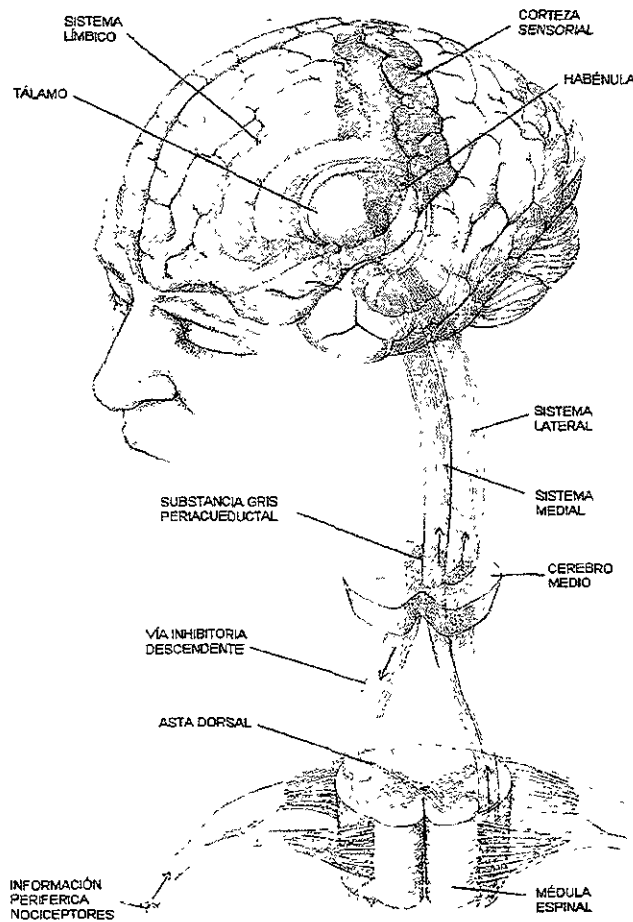


Fig. 2. Los nociceptores del segmento dérmico estimulado transmiten la información por medio de las neuronas del ganglio dorsal hacia las neuronas del asta dorsal. Estas últimas se encargan de transmitir la información nociceptiva hacia el tálamo mediante la vía espinotalámica. La vía espinotalámica se divide en fascículo dorsolateral (espinotalámico lateral: responsable de la transmisión de la información hacia sitios cerebrales encargados de la identificación y localización espacial y temporal del dolor) y en fascículo anterolateral (espinotalámico medial: responsable de la transmisión de la información hacia sitios cerebrales que procesan el componente afectivo-aversivo del dolor). Melsack, 1990.

integración central de la información dolorosa, ésta emplea ambas vías: la espinotalámica medial (espinoreticular) y la espinotalámica lateral (espinotalámica)^{69,70}, para elaborar una respuesta compleja, tanto motora como de inhibición descendente ejercida por la sustancia gris periacueductal y los núcleos del rafe⁷¹. La transmisión de la información nociceptiva hacia el tálamo es mediada por la vía espinotalámica una vez que son activadas las neuronas del asta

hacia sitios cerebrales encargados de la identificación y localización espacial y temporal del dolor) y en el fascículo anterolateral (espinotalámico medial: responsable de la transmisión de la información hacia sitios cerebrales que procesan el componente afectivo-aversivo del dolor)^{15,72}.

La información transmitida por cada fascículo se integra en diversos grupos talámicos. El tálamo es un conglomerado de núcleos que se localizan a ambos lados del tercer ventrículo, cada uno dividido por un conjunto de fibras denominado lámina medular interna y externa que separan a los núcleos talámicos en seis grupos (Figura 3). La relevancia del tálamo en los procesos sensoriales se debe a que todos los sistemas sensoriales, a excepción del sistema olfatorio, hacen relevo en el tálamo antes de llegar a la corteza. El olfato proyecta directamente a la corteza y después al tálamo en el núcleo medial dorsal. Los núcleos talámicos presentan conexiones recíprocas con la corteza cerebral. Parte de la información dolorosa asciende a partir de las neuronas de la lámina I, V y VI de la médula espinal. Los axones de éstas neuronas conforman la mayor parte del fascículo dorsolateral y se dirigen, principalmente, a los núcleos específicos o laterales del tálamo (núcleos ventral posterior, y geniculado lateral y medial). Se les dio esta denominación debido a que las neuronas de estos núcleos responden selectivamente a una topografía, extensión y tipo de estimulación^{20,73}. La otra parte de ésta información, asciende a partir de las láminas profundas (VI-VIII) a través de ambos fascículos, principalmente a través del fascículo anterolateral, hasta estructuras mesencefálicas y al tálamo⁷⁴. En este último, la información se distribuye en los núcleos inespecíficos o mediales (núcleos mediales, intralaminares, anterior y reticular)⁷⁵. Algunos autores^{76,77} han sugerido que la intervención de estos núcleos mediales, en especial el núcleo medial dorsal, están más

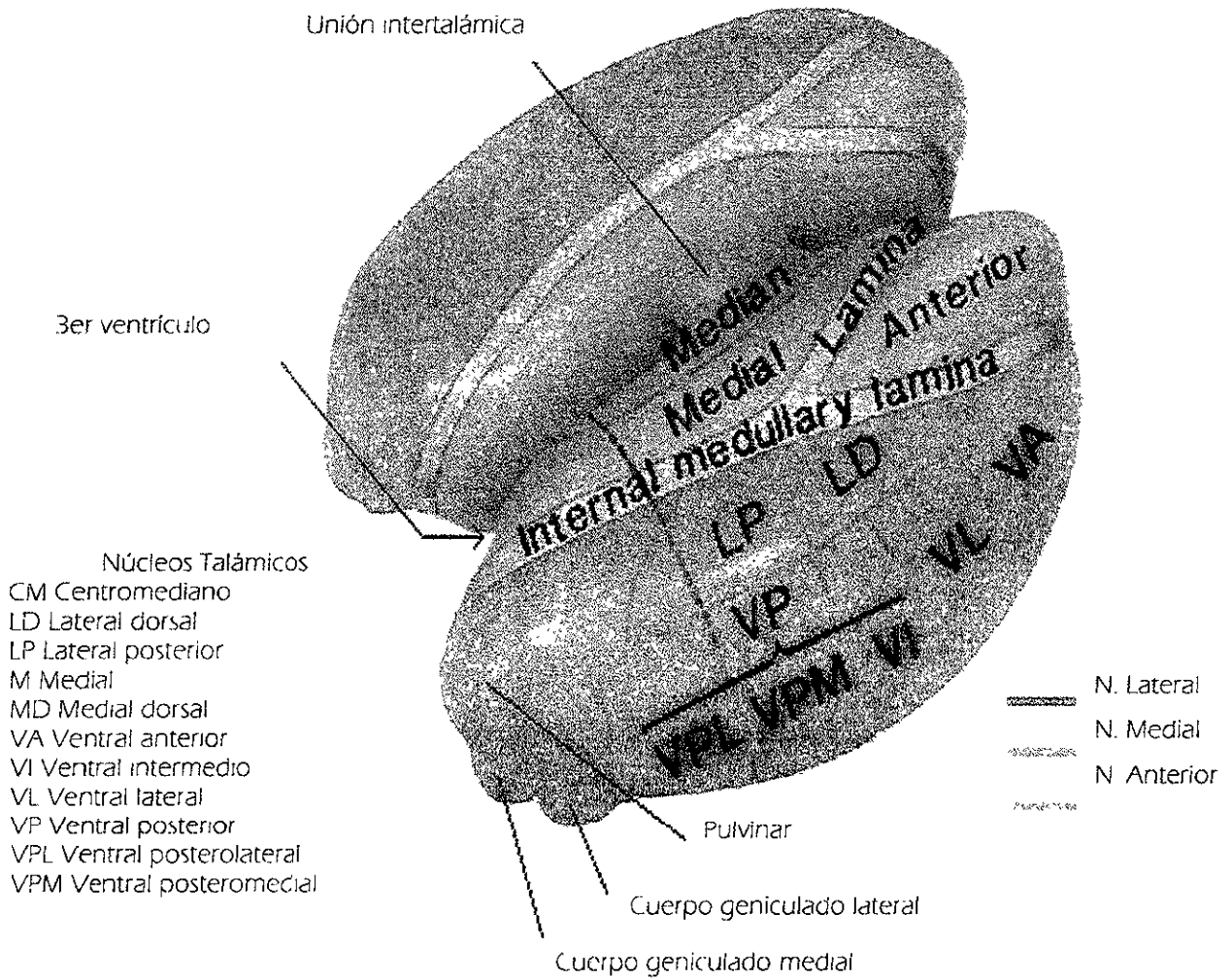


Fig. 3. Esquema del tálamo donde se observan las divisiones del tálamo en núcleos anterior, lateral, y medial, los núcleos intralaminares se localizan entre la lámina medular interna (Vol 1, Colección Netter CIBA).

relacionados con la transmisión del componente afectivo-cognoscitivo del dolor que con el componente somatotópico, debido a sus conexiones con el sistema límbico (Figura 2).

NÚCLEOS ANTEROMEDIAL Y MEDIAL DORSAL DEL TÁLAMO EN LA TRANSMISIÓN DE LA INFORMACIÓN NOCICEPTIVA.

El tálamo está subdividido internamente por la lámina medular interna en compartimentos anterior, medial y lateral, los cuales contienen varios grupos de núcleos. El grupo de núcleos anterior forma el compartimiento anterior, mientras que el compartimiento medial es ocupado por el núcleo medial dorsal. El compartimiento lateral se encuentra entre la lámina medular interna y externa, la cual contiene a los grupos de núcleos ventral, lateral y posterior. El grupo de núcleos intralaminar está intercalado dentro de la lámina medular interna y en la línea media, éste grupo de núcleos se continúa con el grupo de núcleos de la línea media⁷⁸.

El grupo anterior del tálamo consiste en tres núcleos citológicamente distintos: el núcleo anteroventral, anteromedial y anterodorsal. Estos núcleos reciben aferencias provenientes del hipocampo, de la corteza del cíngulo y del complejo mamilar del hipotálamo. Las proyecciones eferentes de los núcleos anteroventral y anterodorsal terminan en la corteza retrosplenial granular, en cambio, el núcleo anteromedial tiene proyecciones sólo hacia la corteza anterior del cíngulo a través del haz del cíngulo⁷⁹⁻⁸². Se tiene evidencia de que en las terminales de estas conexiones talamocorticales se liberan aminoácidos excitadores como neurotransmisores⁸³.

Las conexiones del grupo anterior del tálamo completan el circuito formado por el hipocampo, el hipotálamo y la corteza (límbica) del cíngulo propuesto por primera vez por Papez¹⁶. Por lo tanto, los núcleos anteriores del tálamo forman un componente subcortical importante del sistema límbico. No obstante esta estrecha relación del núcleo anterior del tálamo con el sistema límbico, han sido pocos los estudios donde se involucre el núcleo anteromedial del tálamo con la transmisión de la información nociceptiva⁷⁶. Por el contrario,

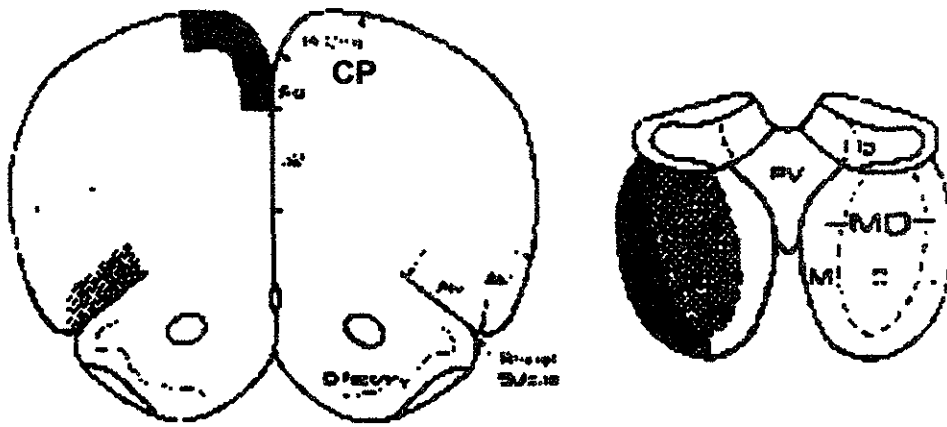


Fig 4. Relación de las conexiones del núcleo medial dorsal del tálamo con la corteza prefrontal (CP). El núcleo medial dorsal lateral (área en negro, figura de la derecha) tiene proyecciones a la corteza anterior del cíngulo (área en negro de la figura de la izquierda) y el núcleo central (área gris de la figura de la derecha) a la corteza de la ínsula (área en gris de la figura de la izquierda) (obtenido de Paxinos, 1984).

son varios los estudios que relacionan al núcleo medial dorsal del tálamo con el relevo de este tipo de información.

Actualmente se reconocen 3 subdivisiones del núcleo medial dorsal del tálamo (MD): lateral, central y medial, los cuales tienen una estrecha relación con la corteza prefrontal. Por medio de técnicas de rastreo retrógrado se observó que las proyecciones del MD central llegan a la región del sulcus rhinal y al área insular agranular ventral. El Área 32 de la corteza prefrontal (Cg3) recibe proyecciones del MD medial, y el MD lateral proyecta a la corteza anterior del cíngulo (Cg1) y al área precentral medial (Fr2)⁸⁴ (Figura 4). El MD recibe aferencias corticales de la corteza prefrontal medial, principalmente de la corteza anterior del cíngulo, aferencias ascendentes del núcleo del rafé medio, y aferencias descendentes del núcleo accumbens⁸¹.

La intervención del núcleo medial dorsal del tálamo en los procesos de dolor patológico se ha observado tanto en estudios realizados en humanos como en animales. En

sujetos con dolor crónico por deafferentación, se registró la actividad eléctrica de neuronas individuales talámicas. La actividad de éstas neuronas mostró descargas espontáneas de alta frecuencia en 8 de 10 pacientes. Al reconstruir la trayectoria de los electrodos, se observó que las regiones involucradas correspondían al núcleo medial dorsal en su parte lateral, al núcleo central lateral, una pequeña parte del núcleo central medial y el núcleo parafascicular⁸⁵. También se ha encontrado en ratas con artritis, actividad espontánea aumentada al registrar áreas del tálamo medial. El mayor número de estas neuronas se localizaron en los núcleos submedio, medial dorsal, central lateral, paracentral, ventral medial, parte medial del ventral lateral, anteromedial y reunis⁷⁶. Aunque estos estudios muestran la intervención de otros núcleos mediales en el relevo del dolor patológico, el núcleo medial dorsal presenta actividad aumentada en ambos estudios.

Otras evidencias que involucran al núcleo medial dorsal del tálamo en la transmisión de la información nociceptiva son los estudios electrofisiológicos en ratas⁸⁶, conejos⁸⁷ y gatos⁸⁸, donde se ha observado una respuesta ipsilateral, principalmente en las láminas III-V de la corteza anterior del cíngulo a la estimulación de neuronas del MD y a la estimulación periférica nociva mecánica, térmica y eléctrica^{86,89}.

Anatómicamente, por medio del transporte retrógrado de aspartato marcado con tritio y electrofisiológicamente, se ha podido establecer que algunos de los neurotransmisores protagonistas en esta vía son los aminoácidos excitadores, glutamato y aspartato, los cuales activan receptores AMPA (ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico) y probablemente también NMDA^{90,91}.

Además, se ha encontrado que las terminaciones nerviosas provenientes del MD convergen con aferencias excitatorias (glutamatérgicas) originadas en la formación del hipocampo^{92,93} y con terminaciones dopaminérgicas provenientes del área tegmental ventral⁸¹.

El punto donde coincide la convergencia de estas fibras es principalmente sobre las dendritas apicales y en el soma de las neuronas piramidales que conforman la lámina V de la corteza anterior del cíngulo^{94,95}. La conformación estructural de esta unión interneural ofrece una regulación espacial de las aferencias excitatorias por medio de las aferencias inhibitorias provenientes del área tegmental ventral.

RELACIÓN DEL SISTEMA MESOCORTICAL DOPAMINÉRGICO CON LA CORTEZA ANTERIOR DEL CÍNGULO.

Las proyecciones dopaminérgicas mesocorticales tienen su origen principalmente en células del área tegmental ventral (ATV), de la sustancia negra y del territorio retrorubral. Estas proyecciones inervan densamente la corteza prefrontal, la del cíngulo, la suprarrenal y la entorrinal⁷⁸. El principal núcleo que forma el sistema mesocortical dopaminérgico es el ATV (A10), el cual contiene dos subdivisiones reconocibles, especialmente en la región rostral, que incluyen: al núcleo parabraquial localizado dorsalmente y más ventralmente al núcleo paranigral⁹⁶.

Las aferencias del ATV provienen principalmente de proyecciones inhibitorias gabaérgicas del núcleo accumbens, noradrenérgicas del locus coeruleus y serotoninérgicas del núcleo del rafé dorsal. Otras terminales que llegan al ATV parten de la corteza prefrontal y suprarrenal⁷⁸.

La dopamina (DA) liberada por el sistema mesocortical en la corteza anterior del cíngulo inhibe de manera tónica la excitación de las neuronas inducida por la activación del receptor NMDA desencadenado por la estimulación del MD^{91,97}. En estudios electrofisiológicos se ha observado que la activación de vías mesocorticales del sistema dopaminérgico bloquea la actividad espontánea de las neuronas de la corteza prefrontal y

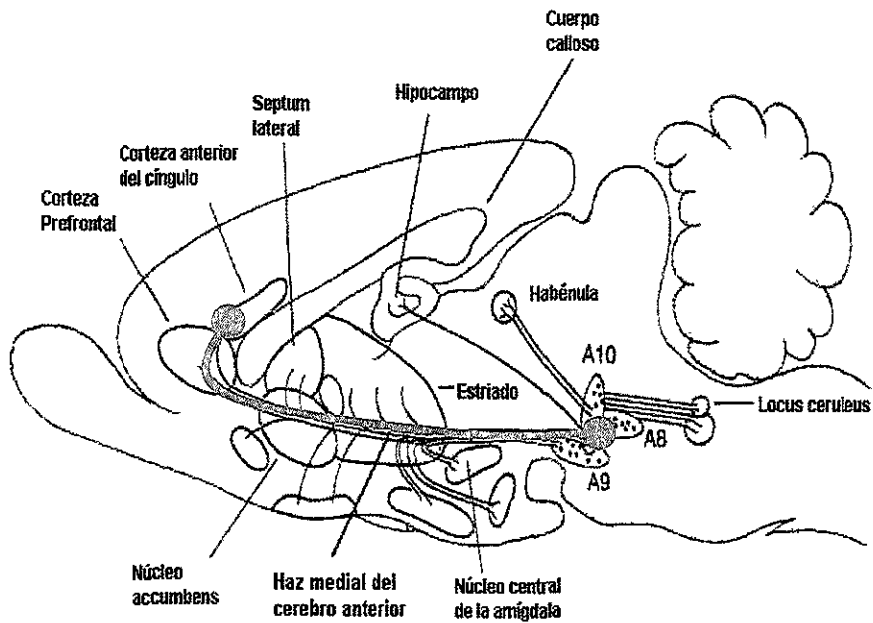


Fig. 5. El área tegmental ventral o A10, a través del haz medial del cerebro anterior (en rojo), aporta fibras dopaminérgicas a la corteza anterior del cíngulo.

disminuye todos los componentes de la respuesta sináptica evocada por la estimulación eléctrica del MD^{86,98} y del hipocampo⁹³, así como la evocada por la estimulación nociceptiva^{86,99}; y en particular inhibe los potenciales postsinápticos excitatorios monosinápticos desencadenados por la activación de receptores glutamatérgicos⁹⁴. El decremento en la actividad de las neuronas de la corteza anterior del cíngulo involucra al receptor D1⁹⁴, ya que el efecto depresor de la DA en la transmisión glutamatérgica fue parcialmente mimetizado por el agonista SKF 38393, a pesar de que el agonista D2 (quinpirole) fue inefectivo. Este efecto fue bloqueado por el antagonista del receptor D1, SCH 23390, pero no por el antagonista D2, sulpiride; lo que indica que hay una posible convergencia de aferencias sobre neuronas comunes de la corteza anterior del cíngulo que contienen receptores para aminoácidos excitadores y receptores dopaminérgicos tipo 1 (Figura 6).

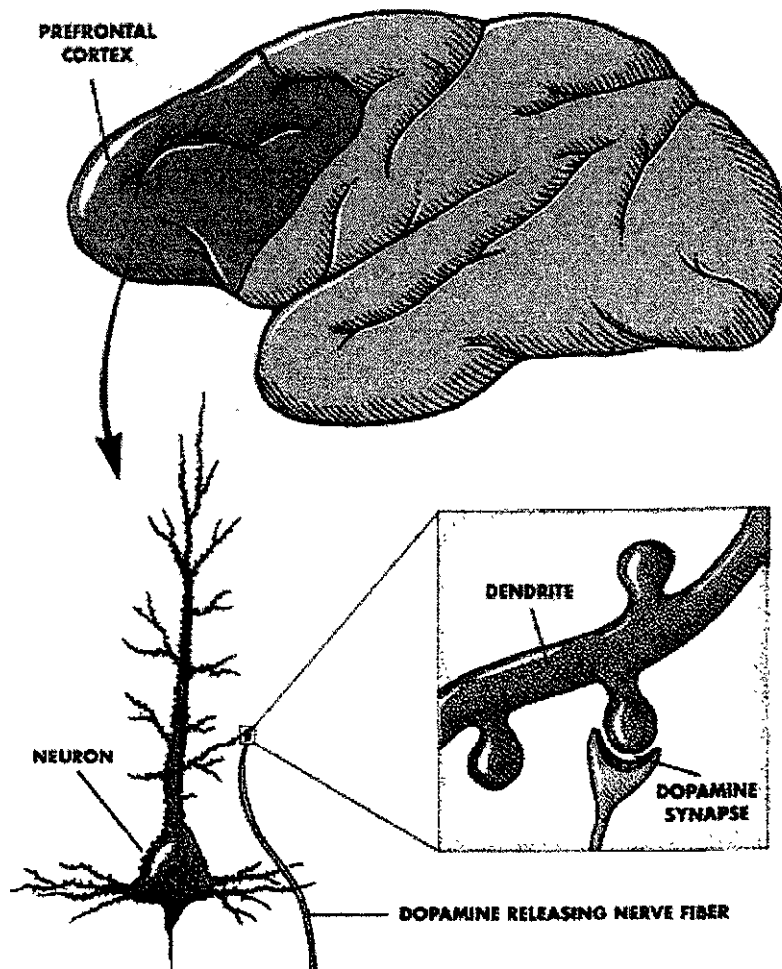


Fig. 6. En el esquema se observa el nivel de la sinapsis dopaminérgica sobre la dendrita de la lámina V de las neuronas de la corteza anterior del cíngulo. Esta sinapsis disminuye la respuesta evocada por la estimulación nociceptiva y por los potenciales postsinápticos excitatorios monosinápticos desencadenados por la activación de receptores glutamatérgicos (ver texto).

En experimentos en los que se utilizó un marcador de inmunorreactividad al protooncogen *c-fos* como indicador indirecto de la respuesta neuronal del ATV ante la estimulación nociceptiva, se observó un incremento significativo en el número de neuronas colecistokininérgicas y dopaminérgicas Fos-positivas en los animales sometidos al estímulo nocivo, sin cambios significativos en otros núcleos del cerebro medio¹⁰⁰, lo que indica que el

ATV también recibe información nociceptiva. En este mismo sentido, se ha encontrado que al lesionar el ATV, disminuye el umbral al dolor en animales sometidos a pruebas agudas de mecanonocicepción y termonocicepción^{101,102}. En animales sometidos a denervación, se acorta el tiempo de aparición y aumenta la intensidad de la conducta de autotomía^{45,102,103}. Esto sugiere que el ATV juega un papel en la modulación del dolor. Suponemos que esta modulación es inhibitoria y que está relacionada directamente con la CAC.

CORTEZA ANTERIOR DEL CÍNGULO EN LA SENSACIÓN Y PERCEPCIÓN DOLOROSA.

La corteza anterior del cíngulo forma una larga región alrededor del rostrum del cuerpo calloso, la cual ha sido subdividida en varias regiones de acuerdo a la citoarquitectura de cada una. Los nombres que se le han asignado a estas regiones cambian de acuerdo a la especie y dentro de algunas especies reciben diferente nomenclatura (Tabla I). En el hombre, la CAC incluye las áreas 25, 33 y el área rostral 24 de Brodman. En la rata, la CAC ha sido subdividida en las siguientes áreas¹⁰⁴: área 2 de la corteza frontal (M2), áreas 1-3 de la corteza del cíngulo

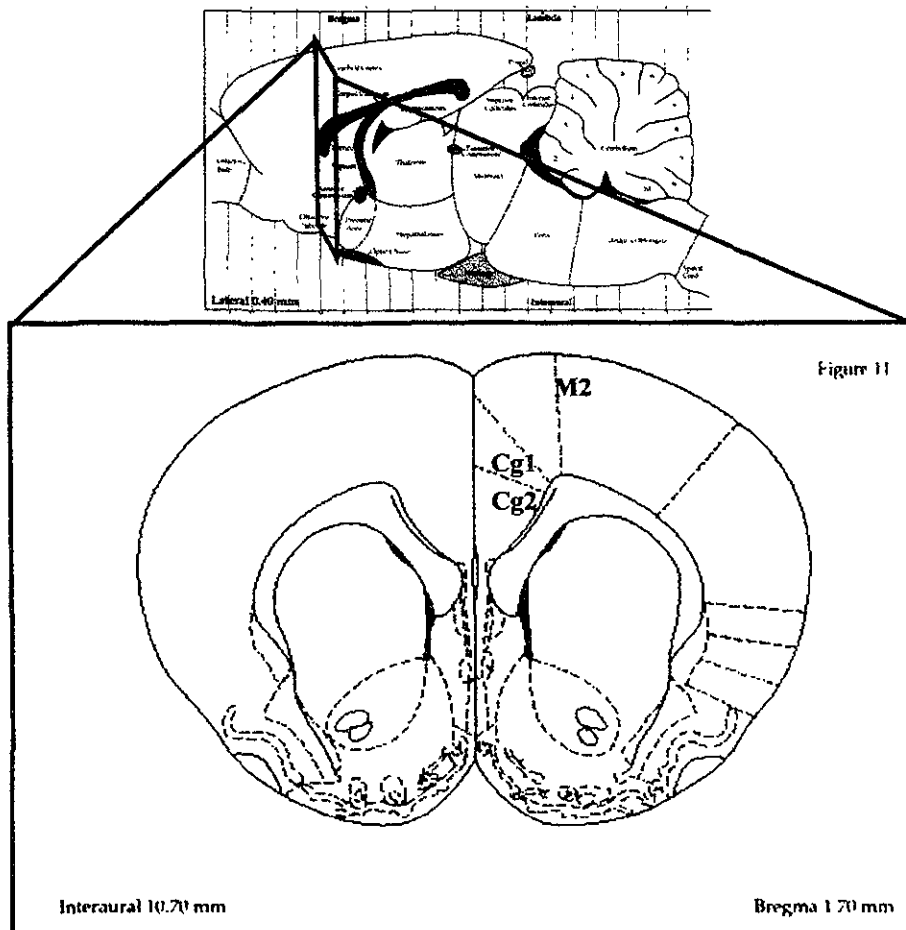


Fig. 7. En la rata, la corteza anterior del cíngulo ha sido subdividida en las áreas¹⁰⁵ 2 de la corteza frontal (M2), 1-3 de la corteza del cíngulo (Cg1, Cg2, Cg3) y la corteza infralímbica (IL), de acuerdo al mapa de Paxinos¹⁰⁶. A este nivel del esquema (interaural 10.7mm) solo se observa la Cg1, Cg2 y la M2 que forman parte de la corteza prefrontal o corteza anterior del cíngulo.

