

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



EFFECTOS DE LA OXITOCINA SOBRE RESPUESTAS A LA ESTIMULACIÓN  
TEMPRANA

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA

Q.A. YURITZIA MIRANDA CÁRDENAS

CAMPUS JURQUILLA, QUERÉTARO, ABRIL 2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por: Yuritzia Miranda Cárdenas, cuyo título es: “Efectos de la oxitocina sobre las respuestas a la estimulación somática” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Jurado de examen

Presidenta	Dra. Ma. Magdalena Giordano Noyola	_____
Secretario (Tutor)	Dr. Miguel Condés Lara	_____
Vocal	Dr. Francisco Pellicer Graham	_____
Suplente	Dr. José Jesús García Colunga	_____
Suplente	Dr. Francisco López Muñoz	_____

Aprobado por el Comité Académico

\_\_\_\_\_  
Coordinador del Programa

La alegría de ver y entender,  
es el más perfecto don de la naturaleza.

Albert Einstein

## AGRADECIMIENTOS

A los integrantes del laboratorio de “Dolor y epilepsia experimental”: Dr. Miguel Condés Lara (tutor), Dra. Guadalupe Martínez Lorenzana, Dr. Gerardo Rojas Piloni y M.V.Z. Javier Rodríguez Jiménez , por su apoyo en la elaboración de este proyecto.

A los integrantes de mi comité tutorial: Dr. Miguel Condés, Dra. Magdalena Giordano y al Dr. León Cintra por sus comentarios y sugerencias durante el desarrollo de este trabajo.

Al apoyo brindado por los bibliotecarios Pilar Galarza Barrios y Rafael Silva Cruz, durante mi estancia en la maestría.

A la responsable del área de Enseñanza: Leonor Casanova Rico.

Al encargado del bioterio del Instituto de Neurobiología: M.V.Z. Martín García Servín.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) Becario No:  
184907

A la Dirección General de Estudios de Posgrado de la UNAM (DGEP)  
Becario No: 9424133-8

## DEDICATORIA

A ti mamá, por todo tu amor y toda tu comprensión, porque siempre has estado a mi lado, y porque más que mi madre, eres mi mejor amiga, te amo.

A mi hermano, porque aunque a veces no sé cómo expresarlo, te quiero mucho.

A mi abuelita de los angelitos, porque es una mujer admirable y llena de ternura, y porque en gran parte, lo que soy es gracias a ella.

A todos mis tíos, en especial a mi tío Ale, que es una de las personas que más admiro, y a mi tía Lety que siempre ha estado ahí, cuando la he necesitado.

A mis primos y a mi sobrino, en especial a Victor y a Nihaib, por todos los lindos momentos que hemos compartido.

A mis amigos de la Facultad de Química de la UNAM, Esmeralda, Carlos y Moisés, porque pese a que hace más de dos años casi no nos vemos, siempre hemos seguido en contacto por correo y siempre me han dado ánimos.

A mis compañeros y amigos en la maestría como: Marina, Mónica e Yvonne, en particular a ésta última, porque aunque al principio tuvimos algunas diferencias, hoy es una de mis grandes amigas.

Toda ciencia viene del dolor.  
El dolor busca siempre la causa de las cosas,  
mientras que el bienestar se inclina a estar quieto y  
a no volver la mirada atrás.

Stefan Zweig.



## ÍNDICE

I. <i>Introducción</i> .....	6
II. <i>Antecedentes</i>	
2.1 Dolor y nocicepción.....	8
2.2 Conducción del dolor.....	9
2.3 Clasificación del dolor.....	11
2.4 Nociceptores.....	13
2.5 Umbrales al dolor.....	14
2.6 Vías ascendentes de transmisión nociceptiva.....	15
2.7 Modulación de la transmisión nociceptiva.....	17
2.8 Sensibilización central.....	22
2.9 Neurotransmisores.....	23
2.10 Oxitocina.....	24
2.11 Mecanismo de acción de la oxitocina.....	25
2.12 Neuropatía producida por la ligadura del nervio ciático.....	27
2.13 Neuropatías del nervio ciático en el hombre.....	27
III. <i>Objetivos</i>	
Objetivo general.....	29
Objetivos particulares.....	29
IV. <i>Hipótesis</i> .....	29
V. <i>Estrategia experimental</i>	
Efectos de la oxitocina exógena.....	30
a) Mononeuropatía.....	31
b) Valoración conductual.....	32
c) Cánula intratecal.....	34
Efectos de la oxitocina endógena.....	35
d) Estimulación eléctrica del núcleo paraventricular.....	36
e) Pruebas de coordinación motora.....	37
f) Inspección visual de la ubicación de la punta de la cánula intratecal.....	38
g) Localización del electrodo de estimulación.....	39
VI. <i>Resultados</i> .....	39
VII. <i>Discusión</i> .....	55
VIII. <i>Conclusiones</i> .....	62