(Cg1, Cg2, Cg3) y la corteza infralímbica (IL), de acuerdo al mapa de Paxinos¹⁰⁵ (Figura 7).

Tabla I. Diferente Nomenclatura de la Corteza Anterior del Cíngulo

AUTORES	NOMENCLATURA			
Vogh y Peter, 1981 ¹⁰⁶	Área 24b	24a	32	25
Richter y Kranz, 1979 ¹⁰⁷				
Zilles <i>et al.</i> , 1980 ¹⁰⁸	Cg1	Cg2	Cg3	IL
Krettek y Price, 1977 ⁸⁴	ACd	ACv		

Esta región tiene numerosas proyecciones hacia diferentes áreas cerebrales que forman parte del sistema motor, sensorial y de asociación. Se ha demostrado por estudios funcionales que la CAC no tiene una contribución uniforme en la actividad cerebral. Por este motivo se le ha dividido, desde el punto de vista funcional, en componentes afectivo y cognoscitivo. La división afectiva tiene conexiones extensivas con la amígdala¹⁰⁹⁻¹¹², la gris periacueductal^{80,113} y parte de las proyecciones a núcleos motores autonómicos del tallo cerebral¹¹⁴⁻¹¹⁶ (Figura 8).

Además de regular funciones autonómicas y endocrinas, ambas divisiones se han involucrado en procesos de memoria y aprendizaje emocional condicionado^{117,118}, en la vocalización asociada con la expresión de estados internos^{119,120}, en la valoración del contenido emocional y de la asignación del balance emocional a estímulos internos y externos^{121,122}, y en la interacción materno-infantil¹²³. En estados patológicos, la excesiva actividad del cíngulo, como en casos con crisis convulsivas¹²⁴, puede alterar la conciencia, estados afectivos y la expresión de las emociones, así como influir en la actividad musculoesquelética y autonómica. En otros ejemplos clínicos, la actividad de la corteza anterior del cíngulo puede contribuir con tics, comportamiento obsesivo compulsivo¹²⁵ y comportamiento social aberrante¹²⁶. Por el contrario, la actividad reducida, consecuente a una lesión por infarto o cirugía, puede contribuir con desórdenes que incluyen mutismo

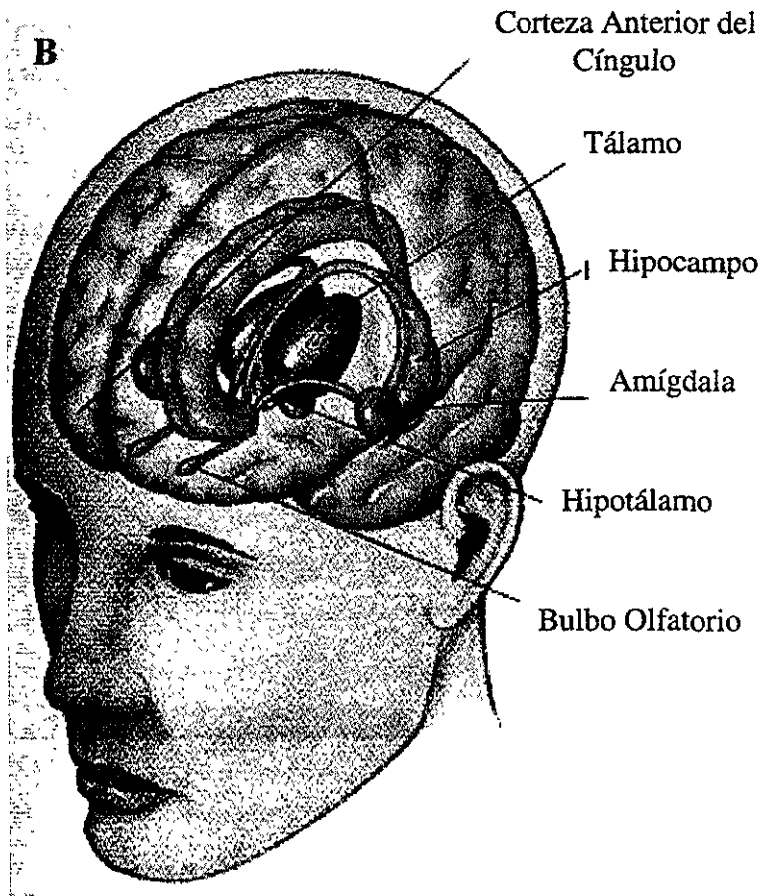
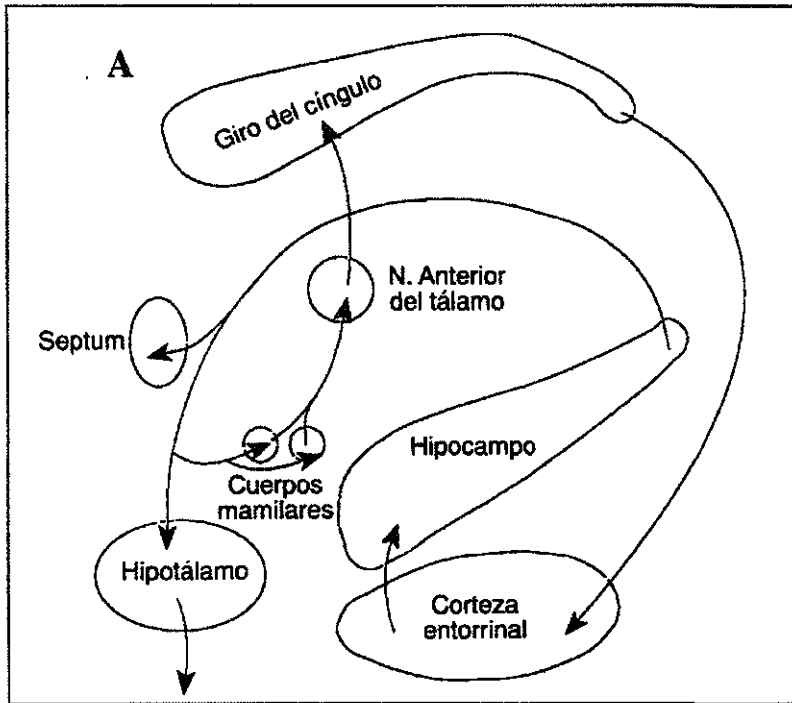


Fig.8. A. Esquema del circuito de Papez. B. Imagen donde se observa las principales estructuras de interacción del sistema límbico

acinético¹²⁷, autoestima disminuida y depresión, problemas con la intención e iniciación motora¹²⁸, comportamiento aberrante¹²⁶ y respuesta reducida al dolor¹⁹.

Desde hace más de cuatro décadas, se ha reportado que la abolición de la corteza anterior del cíngulo (cingulectomía) o la interrupción del haz del cíngulo (cingulotomía) alivia la sensación displacentera asociada al dolor, total o parcialmente, en algunos pacientes con dolor refractario al tratamiento farmacológico^{19,129-131,132} (Figura 9).

En los últimos años, las investigaciones del dolor por medio de estudios de imagen funcional, la tomografía de emisión de positrones y la resonancia magnética funcional¹³³⁻¹³⁶, han mostrado la activación de la CAC ante diferentes estímulos nociceptivos. Craig y col.²¹ mostraron que ante una ilusión sensorial no algésica, que el paciente reporta como dolorosa, aumenta el flujo cerebral en la CAC, así como aumenta al aplicar un estímulo termoalgésico. Aunado a estos hechos, Rainville²⁴, observó una correlación lineal entre el incremento de la actividad de la CAC y la sensación displacentera expresada por los sujetos ante un estímulo nocivo, lo que señala fuertemente que la CAC es una de las áreas encargadas de codificar el

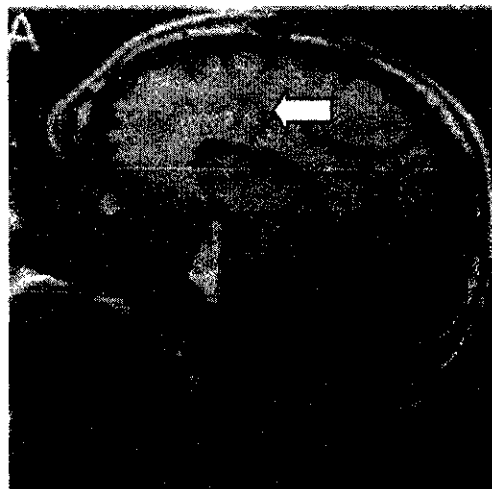


Fig. 9. Imagen Sagital de Resonancia Magnética de cráneo en donde se observa la cicatriz (flecha) producida por la cingulotomía con radiofrecuencia (obtenido de Davis *et al.*, 1994¹³⁷)

componente afectivo-emocional del dolor.

Algunas interpretaciones de estos hallazgos proponen que la CAC está involucrada más en los procesos de atención que en el procesamiento del dolor *per se*¹³⁷, sin embargo otro estudio, demuestra que el aumento de flujo cerebral en la CAC por procesos atentos y por estímulos nocivos se lleva en sitios diferentes de esta corteza²², lo que sugiere que la activación de la CAC es el resultado del procesamiento de la información nociceptiva y, en un área cercana de la misma corteza, del procesamiento de la atención o de la preparación motora ante el estímulo nocivo.

Mediante el registro de potenciales evocados sobre la superficie de la corteza, en humanos, se encontraron resultados similares en cuanto a que la CAC se activa ante la estimulación nociva. En este estudio se demostró que la estimulación dolorosa cutánea evoca potenciales reproducibles sobre la pared medial de los hemisferios cerebrales del hombre. El máximo potencial fue localizado sobre la superficie correspondiente a la CAC contralateral al sitio de la estimulación¹³⁸.

En experimentos con animales también se ha demostrado la participación de la CAC en el procesamiento de la información nociceptiva. En estos experimentos se ha observado que neuronas de la CAC se activan con estímulos dolorosos eléctricos, térmicos o mecánicos, tanto de forma contralateral como ipsilateral. Asimismo, responden a la estimulación de un amplio campo receptivo^{89,139} y ante estimulación somatosensorial y visceral¹⁴⁰⁻¹⁴², lo que indica que un área con la complejidad funcional de la corteza anterior del cíngulo tiene una alta selectividad en el procesamiento del dolor sin importar la topología o cualidad, consistente con el componente afectivo-cognoscitivo del dolor.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En 1989 se reportó que el bloqueo del haz del cíngulo con anestésicos locales, retarda la aparición de la autotomía¹⁴³. Nuestro grupo describió una facilitación de la conducta de autotomía mediante la estimulación eléctrica del haz del cíngulo, previa y simultáneamente a la inducción de un proceso inflamatorio crónico^{30,45}. Para definir el papel de la corteza anterior del cíngulo y sus conexiones a través del haz del cíngulo en el procesamiento de la información nociceptiva es necesario determinar las estructuras cerebrales involucradas en la transmisión de esta información a través de éste haz.

Por otro lado, se observó que la lesión del área tegmental ventral disminuye el umbral al dolor en animales sometidos a pruebas agudas de mecanonocicepción y termonocicepción^{101,102}. En animales sometidos a denervación, disminuye el tiempo de aparición y aumenta la intensidad de la conducta de autotomía^{102,103}. Esto sugiere que el ATV juega un papel en la modulación del dolor. Suponemos que esta modulación es inhibitoria y está mediada por la trasmisión dopaminérgica del área tegmental ventral que retarda la aparición de la autotomía.

HIPÓTESIS GENERAL.

Con los datos anteriores, proponemos que:

- 1) La activación de la corteza anterior del cíngulo por un proceso doloroso patológico desencadena la conducta de autotomía relacionada con este tipo de dolor.
- 2) La activación reiterada y por tiempos prolongados de los núcleos talámicos mencionados (que forman parte de este sistema algésico) produce cambios plásticos en la corteza anterior del cíngulo, los cuales desencadenan la aparición del dolor patológico, que se pone de manifiesto mediante la conducta de autotomía.
- 3) El área tegmental ventral juega un papel inhibitor sobre neuronas de la corteza anterior del cíngulo mediante la dopamina y disminuye la excitabilidad de neuronas que reciben innervación con información nociceptiva desde los núcleos anteromedial y medial dorsal del tálamo.

EXPERIMENTO A

OBJETIVO:

Determinar si la estimulación eléctrica de los núcleos talámicos medial dorsal y anteromedial modifican la conducta de autotomía inducida por un proceso inflamatorio crónico.

HIPÓTESIS:

La estimulación eléctrica del núcleo anteromedial y del núcleo medial dorsal del tálamo después de la inducción de un proceso inflamatorio doloroso producirá un incremento de la conducta de autotomía.

MATERIAL Y MÉTODO

Todos los experimentos fueron llevados a cabo de acuerdo con los lineamientos del Comité de Ética de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor¹⁴⁴, y fueron aprobados por la comisión de proyectos del Instituto Nacional de Psiquiatría.

Se utilizaron ratas Wistar machos (250-350g) para ser implantadas estereotáxicamente mediante un electrodo bipolar paralelo (diámetro de superficie = 0.2 mm cada polo) en el núcleo anteromedial (A: 7.7 mm; H: 4 mm; L: 0.8 mm) y en el núcleo medial dorsal del tálamo (A: 6.7 mm; H: 4.8 mm; L: 0.8 mm)¹⁰⁵. El electrodo fue fijado a la superficie del cráneo mediante acrílico dental. El procedimiento quirúrgico fue realizado 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*.

A los animales se les dejó en recuperación de la cirugía durante 4 días. Posteriormente, se dividieron en subgrupos: estimulados y no estimulados (SHAM), para cada grupo de animales implantados. Se utilizó una serie de animales no implantados, grupo CONTROL (n = 17), a los cuales solamente se les indujo el proceso inflamatorio.

El proceso inflamatorio fue inducido mediante la infiltración de carragenina lambda intraplantar (Sigma Chemical, Co, USA; 250 μ l, al 1% en solución salina), inyectada subcutáneamente en la palma de la pata trasera derecha, contralateral al sitio del implante. Se midió, diariamente, la circunferencia plantar a nivel del metatarso, utilizando un hilo, aproximando la medición al milímetro más cercano⁴³. La medición se realizó antes de la aplicación de la carragenina, inmediatamente después y cada 24 horas en los siguientes 10 días.

La estimulación se empezó una hora después de la infiltración de la carragenina. Los parámetros de estimulación fueron pulsos monofásicos de 0.2 ms a 100 Hz, durante 1 s cada 5 s, por 10 min diarios, en el transcurso de 10 días. La corriente utilizada fue ajustada para cada animal, y el promedio de la corriente utilizada obtenido para la estimulación de los animales fue de 110 μ A. La cantidad de corriente para cada animal fue fijada 10 unidades de voltaje por debajo del umbral, el cual fue definido como cualquier manifestación motora como parpadeo y guiño de un ojo o congelamiento de algún movimiento. Cada animal fue estimulado individualmente, a la misma hora, dentro de cajas de acrílico transparente para la mejor observación de la conducta durante la estimulación.

Se establecieron cinco grados para el análisis de la intensidad de la autotomía basados en la extensión y 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 sin múltiples menores; grado IV: múltiples lesiones mayores 3 mm en el eje longitudinal mayor (Figura 10). La aparición, grado y progresión de las lesiones fueron registradas diariamente durante 10 días.

Se utilizó la técnica del procedimiento rápido¹⁴⁵ para la verificación de la localización del sitio del implante del electrodo. Los animales fueron anestesiados (pentobarbital sódico:

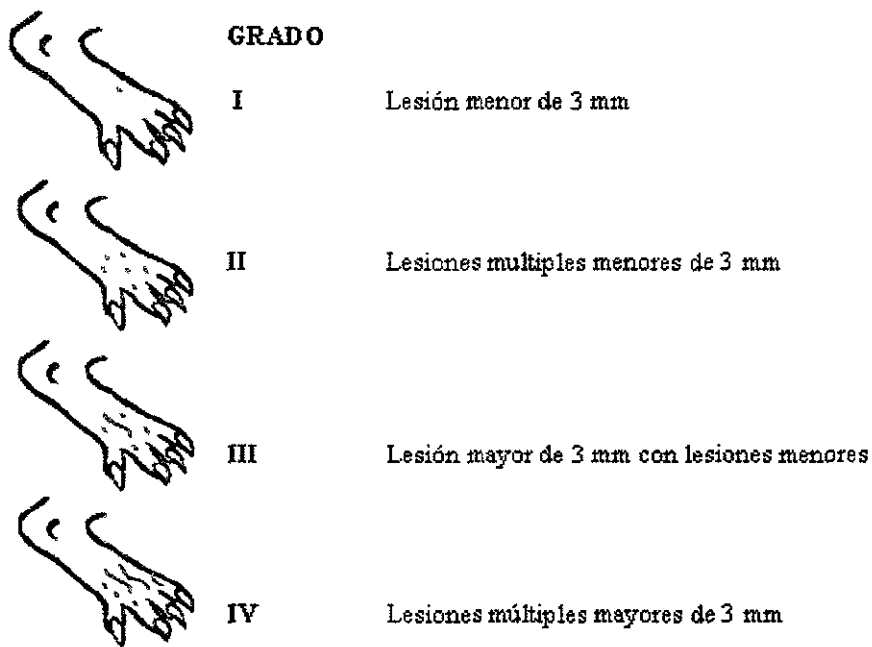


Fig. 10. Esquema donde se ejemplifica la clasificación de los grados de lesión (ver texto)

65mg/kg), y perfundidos (ic) con solución salina fisiológica, seguido por formaldehído al 10% en solución fisiológica. El cerebro fue removido para su fijación durante dos días antes del procedimiento histológico. Los animales en los cuales se encontró la marca de la punta del electrodo fuera del tálamo fueron eliminados. Los animales con las marcas de los electrodos localizadas en otro núcleo del tálamo, diferentes a los núcleos anteromedial o medial dorsal del tálamo, fueron colocados en dos grupos, denominados otros núcleos del tálamo estimulado (ONT; n=12) y no estimulado o sham (SONT; n=7). Estas fallas estereotáxicas se encontraron en núcleos como los intralaminares, reticular y romboidal y en la stria medularis. Los animales con las marcas de los electrodos en el lugar indicado fueron agrupados de la siguiente manera: los animales no estimulados o sham, con las marcas en el núcleo anteromedial (SAM; n=6), y

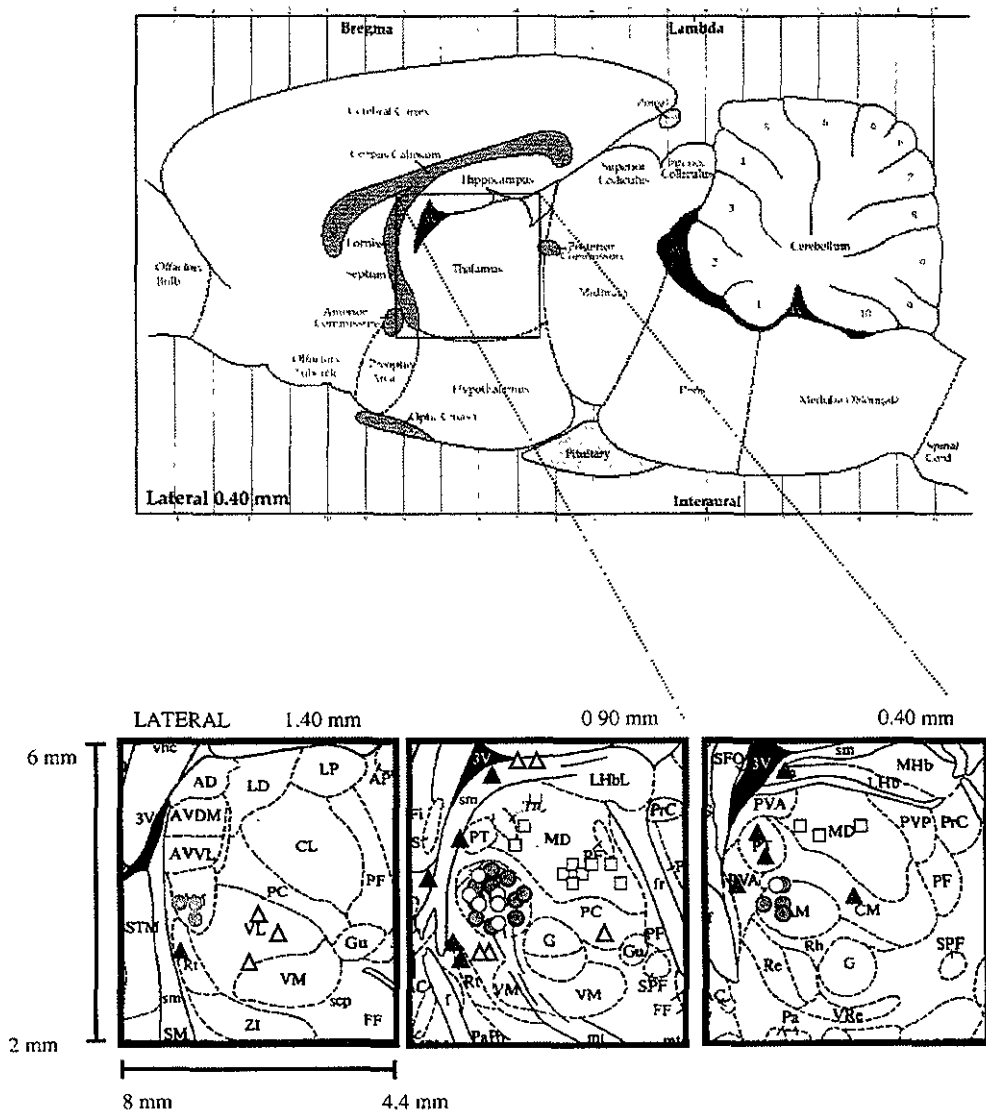


Figura 11. Localización de la punta de los electrodos. Esquemas de vistas sagitales a 1.4, 0.9 y 0.4 mm de la línea media (modificado del Atlas de Paxinos y Watson, 1982¹⁰⁶).

Estimulados en el	AM	●	MD	□	ONT	▲
Sham de los grupos	AM	○	MD		ONT	△

AM: núcleo anteromedial; MD: núcleo mediodorsal; ONT: otros núcleos talámicos

con las marcas en el medial dorsal (SMD; n=8); y los animales estimulados con los electrodos en el núcleo anteromedial (AM, n=17) y en el medial dorsal (MD, n=12). La localización de las marcas hechas por las puntas de los electrodos se muestran en la Figura 9.

Análisis Estadístico

Mediante el registro de los grados de autotomía obtuvimos la proporción de la incidencia, el promedio de inicio de la conducta de la autotomía y la autotomía acumulada para cada grupo. La autotomía acumulada fue calculada con el promedio de los grados de autotomía por día para cada grupo sumado con el promedio del día anterior. Para el análisis de las proporciones de la incidencia, se utilizó la comparación de proporciones independientes con el uso de z, comparando al grupo control contra el grupo AM, MD, ONT y SONT. Los grupos SAM y SMD no fueron comparados debido a que se requiere una n mayor a 5 para este tipo de estadística. Los datos del inicio de la autotomía fueron analizados utilizando la ANOVA de una sola cola (tratamientos x día de inicio de la conducta de autotomía y una prueba de Tukey como prueba *post-hoc*.

Para el análisis de la intensidad de la autotomía se utilizó una ANOVA de muestras repetidas con una transformación logarítmica previa de los datos. Las diferencias entre tratamientos fueron establecidas mediante la prueba de Rango de Significancia de Student-Neuman-Keuls como prueba *post-hoc*. Para el proceso inflamatorio, se tomó el incremento de la circunferencia plantar sobre la medición basal y fue analizada mediante una ANOVA para mediciones repetidas y las diferencias entre tratamientos fueron establecidas mediante la prueba de Rango de Significancia de Student-Neuman-Keuls como prueba *post-hoc*. Para el análisis de la cantidad de corriente inyectada en cada grupo estimulado, se utilizó una ANOVA y como prueba *post-hoc* se utilizó el ajuste de Bonferroni ($\alpha < 0.05$).

Finalmente, fue utilizado el coeficiente de la Correlación de Spearman para correlacionar la severidad de la autotomía con la intensidad de corriente en los grupos estimulados.

RESULTADOS

Después de la verificación histológica del sitio de los electrodos, se encontró una *diferencia significativa en la corriente de estimulación utilizada para los grupos AM y MD* ($p=0.003$). El grupo AM tuvo un promedio de corriente eléctrica de $111.2 \pm 5.55 \mu\text{A}$, el grupo MD de $80 \pm 6.61 \mu\text{A}$ y el grupo ONT de $92.7 \pm 6.9 \mu\text{A}$. No se encontró diferencia entre el grupo AM y ONT ($p=0.131$).

En los grupos en que los animales se estimularon eléctricamente en los núcleos AM y MD resultaron tener los puntajes más altos en la intensidad de la autotomía, el menor tiempo en la aparición de la conducta y la *mayor incidencia de la misma*. Cuando se comparó la incidencia del grupo AM con la incidencia del grupo control, se encontró que un menor número de animales del grupo control presentaron la conducta de autotomía comparado con el grupo estimulado en el AM, siendo estadísticamente significativo, $p < 0.05$.

Para el caso de la incidencia del grupo MD, a pesar del hecho de que la conducta aparece en el 100% de los casos al igual que en el grupo AM, el número de animales utilizado para el ensayo fue insuficiente para que alcanzara la significancia estadística con respecto al grupo control. El grupo control mostró una incidencia de 82.3 %, con respecto al inicio de la conducta de autotomía.

El grupo AM mostró una disminución significativa en el tiempo de aparición de la conducta al ser comparada contra el grupo control. El grupo MD mostró una reducción en el tiempo de inicio pero ésta no fue significativa al compararlo contra el grupo control (Tabla II). El puntaje de la autotomía acumulada al final del experimento (a los 10 días post-carragenina) el grupo AM fue significativamente mayor que el puntaje del grupo

Tabla II. Características principales del comportamiento de autotomía en los diferentes grupos de estudio.

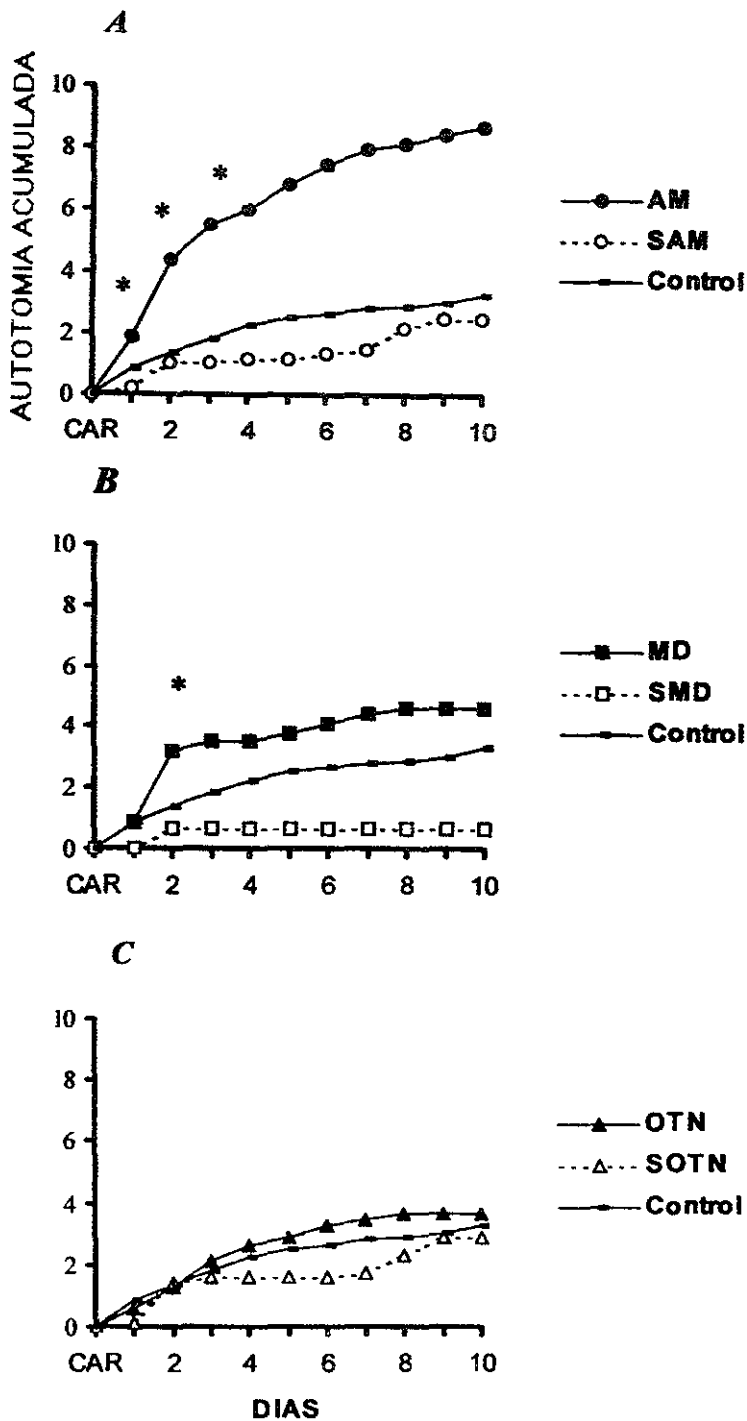
GRUPOS	Incidencia de Autotomía en 10 días (%)		Inicio de la Autotomía (Días \pm ESM)	Grado Máximo de Autotomía (AAc a los 10 días)
CONTROL	14/17	(82.3)	2.7 \pm 0.35	3.29
AM	17/17	(100) ^a	1.05 \pm 0.32 ^b	9
SAM	3/6	(50)	3 \pm 0.76	2.5
MD	12/12	(100)	1.5 \pm 0.14	4.58
SMD	2/8	(25)	2 \pm 0.38	0.62
ONT	8/12	(72.7)	1.8 \pm 0.47	3.67
SONT	5/7	(71.4)	1.8 \pm 0.59	2.86

La autotomía acumulada (AAc) fue calculada sumando el promedio de los grados de autotomía de cada grupo más el promedio del día anterior.

Diferencia estadística ($p < 0.05$) AM *vs.* Control: ^a prueba de proporciones, ^b prueba Tukey

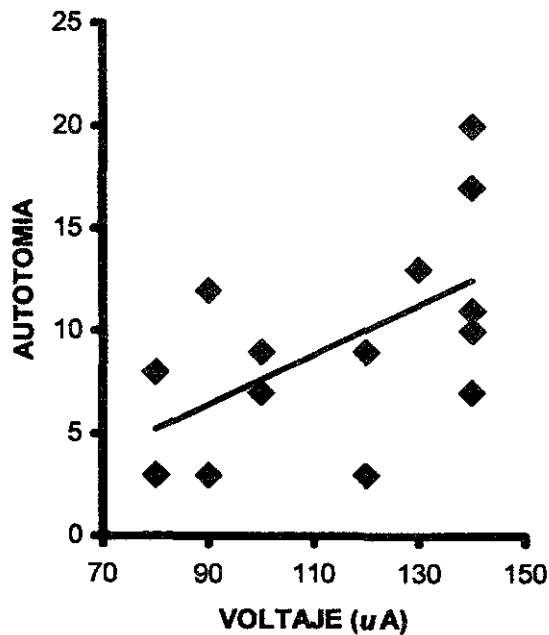
control y que el puntaje del grupo sham AM. Al observar la evolución de la autotomía se pudo comprobar que la principal diferencia en la conducta de autotomía del grupo AM en comparación con los grupos control y sham AM, se encontró en los primeros tres días de la evolución de la conducta (Gráfica 1, A).

Para el caso del grupo MD, el incremento significativo de la autotomía se observó en el segundo día después de la inducción del proceso inflamatorio en comparación con la conducta presentada por el grupo control y el grupo sham MD (Gráfica 1, B). Al final del experimento, la corriente utilizada para la estimulación de cada animal fue correlacionada



Gráfica 1. Evolución de la Autotomía. *A* muestra los grupos AM, sham AM (SAM) y control. El grupo AM tuvo la mayor actividad de autotomía en los primeros tres días después de la inyección de CAR. *B* muestra los grupos MD, sham MD (SMD) y control. El grupo MD tuvo mayor actividad de autotomía que los grupos SMD y control en el segundo día después de la inyección de CAR. *C* muestra los grupos OTN, sham OTN (SOTN) y control. La conducta de autotomía se comporta de la misma forma en los tres grupos.

Rango de Significancia de Student-Neuman-Keuls: * $p < 0.05$

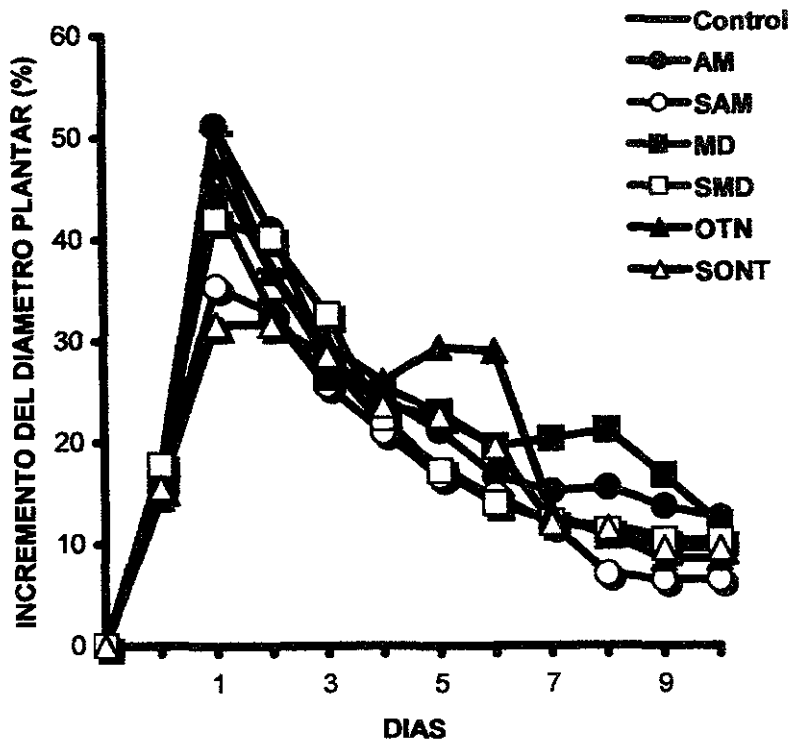


Gráfica 2. Muestra la correlación directa entre la intensidad del voltaje aplicado al núcleo AM y la intensidad total de autotomía que desarrolla cada animal.
Correlación de Spearman ($r= 0.596$, $p= 0.02$)

con la suma del índice de autotomía de cada animal. Solo se encontró correlación entre la intensidad de autotomía con la intensidad de la corriente en el grupo estimulado en el núcleo AM ($r= 0.596$, $p= 0.02$) (Gráfica 2).

Los grupos no estimulados (SAM, SMD y SONT) mostraron el menor puntaje de autotomía, así como la menor incidencia de la conducta. El tiempo de inicio de la conducta en estos grupos tuvo valores similares que el obtenido por el grupo control (Tabla II).

Los grupos no estimulados (SAM, SMD y SONT) mostraron el menor puntaje de autotomía, así como, la menor incidencia de la conducta. El tiempo de inicio de la conducta en estos grupos tuvo valores similares que el obtenido por el grupo control (Tabla II).



Gráfica 3. Curso temporal del proceso inflamatorio. La inflamación tuvo la misma evolución en todos los grupos con el nivel máximo de edema a las 24 horas de la inducción del proceso

El grupo estimulado en otros núcleos del tálamo mostró un tiempo de inicio de la conducta similar al que presentó el grupo sham ONT. La incidencia de la conducta de autotomía fue casi la misma tanto para el grupo control, como para el grupo sham ONT y el grupo ONT. En este mismo sentido, el puntaje máximo alcanzado por estos tres grupos fue prácticamente el mismo (Tabla II) y la evolución de la autotomía se comportó de la misma manera.

El proceso inflamatorio inducido por la infiltración de carragenina, medido como la circunferencia plantar, mostró un curso temporal similar para todos los grupos a excepción de los grupos sham AM y sham ONT. El máximo grado de inflamación se observó en las primeras 24 horas siguientes a la inyección de carragenina, después el proceso inflamatorio disminuyó paulatinamente (Gráfica 3).

EXPERIMENTO B

OBJETIVO:

Determinar si la lesión del ATV modifica la conducta de autotomía inducida por un proceso inflamatorio crónico en la rata.

HIPÓTESIS:

La lesión del ATV previo a la inducción de un proceso inflamatorio doloroso producirá un incremento de la conducta de autotomía en la rata.

MATERIAL Y METODO.

Se utilizaron ratas Wistar, con pesos entre 250 y 350 g, para ser lesionadas con radiofrecuencia en el ATV ($n=9$), de forma bilateral y en dos puntos en el eje anteroposterior (lesión anterior: AP= 4.2mm, L= ± 0.8 mm, H= 1.7mm; lesión posterior: AP= 3.2mm, L= ± 0.8 mm, H= 1.6mm¹⁰⁵; Figura 12). La lesión se realizó con el animal montado en un aparato estereotáxico, mediante un generador de radiofrecuencia (Radionics, RFG-4A). Los parámetros de la radiofrecuencia fueron entre 10-15 mA, 35-40 V, y el tiempo de exposición a la radiofrecuencia tuvo un rango de entre 15 s y 1.5 min, dependiendo de la temperatura a la que ascendió el tejido con la aplicación de la corriente. El procedimiento quirúrgico fue realizado 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 alimentación e hidratación *ad libitum*.

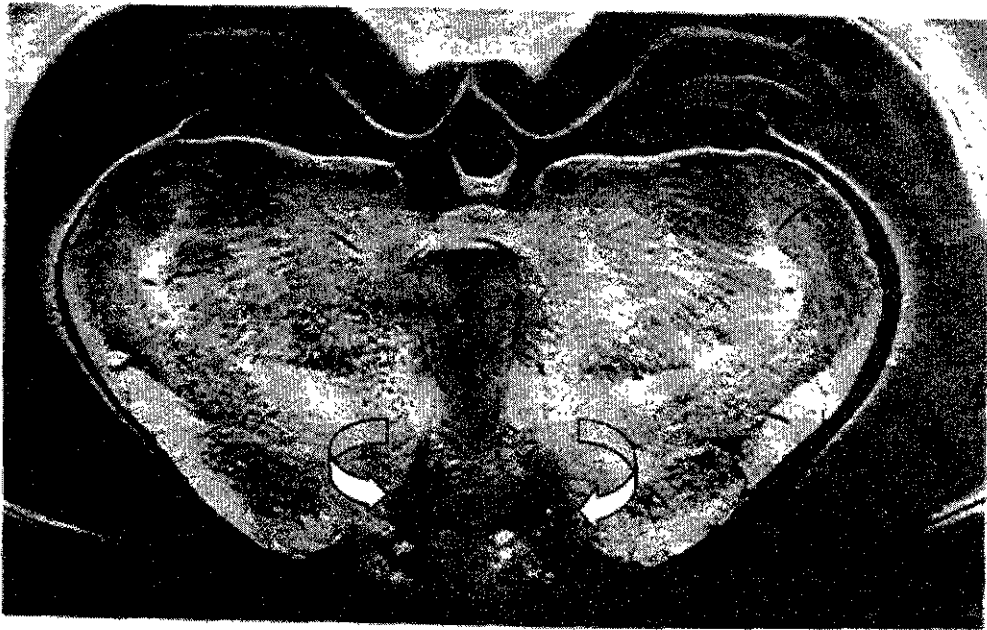


Fig. 12. Muestra un corte coronal a nivel de 4.2 mm de anterioridad con respecto al punto interaural, donde se observan las lesiones producidas por la radiofrecuencia en el ATV (flechas)

A los animales se les dejó en recuperación durante 6 días. Se utilizó la misma serie de animales CONTROL (n = 17) que en el experimento A, a los cuales solamente se les indujo el proceso inflamatorio.

El proceso inflamatorio fue inducido mediante la infiltración de carragenina lamda intraplantar. El registro también se realizó diariamente y de la misma forma que en el experimento A (ver material y método del experimento A).

Se utilizó la misma clasificación de la autotomía que en el experimento A y la aparición, grado y progresión de las lesiones fueron registradas de la misma forma (diariamente durante 10 días).

Se utilizó la técnica del procedimiento rápido¹⁴⁵ para la verificación de los sitios de lesión. Los animales fueron anestesiados (pentobarbital sódico: 65mg/kg), y perfundidos (ic) con solución salina fisiológica, seguido por formaldehído al 10% en solución fisiológica. El

cerebro fue removido para su fijación durante dos días antes del procedimiento histológico. Los animales en los cuales se encontró la marca de lesión fuera del ATV fueron eliminados. La Figura 10 muestra un corte histológico mediante la técnica del procedimiento rápido en la que se aprecia una lesión típica.

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de la proporción de la incidencia, el promedio de inicio de la conducta de la autotomía, la autotomía acumulada y el proceso inflamatorio se utilizaron las mismas pruebas estadísticas que en el experimento A.

RESULTADOS

Al siguiente día de la lesión, los animales presentaron poca movilidad, rigidez y espasticidad muscular, "circling", erizamiento del pelo y vocalización ante estímulos estresantes leves, así como reacciones motoras bruscas al tocar gentilmente al animal. Estos síntomas fueron disminuyendo paulatinamente, hasta prácticamente no ser perceptibles en el día de la inyección de la CAR (día 6 postquirúrgico), con excepción de las reacciones al estrés, las cuales prácticamente se mantuvieron hasta el final del experimento.

Tabla III. Características principales en la conducta de autotomía en los diferentes grupos.

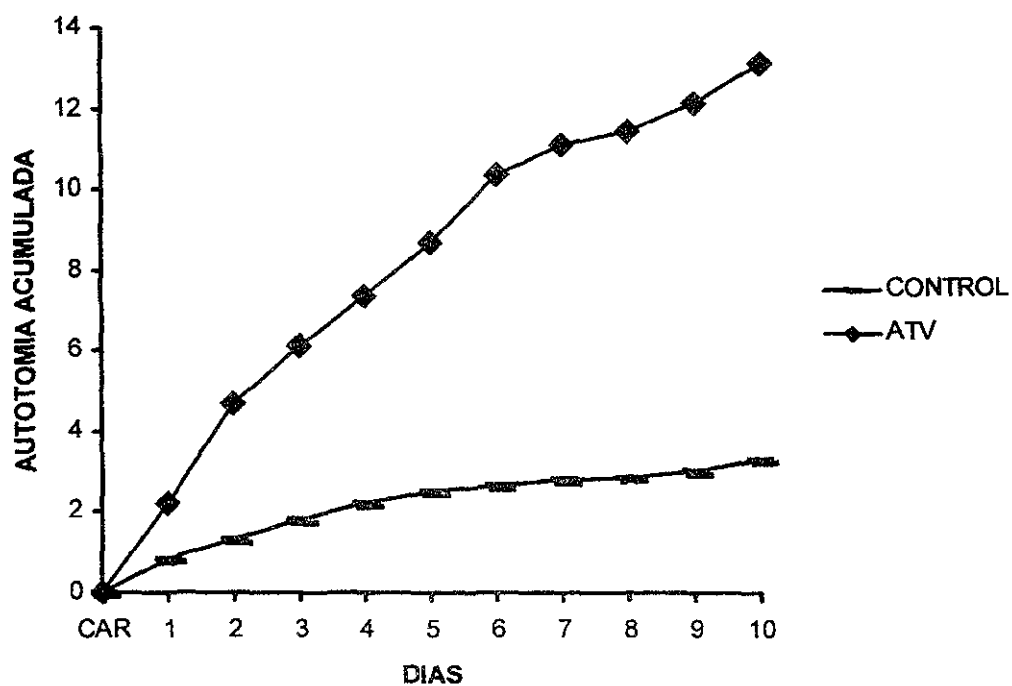
GRUPOS	Incidencia de Autotomía en 10 días (%)		Inicio de la Autotomía (Días \pm ESM)	Grado Máximo de Autotomía (AAc a los 10 días)
CONTROL	14/17	(82.3)	2.7 \pm 0.35	3.29
ATV	9/9	(100)	1.66 \pm 0.7	13.11 [*]

La autotomía acumulada (AAc) fue calculada sumando el promedio de los grados de autotomía de cada grupo más el promedio del día anterior.

Diferencia estadística ($p < 0.05$) AM *vs.* Control: ^a ANOVA

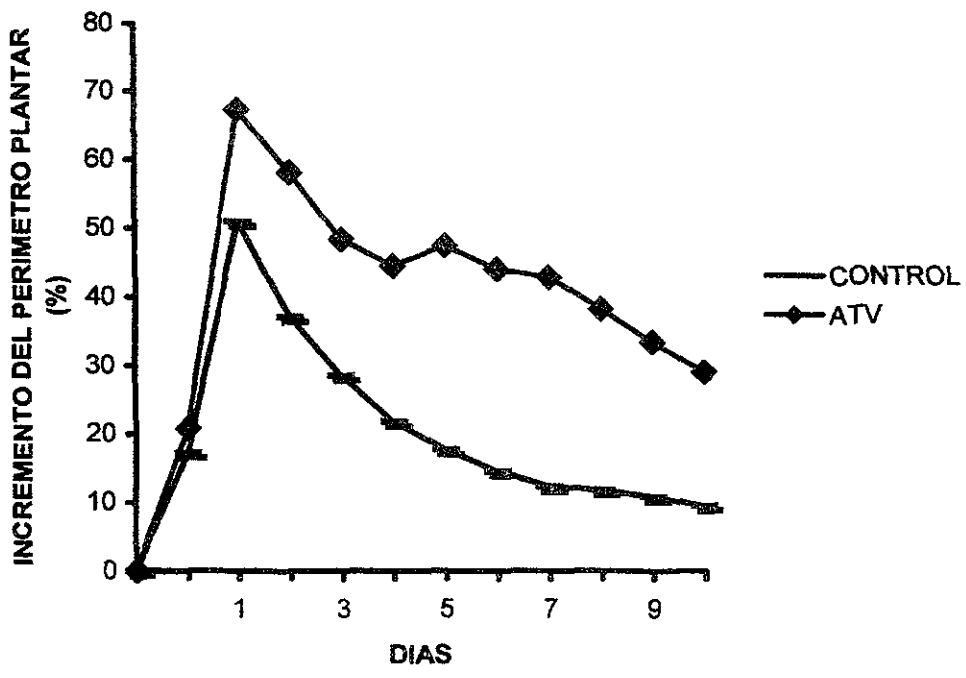
Los animales que fueron lesionados en el ATV resultaron tener un puntaje mayor en la intensidad de la autotomía, un menor tiempo en la aparición de la conducta y una mayor incidencia de la misma en comparación con el grupo control (Tabla III). Sin embargo, solamente se encontró diferencia estadísticamente significativa en la intensidad de la autotomía. Al observar la evolución de la autotomía se pudo constatar que la principal diferencia en la conducta de autotomía en los animales lesionados en el ATV, en comparación con los grupos control, se encontró en los primeros seis días de la evolución de la conducta, con diferencias significativas en los días 1°, 2°, 5° y 6° (Gráfica 4).

El proceso inflamatorio inducido por la infiltración de carragenina, medido como la circunferencia plantar, en el grupo lesionado en el ATV fue significativamente mayor que la inflamación del grupo control (Gráfica 5).



Gráfica 4. Evolución de la Autotomía. El grupo ATV tuvo una mayor actividad de autotomía en los primeros seis después de la inyección de CAR.

Rango de Significancia de Student-Neuman-Keuls: * $p < 0.05$



Gráfica 5. Curso temporal del proceso inflamatorio. La inflamación mostrada por el grupo lesionado en el ATV fue significativamente mayor que la inflamación del grupo control.

DISCUSIÓN

Los resultados de esta tesis relacionan a los núcleos anteromedial, medial dorsal del tálamo y al área tegmental ventral, que tiene proyecciones directas a la corteza anterior del cíngulo, con la modulación y percepción del dolor, evaluado mediante un comportamiento anormal que resulta del dolor patológico, conducta definida como autotomía. Los núcleos AM, MD y ATV no forman parte de los núcleos clásicamente descritos en las vías relacionadas con el dolor¹⁴⁶. Existe poca evidencia de la intervención de los núcleos anteriores del tálamo en la transmisión de la información nociceptiva, en cambio, cada vez hay más datos experimentales de que los núcleos mediales participan en la transmisión de la señal con contenido algésico. Algunos autores^{76,84} han sugerido que la intervención de estos núcleos, especialmente del MD, está más relacionada con el componente afectivo-cognoscitivo del dolor que con el componente somatotópico. El motivo por el cual se decidió trabajar en estos núcleos fue, principalmente, por la importancia de estas aferencias talámicas, a través del haz del cíngulo, hacia la CAC. En la literatura no hay una evidencia directa de la participación del núcleo AM en la conducción o en los procesos de la información nociceptiva.

Al localizar los sitios de estimulación mediante el proceso histológico y establecer los grupos estimulados, se observó una diferencia estadísticamente significativa en la corriente de estimulación aplicada entre el grupo AM y los grupos MD y ONT. De igual forma, el grupo estimulado en el núcleo AM presentó los niveles más altos de autotomía. Al realizar de forma retrospectiva la prueba de correlación corriente-intensidad de autotomía, se observó que la corriente aplicada al grupo AM mostró una correlación directa con la intensidad de la autotomía, lo que probablemente implica que la corriente utilizada pueda modular la intensidad de la conducta, de manera directamente proporcional es decir, que a mayor intensidad de corriente aplicada se ejerce un efecto excitatorio sobre un mayor número de neuronas del

núcleo estimulado, las cuales incrementan la liberación de neurotransmisores en las neuronas de la CAC. Sin embargo, no se encontró dicha correlación en los otros grupos estimulados (MD y ONT), por lo que sería aventurado afirmar que la intensidad de la autotomía depende de la corriente aplicada al núcleo AM, para lo que serán necesarios otros experimentos enfocados en establecer una relación dosis respuesta de este efecto.

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 el determinante de la diferencia observada en la intensidad de la autotomía. En cambio, las diferentes manipulaciones de los grupos produjeron variaciones en la intensidad de la conducta. Los grupos sham AM y sham MD tuvieron el menor puntaje de autotomía y la menor incidencia de la conducta. Estos hechos sugieren la posibilidad de que la lesión causada por el electrodo en estos núcleos bloqueó parcialmente la señal nociceptiva hacia la corteza anterior del cíngulo. En el grupo donde los electrodos fueron localizados en otros núcleos del tálamo, la conducta no se modifica en el mismo grado que los grupos sham AM o sham MD, lo que sugiere que la señal nociceptiva a través de estos núcleos no influye directamente en la inducción de este comportamiento, así como tampoco interviene en la transmisión de la información afectiva dolorosa relacionada con esta conducta. Por otro lado, la estimulación eléctrica a alta frecuencia del núcleo AM anticipa la conducta y en ambos, el AM y el MD, anticipa y potencia la autotomía después de la inducción del proceso inflamatorio doloroso.

Existe una cantidad considerable de evidencia experimental que muestra una actividad neuronal incrementada a varios niveles de la vía nociceptiva después de una lesión nerviosa^{54,147,148}, un proceso inflamatorio¹⁴⁹ o un dolor visceral recurrente¹⁵⁰. Un incremento de la actividad espontánea, una respuesta a estímulos subumbrales y una activación prolongada a estímulos breves, han sido descrito en neuronas del asta dorsal de la médula

espinal⁵⁸, del tálamo^{11,151} y de la corteza somatosensorial¹². Esta actividad a niveles supraespinales parece disparar fenómenos centrales adicionales (evidentes en ejemplos clínicos como son el miembro fantasma doloroso y el dolor central), en los cuales la actividad neural se convierte en un proceso temporalmente independiente de la señal espinal o periférica¹⁵². Vaccarino y Melzack (1992)¹⁵³ han identificado el papel de estructuras supraespinales específicas (haz del cíngulo, fórnix y formación bulboreticular) en el procesamiento temporal del dolor, que sugiere cambios a largo plazo desencadenados por la nocicepción inducida por formalina. Estos mismos autores²⁹ demostraron que la interrupción funcional del haz del cíngulo, mediante anestésicos locales (lidocaina), disminuye la incidencia, retarda la aparición y baja la intensidad de la autotomía. También se ha reportado, por Magnusson y Vaccarino (1996)¹⁵⁴, que dicha intervención sobre el haz del cíngulo modifica los mecanismos de percepción del dolor solo cuando la aplicación de lidocaina se realiza dentro de los primeros 20 minutos después de haber iniciado el proceso doloroso. En contraparte, nuestro grupo reportó que la estimulación eléctrica del haz del cíngulo, simultánea a la inducción de un proceso inflamatorio acelera el inicio e incrementa la intensidad de la autotomía en la rata. Esta evidencia sugiere que los mecanismos de sensibilización en la percepción del dolor involucran estructuras relacionadas con el haz del cíngulo y que estos mecanismos pueden ser modificados dependiendo de la fase temporal de su desarrollo.

Con estos antecedentes y los resultados obtenidos en el experimento A, sugerimos que la aparición de la conducta en todos los animales es promovida por la estimulación eléctrica de los núcleos talámicos del AM y MD. Esta activación facilita la inducción de cambios plásticos en la corteza anterior del cíngulo que se manifiestan como una conducta de autotomía. Este efecto de potenciación puede ser similar a los procesos de facilitación inducidos por el kindling para la producción de la epilepsia¹⁵⁵, y a la facilitación inducida por la estimulación de un

nervio periférico observado en el wind up¹⁴⁷. Con esta aproximación experimental, se demuestra que es posible facilitar la conducta de autotomía inducida por un proceso inflamatorio mediante la estimulación de, por lo menos, los núcleos talámicos AM y MD, y que este proceso de activación se lleva a cabo a través de cambios plásticos localizados, en parte, en la corteza anterior del cíngulo.

Trabajos en humanos han podido establecer la correlación que existe entre los componentes desagradables asociados al dolor y estructuras relacionadas con la corteza anterior del cíngulo^{21,24}. También se ha reportado la correlación entre estructuras relacionadas con la percepción de sensaciones corporales como es la activación de los núcleos lenticular, talámico y corteza del cíngulo, con la sensación de aparición del miembro fantasma (evocación similar a telescopio del mismo)¹⁵⁶ y del miembro fantasma doloroso¹⁵⁷ (éste último clasificado como un síndrome de dolor fase 3). La experimentación en animales presenta la limitación de explorar los componentes displacenteros afectivo-cognoscitivos asociados al dolor, aunque recientemente se demostró, mediante resonancia magnética funcional, la actividad de estructuras límbicas por la activación eléctrica de aferencias dolorosas y dolor inducido por quimionocicepción. La analogía que presenta la activación de estas estructuras en el procesamiento de los mecanismos cognoscitivos afectivos del dolor en el hombre, nos hacen vincular directamente estos mecanismos que subyacen en animales inferiores^{23,25,158}.

En el experimento B, se observó que después de la lesión del ATV los animales presentaron los síntomas característicos de una denervación dopaminérgica descritos anteriormente por Galey¹⁵⁹, lo que evidencia la depleción de la dopamina como efecto de la lesión del ATV.

Otro hallazgo importante en los animales con lesión del ATV fue que presentaron un mayor diámetro plantar, lo que probablemente se deba a la continua actividad de la conducta

de autotomía incrementando la severidad de las lesiones que produce un efecto sumatorio a la inflamación inducida por la CAR.

Los resultados del incremento en la conducta de autotomía, observados en los animales con lesión en el ATV, coinciden con los resultados obtenidos por otros grupos^{102,103}, en donde utilizaron un modelo de deafferentación periférica para la inducción de la autotomía. En este sentido, nuestros resultados a pesar de no haber sido significativos en el aumento de la incidencia y el acortamiento de la aparición de la autotomía, presentaron una tendencia evidente. Además, en este grupo se alcanzó el nivel más alto de autotomía y un mayor tiempo de actividad de la conducta. También se ha descrito^{101,102} en experimentos diseñados para probar el dolor agudo, que la lesión del ATV disminuye el umbral al dolor ante diferentes estímulos nocivos (termonocicepción, mecanocicepción). Por el contrario, se ha reportado una disminución de la conducta de autotomía en animales sometidos a rizotomía dorsal que fueron inyectados, intracerebroventricular, con un agonista dopaminérgico (apomorfina)¹⁶⁰, lo que indica que el ATV participa en la modulación de la percepción dolorosa y en el desarrollo de la aparición de la conducta de autotomía, probablemente de una forma inhibitoria.

Un resultado aparentemente contradictorio es el encontrado por el grupo de Gorea *et al.*¹⁰³, donde tanto la aplicación de antagonista y agonistas dopaminérgicos, así como la lesión o estimulación del ATV presentaron un incremento en la conducta de autotomía. Una posible explicación a este hecho, sería que el incremento excesivo de dopamina (por aplicación externa de dopamina o agonistas dopaminérgicos o estimulación eléctrica de núcleos dopaminérgicos) desencadenará una regulación a la baja de los receptores dopaminérgicos a nivel de la corteza anterior del cíngulo (efecto descrito en receptores aminérgicos), lo que produciría la misma acción que los antagonistas dopaminérgicos o la lesión del ATV, al disminuir la actividad de los

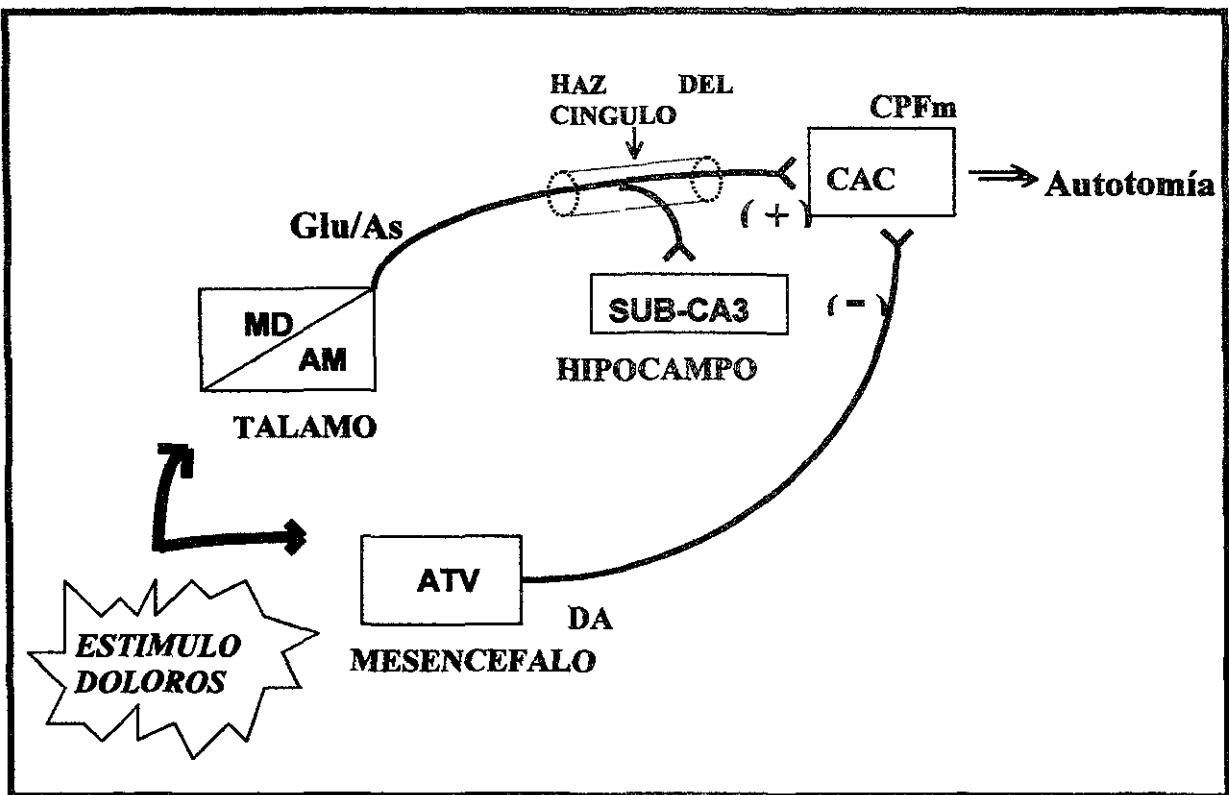


Fig. 13. Esquema de las proyecciones a la corteza anterior del cíngulo que probablemente intervengan en el procesamiento del componente afectivo-cognitivo del dolor (ver texto).

receptores y su acción postsináptica sobre la CAC, que fue observada con el aumento de la conducta de autotomía.

Estas dos primeras aproximación experimentales sugieren la existencia de dos sistemas, en principio antagónicos, que convergen en una corteza que se ha vinculado importantemente con la integración de los procesos afectivos-cognoscitivos del dolor, la corteza anterior del cíngulo (Figura 13).

Por un lado, el sistema excitador, con relevo en los núcleos talámicos anterior y medial y que tiene fibras que contienen aminoácidos excitadores (glutamato y aspartato), los cuales producen una activación de las neuronas de la corteza anterior del cíngulo que modifica la respuesta conductual ante un estímulo doloroso crónico. Esta conducta se ha interpretado

como patológica y nos ha permitido establecer la división entre un dolor inflamatorio intenso y un dolor patológico. Así, la sobreexcitación de este sistema, junto con la estimulación nociva, incrementa la incidencia e intensidad del dolor patológico; y pone de manifiesto que la intervención sobre estructuras relacionadas con la corteza anterior del cíngulo modifican la percepción de la información nociceptiva.

Mientras que por el otro lado, se encuentra el sistema inhibitor, compuesto por el ATV, que tiene proyecciones dopaminérgicas a la CAC, a través del haz medial del cerebro anterior. La liberación de dopamina, por este sistema, en la CAC tiene un efecto inhibitorio en las neuronas del cíngulo, probablemente mediante la activación de receptores dopaminérgicos D1⁹⁴.

No obstante la evidencia anatómica que respalda la conexión entre estas estructuras, es necesario identificar si la activación o inhibición de la CAC es de forma directa a través de estos núcleos o es un efecto indirecto por medio de estructuras intermediarias del sistema límbico. Así mismo, se requieren otros diseños experimentales para apoyar las propuestas de los probables mecanismos plásticos inducidos por el dolor en la CAC que promueven el retardo en la aparición de la conducta de autotomía.

BIBLIOGRAFÍA

1. Merskey H, Bogduk N. Classification of Chronic Pain. IASP Task Force on Taxonomy. Seattle: IASP Press, 1994:209-14.
2. Henry JL. Concepts of pain sensation and its modulation. *J Rheumatol* 1989; 16:104-12.
3. Fordyce WE. Back pain in the workplace: Management of disability in nonspecific conditions. Seattle, WA: IASP Press, 1995:75.
4. Loeser JD. Proceedings of first world congress on clinical pharmacology and therapeutics, Perspectives on pain, London, 1980. Macmillan.
5. Coderre TJ. The role of excitatory amino acid receptors and intracellular messengers in persistent nociception after tissue injury in rats. *Molecular Neurobiology* 1993; 7:229-46.
6. Cervero F, Laird J. One pain or many pains? A new look at pain mechanism. *NIPS* 1991; 6:268-73.
7. Coderre TJ, Katz J, Vaccarino AL, Melzack R. Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. *Pain* 1993; 52:259-85.
8. Price DD. Characteristics of second pain and flexion reflexes indicative of prolonged central summation. *Exp Neurol* 1972; 37: 371-87.
9. Campbell JN, Raja SN, Meyer RA, MacKinnon SE. Myelinated afferents signal the hyperalgesia associated with nerve injury. *Pain* 1988; 32:89-94.
10. Dubner R, Sharav Y, Gracely RH, Price DD. Idiopathic trigeminal neuralgia: sensory features and pain mechanism. *Pain* 1987; 31: 23-33.
11. Guilbaud G, Benoist JM, Jazat F, Gautron M. Neuronal responsiveness in the ventrobasal thalamic complex of rats with an experimental peripheral mononeuropathy. *J Neurophysiol* 1990; 64:1537-54.
12. Guilbaud G, Benoist JM, Condes_Lara M, Gautron M. Further evidence for the involvement of Sml cortical neurons in nociception: their responsiveness at 24 hr after carrageenin-induced hyperalgesic inflammation in the rat. *Somatosens Mot Res* 1993; 10:229-44.
13. Price DD, Mao J, Mayer DJ. Central neural mechanisms of normal and abnormal pain states. In: Fields HL, Liebeskind JC, eds. Pharmacological approaches to the treatment of chronic pain: new concepts and critical issues. Vol. Progress in pain research and management Vol I. Seattle: IASP Press, 1994:61-84.
14. Melzack R, Israel R, Lacroix R, Schultz G. Phantom limbs in people with congenital limb deficiency or amputation in early childhood. *Brain* 1997; 120:1603-20.
15. Melzack R. The Tragedy of Needless Pain. *Sci Am* 1990; 262:19-25.
16. Papez JW. A proposed mechanisms of emotion. *Arch Neurol Psychiat* 1937; 38:725-43.
17. Delgado JMR. Cerebral structures involved in transmission and elaboration of noxious stimulation. *J Neurosurg* 1955; 18:261-75.
18. Abott FV, Melzack R. Analgesia produced by stimulation of limbic structures and its relation to epileptiform discharges. *Exp Neurol* 1978; 62:91-102.
19. Foltz EL, White LE. Pain "relief" by frontal cingulotomy. *J Neurosurg* 1962; 19:98-100.
20. Craig AD, Bushnell MC, Zhang ET, Blomqvist A. A thalamic nucleus specific for pain and temperature sensation. *Nature* 1994; 372:770-3.
21. Craig AD, Reiman EM, Evans A, Bushnell MC. Functional imaging of an illusion of pain. *Nature* 1996; 384:258-60.
22. Davis KD, Taylor SJ, Crawley AP, Wood ML, Mikulis DJ. Functional MRI of pain- and attention-related activations in the human cingulate cortex. *J Neurophysiol* 1997; 77:3370-80.
23. Paulson PE, Morrow TJ, Casey KL. Bilateral behavioral and regional cerebral blood flow changes during painful peripheral mononeuropathy in the rat. *Pain* 2000; 84:233-45.

24. Rainville P, Duncan GH, Price DD, Carrier B, Bushnell MC. Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex. *Science* 1997; 277:968-71.
25. Tuor UI, Malisza K, Foniok T, et al. Functional magnetic resonance imaging in rats subjected to intense electrical and noxious chemical stimulation of the forepaw. *Pain* 2000; 87:315-24.
- 26.Coderre TJ, Grimes RW, Melzack R. Deafferentation and chronic pain in animals: an evaluation of evidence suggesting autotomy is related to pain. *Pain* 1986; 26:61-84.
27. Albe-Fessard D, Giamberardino MA, Rampin O. Comparison of different animal models of chronic pain. In: Press R, ed. *Advances in pain research and therapy*. Vol. 13. New York: S. Lipton et al, 1990:11-27.
28. Sweet WH. Animal models of chronic pain: their possible validation from human experience with posterior rhizotomy and congenital analgesia. *Pain* 1981; 10:275-95.
29. Vaccarino AI, Melzack R. The role of the cingulum bundle in self-mutilation following peripheral neurectomy in the rat. *Exp Neurol* 1991; 111:131-4.
30. Pellicer F, López-Avila A. Electrical stimulation of the cingulum bundle anticipate the autotomy induced by an chronic inflammation in the rat. *Soc Neurosci* 1996; 22.
31. Levitt M. Dysesthesias and self-mutilation in humans and subhumans: a review of clinical and experimental studies. *Brain Res* 1985; 357:247-90.
32. Wall PD, Devor M, Inbal R, et al. Autotomy following peripheral nerve lesions: experimental anaesthesia dolorosa. *Pain* 1979; 7:103-11.
33. Lombard MC, Nashold BS Jr, Albe-Fessard D, Salman N, Sakr C. Deafferentation hypersensitivity in the rat after dorsal rhizotomy: a possible animal model of chronic pain. *Pain* 1979; 6:163-74.
34. Saade NE, Atweh SF, Jabbur SJ, Wall PD. Effects of lesions in the anterolateral columns and dorsolateral funiculi on self-mutilation behavior in rats. *Pain* 1990; 42:313-21.
35. Bennett GJ, Xie Y-K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33:87-107.
36. Devor M, Raber P. Autotomy after nerve injury and its relation to spontaneous discharge originating in nerve-end neuromas. *Behav Neural Biol* 1983; 37:276-83.
37. Blumenkopf B, Lipman JJ. Studies in autotomy: its pathophysiology and usefulness as a model of chronic pain. *Pain* 1991; 45:203-9.
38. Kauppila T. Correlation between autotomy-behavior and current theories of neuropathic pain. *Neurosci Biobehav Rev* 1998; 23:111-29.
39. Coderre TJ, Fundytus ME, McKenna JE, Dalal S, Melzack R. The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioural pain rating. *Pain* 1993; 54:43-50.
40. Wheeler-Aceto H, Porreca F, Cowan A. The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. *Pain* 1990; 40:229-38.
41. Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain* 1995; 60:91-102.
42. Condés-Lara M, Sánchez-Moreno RM, Omana-Zapata I. Cortical facilitatory action on centralis lateralis thalamic activity during the development of carrageenin-produced inflammation. *Arch Med Res* 1996; 27:265-73.
43. Fletcher D, Kayser V, Guilbaud G. Influence of timing of administration on the analgesic effect of bupivacaine infiltration in carrageenin-injected rats. *Anesthesiology* 1996; 84:1129-37.
44. Mailis A. Compulsive targeted self-injurious behaviour in humans with neuropathic pain: a counterpart of animal autotomy? Four case reports and literature review. *Pain* 1996; 64:569-78.
45. Pellicer F, del-Angel R, Torres-López E. La lesión en el área tegmental ventral potencia la conducta de autotomía inducida por un proceso inflamatorio doloroso en la rata. SLP, San Luis Potosi: XLI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, 1998.

46. Gonzalez-Darder JM, Barbera J, Abellan MJ. Effects of prior anaesthesia on autotomy following sciatic transection in rats. *Pain* 1986; 24:87-91.
47. Seltzer Z, Beilin BZ, Ginzburg R, Paran Y, Shimko T. The role of injury discharge in the induction of neuropathic pain behavior in rats. *Pain* 1991; 46:327-36.
- 48.Coderre TJ, Melzack R. Cutaneous hyperalgesia: contributions of the peripheral and central nervous systems to the increase in pain sensitivity after injury. *Brain Res* 1987; 404:95-106.
49. Katz J, Vaccarino AL, Coderre TJ, Melzack R. Injury prior to neurectomy alters the pattern of autotomy in rats. Behavioral evidence of central neural plasticity [see comments]. *Anesthesiology* 1991; 75:876-83.
50. Saade NE, Shihabuddin LS, Atweh SF, Jabbur SJ. The role of previous nociceptive input in development of autotomy following cordotomy. *Exp Neurol* 1993; 119:280-6.
51. Asada H, Yamaguchi Y, Tsunoda S, Fukuda Y. The role of spinal cord activation before neurectomy in the development of autotomy. *Pain* 1996; 64:161-7.
52. Barbera J, Garcia G, Lopez-Orta A, Gil-Salu J. The role of the neuroma in autotomy following sciatic nerve section in rats. *Pain* 1988; 33:373-8.
53. Chen Y, Devor M. Ectopic mechanosensitivity in injured sensory axons arises from the site of spontaneous electrogenesis. *Eur J of Pain* 1998; 2:165-78.
54. Laird JM, Bennett GJ. An electrophysiological study of dorsal horn neurons in the spinal cord of rats with an experimental peripheral neuropathy. *J Neurophysiol* 1993; 69:2072-85.
55. Burchiel KJ. Effects of electrical and mechanical stimulation on two foci of spontaneous activity which develop in primary afferent neurons after peripheral axotomy. *Pain* 1984; 18:249-65.
56. Kellstein DE, Price DD, Hayes RL, Mayer DJ. Evidence that substance P selectively modulates C-fiber-evoked discharges of dorsal horn nociceptive neurons. *Brain Res* 1990; 526:291-8.
57. Woolf CJ, Thompson SW. The induction and maintenance of central sensitization is dependent on N-methyl-D-aspartic acid receptor activation; implications for the treatment of post-injury pain hypersensitivity states. *Pain* 1991; 44:293-9.
58. Baranauskas G, Nistri A. Sensitization of pain pathways in the spinal cord: cellular mechanisms. *Prog Neurobiol* 1998; 54:349-65.
59. Banos JE, Verdu E, Buti M, Navarro X. Effects of dizocilpine on autotomy behavior after nerve section in mice. *Brain Res* 1994; 636:107-10.
60. Seltzer Z, Cohn S, Ginzburg R, Beilin B. Modulation of neuropathic pain behavior in rats by spinal disinhibition and NMDA receptor blockade of injury discharge. *Pain* 1991; 45:69-75.
61. Feria M, Abad F, Sánchez A, Abreu P. Magnesium sulphate injected subcutaneously suppresses autotomy in peripherally deafferented rats. *Pain* 1993; 53:287-93.
62. Niedbala B, Sanchez A, Feria M. Nitric oxide mediates neuropathic pain behavior in peripherally denervated rats. *Neurosci Lett* 1995; 188:57-60.
63. Wong CS, Cherng CH, Tung CS. Intrathecal administration of excitatory amino acid receptor antagonists or nitric oxide synthase inhibitor reduced autotomy behavior in rats. *Anesth Analg* 1998; 87:605-8.
64. Wu J, Lin Q, McAdoo DJ, Willis WD. Nitric oxide contributes to central sensitization following intradermal injection of capsaicin. *Neuroreport* 1998; 9:589-92.
65. Wall PD, Bery J, Saade N. Effects of lesions to rat spinal cord lamina I cell projection pathways on reactions to acute and chronic noxious stimuli. *Pain* 1988; 35:327-39.
66. Saade NE, Shbeir SA, Atweh SF, Jabbur SJ. Effects of cerebral cortical and striatal lesions on autotomy following peripheral neurectomy in rats. *Physiol Behav* 1996; 60:559-66.

67. Chapman CR. Limbic processes and the affective dimension of pain. *Prog Brain Res* 1996; 110:63-81.
68. Peschanski M, Weil-Fugacza J. Aminergic and cholinergic afferents to the thalamus: experimental data with reference to pain pathways. In: Besson J, Glibaud G, Peschanski M, eds. *Thalamus and Pain*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1987:127-154.
69. Villanueva L, Bing Z, Bouhassira D, Le Bars D. Encoding of electrical, thermal, and mechanical noxious stimuli by subnucleus reticularis dorsalis neurons in the rat medulla. *J Neurophysiol* 1989; 61:391-402.
70. Villanueva L, Cliffer KD, Sorkin LS, Le Bars D, Willis WDJ. Convergence of heterotopic nociceptive information onto neurons of caudal medullary reticular formation in monkey (*Macaca fascicularis*). *J Neurophysiol* 1990; 63:1118-27.
71. Pellicer F, Olea ML. Dolor y antialgesia. In: Valle Ud, ed. *Sistema nervioso. neuroanatomía funcional, neurohistología, neurotransmisores, receptores y clínica*. Vol. Capítulo 28. Santiago de Cali: Martha Isabel Escobar B y Hernán José Pimienta J., 1998:321-331.
72. Giesler GJ Jr, Spiel HR, Willis WD. Organization of spinothalamic tract axons within the rat spinal cord. *J Comp Neurol* 1981; 195:243-52.
73. Apkarian AV, Shi T. Squirrel monkey lateral thalamus. I. Somatic nociceptive neurons and their relation to spinothalamic terminals. *J Neurosci* 1994; 14:6779-95.
74. Hylden JL, Anton F, Nahin RL. Spinal lamina I projection neurons in the rat: collateral innervation of parabrachial area and thalamus. *Neuroscience* 1989; 28:27-37.
75. Willis WD, Kenshalo DR Jr, Leonard RB. The cells of origin of the primate spinothalamic tract. *J Comp Neurol* 1979; 188:543-73.
76. Dostrovsky JO, Guilbaud G. Nociceptive responses in medial thalamus of the normal and arthritic rat. *Pain* 1990; 40:93-104.
77. Hodge CJJ, Apkarian AV. The spinothalamic tract. *Crit Rev Neurobiol* 1990; 5:363-97.
78. Paxinos G. *The rat nervous system*. Portland, Or.: Academic Pr, 1984.
79. Domesick VB. The fasciculus cinguli in the rat. *Brain Res* 1970; 20:19-32.
80. Domesick VB. Thalamic relationships of the medial cortex in the rat. *Brain Behav Evol* 1972; 6:457-83.
81. Beckstead RM. Convergent thalamic and mesencephalic projections to the anterior medial cortex in the rat. *J Comp Neurol* 1976; 166:403-16.
82. Shibata H. Efferent projections from the anterior thalamic nuclei to the cingulate cortex in the rat. *J Comp Neurol* 1993; 330:533-42.
83. Gonzalo-Ruiz A, Sanz JM, Morte L, Lieberman AR. Glutamate and aspartate immunoreactivity in the reciprocal projections between the anterior thalamic nuclei and the retrosplenial granular cortex in the rat. *Brain Res Bull* 1997; 42:309-21.
84. Krettek JE, Price JL. The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 1977; 171:157-91.
85. Rinaldi PC, Young RF, Albe-Fessard D, Chodakiewicz J. Spontaneous neuronal hyperactivity in the medial and intralaminar thalamic nuclei of patients with deafferentation pain. *J Neurosurg* 1991; 74:415-21.
86. Mantz J, Thierry AM, Glowinski J. Effect of noxious tail pinch on the discharge rate of mesocortical and mesolimbic dopamine neurons: selective activation of the mesocortical system. *Brain Res* 1989; 476:377-81.
87. Sikes RW, DeFrance JF. Cingulate cortex response to electrical stimulation of the mediodorsal thalamic nucleus. *Exp Neurol* 1985; 89:428-41.
88. Tanibuchi I. Electrophysiological and anatomical studies on thalamic mediodorsal nucleus projections onto the prefrontal cortex in the cat. *Brain Res* 1992; 580:137-46.

39. Sikes RW, Vogt, B.A. Nociceptive neurons in area 24 of the rabbit cingulate cortex. *J Neurophysiol* 1992; 68:1720-1732.
90. Gigg J, Tan AM, Finch DM. Glutamatergic excitatory responses of anterior cingulate neurons to stimulation of the mediodorsal thalamus and their regulation by GABA: an in vivo iontophoretic study. *Cereb Cortex* 1992; 2:477-84.
91. Pirot S, Jay TM, Glowinski J, Thierry AM. Anatomical and electrophysiological evidence for an excitatory amino acid pathway from the thalamic mediodorsal nucleus to the prefrontal cortex in the rat. *Eur J Neurosci* 1994; 6:1225-34.
92. Gigg J, Tan AM, Finch DM. Glutamatergic hippocampal formation projections to prefrontal cortex in the rat are regulated by GABAergic inhibition and show convergence with glutamatergic projections from the limbic thalamus. *Hippocampus* 1994; 4:189-98.
93. Jay TM, Glowinski J, Thierry AM. Inhibition of hippocampoprefrontal cortex excitatory responses by the mesocortical DA system. *Neuroreport* 1995; 6:1845-8.
94. Law-Tho D, Hirsch JC, Crepel F. Dopamine modulation of synaptic transmission in rat prefrontal cortex: an in vitro electrophysiological study. *Neurosci Res* 1994; 21:151-60.
95. Kuroda M, Murakami K, Igarashi H, Okada A. The convergence of axon terminals from the mediodorsal thalamic nucleus and ventral tegmental area on pyramidal cells in layer V of the rat prelimbic cortex. *Eur J Neurosci* 1996; 8:1340-9.
96. Williams SM, Goldman-Rakic PS. Widespread origin of the primate mesofrontal dopamine system. *Cereb Cortex* 1998; 8:321-45.
97. Bubser M, Feenstra MG, Erdtsieck-Ernste EB, Botterblom MH, Van Uum HF, Pool CW. Modulatory role of catecholamines in the transsynaptic expression of c-fos in the rat medial prefrontal cortex induced by disinhibition of the mediodorsal thalamus: a study employing microdialysis and immunohistochemistry. *Brain Res* 1997; 749:214-25.
98. Ferron A, Thierry AM, Le Douarin C, Glowinski J. Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic system on spontaneous activity or excitatory response induced from the thalamic mediodorsal nucleus in the rat medial prefrontal cortex. *Brain Res* 1984; 302:257-65.
99. Mantz J, Milla C, Glowinski J, Thierry AM. 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* 1988; 27:517-26.
100. Ma QP, Zhou Y, Han JS. Electroacupuncture accelerated the expression of c-Fos protooncogene in dopaminergic neurons in the ventral tegmental area of the rat. *International J Neurosci* 1993; 70:217-22.
101. Szreniawski Z, Mészáros J, Gajewska S, Tarchalska-Kryeska B. The effects of lesion of mesolimbic dopamine neurons on pain threshold and morphine analgesia in rats. *Pol J Pharmacol Pharm* 1977; 29:521-5.
102. Saade NE, Atweh SF, Bahuth NB, Jabbur SJ. Augmentation of nociceptive reflexes and chronic deafferentation pain by chemical lesions of either dopaminergic terminals or midbrain dopaminergic neurons. *Brain Res* 1997; 751:1-12.
103. Gorea E, Lombard MC. The possible participation of a dopaminergic system in mutilating behavior in rats with forelimb deafferentation. *Neurosci Lett* 1984; 48:75-80.
104. Neafsey EJ, Terreberry, R.R., Hurley, K.M. Anterior cingulate cortex in rodents: connections, visceral control functions, and implications for emotion. In: Vogt B.A. GM, editors., ed. *Neurobiology of the Cingulate Cortex and Limbic Thalamus: A Comprehensive Handbook*. Boston: Birkhauser, 1993:206-223.
105. Paxinos G, Watson C. *The rat brain stereotaxic coordinates*. New York: Academic Press, 1982.
106. Vogt BA, Rosene DL, Peters A. Synaptic termination of thalamic and callosal afferents in cingulate cortex of the rat. *J Comp Neurol* 1981; 201:265-83.

107. Richter W, Kranz D. Autoradiography of neurogenesis and morphogenesis of the regio cingularis of the rat. IV. Quantitative studies on the times of cell origins in the cortical lamina. *Journal Hirnforsch* 1979; 20:581-629.
108. Zilles K, Zilles B, Schleicher A. A quantitative approach to cytoarchitectonics. VI. The area pattern of the cortex of the albino rat. *Anat Embryol* 1980; 159:335-60.
109. Pandya DN, Van Hoesen GW, Mesulam MM. Efferent connections of the cingulate gyrus in the rhesus monkey. *Exp Brain Res* 1981; 42:319-30.
110. Porrino LJ, Crane AM, Goldman-Rakic PS. Direct and indirect pathways from the amygdala to the frontal lobe in rhesus monkeys. *J Comp Neurol* 1981; 198:121-36.
111. Ottersen OP. Connections of the amygdala of the rat. IV: Corticoamygdaloid and intraamygdaloid connections as studied with axonal transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 1982; 205:30-48.
112. Sarter M, Markowitsch HJ. Convergence of basolateral amygdaloid and mediodorsal thalamic projections in different areas of the frontal cortex in the rat. *Brain Res Bull* 1983; 10:607-22.
113. Marchand JE, Hagino N. Afferents to the periaqueductal gray in the rat. A horseradish peroxidase study. *Neuroscience* 1983; 9:95-106.
114. Terreberry RR, Neafsey EJ. Rat medial frontal cortex: a visceral motor region with a direct projection to the solitary nucleus. *Brain Res* 1983; 278:245-9.
115. Wyss JM, Sripanidkulchai K. The topography of the mesencephalic and pontine projections from the cingulate cortex of the rat. *Brain Res* 1984; 293:1-15.
116. Burns SM, Wyss JM. The involvement of the anterior cingulate cortex in blood pressure control. *Brain Res* 1985; 340:71-7.
117. Aggleton JP, Neave N, Nagle S, Sahgal A. A comparison of the effects of medial prefrontal, cingulate cortex, and cingulum bundle lesions on tests of spatial memory: evidence of a double dissociation between frontal and cingulum bundle contributions. *J Neurosci* 1995; 15:7270-81.
118. Freeman JH, Jr., Cuppernell C, Flannery K, Gabriel M. Context-specific multi-site cingulate cortical, limbic thalamic, and hippocampal neuronal activity during concurrent discriminative approach and avoidance training in rabbits. *J Neurosci* 1996; 16:1538-49.
119. Borszcz GS. Pavlovian conditional vocalizations of the rat: a model system for analyzing the fear of pain. *Behav Neurosci* 1995; 109:648-62.
120. Jurgens U, Zwirner P. The role of the periaqueductal grey in limbic and neocortical vocal fold control. *Neuroreport* 1996; 7:2921-3.
121. Vogt BA, Finch DM, Olson CR. Functional heterogeneity in cingulate cortex: the anterior executive and posterior evaluative regions. *Cereb Cortex* 1992; 2:435-43.
122. Lane RD, Reiman EM, Axelrod B, Yun LS, Holmes A, Schwartz GE. Neural correlates of levels of emotional awareness. Evidence of an interaction between emotion and attention in the anterior cingulate cortex. *J Cogn Neurosci* 1998; 10:525-35.
123. Slotnick BM, Nigrosh BJ. Maternal behavior of mice with cingulate cortical, amygdala, or septal lesions. *J Comp Physiol Psychol* 1975; 88:118-27.
124. Goldensohn E. Structural lesions of the frontal lobe. Manifestations, classification, and prognosis. *Adv Neurol* 1992; 57:435-47.
125. Rauch SL, Jenike MA, Alpert NM, et al. Regional cerebral blood flow measured during symptom provocation in obsessive-compulsive disorder using oxygen 15-labeled carbon dioxide and positron emission tomography. *Arch Gen Psychiatry* 1994; 51:62-70.
126. Sarazin M, Pillon B, Giannakopoulos P, Rancurel G, Samson Y, Dubois B. Clinicometabolic dissociation of cognitive functions and social behavior in frontal lobe lesions. *Neurology* 1998; 51:142-8.

127. Németh G, Hegedüs K, Molnár L. Akinetic mutism associated with bicingular lesions: clinicopathological and functional anatomical correlates. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci* 1988; 237:218-22.
128. Laplane D, Degos JD, Baulac M, Gray F. Bilateral infarction of the anterior cingulate gyri and of the fornices. Report of a case. *J Neurol Sci* 1981; 51:289-300.
129. Ferguson JP, Dugger GS. Neurosurgical management of intractable pain. *N C Med J* 1973; 34:707-10.
130. Hurt RW, Ballantine HT, Jr. Stereotactic anterior cingulate lesions for persistent pain: a report on 68 cases. *Clin Neurosurg* 1974; 21:334-51.
131. Hassenbusch SJ, Pillay PK, Barnett GH. Radiofrequency cingulotomy for intractable cancer pain using stereotaxis guided by magnetic resonance imaging. *Neurosurgery* 1990; 27:220-3.
132. Davis KD, Hutchison WD, Lozano AM, Dostrovsky JO. Altered pain and temperature perception following cingulotomy and capsulotomy in a patient with schizoaffective disorder. *Pain* 1994; 59:189-99.
133. Jones AK BW, Friston KJ, Qi LY, Frackowiak RS. Cortical and subcortical localization of response to pain in man using positron emission tomography. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1991; 244:39-44.
134. Casey KL, Minoshima S, Berger KL, Koeppe RA, Morrow TJ, Frey KA. Positron emission tomographic analysis of cerebral structures activated specifically by repetitive noxious heat stimuli. *J Neurophysiol* 1994; 71:802-7.
135. Hsieh JC, Belfrage M, Stone-Elander S, Hansson P, Ingvar M. Central representation of chronic ongoing neuropathic pain studied by positron emission tomography. *Pain* 1995; 63:225-36.
136. Hsieh JC, Hannerz J, Ingvar M. Right-lateralised central processing for pain of nitroglycerin-induced cluster headache. *Pain* 1996; 67:59-68.
137. Derbyshire SW, Vogt BA, Jones AK. Pain and Stroop interference tasks activate separate processing modules in anterior cingulate cortex. *Exp Brain Res* 1998; 118:52-60.
138. Lenz FA, Rios M, Zirh A, Chau D, Krauss G, Lesser RP. Painful stimuli evoke potentials recorded over the human anterior cingulate gyrus. *J Neurophysiol* 1998; 79:2231-4.
139. Kitamura Y, Kakigi R, Hoshiyama M, Koyama S, Watanabe S, Shimojo M. Pain-related somatosensory evoked magnetic fields following lower limb stimulation. *J Neurol Sci* 1997; 145:187-194.
140. Derbyshire SW, Aziz Q, Andersson JL, et al. Identification of human brain loci processing esophageal sensation using positron emission tomography. *Gastroenterology* 1997; 113:50-59.
141. Silverman DH, Munakata JA, Ennes H, Mandelkern MA, Hoh CK, Mayer EA. Regional cerebral activity in normal and pathological perception of visceral pain. *Gastroenterology* 1997; 112:64-72.
142. Rosen SD, Paulesu E, Nihoyannopoulos P, et al. Silent ischemia as a central problem: regional brain activation compared in silent and painful myocardial ischemia. *Ann Intern Med* 1996; 124:939-949.
143. Vaccarino AL, Melzack R. Analgesia produced by injection of lidocaine into the anterior cingulum bundle of the rat. *Pain* 1989; 39:213-9.
144. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983; 16:109-110.
145. Guzmán C, Alcaraz M, Fernández A. Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Bol Estud Med Biol Mex.* 1958; 16:29-31.
146. Willis WD, Westlund KN. Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. *J Clin Neurophysiol* 1997; 14:2-31.

47. Woolf CJ, Thompson SW, King AE. Prolonged primary afferent induced alterations in dorsal horn neurones, an intracellular analysis in vivo and in vitro. *J Physiol (Paris)* 1988; 83:255-66.
48. Pertovaara A, Kontinen VK, Kalso EA. Chronic spinal nerve ligation induces changes in response characteristics of nociceptive spinal dorsal horn neurons and in their descending regulation originating in the periaqueductal gray in the rat. *Exp Neurol* 1997; 147:428-36.
49. Traub RJ. Spinal modulation of the induction of central sensitization. *Brain Res* 1997; 778:34-42.
50. Giamberardino MA, Valente R, Affaitati G, Vecchiet L. Central neuronal changes in recurrent visceral pain. *Int J Clin Pharmacol Res* 1997; 17:63-6.
51. Guilbaud G, Benoist JM, Eschaliier A, Kayser V, Gautron M, Attal N. Evidence for central phenomena participating in the changes of responses of ventrobasal thalamic neurons in arthritic rats. *Brain Res* 1989; 484:383-8.
52. Baron R, Maier C. Painful neuropathy: C-nociceptor activity may not be necessary to maintain central mechanisms accounting for dynamic mechanical allodynia. *Clin J Pain* 1995; 11:63-9.
53. Vaccarino AL, Melzack R. Temporal processes of formalin pain: differential role of the cingulum bundle, fornix pathway and medial bulboreticular formation. *Pain* 1992; 49:257-71.
54. Magnusson JE, Vaccarino AL. Reduction of autotomy following peripheral neurectomy by a single injection of bupivacaine into the cingulum bundle of rats. *Brain Res* 1996; 723:214-7.
55. Goddard GV, McIntyre DC, Leech CK. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol* 1969; 25:295-330.
56. Condes_Lara M, Barrios FA, Romo JR, Rojas R, Salgado P, Sanchez_Cortazar J. Brain somatic representation of phantom and intact limb: a fMRI study case report. *Eur J Pain* 2000; 4:239-45.
57. Willloch F, Rosen G, Tolle TR, et al. Phantom limb pain in the human brain: unraveling neural circuitries of phantom limb sensations using positron emission tomography. *Ann Neurol* 2000; 48:842-9.
58. Casey KL. Forebrain mechanisms of nociception and pain: analysis through imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96:7668-74.
59. Galey D, Simon H, Le_Moal M. Behavioral effects of lesions in the A10 dopaminergic area of the rat. *Brain Res* 1977; 124:83-97.
60. Lysterly MA, Rossitch E, Jr., Ovelmen-Levitt J, Nashold BS, Jr. The deafferentation syndrome in the rat: effects of intraventricular apomorphine. *Exp Neurol* 1988; 100:188-202.

Thalamic Anteromedial and Mediodorsal Nuclei Stimulation Enhances the Self-Injury Behavior Induced by an Inflammatory Process in the Rat

EDGAR TORRES LÓPEZ, ROSENDO DEL ÁNGEL, AND FRANCISCO PELLICER

Departamento de Neurofisiología, Instituto Mexicano de Psiquiatría, México

Functional brain image studies indicated that the anterior cingulate cortex is a locus for pain information processing. This cortex receives projections from the anteromedial (AM) and mediodorsal (MD) thalamic nuclei through the cingulum bundle. In a previous study, we found facilitation in the onset and intensity of self-injury behavior (SIB) by simultaneous anterior cingulum bundle stimulation to the induction of a nociceptive regional inflammatory process. The purpose of the present work was to determine if the electrical stimulation of AM and MD nuclei of the thalamus enhances SIB. Adult Wistar male rats were stereotaxically implanted with electrodes into these nuclei and in other thalamic nuclei (OTN) (i.e., intralaminar, reticular, and stria medularis). The control groups were nonstimulated (sham) implanted and nonimplanted subjects. For the inflammatory process induction, carrageenan was injected into the hindpaw 60 min before the first stimulation trial. The severity of SIB was classified in five ranks. Results showed that all animals stimulated in AM and MD nuclei presented SIB. The AM nucleus stimulation produced a significant reduction in self-injury onset time, and the degree of self-injury behavior from AM- and MD-stimulated groups was significantly higher than those of the groups stimulated in OTN and in controls. We concluded that the AM nucleus is related with the anticipation of SIB and both AM and MD nuclei enhance the SIB induced by a nociceptive inflammatory process.

Pain Self-injury behavior Electric stimulation Thalamus Inflammation Rat

Introduction

Pathologic pain is an abnormal, painful perception caused by damage and/or dysfunction of the peripheral and central nervous systems. Pathological pain persists long after the stimulus has ceased or the damage has been repaired. Clinical examples of abnormal pain such as central pain and phantom limb pain suggest the participation of central supraspinal sensitization mechanisms (9). Because not all patients with the same nervous damage develop the pathologic process, pathological pain must involve genetic, cognitive, and affective factors not yet identified (7).

One of the brain areas related to the affective and cognitive processes of pain is the anterior cingulate cortex (ACC) (12,13,37). It has been reported that ablation of the ACC or the interruption of the cingulum bundle and the anterior limb of the internal capsule relieve, totally or partially, the unpleasant painful sensation in some patients with pathologic pain (18,25,26,30). More recently, using

functional cerebral images, it has been shown that there is an activation of the ACC with different kinds of noxious stimuli (2,5,6,10,28,31). Moreover, other experiments have suggested that ACC activation is associated with an affective-emotional component of pain (11,42).

Several authors have proposed self-mutilation behavior, or autotomy in animals, as a model of abnormal pain states (8,34,49,55). In experiments using a peripheral neurectomy model, Vaccarino and Melzack (53) demonstrated that the functional interruption of the cingulum bundle with a local anesthetic retards the onset and diminishes the intensity of the autotomy behavior. Our group has been using a hyperstimulation pain model (1) involving carrageenan infiltration into soft tissues of the hindpaw. Using this model, we have found that electrical stimulation of the cingulum bundle, prior to or simultaneously with the inflammatory process, anticipates the onset and increases the intensity of the self-injury behavior in the rat (39).

These data suggest that the sensitization of pain mecha-

nisms occurred. This sensitization involved the ACC structure related to the cingulum bundle, which is implicated in the affective component of algic perception as well as in the development of pathological pain.

The ACC receives projections from anteromedial (AM) (15,27,46,47) and lateral mediodorsal (MD) nuclei (21,32) of the thalamus through the cingulum bundle and the anterior limb of the internal capsule (14,44). Electrophysiological studies have provided evidence for the existence of nociceptive neurones in the ACC (36,48,58) that respond in an excitatory fashion to the electrical stimulation of the MD nucleus (16,29,36). Also, neurones of the AM and MD nuclei receive nociceptive information (43). Excitatory amino acids are probably involved as neurotransmitters in these pathways (20,41).

The purpose of the present work was to establish if stimulation of the thalamic nuclei, in which the cingulum bundle originates, produced the same effects on SIB as those elicited when the cingulum bundle is stimulated. To that aim, AM and MD thalamic nuclei of animals in which a nociceptive inflammatory process was elicited were electrically stimulated to test if the SIB anticipated and increased. Preliminary results were presented elsewhere (51).

Methods

This study was carried out in accordance with the regulations of the Ethics Committee of the International Association for the Study of Pain (59), and was approved by the Projects' Commission of the Instituto Mexicano de Psiquiatría.

Male Wistar rats (250–350 g) were stereotaxically implanted with bipolar parallel steel electrodes (tip surface diameter = 0.2 mm each pole) directed to the AM nucleus (A: 7.7 mm; H: 4 mm; L: 0.8 mm) or to the MD nucleus (A: 6.7 mm; H: 4.8 mm; L: 0.8

mm) (38). The electrodes were anchored to the skull with de acrylic. The surgical procedure was done under sodium pentobarbital anesthesia (60 mg/kg). After the surgery and in the following days of the experiment, the animals were maintained in individual cages, on normal light–dark cycles with water and food *ad libitum*. They were allowed to recover for 4 days.

The animals were divided into sham (nonstimulated) and stimulated subgroups for each implanted group. An independent group ($n = 17$), which was not implanted but injected to induce inflammation, was used as control.

The inflammatory process was induced by infiltration of carrageenan (CAR) lambda (250 μ l, at 1% in saline solution) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), injected subcutaneously into the sole of the right hindpaw, contralateral to the implanted site, daily measuring of plantar circumference at the metatarsal level was done with a thread, to the nearest millimeter (17). The measurements were done before the carrageenan infiltration, immediately after, and every 24 h thereafter for 10 days.

The electrical stimulation was started 1 h after the CAR infiltration. Stimulation parameters were square pulses of 0.2 ms at 100 Hz, for 1 s every 5 s, during 10 min/day during 10 days, the same parameters used in a previous study (39). The current was adjusted for each animal, with an average intensity of 110 μ A (range 80–140 μ A). The amount of current was fixed at 10 μ A under the stimulation threshold defined by the presence of any unspecific motor manifestation like twitching, nodding, or freezing. Each animal was stimulated individually, on the same schedule, inside a transparent acrylic arena for the behavioral observation.

Five grades were established for the analysis of the self-injury intensity on the basis of extension and multiplicity of lesions:

- grade 0: without lesion;
- grade 1: single lesion of the major longitudinal axis less than 3 mm;
- grade 2: multiple lesions of the major longitudinal axis less than 3 mm;

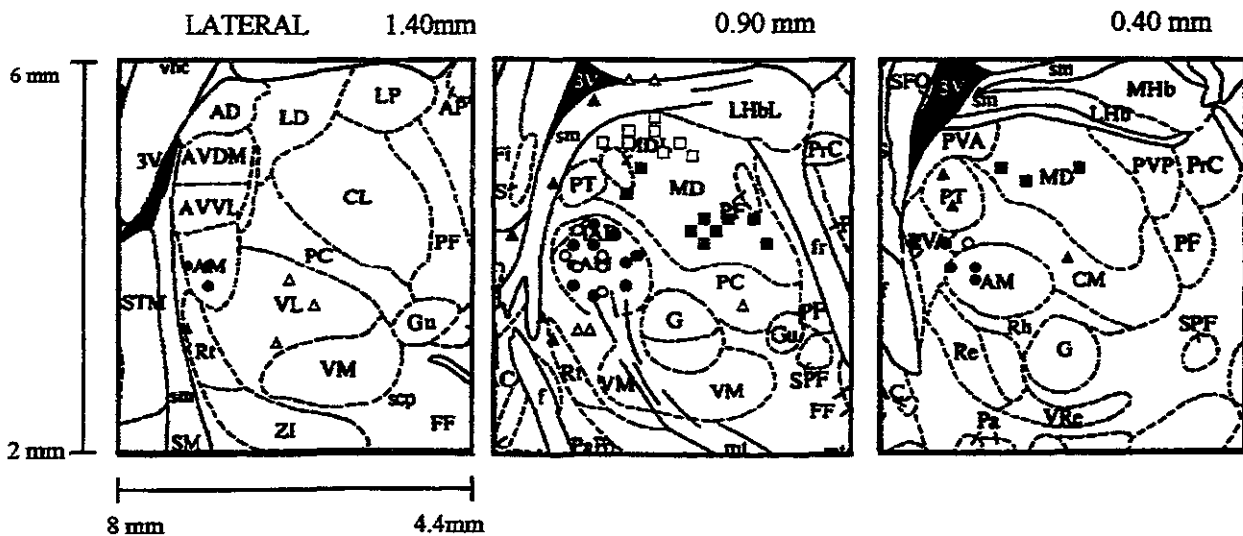


Figure 1. Localization of electrodes' tips. Sagittal view schemes at 1.4, 0.9, and 0.4 mm from the midline. Stimulated in the AM (●), MD (■), and OTN (▲). Sham of the AM (○), MD (□), and OTN (△). The scales in the y- and x-axes represent the ventral and the anterior plane, respectively, from interaural zero [modified from Paxinos and Watson (38)].

Group 3: single lesion of the major longitudinal axis larger than 3 mm with or without minor lesions;

Group 4: multiple lesions of the major longitudinal axis larger than 3 mm.

The presence, grade, and daily evolution of the self-injury activity were recorded for 10 days. The rapid procedure technique (45) was used to verify the electrode implantation site. Animals were anesthetized (sodium pentobarbital 65 mg/kg) and perfused (IC) with physiological saline solution, followed by 10% formaldehyde in physiological saline solution. The brains were allowed to fix for 2 days before the histological procedure. Rats with electrodes located outside the thalamus were eliminated. The rats in which the electrode was in a thalamic nucleus different from the AM or MD nuclei were clustered in the other groups and named: stimulated in other thalamic nuclei (OTN; $n = 11$) or sham (non-stimulated) in other thalamic nuclei (SOTN; $n = 8$). These stereotaxical failures covered nuclei such as the intralaminar, reticular, and the stria medularis. Animals with electrodes correctly located were clustered in the following order: sham groups with electrodes inside the anteromedial nucleus (SAM group; $n = 8$) and sham groups with electrodes inside the mediodorsal nucleus (SMD group; $n = 8$), stimulated groups with electrodes inside the anteromedial nucleus (AM group, $n = 17$) or inside the mediodorsal nucleus (MD group, $n = 12$). Figure 1 shows electrode tip locations.

Statistical Analysis

We calculated the incidence and the mean onset time of the self-injury in each group as well as the cumulative SIB. The cumulative SIB was obtained by adding the average of the self-injury degree of each group each day to the average of the previous day. For the analysis of the incidence, proportions in the control group were compared with those in AM, MD, OTN, and SOTN groups. The SAM and SMD groups were not included because of an insufficient number of animals. Data of the SIB onset were analyzed using a one-way ANOVA (treatment \times onset day of AU) and a Tukey as a post hoc comparison test. In order to analyze the SIB grades, the data were logarithmically transformed and for the analyses of inflammatory process, the percentage of plantar circumference increase was considered. Both data were analyzed with a repeated measure ANOVA and differences between treatments were established by means of the Student-Newman-Keuls Significant Rang post hoc test. For analysis of the electrical current applied into each stimu-

lated group we used a one-way ANOVA and Bonferroni adjustment as post hoc test ($\alpha < 0.05$).

Results

After histological verification of the electrode implantation site, the animals were clustered. A significant difference between AM and MD groups was found in the current threshold needed to obtain a motor response. The AM group received an average electrical current of $111.2 \pm 5.55 \mu\text{A}$ (MS \pm ES), the MD group $80 \pm 6.61 \mu\text{A}$, and the OTN group $92.7 \pm 6.9 \mu\text{A}$. The difference between the AM and the MD groups was statistically significant ($p = 0.003$) but the difference between the AM and the OTN groups was not ($p = 0.131$).

Electrical stimulation at the AM and MD nuclei produced the highest self-injury scores, the shortest onset time of the behavior, and a 100% SIB incidence. Thus, the SIB incidence of the AM group was statistically significantly higher than the incidence of the control group, with a statistical significance level of $p < 0.05$. For the MD group, in spite of the fact that the behavior appeared in 100% of the animals, the number of animals was insufficient to reach a statistical significance difference with regard to the control group. The control group showed an incidence of 82.3%.

With respect to onset time of the SIB, both AM and MD groups showed reduced onset times when compared with the control group. However, the MD group difference did not reach statistical significance (Table 1). The SIB accumulated score by the end of the experiment (day 10) of the AM group was statistically significantly higher than the final score of the control and sham AM groups. As to evolution of the SIB, it can be observed that the real difference appears mainly in the first 3 days compared with the control and sham AM groups. In the MD group a statistically significant increase in the degree of self-injury behavior was observed in the second day after the induction of the inflammatory process when compared with the control and the sham MD groups (Fig. 2).

The sham groups (SAM, SMD, and SOTN) showed the lowest SIB scores, as well as the lowest incidence. The

Table 1
Main Characteristics of Self-Injury Behavior in the Different Groups

Groups	Incidence of SIB in 10 Days (%)	SIB Onset Time (Days \pm SEM)	Maximum SIB Score (CSIB at Day 10)
Control	14/17 (82.3)	2.7 \pm 0.35	3.29
AM	17/17 (100)*	1.05 \pm 0.32†	9
SAM	3/6 (50)	3 \pm 0.76	2.5
MD	12/12 (100)	1.5 \pm 0.14	4.58
SMD	2/8 (25)	2 \pm 0.38	0.62
OTN	8/12 (72.7)	1.8 \pm 0.47	3.67
SOTN	5/7 (71.4)	1.8 \pm 0.59	2.86

Cumulated SIB (CSIB) was calculated with the average of SIB degree by group each day added to the average of the previous day.

Statistical difference ($p < 0.05$) AM vs. control: *test of proportions, †Tukey test.

onset time of the behavior had similar values to those of the control group (Table 1).

The group stimulated in other thalamic nuclei showed an onset time of SIB similar to the onset time of the sham OTN group. The incidence in the OTN group was almost the same as the incidence presented by the control and sham OTN groups. In the same way, the maximum SIB score reached by the OTN group after the induction of the inflammatory process was similar to those of the control and sham OTN groups. The evolution of the SIB in the OTN group behaved in the same manner as the control and sham groups (Table 1).

The inflammatory process showed a similar temporal course in almost all the groups, with the maximum edema of the hindpaw 24 h after carrageenan infiltration; at this point, the inflammatory process diminished progressively (Fig. 3).

Discussion

The results of this work show that electrical stimulation of the anteromedial and mediodorsal thalamic nuclei modifies nociceptive information processing. Thus, AM- and MD-stimulated animals showed an enhanced incidence and shortened onset, as well as increased intensity of self-injury behavior.

It has been described that the neurons that constitute that AM and MD nuclei project directly to the prefrontal cortex and specifically to the ACC (15,21,27,32,46,47,50), through the cingulum bundle.

The nuclei investigated in this study are not part of those thalamic nuclei classically associated to the nociceptive pathway (56).

In a previous article by our group (39), we reported that the electrical stimulation of the cingulum bundle, which is the pathway that connects the thalamic nuclei to the ACC, precipitates and enhances the autotomy. In that article we suggested that the triggering factor of the autotomy is the presence of a specific somatosensorial painful reference (inflammatory painful processes), defined by our group as "sensorial quality." This sensorial quality is a fundamental condition for the beginning of SIB. The present data show that electrical stimulation of the AM nucleus, in the presence of the sensorial quality, produces the highest SIB score of all the nuclei tested in this work.

MD stimulation also produced an important SIB score, although less evident than obtained after AM stimulation. These results show for the first time that the AM and MD play a relevant role in the cognitive-affective component of pain.

There is a considerable amount of experimental evidence showing the development of increased neuronal activity at various levels of the pain pathway: after a nerve lesion (33,40,57), as a consequence of an inflammatory process (52), or by a recurrent visceral pain (19). An increased

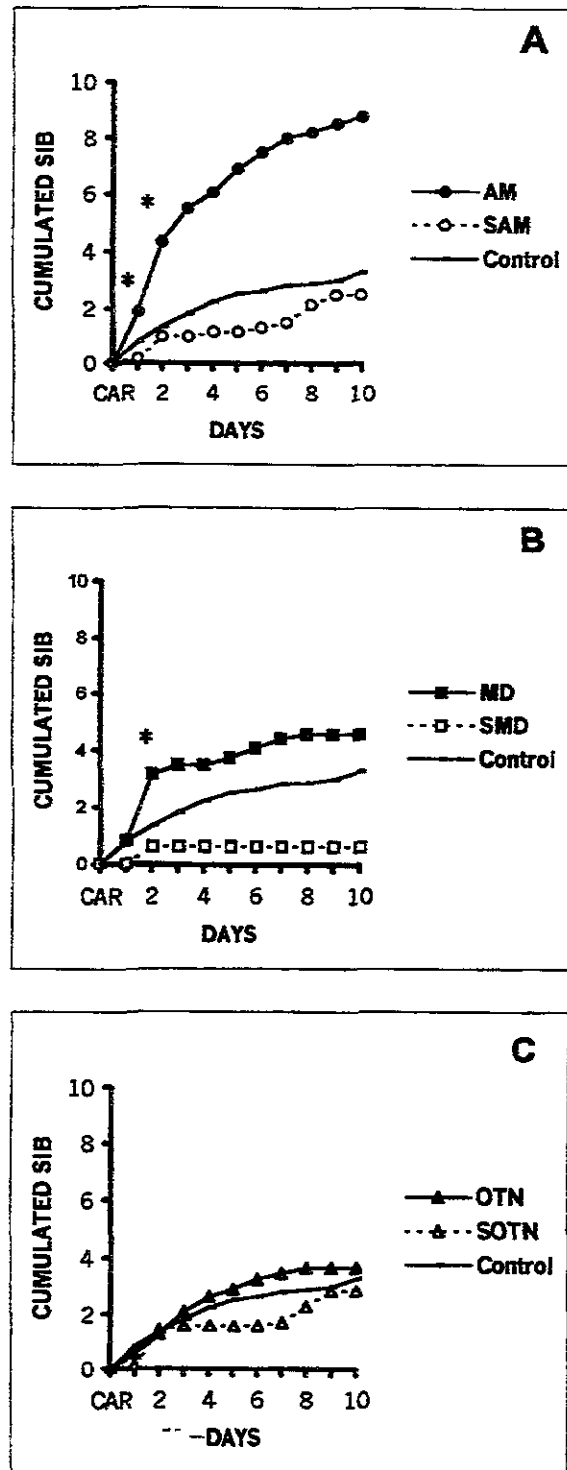


Figure 2. Evolution of the cumulative SIB. (A) AM, sham AM (SAM), and control groups. AM group had the greatest self-injury activity (shaded area) and the highest slope in the curve in the first 2 days after carrageenan (CAR) injection. (B) MD, sham MD (SMD), and control groups. MD had greater self-injury activity than the SMD and control groups in the second day after the CAR injection. (C) OTN, sham OTN (SOTN), and control groups. The self-injury behavior was similar in all groups. Student-Newman-Keuls Significant Range: * $p < 0.05$.

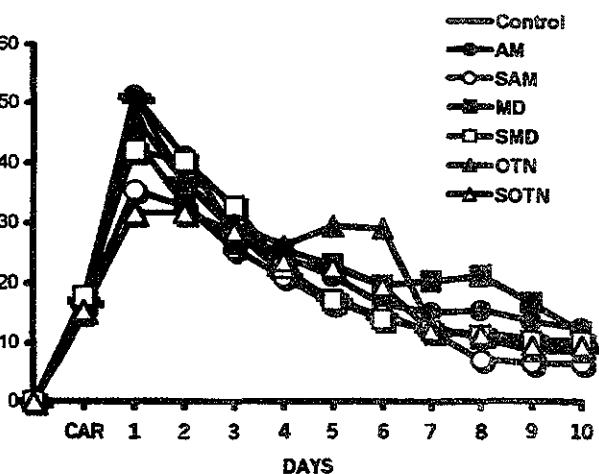


Figure 3. Temporal course of the inflammatory process. A similar temporal course for almost all groups was seen in the inflammatory processes with the exception of SAM and the OTN in the first day. The maximal inflammation was found at 24 h of the process induction.

Simultaneous neural activity has been reported in neurones in the dorsal horn (3), thalamus (22,23), and somatosensory cortex (24). This activity at supraspinal levels seems to trigger additional central phenomena (evident in clinical examples such as phantom limb pain and central pain), in which the neural activity comes to be temporally independent from the spinal or peripheral signal (4). Vaccarino and Melzack (54) have identified the role of specific supraspinal structures (cingulum bundle, fornix pathway, and mesencephalic reticular formation) in the temporal processing of pain, which suggest long-term changes triggered by formalin-induced nociception. These same authors (53) demonstrated that the functional interruption of the cingulum bundle by the anesthetic lidocaine, lowers the incidence, delays the onset, and diminishes the intensity of the autotomy. In another related experiment, Magnusson and Vaccarino (35) demonstrated that this manipulation over the cingulum modifies mechanisms of pain perception only when the application of lidocaine is within the first 20 min after the painful process is installed. In turn, our group reported that the electrical stimulation of the cingulum bundle simultaneous to the induction of an inflammatory process accelerates the onset and increases the intensity of the SIB in the rat (39). This evidence suggests that the mechanisms of sensitization in pain perception involve structures related to the cingulum bundle and that these mechanisms may be modified over their development period.

We suggest that the increment of the self-injury behavior reported here is caused by the electrical stimulation of the AM and MD thalamic nuclei. This activation facilitates the induction of the plastic changes related to the sensitization in the stimulated animals; a similar effect is observed in central sensitization. With this approach, we demonstrate that it is possible to facilitate the self-injury behavior in-

duced by an inflammatory process by electrical stimulation of, at least, the AM and MD thalamic nuclei.

Acknowledgments

This work was partially supported by the IMP 3230 and CONACYT 28696-M grants for F.P. E.T.-L.'s scholarship supported by the CONACYT and DGEP-UNAM. We thank Gabriela Rodríguez-Manzo for her valuable suggestions.

References

- Albe-Fessard, D.; Giamberardino, M.; Rampin, O. Comparison of different animal models of chronic pain. In: Lipton, S.; Tunk, E.; Zoopi, M., eds. *Advances in pain research and therapy*. New York: Raven Press; 1990:11-27.
- Andersson, J. L.; Lilja, A.; Hartvig, P.; Langstrom, B.; Gordh, T.; Handwerker, H.; Torebjork, E. Somatotopic organization along the central sulcus, for pain localization in humans, as revealed by positron emission tomography. *Exp. Brain Res.* 117:192-199; 1997.
- Baranauskas, G.; Nistri, A. Sensitization of pain pathways in the spinal cord: Cellular mechanisms. *Prog. Neurobiol.* 54: 349-365; 1998.
- Baron, R.; Maier, C. Phantom limb pain: Are cutaneous nociceptors and spinothalamic neurons involved in the signaling and maintenance of spontaneous and touch-evoked pain? A case report. *Pain* 60:223-228; 1995.
- Casey, K. L.; Minoshima, S.; Berger, K. L.; Koeppe, R. A.; Monrow, T. J.; Frey, K. A. Positron emission tomography analysis of cerebral structures activated specifically by repetitive noxious heat stimuli. *J. Neurophysiol.* 71:802-807; 1994.
- Casey, K. L.; Minoshima, S.; Morrow, T. J.; Koeppe, R. A. Comparison of human cerebral activation pattern during cutaneous warmth, heat pain, and deep cold pain. *J. Neurophysiol.* 76:571-581; 1996.
- Cervero, F.; Laird, J. One pain or many pains? A new look at pain mechanism. *NIPS* 6:268-273; 1991.
- Coderre, T. J.; Grimes, R. W.; Melzack, R. Deafferentation and chronic pain in animals: An evaluation of evidence suggesting autotomy is related to pain. *Pain* 26:61-84; 1986.
- Coderre, T. J.; Katz, J.; Vaccarino, A. L.; Melzack, R. Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: Review of clinical and experimental evidence. *Pain* 52:259-285; 1993.
- Coghill, R. C.; Talbot, J. D.; Evans, A. C.; Meyer, E.; Gjedde, A.; Bushnell, M. C.; Duncan, G. H. Distributed processing of pain and vibration by the human brain. *J. Neurosci.* 14: 4095-4108; 1994.
- Craig, A. D.; Reiman, E. M.; Evans, A.; Bushnell, M. C. Functional imaging of an illusion of pain. *Nature* 384:258-260; 1996.
- Damasio, A. R.; Van Hoesen. Emotion disturbance associated with focal damage to the frontal lobe. In: Heitman, K. M.; Satz, P., eds. *Neuropsychology of human emotion*. New York: Guilford Press; 1984:85-110.
- Devinsky, O.; Morrel, M. J.; Vogt, B. A. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain* 118:279-306; 1995.
- Domesic, V. B. The fasciculus cinguli in the rat. *Brain Res.* 20:19-32; 1970.

15. Domesic, V. B. Thalamic relationships of the medial cortex in the rat. *Brain Behav. Evol.* 6:457-483; 1972.
16. Dostrovsky, J. O.; Guilbaud, G. Nociceptive responses in medial thalamic of normal and arthritic rat. *Pain* 40:93-104; 1990.
17. Fletcher, D.; Kayser, V.; Guilbaud, G. Influence of timing of administration on the analgesic effect of bupivacaine infiltration in carrageenin-injected rats. *Anaesthesiology* 84:1129-1137; 1996.
18. Foltz, E. L.; White, L. E. Pain "relief" by frontal cingulotomy. *J. Neurosurg.* 19:98-100; 1962.
19. Giamberardino, M. A.; Valente, R.; Affaitati, G.; Vecchiet, L. Central neuronal changes in recurrent visceral pain. *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* 17:63-66; 1997.
20. Gigg, J.; Tan, A. M.; Finch, D. M. Glutamatergic excitatory responses of anterior cingulate neurons to stimulation of the mediodorsal thalamus and their regulation by GABA: An in vivo iontophoretic study. *Cereb. Cortex* 2:477-484; 1992.
21. Groenewegen, H. J. Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* 24:379-431; 1988.
22. Guilbaud, G.; Benoist, J. M.; Eschalier, A.; Kayser, V.; Gautron, M.; Attal, N. Evidence for central phenomena participating in the changes of responses of ventrobasal thalamic neurons in arthritic rats. *Brain Res.* 484:383-388; 1989.
23. Guilbaud, G.; Benoist, J. M.; Jazat, F.; Gautron, M. Neuronal responsiveness in the ventrobasal thalamic complex of rats with an experimental peripheral mononeuropathy. *J. Neurophysiol.* 64:1537-1554; 1990.
24. Guilbaud, G.; Benoist, J. M.; Condes-Lara, M.; Gautron, M. Further evidence for the involvement of Sml cortical neurons in nociception: Their responsiveness at 24 hr after carrageenin-induced hyperalgesic inflammation in the rat. *Somatosens. Motil. Res.* 10:229-244; 1993.
25. Hassenbusch, S. J.; Pillay, P. K.; Barnett, G. H. Radiofrequency cingulotomy for intractable cancer pain using stereotaxis guided by magnetic resonance imaging. *Neurosurgery* 27:220-223; 1990.
26. Hassenbusch, S. J.; Walsh, J. G.; Stanton-Hicks, M. S.; Covington, E. O. Capsulotomy for cancer pain: Technique and effectiveness, proceedings of the Xith Meeting of the World Society for Stereotactics and Fuctional Neurosurgery. 31; 1993.
27. Horikawa, K.; Kinjo, N.; Stanley, L. C.; Powell, E. W. Topographic organization and collateralization of the projections of the anterior and laterodorsal thalamic nuclei to cingulate areas 24 and 29 in the rat. *Neurosci. Res.* 6:31-44; 1988.
28. Hsieh, J. C.; Belfrage, M.; Stone-Elander, S.; Hansson, P.; Ingvar, M. Central representation of chronic ongoing neuropathic pain studied by positron emission tomography. *Pain* 63:225-236; 1995.
29. Hsu, M. M.; Shyu, B. A. Electrophysiological study of the connection between medial thalamus and anterior cingulate cortex in the rat. *Neuroreport* 8:2701-2707; 1997.
30. Hurt, R. W.; Ballantine, H. T. Stereotactic anterior cingulate lesions for persistent pain: A report on 68 cases. *Clin. Neurosurg.* 21:334-351; 1974.
31. Jones, A. K.; Brown, W. D.; Friston, K. J.; Qi, L. Y.; Frackowiak, R. S. Cortical and subcortical localization of response to pain in man using positron emission tomography. *Proc. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 244:39-44; 1991.
32. Krettek, J. E.; Price, J. L. The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *Comp. Neurol.* 171:157-191; 1977.
33. Laird, J. M.; Bennett, G. J. An electrophysiological study of dorsal horn neurons in the spinal cord of rats with an experimental peripheral neuropathy. *J. Neurophysiol.* 69:2071-2085; 1993.
34. Lombard, M. C.; Nashold, B. S., Jr.; Albe-Fessard, D.; Sjoeman, N.; Sakr, C. Deafferentation hypersensitivity in the rat after dorsal rhizotomy: A possible animal model of chronic pain. *Pain* 6:163-174; 1979.
35. Magnusson, J. E.; Vaccarino, A. L. Reduction of autotomy following peripheral neurectomy by a single injection of bupivacaine into the cingulum bundle of rats. *Brain Res.* 712:214-217; 1996.
36. Mantz, J.; Milla, C.; Glowinski, J.; Thierry, A. M. Differential effects of ascending neurons containing dopamine and noradrenaline in the control of spontaneous activity and evoked responses in the rat prefrontal cortex. *Neuroscience* 27:517-526; 1988.
37. Papez, J. W. A proposed mechanisms of emotion. *Arch. Neurol. Psychiatry* 38:725-743; 1937.
38. Paxinos, G.; Watson, C. *The rat brain stereotaxic coordinate atlas*. New York: Academic Press; 1982.
39. Pellicer, F.; López-Avila, A.; Torres-López, E. Electric stimulation of the cingulum bundle precipitates onset of autotomy induced by inflammation in rat. *Eur. J. Pain* 3:287-293; 1999.
40. Pertovaara, A.; Kontinen, V. K.; Kalso, E. A. Chronic spinal nerve ligation induces changes in response characteristics of nociceptive spinal dorsal horn neurons and in their descending regulation originating in the periaqueductal gray in the rat. *Exp. Neurol.* 147:428-436; 1997.
41. Pirot, S.; Jay, T. M.; Glowinski, J.; Thierry, A. M. Anatomical and electrophysiological evidence for an excitatory amino acid pathway from the thalamic mediodorsal nucleus to the prefrontal cortex in the rat. *Eur. J. Neurosci.* 6:1225-1232; 1994.
42. Rainville, P.; Duncan, G. H.; Price, D. D.; Carrier, B.; Bushnell, M. C. Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex. *Science* 277:968-971; 1997.
43. Rinaldi, P. C.; Young, R. F.; Albe-Fessard, D.; Chodakiewski, J. Spontaneous neuronal hyperactivity in the medial and intermediate laminar thalamic nuclei of patients with deafferentation pain. *J. Neurosurg.* 74:415-421; 1991.
44. Robertson, R. T.; Kaitz, S. S. Thalamic connections with limbic cortex. I. Thalamocortical projections. *J. Comp. Neurol.* 195:501-525; 1981.
45. Sánchez-Alvarez, M.; León-Olea, M.; Condés-Lara, M.; Bernal, M.; Fernández-Guardiola, A. Localization of the microelectrode tip combining a rapid procedure method and mapping with pontamine sky blue. *Bol. Estud. Med. Biol.* 33:55-59; 1988.
46. Shibata, H.; Kato, A. Topographic relationship between anterior medial thalamic nucleus neurons and their cortical terminal fields in the rat. *Neurosci. Res.* 17:63-69; 1993.
47. Shibata, H. Efferent projections from the anterior thalamic nuclei to the cingulate cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.* 330:533-542; 1993.

8. Sikes, R. W.; Vogt, B. A. Nociceptive neurons in area 24 of rabbit cingulate cortex. *J. Neurophysiol.* 68:1720-1732; 1992.
9. Sweet, W. H. Animal models of chronic pain: Their possible validation from human experience with posterior rhizotomy and congenital analgesia. *Pain* 10:275-295; 1981.
10. Thompson, S. M.; Robertson, R. T. Organization of subcortical pathways for sensory projections to the limbic cortex I. Subcortical projections to the medial limbic cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.* 265:175-188; 1987.
11. Torres-López, E.; del-Angel, R.; Pellicer, F. Stimulation of thalamic anteromedial and mediodorsal nuclei potentiates the autotomy behavior in the rat. *Soc. Neurosci. Abstr.* 24:446.17; 1998.
12. Traub, R. J. Spinal modulation of the induction of central sensitization. *Brain Res.* 778:34-42; 1997.
13. Vaccarino, A. L.; Melzack, R. The role of the cingulum bundle in self-mutilation following peripheral neurectomy in the rat. *Exp. Neurol.* 111:131-134; 1991.
14. Vaccarino, A. L.; Melzack, R. Temporal processes of formalin pain: Differential role of the cingulum bundle, fornix pathway and medial bulboreticular formation. *Pain* 49:257-271; 1992.
15. Wall, P. D.; Scadding, J. W.; Tomkiewitz, M. M. The production and prevention of experimental anaesthesia dolorosa. *Pain* 6:175-185; 1979.
16. Willis, W. D.; Westlund, K. N. Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. *J. Clin. Neurophysiol.* 14:2-31; 1997.
17. Woolf, C. J.; Thompson, S. W.; King, A. E. Prolonged primary afferent induced alterations in dorsal horn neurones, an intracellular analysis in vivo and in vitro. *J. Physiol. (Paris)* 83:255-266; 1988.
18. Yamamura, H.; Iwata, K.; Tsuboi, Y.; Toda, K.; Kitajima, K.; Shimizu, N.; Nomura, H.; Hibiya, J.; Fujita, S.; Sumino, R. Morphological and electrophysiological properties of ACCx nociceptive neurons in rats. *Brain Res.* 735:83-92; 1996.
19. Zimmermann, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16:109-110; 1983.



Research report

Lesion and electrical stimulation of the ventral tegmental area modify persistent nociceptive behavior in the rat

Francisco Sotres-Bayón, Edgar Torres-López, Alberto López-Ávila, Rosendo del Ángel, Francisco Pellicer*

Departamento de Neurofisiología, Instituto Nacional de Psiquiatría, Camino a Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco, Tlalpan, Mexico

Accepted 30 January 2001

Abstract

The ventral tegmental area (VTA) has been traditionally related with the control of motor responses. However, some studies show that this area is also involved in the processing of nociceptive information. It has been reported that this nucleus participates in the dissociative analgesia phenomenon. In the few works where electrical stimulation and lesion of the VTA have been performed, evaluated with persistent or chronic pain related behaviors, contradictory results have been obtained. Thus, a more detailed analysis of the role of the VTA in persistent pain is needed. Two series of experiments were performed: lesions of this nucleus were done with radiofrequency, laterally at two points per side using a temperature range from 50 to 80°C, and the VTA was electrically stimulated (10 min daily over 7 days, 2 ms rectangular pulses at 100 Hz during 1 s every 5 s) using two different schemes: 10 min before the induction of the nociceptive stimulus and 90 min after the induction of the nociceptive stimulus. The latter allowed us to distinguish if the VTA electrical stimulation had a distinctive antinociceptive effect when applied before or after the induction of the nociceptive stimulus on a persistent pain related behavioral response in the rat, the self injury behavior (SIB). Our results showed that VTA lesions enhanced the occurrence of SIB; while stimulation of this same nucleus by electrical stimulation after the nociceptive stimulus, but not before, facilitates the analgesic process, expressed as a 1 day delay in SIB onset. These results indicate that the VTA is a brain structure that plays a key role in the processing and modulation of persistent pain information. Data are discussed in terms of the relationship of the VTA with the affective component of pain. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Key words: Sensory systems

Keywords: Pain modulation: anatomy and physiology

Keywords: Ventral tegmental area; Anterior cingulate cortex; Persistent pain; Dissociative analgesia; Self injury behavior; Rat

Introduction

Basal ganglia (BG) have been traditionally related with the control of motor responses. However, recent studies show that BG are also involved in the processing of various somatosensorial information. Moreover, they are considered as an important center for the integration and planning of motor responses to nociceptive stimuli (for review see [8]). Although the functional meaning of BG is not completely understood, its contribution to a variety of cognitive, behavioral and limbic processes is widely accepted [6].

The ventral tegmental area (VTA) is one of the nuclei that are now considered to be part of the BG [6]. There are evidences indicating that the VTA is an important nucleus for pain modulation. This structure participates in various neural circuits that are involved in induced analgesia by electrical stimulation [26,27], stress [38], morphine [29], and also by electroacupuncture [23]. Moreover, it has been suggested that the VTA participates in what sometimes is called dissociative analgesia [13], in which the affective component of pain is lost. Dissociative analgesia has been reported by clinicians in patients, treated with opiates or psychosurgeries such as cingulotomy or cingulectomy, that reply to questions about their pain by remarking that "It hurts but the pain does not bother me". [12,13].

Functional image [7,35], psychosurgical [17,18] and

Corresponding author. Fax: +525-655-9980
E-mail address: pellicer@neuroserver.imp-neuro.edu.mx (F. Pellicer).

perimental evidences [39,40], have shown that the anterior cingulate cortex (ACC) is a brain region related to the affective component of pain information processing [10]. In another context, our group has reported that the cingulum bundle's electrical stimulation enhances the nociceptive sensitivity and precipitates the onset of autotomy [32].

The ACC is closely related to the VTA. Thus VTA afferent projections innervate, through the medial forebrain bundle, almost exclusively the ACC (mesocortical dopaminergic system) [14,30]. The VTA is a mesencephalic dopaminergic nucleus related both anatomically and functionally with the ACC. Moreover, it has been documented that the electrical stimulation of the VTA inhibits up to 50% of the medial prefrontal cortex neurons (also known as anterior cingulate cortex in the rat) that respond to noxious stimuli [15,19,24,25,34].

In experiments that evaluate persistent pain by means of nociceptive-related behaviors in rats, contradictory results have been reported for the effects of electrical stimulation and lesion of the VTA. It has been shown that neurochemical lesion of the VTA produced by injection of 6-hydroxytryptamine, increases the behavioral response to pain, attenuated by nerve denervation [36] and reduces the behavioral response to the formalin test [29]. In another study, contradictory results have been reported for electrical stimulation of the VTA. Thus, Gorea and Lombard [16] reported an increase in autotomy behavior, while Sarkis et al. [37] showed that autotomy diminishes after VTA self-stimulation.

In view of the importance of the VTA as a pain modulator in what has been suggested to be the neural substrate of dissociative and induced analgesia, and given the established controversy of the aforementioned results, a detailed analysis of the role of the VTA in persistent pain is needed. Therefore we decided to lesion this nucleus with radiofrequency, a technique that destroys completely the VTA, and to electrically stimulate it using two different procedures that allowed us to distinguish if electrical stimulation, before or after the induction of the nociceptive stimulus had a distinctive analgesic effect on a persistent pain-related behavioral response in the rat. By this means we wanted to explore if the induction of analgesia by electrical stimulation before the pain was already established could prevent the development of persistent pain or if VTA stimulation induced analgesia was only efficient when the pain was already established.

In this work, persistent pain was induced by the intraplantar infiltration of an inflammatory agent in the rat's hindpaw which triggers a quantifiable self-injury behavior (SIB) [2], which constitutes a spontaneous animal behavioral response to peripheral noxious stimuli (for a review see [22]). Part of this work appeared previously in an abstract form [33].

Materials and methods

The experiments were conducted in male Wistar rats

(250–350 kg) in agreement with the ethics committee regulations of the International Association for the Study of Pain [42] and with the project's commission approval of the Instituto Nacional de Psiquiatría (INP). The rats were raised, housed and maintained in the INP. During the observation period the rats were maintained in transparent acrylic individual boxes with light–dark cycles of 12×12 h, and with ad libitum feeding and hydration. For all surgical procedures, the rats were anesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg).

2.1. Induction and evaluation of the inflammatory process

An inflammatory process was induced by means of an intraplantar infiltration of carrageenan lambda (CAR: 250 µl at 1% saline solution, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) in the rat's right hindpaw, contralateral to the site of electrical stimulation. Rat's paw edema was evaluated measuring the plantar perimeter, at the metatarsal level, with a thread, to the nearest millimeter [11].

2.2. Lesion

For the VTA lesion procedure, the rat's head was fixed to a stereotaxic frame and an incision was performed in the skin to expose the skull at the bregma level. A small hole was done to allow the penetration of the electrode. The lesion was done bilaterally at two points per side of the anteroposterior axis of the VTA (anterior lesion: AP=4.2 mm, L=±0.8 mm, H=1.7 mm; posterior lesion: AP=3.2 mm, L=±0.8 mm, H=1.6 mm; [31]) by means of a radiofrequency generator (RFG4-A, David Kopf instruments, Tujunga, CA, USA) using a temperature range from 50 to 80°C. Rats were allowed to recover from the surgical procedure for a period of 4 days.

2.3. Electrode implantation and electrical stimulation

For the VTA stimulation, bipolar steel electrodes were implanted in the left side of the brain with the following coordinates: A: 4.2 mm; H: 1.6; L: -1.0 [31]). The electrode was fixed to the skull with dental acrylic. Rats were allowed to recover from the surgical procedure for a period of 48 h.

Electrical stimulation was by means of a Grass S11 stimulator (Grass Instruments Co, Quincy, MASS, USA). The stimulation was applied 10 min daily over 5 days (2 ms rectangular pulses at 100 Hz during 1 s every 5 s). To determine the individual stimulation threshold of each rat the current was increased until the appearance of unspecific motor manifestations like nodding, twitching and freezing. At this point the current was diminished 10 µA. Each animal was stimulated individually, following the same schedule, inside a transparent acrylic arena for behavioral observation.

2.4. Categorization and self-injury behavior analysis

Our group established five categories or grades for the analysis of the self-injury behavior (SIB) that reflect the intensity of the rat's persistent pain triggered by the infiltration of CAR [32]. The grades were established based on the extension and multiplicity of the lesions that the rat inflicts over its own inflamed paw. Grade 0, without lesion. Grade 1, one lesion of less than 3 mm long in the major longitudinal axis. Grade 2, multiple lesions of less than 3 mm long in the major longitudinal axis. Grade 3, one lesion bigger than 3 mm long in the major longitudinal axis, with or without multiple lesions of less than 3 mm long. And finally Grade 4, multiple lesions bigger than 3 mm long in the major longitudinal axis.

SIB was daily registered to establish the onset, grade and progression of the lesions (10 days for the VTA lesion and 5 days for the VTA electrical stimulation experiment).

2.5. Experimental design

In the first part of the study, the effects of radio-frequency lesion of the VTA were studied using three groups, one experimental group and two controls groups. In the experimental VTA lesioned group (Lesioned: $n=10$), the rats were injected with carrageenan, 4 days after the lesioning procedure. In the sham lesioned group (Sham-L: $n=10$), rats were implanted but not lesioned, and injected with carrageenan 4 days after the surgery. In the Naïve group (Naïve-L: $n=10$) rats were only injected with carrageenan.

In the second part of the study, the effects of two different electrical stimulation schemes in the VTA were studied using four groups, two electrically stimulated groups and two control groups. Both experimental groups were implanted with electrodes directed to the VTA. One group was electrically stimulated 10 min before the carrageenan injection (St Pre: $n=10$) and the second group was stimulated 90 min after the carrageenan injection (St. Post: $n=10$). They were stimulated with the same electrical parameters. Control groups were: one sham group (Sham-St: $n=10$) implanted but not stimulated, and one naïve group (Naïve-St: $n=10$) only injected with carrageenan.

The extension and multiplicity of the self-injury behavior was daily assessed in all animals.

2.6. Histology

For the histological verification of the electrode implantation sites, the rats were deeply anesthetized with sodium pentobarbital (65 mg/kg) and perfused (ic) with saline physiological solution followed by formaldehyde at 10% in physiological solution. Subsequently, the brains were removed, for its postfixation. The rapid procedure technique was used for the localization of the electrodes'

tips [31]. Only those electrodes' tips that were found within the borders of the VTA were included in the analyses.

The localization of the stimulation electrodes' tips of animals included in the results are shown in Fig. 1.

2.7. Statistical analysis

The following variables were calculated from the data obtained from daily registration of the SIB: grade incidence of the behavior (calculated as the number of that showed the behavior in relation to the total number of animals in that group) and the onset of the behavior (calculated as the mean day of onset of the behavior every group).

- St. Post
- △ Sham
- St. Pre

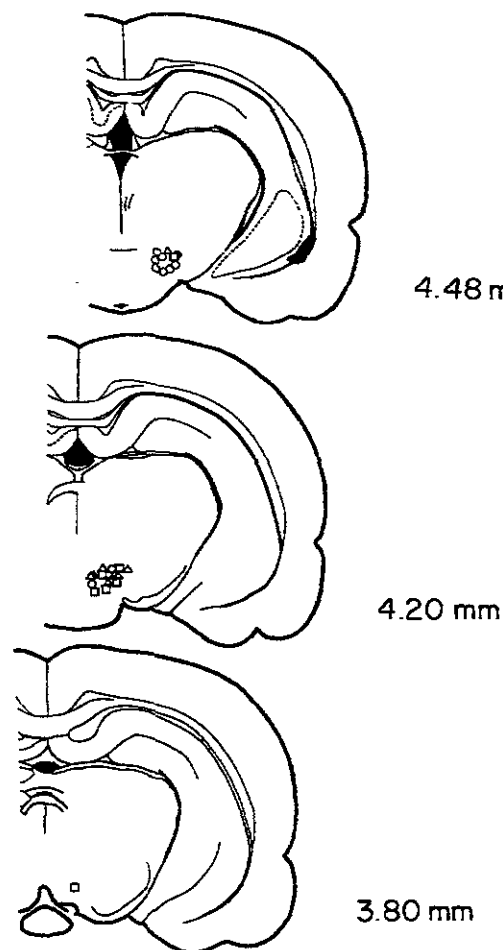


Fig. 1. Schematic representation of the localization of the electrodes' tips in the ventral tegmental area for each group. St. Pre, electrically stimulated 10 min before the induction of the nociceptive stimulus. St. Post, electrically stimulated 90 min after the induction of the nociceptive stimulus. Sham-S, implanted but not stimulated, and infiltrated with carrageenan. The numbers indicate the level of anteriority with respect to the interaural line of the stereotaxic atlas by Paxinos and Watson [31].

the SIB incidence data analysis, a Fisher's exact probability test was used. The SIB onset data were analyzed using a Student *t*-test.

In the analysis of the SIB intensity progression along 10 days (5 for the stimulation experiment, 10 for the control experiment), data were transformed to natural logarithms to homogenize variances and processed by means of a multiple analysis of variance (MANOVA). To evaluate the difference between days per group a Student's *t*-test was used as post hoc analysis.

To evaluate the inflammation temporal course, data were transformed to the percentage of plantar perimeter increased by the injection of carrageenan. A MANOVA was used to assess differences between groups.

In all the statistical tests the significance was established at $P \leq 0.05$.

Results

Effects of ventral tegmental area (VTA) lesion

A bilateral radiofrequency lesion increased SIB in the lesioned group (by significantly augmenting the SIB mean grade evolution) when compared to the control groups (Fig. 1). Although tendencies were observed in the SIB onset and incidence, no statistically significant differences were observed (Table 1).

Table 1

Effects of ventral tegmental area (VTA) lesion on self injury behavior (SIB) onset and incidence variables^a

Groups	n	SIB Incidence (in 10 days) (%)	SIB Onset (Average days ± S.E.M.)
Lesioned	10	90.0	1.6 ± 0.50
Sham-L	10	90.0	2.1 ± 0.35
Naïve-L	25	84.5	2.2 ± 0.50

^a The self injury behavior (SIB) incidence was calculated with the percentage of animals that showed the behavior along 10 days. The SIB onset represents the average day (± S.E.M.) of appearance of the behavior. Lesioned, VTA lesion; Sham-L, Sham of the lesion experiment; Naïve-L, Naïve of the lesion experiment; n, number of animals.

In respect to the inflammatory process, evaluation revealed that the inflammation was more pronounced in the lesioned group than in the control groups (Sham-L and Naïve-L) throughout the inflammatory process. Significant differences were obtained in the plantar perimeter of the lesioned group as compared to the control groups in every measurement beginning 1 day after the infiltration of carrageenan (Fig. 3).

3.2. Effects of ventral tegmental area (VTA) electrical stimulation

VTA electrical stimulation, 90 min after the induction of the painful process (St. Post group) delayed 1 day the SIB onset. (Table 2). This result also appeared in the SIB

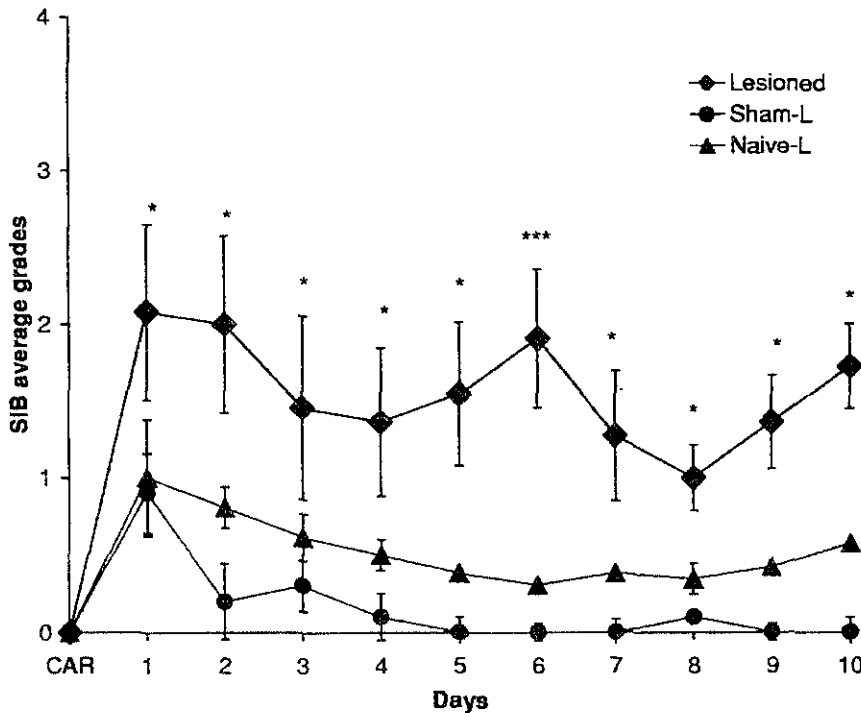


Fig. 1. Effect of ventral tegmental area (VTA) radiofrequency lesion on self injury behavior (SIB). An increase in the average of the SIB grades in the lesioned group as compared to the control groups (Sham-L and Naive-L) was observed through 10 days of the behavioral evaluation (MANOVA, $F(9, 243)$, $\alpha = 0.000$). Student's *t*-test (* $P \leq 0.05$; *** $P \leq 0.000$). The values represent SIB mean grades (± S.D.). Sham-L, sham of the lesion experiment; Naive-L, naive of the lesion experiment.

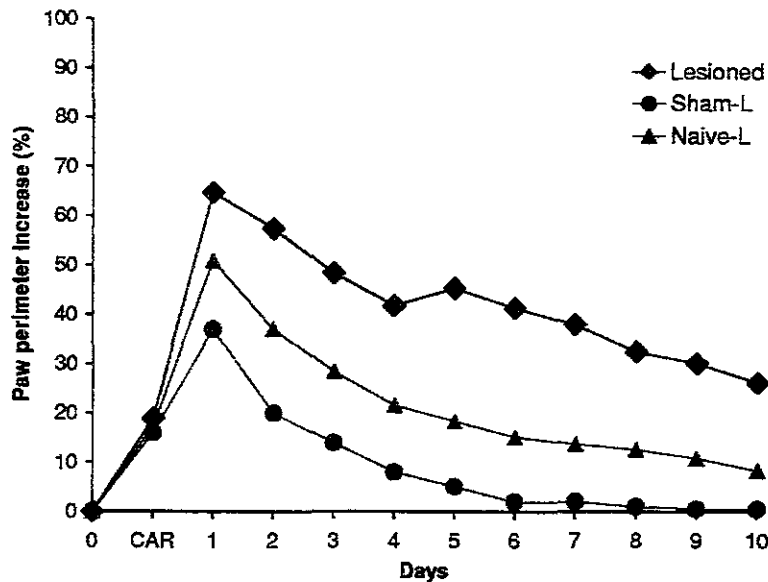


Fig. 3. Inflammation temporal course in lesioned and control groups. A significant increase through out the inflammation course, evaluated as the paw perimeter percentage, was observed in the Lesioned group as compared to the control groups (Sham-L and Naïve-L) (MANOVA: $F=6.120$, $\alpha=0.05$). The maximum value of inflammation was 24 h after the infiltration of carrageenan (CAR) in all groups. Sham-L, Sham of the lesion experiment; Naïve-L, Naïve of the lesion experiment.

evolution variable, since the SIB mean grade on day 1 was smaller in the St. Post than in St. Pre and control groups (Fig. 4). The St. Post group showed a non expected increase in SIB mean grade on day 3, when compared with the St. Pre and Naïve stimulated groups, but no as compared with the Sham stimulated group. No differences in the SIB evolution and onset variables were found in the St. Pre group.

As to the SIB incidence variable, both St. Pre and St. Post groups showed a significant increase of 15% as compared to the sham stimulated group, but not to the Naïve group (Table 2).

The inflammatory process was similar in all groups (St.

Post, St. Pre and control groups) with a maximum inflammation at 24 h after the carrageenan infiltration (data not shown).

4. Discussion

The results of this study show that VTA experimental manipulations (radiofrequency lesion or stimulation of the nucleus) modify the response to the application of the nociceptive stimulus (SIB). The suppression of VTA information by its electrical stimulation enhances the occurrence of SIB, a pain related behavior, while activation of the same nucleus by electrical stimulation after the induction of the nociceptive stimulus, before, facilitates analgesic processes, expressed as a diminished SIB. Thus, our results suggest that the VTA is an important brain structure involved in the processing and modulation of persistent pain information.

It is important to mention that following the methodology employed (electrical stimulation and radiofrequency lesion) in the present work, there is the possibility that the anatomical passage of the VTA could have been affected by the procedure.

4.1. Ventral tegmental area (VTA) lesion

The data obtained after VTA bilateral radiofrequency lesion show an increased SIB along the whole recording period. This fact suggests that this brain structure is necessary for the endogenous inhibition of pain information. These results coincide with those of other groups [16,36], reporting an increase or facilitation of the

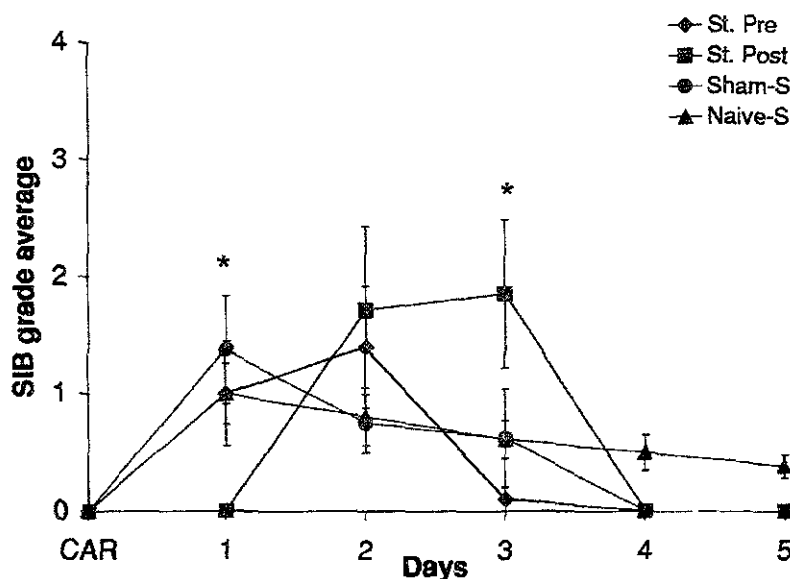
Table 2
Effects of ventral tegmental area (VTA) electrical stimulation on self injury behavior (SIB) onset and incidence variables^a

Groups	n	SIB Incidence (in 5 days) (%)	SIB Onset (Average day \pm S.E.M.)
St. Post	7	90	2.50 \pm 0.20 ^b
St. Pre	10	90	1.50 \pm 0.17
Sham-S	8	75 ^c	1.66 \pm 0.16
Naïve-S	25	76	1.68 \pm 0.24

^a The self injury behavior (SIB) incidence was calculated with the percentage of animals that showed the behavior along 5 days. The SIB onset represents the average day (\pm S.E.M.) of appearance of the behavior. St. Post, VTA stimulation 90 min after the carrageenan infiltration; St. Pre, VTA stimulation 10 min before the carrageenan infiltration; Sham-S, Sham of the stimulation experiment; Naïve-S, Naïve of the stimulation experiment; n, number of animals.

^b SIB onset: Student's *t*-test, St. Post vs. St. Pre, Sham-S and Naïve-S ($P \leq 0.05$).

^c SIB incidence: Fishers exact probability test, St. Post vs. Sham-S and St. Pre vs. Sham-S ($P \leq 0.05$).



4. Effect of the ventral tegmental area (VTA) electrical stimulation 90 min after (St. Post group), or 10 min before (St. Pre group) of the injection of carrageenan (CAR), in the self injury behavior (SIB) grade average. Differences were found between St. Post and the other groups (St. Pre, Sham-S and Naive-S) (MANOVA $F=2.524$, $\alpha=0.004$). Student's t -test ($*P\leq 0.05$). The values represent SIB mean grades (\pm S.D.). Sham-S, Sham stimulation; Naive-S, Naïve of the stimulation experiment.

behaviors associated with nociception, after the cytotoxic destruction of the VTA with 6-hydroxidopamine. Thus, in spite of the behavioral differences associated to locomotion that have been reported after different lesion techniques (cytotoxic vs. radiofrequency) [21], our results show that the behaviors associated to nociception (SIB and autonomy) are similar with both lesion techniques. These findings indicate that the destruction of the dopaminergic and non dopaminergic neurons of the VTA have the same effect on persistent pain related behaviors.

The SIB onset variable showed a decrease in the lesioned group with respect to the control groups. Even though these differences are not statistically significant, there is a clear tendency towards a premature exhibition of the SIB. This suggests that the VTA lesion influences the SIB onset.

As to the inflammatory process, the VTA lesioned group showed a more pronounced inflammation when compared with the control groups (sham and naïve). Since the VTA lesion increases the SIB, the inflammatory process is also maintained for a longer period, resulting in a late temporal resolution of inflammation. Thus, it seems that it is the increase in SIB that provokes a more severe inflammation.

2. Ventral tegmental area (VTA) electrical stimulation

The VTA is a nucleus that has been functionally associated with diverse induced analgesia processes [3,4,13,23,26–28]. However, the temporal relationship between the application of the nociceptive stimulus and the activation of the VTA for eliciting the analgesic response

has not been explored. The results obtained with the two different electrical stimulation schemes revealed that stimulating the VTA 90 min after the induction of the inflammatory process delays the SIB onset 24 h (St. Post). This suggests that VTA stimulation diminishes, at least partially, the pain behavioral response. However, the VTA stimulation 10 min before the painful process (St. Pre) lacks an effect on SIB. This shows that the VTA intervenes in the induction of the analgesia process only if the painful process has already initiated and not before its induction. Thus, VTA mediated analgesia cannot prevent persistent pain but it can diminish it, once the pain has begun.

Three days after the induction of the nociceptive stimulus, an increment in the SIB average grade was found in the group stimulated after the induction of the painful process. This result suggests a rebound of the analgesic activity that was achieved on day 1. We do not have elements with the data obtained in the present work that allow us to explain this rebound. However, it has been settled that the mesocorticolimbic differs from the nigrostriatal dopaminergic systems in that the former shows a higher reuptake rate, and its neurons respond less to agonistic and antagonistic dopaminergic substances than the latter. This characteristic is attributed to the apparent absence of autoreceptors in the cells of the mesocorticolimbic system [14]. This system's peculiarity could be contributing to the rebound found in our work.

In respect to the SIB incidence, we expected to obtain a decrement in this variable after both stimulation schemes, but we did not find it. On the contrary, both stimulated groups showed an increased incidence. It seems that this is

a consequence of the rebound suffered by both experimental groups on the 3rd day of SIB evaluation.

4.3. Role of the ventral tegmental area (VTA) experimental manipulation on the affective component of pain

The anterior cingulate cortex (ACC), among others brain regions, has been proposed to integrate the information of the affective component of pain, [7,9,20,35,41] conducted by the spinothalamic medial system to the limbic system [6]. Since the ACC receives important inhibitory projections from the VTA it can be suggested that the analgesic activity induced by the VTA electrical stimulation is mediated, at least partially, by the inhibition of the affective component of pain, in which the ACC plays a key role. Moreover, we can also propose that the algogenic activity provoked by the VTA lesion might be due to the absence of this inhibitory control normally exerted by the VTA.

Although the present work only explored the possible role played by the VTA in the processing of nociceptive stimulation, a participation of this structure in the modulation of the affective component of persistent pain could be proposed, in view of the anatomical and functional relationships of the VTA with the ACC. The VTA stimulation-induced ACC inhibition can induce analgesia via a descending pathway that involves the periaqueductal gray matter [5,15] rather than an ascending inhibitory mechanism (as the one here proposed). However, it is possible that both descending and ascending analgesic pathways, subserved by the VTA projection to the ACC, provide a complex regulation of the analgesic response. Needless to mention, it is necessary to perform specific experiments designed to identify the cerebral structures and neurotransmitters involved in the modulation of the information processing of the affective component of pain, as well as its ascending and descending inhibitory influences, to define the VTA role in the affective component of pain.

Acknowledgements

The authors wish to thank Gabriela Rodriguez-Manzo for her valuable suggestions and comments concerning this manuscript. This research was partially supported by CONACyT FP-28696M; IMP 3230; Scholarship CONACyT-DGEP UNAM for ETL y and CONACyT for FS-B.

References

- [1] F.V. Abbott, R. Melzack, Analgesia produced by stimulation of limbic structures and its relation to epileptiform discharges, *Exp. Neurol.* 62 (1978) 720–734.
- [2] D. Albe-Fessard, M.A. Giamberardino, O. Rampin, Comparative different animal models of chronic pain, in: S. Lipton, *Advances in Pain Research and Therapy*, Vol. 13, Raven Press, York, 1990, pp. 11–27.
- [3] N. Altier, J. Stewart, Opioid receptors in the ventral tegmental area contribute to stress-induced analgesia in the formalin test rat, *Brain Res.* 718 (1996) 203–206.
- [4] N. Altier, J. Stewart, Dopamine receptor antagonists in the nucleus accumbens attenuate analgesia induced by ventral tegmental stimulation: involvement of substance P or morphine and by nucleus accumbens amphetamine, *Pharmacol. Exp. Ther.* 285 (1998) 208–215.
- [5] A.A. Calejasean, S.J. Kim, M. Zhuo, Descending facilitatory pathway of a behavioral nociceptive response by stimulation in the rat anterior cingulate cortex, *Eur. J. Pain* 4 (2000) 83–96.
- [6] D.L. Clark, N.N. Boutros, *The Brain and Behavior: An Introduction to Behavioral Neuroanatomy*, 1st Edition, Blackwell Science, USA, 1999.
- [7] A.D. Craig, E.M. Reiman, A. Evans, M.C. Bushnell, Functional imaging of an illusion of pain, *Nature* 384 (1996) 258–260.
- [8] E. Chudler, W. Dong, The role of the basal ganglia in nociception and pain, *Pain* 60 (1995) 3–38.
- [9] S.W. Derbyshire, B.A. Vogt, A.K. Jones, Pain and Stroop interference tasks activate separate processing modules in anterior cingulate cortex, *Exp. Brain Res.* 118 (1998) 52–60.
- [10] O. Devinsky, M.J. Morrell, B.A. Vogt, Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour, *Brain* 118 (Pt 1) (1995) 279–291.
- [11] D. Fletcher, V. Kayser, G. Guilbaud, Influence of timing of administration on the analgesic effect of bupivacaine infiltration in morphine-rageenin-injected rats, *Anesthesiology* 84 (1996) 1129–1137.
- [12] E. Foltz, L. White, Pain 'relief' by frontal cingulotomy, *J. Neurosurg.* 19 (1962) 98–100.
- [13] K.B. Franklin, Analgesia and the neural substrate of morphine, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 13 (1989) 149–154.
- [14] J.M. Fuster, *The Prefrontal Cortex: Anatomy, Physiology, Neuropsychology of the Frontal Lobe*, Lippincott-Raven, Philadelphia, PA, 1997.
- [15] R. Godbout, J. Mantz, S. Pirot, J. Glowinski, A.M. Thierry, Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic neurons on their target cells: electrophysiological and pharmacological characterization, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 258 (1991) 728–738.
- [16] E. Gorea, M.C. Lombard, The possible participation of a dopaminergic system in mutilating behavior in rats with forelimb deafferentation, *Neurosci. Lett.* 48 (1984) 75–80.
- [17] S. Hassenbusch, P. Pillay, G. Barnett, Radiofrequency cingulotomy for intractable cancer pain using stereotaxis guided by magnetic resonance imaging, *Neurosurgery* 27 (1990) 220–223.
- [18] R. Hurt, H.J. Ballantine, Stereotactic anterior cingulate lesion relieves persistent pain: a report of 68 cases, *Clin. Neurosurg.* 21 (1966) 334–351.
- [19] T.M. Jay, J. Glowinski, A.M. Thierry, Inhibition of hippocampal and prefrontal cortex excitatory responses by the mesocortical dopamine system, *Neuroreport* 6 (1995) 1845–1848.
- [20] R.D. Lane, E.M. Reiman, B. Axelrod, L.S. Yun, A. Holmes, R. Schwartz, Neural correlates of levels of emotional awareness: Evidence of an interaction between emotion and attention in the human anterior cingulate cortex, *J. Cogn. Neurosci.* 10 (1998) 525–532.
- [21] M. Le Moal, H. Simon, Mesocorticolimbic dopaminergic neurons: functional and regulatory roles, *Physiol. Rev.* 71 (1991) 155–190.
- [22] M. Levitt, Dysesthesias and self-mutilation in humans and non-human primates: a review of clinical and experimental studies, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 9 (1985) 247–290.
- [23] Q.P. Ma, Y. Zhou, J.S. Han, Electroacupuncture accelerates the expression of c-Fos protooncogene in dopaminergic neurons in the ventral tegmental area of the rat, *Int. J. Neurosci.* 70 (1992) 217–222.
- [24] J. Mantz, C. Milla, J. Glowinski, A.M. Thierry, Differential effects of ascending neurons containing dopamine and noradrenaline on the nucleus accumbens, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 13 (1989) 155–164.

- control of spontaneous activity and of evoked responses in the rat prefrontal cortex, *Neuroscience* 27 (1988) 517–526.
- Mantz, A.M. Thierry, J. Glowinski, Effect of noxious tail pinch on the discharge rate of mesocortical and mesolimbic dopamine neurons: selective activation of the mesocortical system, *Brain Res.* 476 (1989) 377–381.
- Mayer, J. Liebeskind, Pain reduction by focal electrical stimulation of the rat: an anatomical and behavioral analysis, *Brain Res.* 68 (1974) 73–93.
- Mayer, D.D. Price, Central nervous system mechanisms of analgesia, *Pain* 2 (1976) 379–404.
- Melzack, P.D. Wall, *The Challenge of Pain*, Updated 2nd Edition, Penguin books, London, 1996.
- Morgan, K.B. Franklin, 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 Res.* 519 (1990) 144–149.
- Oades, G.M. Halliday, Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity, *Brain Res.* 434 (1987) 157–165.
- Paxinos, C. Watson, *The Rat Brain Stereotaxic Coordinates*, Academic Press, New York, 1982.
- Pellicer, A. Lopez-Avila, E. Torres-Lopez, Electrical stimulation of the cingulum bundle precipitates onset of autotomy induced by inflammation in rat, *Eur. J. Pain* 3 (1999) 287–293.
- Pellicer, E. Torres-López, R. Sotres-Bayón, F. Del-Angel, Lesion and stimulation of the ventral tegmental area modifies pathologic pain process induced by a painful inflammatory process in the rat. 10th World Congress on Pain, Vol. 1 (1999) 276–277.
- [34] S. Pirot, J. Glowinski, A.M. Thierry, Mediodorsal thalamic evoked responses in the rat prefrontal cortex: influence of the mesocortical DA system, *Neuroreport* 7 (1996) 1437–1441.
- [35] P. Rainville, G.H. Duncan, D.D. Price, B. Carrier, M.C. Bushnell, Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex, *Science* 277 (1997) 968–971.
- [36] N.E. Saadé, S.F. Atweh, N.B. Bahuth, S.J. Jabbur, Augmentation of nociceptive reflexes and chronic deafferentation pain by chemical lesions of either dopaminergic terminals or midbrain dopaminergic neurons, *Brain Res.* 751 (1997) 1–12.
- [37] D. Sarkis, J.P. Souteyrand, D. Albe-Fessard, Self-stimulation in the ventral tegmental area suppresses self-mutilation in rats with forelimb deafferentation, *Neurosci. Lett.* 44 (1984) 199–204.
- [38] A.M. Thierry, J.P. Tassin, G. Blanc, J. Glowinski, Selective activation of mesocortical DA system by stress, *Nature* 263 (1976) 242–244.
- [39] A.I. Vaccarino, R. Melzack, The role of the cingulum bundle in self-mutilation following peripheral neurectomy in the rat. *Exp. Neurol.* 111 (1991) 131–134.
- [40] A.L. Vaccarino, R. Melzack, Analgesia produced by injection of lidocaine into the anterior cingulum bundle of the rat. *Pain* 39 (1989) 213–219.
- [41] B.A. Vogt, S. Derbyshire, A.K. Jones, Pain processing in four regions of human cingulate cortex localized with co-registered PET and MR imaging, *Eur. J. Neurosci.* 8 (1996) 1461–1473.
- [42] M. Zimmerman, Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals, *Pain* 16 (1983) 109–110.



Electric stimulation of the cingulum bundle precipitates onset of autotomy induced by inflammation in rat

Francisco Pellicer^a, Alberto López-Avila^{a,b} and Edgar Torres-López^a

^a*Departamento de Neurofisiología, Instituto Mexicano de Psiquiatría, ^bFacultad Mexicana de Medicina, Universidad La Salle, México D.F.*

The purpose of this work was to test if electric stimulation of the cingulum bundle in animals subjected to a hindpaw inflammatory process precipitates the onset and enhances autotomy behaviour. Wistar rats were implanted with bipolar parallel electrodes in the boundary of the cingulum bundle. The inflammatory process was induced in all subjects by injection of carrageenan. The groups were: A, sham; B, implanted and stimulated 10 min daily for 7 days; C, implanted and stimulated 2 h daily, for 7 days. Both groups were injected with CAR 2 days after ending the stimulation period; and D, implanted and stimulated 10 min daily for 5 days, the first stimulation being simultaneous to CAR injection. Results show that 100% of the subjects in stimulated groups presented autotomy as compared with 66% in the sham group. A significant shortening of the onset and increased rates in autotomy were observed in experimental groups (B, C and D) as compared to the sham group. We did not find differences between groups B and C, but there was an increment of autotomy in group D when compared with both B and C groups. We conclude that it is possible to facilitate the onset and to increase the intensity of the autotomy triggered by the inflammatory process with cingulum bundle electrical stimulation. The results also suggest that a fundamental condition to the development of the autotomy in this model is the presence of the noxious inflammatory process.

© 1999 European Federation of Chapters of the International Association for the Study of Pain

KEYWORDS: cingulum, electric stimulation, autotomy, pain, rat, inflammation.

INTRODUCTION

The relationship between the cingulum and the processing of emotions was first established by Papez in the 1930s (Papez, 1937). Since then, many studies have related the cingulum bundle to areas of the limbic system that constitute a circuit which includes the hippocampus, the

mamillary bodies, the anterior thalamic nucleus, and the cingulate cortex (Domesick, 1969, 1970, 1972; Vinogradova, 1975). Some authors have associated limbic structures with cognitive and affective pain processing (Delgado, 1955; Abbott & Melzack, 1978). For more than four decades, the cingulotomy has been used in the treatment of patients with central or intractable pain (Foltz & White, 1962; Hurt & Ballantine, 1974) and patients with cancer who exhibit refractory pain due to pharmacological treatment (Hassenbusch *et al.*, 1990). More recently, evidence from functional image studies has shown that some central nuclei are particularly related to pain perception. These

Paper received 1 December 1998 and accepted in revised form 21 June 1999.

Correspondence to: Francisco Pellicer, Instituto Mexicano de Psiquiatría, Camino a Xochimilco 101, San Lorenzo Hupulco, Tlalpan, México D.F., CP 14370
Fax: +655 99 80;
Email. pellicer@neuroserver.imp-neuro.edu.mx

nuclci involve limbic structures such as the thalamus, insula, prefrontal cortex and anterior cingulate cortex (AC), besides the somatosensory cortices (Jones *et al.*, 1991; Casey *et al.*, 1994; Coghill *et al.*, 1994; Hsieh, 1995). In spite of the fact that all these cerebral areas are activated by nociceptive stimulation, only the AC has been demonstrated to be constantly activated while experiencing pain (Casey *et al.*, 1996; Craig *et al.*, 1996; Andersson *et al.*, 1997). In the same line of evidence, Rainville *et al.* (1997) recently demonstrated a positive correlation between the unpleasant sensation of pain and the intense activation of the AC using PET. These findings strongly suggest a key role of the anterior cingulate cortex in the affective component of the processes related to pain perception.

Several authors have proposed autotomy as a model for abnormal pain states. (see references in Levitt, 1985;Coderre *et al.*, 1986; Albe-Fessard *et al.*, 1990; also see Sweet, 1981 for a controversial point of view). This behavioural alteration is induced by neurectomy (Wall *et al.*, 1979), but also by dorsal root transections (Basbaum, 1974; Lombard *et al.*, 1979) as well as nerve's partial loose constriction (Bennett & Xie, 1988) and with the induction of inflammatory processes by injection of carrageenan into soft tissue (Pellicer & López-Avila, 1996). In this sense, some patients with anatomic or functional avulsion of a nerve plexus develop a self-injury behaviour (Albe-Fessard *et al.*, 1990; Procacci & Maresca, 1990; Mailis, 1996).

It has been reported that lidocaine infiltration into the cingulum bundle significantly reduces the occurrence, diminishes the intensity and delays the onset of autotomy (Vaccarino & Melzack, 1991). This manipulation also produces analgesia in animals during the painful late phase or tonic component of the formalin test (Vaccarino & Melzack, 1992).

In this context, we decided to carry out a series of experiments to test if electrical stimulation of the cingulum bundle simultaneously to an inflammatory painful process accelerates the onset and enhances the rates of autotomy, induced by hindpaw carrageenan injections. Preliminary results were presented elsewhere (Pellicer & López-Avila, 1996).

MATERIALS AND METHODS

This study was carried out in accordance to the regulations of the Ethics Committee of the International Association for the Study of Pain (Zimmermann, 1983), and was approved by the projects commission of the Instituto Mexicano de Psiquiatría.

Male Wistar rats (280–320 g) were stereotaxically implanted with bipolar (cathode and anode) parallel steel electrodes (interpolar distance = 255 μ m) in the boundary of the left anterior cingulum bundle (A: 9.2 mm, L: 1.2 mm, H: 2.3 mm from cortex surface; Paxinos & Watson, 1986). The electrode for stimulation was anchored to the skull with dental acrylic. The surgical procedure was performed under sodium pentobarbital anaesthesia (60 mg/kg). After the surgery, the animals were allowed to recover for 7 days. They were maintained in normal light-dark cycles with *ad libitum* access to water and food.

Groups

The groups were: A ($n=12$) the sham group in which electrodes were implanted, not stimulated and injected with carrageenan (CAR) 4–7 days after the implantation; group B ($n=10$) was stimulated 10 min daily for 7 days and CAR injected 2 days after the last stimulation day; group C ($n=7$) was stimulated 2 h daily for 7 days and CAR injected 2 days after the last stimulation day; group D ($n=14$) was stimulated 10 min daily for 5 days and the CAR injection and first stimulation were done simultaneously.

Inflammation procedure

The inflammatory process was induced by infiltration of carrageenan lambda (250 μ l, at 1% in saline solution, Satia Laboratory, Paris, France), injected subcutaneously in the sole of the right hindpaw, contralateral to the stimulation site. We recorded the inflammatory process daily, by measuring the plantar perimeter, at the metatarsal level, with a thread, to the nearest millimetre (Fletcher *et al.*, 1996).

Stimulation

The stimulation parameters were: square pulses of 0.2 ms at 100 Hz for 1 s every 5 s. The current was adjusted for each animal, with an average of 110 μ A. The amount of current was established, using the appearance of any motor manifestation like twitching, nodding or freezing as a threshold; at this point we diminished the voltage in 10 units. Each animal was stimulated individually, following the same schedule, inside a transparent acrylic arena for behavioural observation.

Categorization of autotomy behaviour

Four categories were established for the analysis of autotomy intensity on the basis of extension and multiplicity of lesions. Grade 1, single lesion of the major longitudinal axis less than 3 mm; grade 2, multiple lesions of the major longitudinal axis less than 3 mm; grade 3, single lesion of the major longitudinal axis larger than 3 mm; grade 4, multiple lesions of the major longitudinal axis larger than 3 mm. We recorded the presence, grade and progression of the lesions daily. The data on the onset of autotomy were obtained only from the animals that presented the autotomy. The autotomy index (AI) was obtained with the average of the autotomy degree by group per day.

Histological control

We used the rapid procedure technique (Sánchez-Alvarez *et al.*, 1988) to verify the electrode implantation site. The animals were anaesthetized (sodium pentobarbital 65 mg/kg), and perfused (i.c.) with physiological saline solution, followed by 10% formaldehyde in physiological saline solution. The brains were allowed to post-fix for 7 days before the beginning of the histological procedure. The rats with the electrodes located outside 0.5 mm radius of the cingulum bundle were eliminated (in group A three animals were excluded, in group B no animal was excluded, in group C there were three, and in group D there were two). Localization of the

stimulation electrodes' tips of the animals included in the results is shown in Figure 1.

Statistical analysis

All data used in parametric tests were transformed to natural logarithms to homogenize variances. Autotomy onset data were analysed by means of a one-way ANOVA, treatment being the independent variable and day of autotomy onset per animal within treatment being the dependent variable. A *post hoc* Tukey test was used to contrast mean day of autotomy onset between treatments. In order to analyse the evolution of autotomy index, a repeated measures ANOVA (treatments being the between-subjects

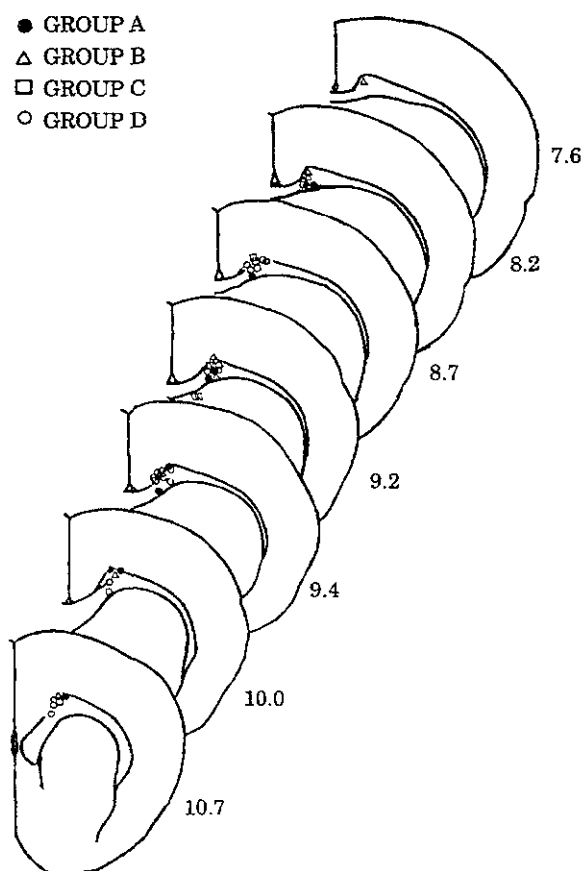


FIG. 1. The reconstruction shows the location of electrode tips in the cingulum bundle for each group. The numbers indicate the level of anteriority with respect to the interaural line of the stereotaxic atlas by Paxinos and Watson (1986).

TABLE 1. Main autotomy characteristics observed in all groups

Groups	n	Onset of autotomy (Days \pm SEM)	Maximum score (AI \pm SEM)	Incidence of autotomy (%)
A	12	2.87 \pm 0.44	1.08 \pm 0.31	66 ^c
B	10	2.22 \pm 0.39	2.80 \pm 0.33	100
C	7	2.57 \pm 0.47	2.67 \pm 0.53	100
D	14	1.21 \pm 0.33 ^a	3.21 \pm 0.26 ^b	100

A, sham group; B, stimulated 10 min daily for 1 week before CAR infiltration; C, stimulated 2 h daily for 1 week before CAR infiltration; D, stimulated 10 min daily for 1 week after CAR infiltration.

The autotomy index (AI) was obtained with the average of the autotomy degree by group per day. Tukey test for onset of autotomy ^a $p = 0.02$ D vs A; ^bStudent-Neuman-Keuls Significant Rank $p < 0.05$ for maximum score D vs A. ^cDifferences between proportions of A vs B, C and D groups were assessed by means of a Z-test ($Z = 2.44$, $p = 0.007$).

effect and days of treatment the within-subjects effect) was run. Differences between treatments \times day were assessed by means of a Student-Neuman-Keuls Least Significant Rank test. Repeated measures ANOVA were also used to assess the inflammatory process. These data were transformed to the percentage of plantar perimeter increment induced by the injection of CAR. Differences in number of subjects showing autotomy per treatment were assessed by means of a Z-test between proportions.

RESULTS

The animals that were stimulated previous to CAR infiltration (groups B and C) did not exhibit autotomy during the stimulation period. However, after the induction of the inflammatory process, all groups presented different degrees of autotomy (Table 1).

The incidence of autotomy in groups B, C and D was 100%. In contrast, in the sham group, 66% (8/12) of the subjects presented this behaviour (Table 1).

As to the onset of autotomy, a significant reduction was found in the group in which the induction of the inflammatory process was simultaneous to electrical stimulation (group D) when compared to the sham group (F -value = 3.711, $p = 0.024$). The values of the onset time obtained are shown in Table 1.

In respect to the autotomy index, the highest values were observed in group D on day 3 (AI = 3.2 \pm 0.26). A significant difference (F -value =

2.683, $p < 0.05$) was found when comparing the intensity of autotomy in D group against that of group A throughout the whole temporal course. The autotomy index of groups B and C was higher than that of the sham group (AI = 1.08 \pm 0.31), but lower than that of group D, neither of these two comparisons were statistically significant. Both groups (B and C) reached their highest autotomy index on day 5 and 6, respectively (B: AI = 2.8 \pm 0.33; C: AI = 2.6 \pm 0.53). There was no statistical difference between groups B and C (Fig. 2). The progress of the inflammatory process was similar for all groups, with the maximum inflammation at 24 h after CAR infiltration (Fig. 3).

DISCUSSION

It has been reported that the infiltration of local anaesthetics in the boundary of the cingulum bundle in rats with peripheral neurectomy interrupts the pain information pathway through this bundle, producing a disruption in the initiation and subsequent maintenance of the neural processes related to autotomy (Vaccarino & Melzack, 1991; Magnusson & Vaccarino, 1996).

The results presented in this study show that it is possible to facilitate and shorten the onset of autotomy as well as to increase the intensity of the autotomy by electrical stimulation of the cingulum bundle simultaneous to the induction of a painful local inflammatory process.

The rationale to stimulate the cingulum bundle with trains (100 Hz, 0.2 ms pulses every 5

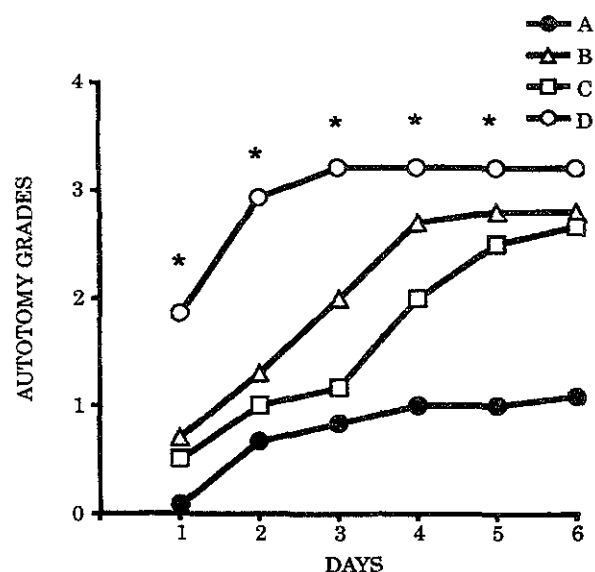


FIG. 2. The graph shows the temporal course of autotomy for each group. The ordinates are the lesions caused by autotomy in grades: Grade 1, single lesion of the major longitudinal axis less than 3 mm; grade 2, multiple lesions of the major longitudinal axis less than 3 mm; grade 3, single lesion of the major longitudinal axis larger than 3 mm; grade 4, multiple lesions of the major longitudinal axis larger than 3 mm. The abscissa is the time. Notice that the highest values of autotomy index are shown by the group D (electrical stimulation simultaneous to the induction of the inflammatory process). The data reveal statistically significant differences between groups D and A. Student-Neuman-Keuls Least Significant Rank test. F -value=2.683 * $p < 0.05$.

was to produce a potentiation of autotomy without a kindling effect (with an interstimulus interval shorter than 20 min the convulsive process is not induced; Goddard *et al.*, 1969).

Stimulating groups B and C during 7 days previous to the induction of inflammation, while the other parameters remained constant, allowed us to clarify that the electrical stimulation of the cingulum bundle *per se* does not induce autotomy. The use of the 10 min scheme (group B) and the 2 h scheme (group C) of electrical stimulation, was to simulate the time course of the early phase of pain and of both early and late phases, respectively (Vaccarino & Melzack, 1989, 1992; Wheeler-Aceto *et al.*, 1990). However, results did not show meaningful differences either in the onset or in the intensity of the behaviour between both stimulation schedules.

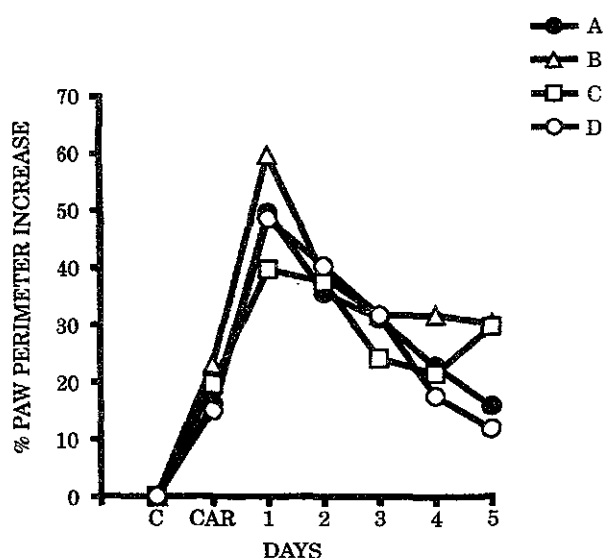


FIG. 3. The graph shows the progress of the inflammatory process produced by infiltration of CAR (250 μ l, at 1%) into the hindpaw, measured as the increment of the paw's perimeter. Note that the maximum inflammation points in all groups are at 24 h after the CAR injection. After this point the process shows a progressive decrease. No statistically significant differences were found in the temporal course between groups.

The autotomy appears after the induction of the inflammatory process. In groups where the electrical stimulation period was previous to the induction of the inflammatory process, the incidence of autotomy increases but the autotomy onset time is not shortened. In group D, in which the inflammatory process was induced simultaneously to electrical stimulation, the autotomy onset is shortened and its intensity increased. Therefore, we suggest that the triggering factor of the autotomy is the presence of a specific painful somatosensorial reference (inflammatory painful process), defined by our group as 'sensorial quality'. This sensorial quality is a fundamental condition for the beginning of autotomy.

We found differences both in the patterns and in the onset time of autotomy, reported by Wall *et al.* (1979) and by Bennett and Xie (1988). The lesions in our animals were predominantly located in the dorsal region of the paw and the plantar pads, as well as in the interdigital segments, while those reported by the aforementioned authors were found principally in the nail

beds and digits, i.e. in the distal portion of the paw. The time of development of autotomy is reduced (1–4 days) with our experimental manipulation in relation to the other studies reporting functional or anatomical denervation (10–37 days). The possible explanation for these differences is that the neurectomy and ligature nerve models induce a process of degeneration in the nerve itself, while in the inflammatory process the integrity of the nerve is preserved, though we do not have ultrastructural data to define the kind of damage that could be present in the nerve.

The inflammatory process produced by CAR infiltration shows its maximum effect at 24 h in all groups (Fig. 3). However, the onset time of the autotomy in the sham group does not coincide with the maximal point of the inflammatory process. Similarly, in the B and C groups, the mean onset time of autotomy showed a 24 h delay in respect to the maximal inflammation point. Finally, in group D, the mean onset of autotomy almost coincides with the maximal inflammation point (Fig. 3). Altogether, these facts suggest that the autotomy is the result of plastic central changes, which take some time to become manifest. These changes appear to involve supraspinal structures, connected by the cingulum bundle, and to be susceptible of being modified by the application of electrical stimulation, as shown in the present study, or by the infiltration of local anaesthetics into the cingulum (Vaccarino & Melzack, 1989, 1991). Also, it has been reported (Fuchs *et al.* 1996) that electrical stimulation of the cingulum bundle or surrounding cortical tissue produces analgesia in the formalin test. These results seem to be contradictory in relation to functional blockage by lidocaine infiltration in the same anatomical area; procedure which reduces both pain in a formalin test and autotomy behaviour following peripheral neurectomy.

Peripheral nerve stimulation (Seltzer *et al.*, 1991) and infiltration of a local anaesthetic into the limb (González-Darder *et al.*, 1986) induce modifications in both onset and intensity of autotomy, but in opposite directions. These changes were in the same sense as those resulting from the stimulation or functional interruption

of the cingulum (Vaccarino & Melzack, 1989). Apparently, the reiterated or diminished activation of the peripheral afferents also interfere with the central plastic phenomenon, with the consequent switching to autotomy.

Recent findings, including those of functional image studies (Jones *et al.*, 1991; Casey *et al.*, 1994; Coghill *et al.*, 1994; Hsieh, 1995), highlight the activation of the anterior cingulate cortex in central pain processing. Our results show the importance of anterior cingulum bundle activation in the triggering of pathological pain syndromes, some of which are expressed as autotomy. Despite this evidence, more experimental studies are certainly necessary to identify this particular mechanism.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was partially supported by CONACyT grant number 28696M and IMP grant 3230 to FP. ET-L Scholarship supported by the CONACyT, and DGEP, UNAM. AL-A. Medical social service in research, Secretaría de Salud, México-IMP. We thank Gabriela Rodríguez-Manzo for her valuable suggestions, Mr Rosendo del Angel for technical assistance, and Mr Raúl Cardoso for the illustrations.

REFERENCES

- Abott FV, Melzack R. Analgesia produced by stimulation of limbic structures and its relation to epileptiform discharges. *Exp Neurol* 1978; **62**: 720–734.
- Albe-Fessard D, Giamberardino MA, Rampin O. Comparison of different animal models of chronic pain. In: Lipton S, Tunks E, Zoppi M, editors. *Advances in pain research and therapy*. New York: Raven Press, 1990: 11–27.
- Andersson JL, Lilja A, Hartvig P, Langström B, Gordh T, Handwerker H, Torebjörk E. Somatotopic organization along the central sulcus, for pain localization in humans, as revealed by positron emission tomography. *Exp Brain Res* 1997; **117**: 192–199.
- Basbaum AI. Effects of central lesions on disorders produced by multiple dorsal rhizotomy in rats. *Exp Neurol* 1974; **42**: 490–501.
- Bennett GJ, Xie Y-K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; **33**: 87–107.
- Casey KL, Minoshima S, Berger KL, Koeppe RA, Morrow TJ, Frey KA. Positron emission tomography analysis of cerebral structures activated specifically by repetitive noxious heat stimuli. *J Neurophysiol* 1994; **71**: 802–807.

- Casey KL, Minoshima S, Morrow TJ, Koeppe RA. Comparison of human cerebral activation pattern during cutaneous warmth, heat pain, and deep cold pain. *J Neurophysiol* 1996; **64**:3: 485-491.
- Coderre TJ, Grimes RW, Melzack R. Deafferentation and chronic pain in animals: an evaluation of evidence suggesting autotomy is related to pain. *Pain* 1986; **26**: 61-84.
- Coghill RC, Talbot JD, Evans AC, Meyer E, Gjedde A, Bushnell MC, Duncan GH. Distributed processing of pain and vibration by the human brain. *J Neurosci* 1994; **14**: 4095-4108.
- Craig AD, Reiman EM, Evans A, Bushnell MC. Functional imaging of an illusion of pain. *Nature* 1996; **384**: 258-260.
- Delgado JMR. Cerebral structures involved in transmission and elaboration of noxious stimulation. *J Neurosurg* 1955; **18**: 261-275.
- Domesick VB. Projections from the cingulate cortex in the rat. *Brain Res* 1969; **12**: 293-320.
- Domesick VB. The fasciculus cinguli in the rat. *Brain Res* 1970; **20**: 19-32.
- Domesick VB. Thalamic relationships of the medial cortex in the rat. *Brain Behav Evol* 1972; **6**: 457-483.
- Fletcher D, Kayser V, Guilbaud G. Influence of timing of administration on the analgesic effect of bupivacaine infiltration in carrageenin-injected rats. *Anesthesiology* 1996; **84**: 1129-1137.
- Foltz EL, White LE. Pain "relief" by frontal cingulotomy. *J Neurosurg* 1962; **19**: 98-100.
- Fuchs PN, Balinsky M, Melzack R. Electrical stimulation of the cingulum bundle and surrounding cortical tissue reduces formalin-test pain in the rat. *Brain Res* 1996; **743**: 116-123.
- Goddard GV, McIntyre DC, Leech CK. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol* 1969; **25**: 295-330.
- González-Darder JM, Barberá J, Abellán MJ. Effects of prior anaesthesia on autotomy following sciatic transection in rats. *Pain* 1986; **24**: 87-89.
- Hassenbusch SJ, Pillay PK, Barnett GH. Radiofrequency cingulotomy for intractable cancer pain using stereotaxis guided by magnetic resonance imaging. *Neurosurgery* 1990; **27**: 220-223.
- Hsieh JC, Belfrage M, Stone Elander S, Hansson P, Ingvar M. Central representation of chronic ongoing neuropathic pain studied by positron emission tomography. *Pain* 1995; **63**: 225-236.
- Hurt RW, Ballantine HT. Stereotactic anterior cingulate lesions for persistent pain: a report on 68 cases. *Clin Neurosurg* 1974; **21**: 334-351.
- Jones AK, Brown WD, Friston KJ, Qi LY, Frackowiak RS. Cortical and subcortical localization of response to pain in man using positron emission tomography. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1991; **244**: 39-44.
- Levitt M. Dysesthesias and self-mutilation in humans and subhumans: a review of clinical and experimental studies. *Brain Res Rev* 1985; **10**: 247-290.
- Lombard MC, Nashold BS Jr, Albe-Fessard D, Salman N, Sakr C. Deafferentation hypersensitivity in the rat after dorsal rhizotomy: a possible animal model of chronic pain. *Pain* 1979; **6**: 163-174.
- Magnusson JE, Vaccarino AL. Reduction of autotomy following peripheral neurectomy by a single injection of bupivacaine into the cingulum bundle of rats. *Brain Res* 1996; **723**: 214-217.
- Mailis A. Compulsive targeted self-injurious behaviour in humans with neuropathic pain: a counterpart of animal autotomy? Four case reports and literature review. *Pain* 1996; **64**: 569-578.
- Papez JW. A proposed mechanism of emotion. *Arch Neurol Psychiat* 1937; **38**: 725-743.
- Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York: Academic Press, 1986.
- Pellicer F, López-Avila A. The electric stimulation of the cingulum bundle anticipates the onset of autotomy induced by the chronic inflammation in rat. *Soc Neurosci Abs* 1996; **22**: 54.1.
- Procacci P, Maresca M. Autotomy. *Pain* 1990; **43**: 394.
- Rainville P, Duncan GH, Price DD, Carrier B, Bushnell MC. Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex. *Science* 1997; **277**: 968-971.
- Sánchez-Alvarez M, León-Olea M, Condés-Lara M, Briones M, Fernández-Guardiola A. Localization of the microelectrode tip combining a rapid procedure method and marking with pontamine sky blue. *Bol Estud Med Biol (Mex)* 1988; **36**: 55-59.
- Seltzer Z, Beilin B, Ginzburg R, Paran Y, Shimko T. The role of injury discharge in the induction of neuropathic pain behavior in rats. *Pain* 1991; **46**: 327-336.
- Sweet W. Animal models of chronic pain: their possible validation from human experience with posterior rhizotomy and congenital analgesia (Part I of The Second John J. Bonica Lecture). *Pain* 1981; **10**: 275-329.
- Vaccarino AL, Melzack R. Analgesia produced by injection of lidocaine into the anterior cingulum bundle of the rat. *Pain* 1989; **39**: 213-219.
- Vaccarino AL, Melzack R. The role of the cingulum bundle in self-mutilation following peripheral neurectomy in the rat. *Exp Neurol* 1991; **111**: 131-134.
- Vaccarino AL, Melzack R. Temporal processes of formalin pain: differential role of the cingulum bundle, fornix pathway and medial bulboreticular formation. *Pain* 1992; **49**: 257-271.
- Vinogradova OS. Functional organization of the limbic system the process of registration of information: facts and hypothesis. In: Isaacson RL, Pribram KH, editors. *Hippocampus* Vol. 2. New York: Plenum Press, 1975: 3-69.
- Wall PD, Scadding JW, Tomkiewicz MM. The production and prevention of experimental anaesthesia dolorosa. *Pain* 1979; **6**: 175-185.
- Wheeler-Aceto H, Porreca F, Cowan A. The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. *Pain* 1990; **40**: 229-238.
- Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983; **16**: 109-110.