IX. *Bibliografia*.....64

## RESUMEN

En años recientes, la oxitocina ha estado implicada en una amplia diversidad de funciones. El papel de la oxitocina en la analgesia y en la modulación del dolor representa una nueva función importante en el sistema endógeno que controla la información sensorial. El núcleo paraventricular del hipotálamo es una de las más importantes fuentes de oxitocina y tiene una proyección bien definida a la médula espinal. La terminación de esta proyección núcleo paraventricular-médula espinal se correlaciona con los sitios de unión de oxitocina localizados en el asta dorsal de la médula espinal. En este trabajo, se utilizaron ratas con una ligadura crónica (46 días) del nervio ciático, un electrodo de estimulación eléctrica y una cánula intratecal, la cual llegó hasta los niveles L4-L5 de la médula espinal. Se comparó el efecto de la oxitocina con la estimulación eléctrica del núcleo paraventricular y el efecto de la oxitocina administrada intratecalmente, y se observó una disminución significativa en la respuesta de retirada ante estimulación térmica y mecánica aplicada en las patas ipsilaterales y contralaterales posteriores. Un antagonista de la oxitocina administrado intratecalmente bloqueó los efectos del núcleo paraventricular. También se inyectó naloxona intratecalmente, 2 minutos antes de la estimulación del núcleo paraventricular, y se observó una disminución significativa en las respuestas de retirada. Estos resultados apoyan la hipótesis de que la oxitocina es parte de un mecanismo de control descendente inhibitorio, que tiene una importante acción nociceptiva.

## I. INTRODUCCIÓN

El dolor es un fenómeno complejo, subjetivo y perceptivo, influenciado por factores sociales, emocionales, psicológicos y fisiológicos. Forma parte de los mecanismos de alerta y alarma dentro de los organismos ya que es esencial para el mantenimiento y la preservación de los mismos.

Los estímulos dolorosos son captados por un tipo especial de receptores llamados nociceptores (Bessou y Perl, 1969) que se encuentran intervando prácticamente todo el cuerpo. Una vez captado el estímulo, este ingresa a través de los nervios periféricos hasta las láminas I, IV y V de la sustancia gris de las astas dorsales de la médula espinal, la cual es un sitio fundamental para entender el proceso de codificación e integración de la percepción del dolor. A su vez, la estimulación nociceptiva activa vías descendentes que forman parte de los mecanismos que controlan la transmisión de los estímulos dolorosos (Basbaum y Fields, 1984). Una parte esencial de este sistema descendente es el área gris periacueductual del mesencéfalo, el núcleo magno del rafe y el locus coeruleus. En estas vías descendentes intervienen diversos neurotransmisores tales como los péptidos opioides cuyo efecto antinociceptivo ha sido ampliamente documentado por Shuang-Quan y col., (2003). Además de los péptidos opioides, la noradrenalina, serotonina, encefalinas, sustancia P y otras sustancias neurotransmisoras, se encuentran relacionadas con los mecanismos del dolor y la analgesia. Lo anterior refleja un mecanismo homeostático funcional del organismo.

El grupo de trabajo donde se realizó este proyecto tiene resultados en los que se observa que la oxitocina (OT) participa en los mecanismos implicados en la analgesia (Condés-Lara y col., 1994; Rojas-Piloni y col., 2005). Estos resultados se correlacionan con otros de la literatura en los que se muestra que este neuropéptido está involucrado en los procesos de antinocicepción. Así por ejemplo, Shuang-Quan y col. (2003) demostraron que las inyecciones intratecales de OT, en ratas con un dolor causado por inflamación, son capaces de producir

efectos antinociceptivos dependiendo de la dosis administrada, por su parte, Arletti y col. (1993) mostraron evidencia de que las inyecciones intracerebroventriculares (i.c.v) de OT, son capaces de disminuir la nocicepción en la prueba del “hot plate”. Por otro lado, estudios electrofisiológicos han demostrado que la OT, además de su actividad hormonal, ejerce un potente efecto neuromodulador sobre las neuronas de la médula espinal, por ejemplo, es capaz de aumentar la excitabilidad neuronal mediante la regulación de la actividad de los canales iónicos membranales (Raggenbass, 2001). Otras evidencias electrofisiológicas demuestran que la aplicación tópica de OT en neuronas de la médula espinal, es capaz de suprimir la actividad de fibras C producida por estimulación periférica. También bloquea los incrementos de actividad producidos por la aplicación tópica de glutamato (Condés-Lara y col., 2003).

El interés de este trabajo estuvo basado en evaluar la acción que tiene la OT exógena (vía intratecal) y OT endógena (por estimulación eléctrica del núcleo paraventricular (PVN) del hipotálamo) sobre las respuestas conductuales al dolor. Para ello se trabajó con cuatro grupos de ratas macho. Un grupo control, un grupo sham o falso operado del nervio ciático, un grupo experimental OT exógena y un grupo experimental OT endógena. El grupo experimental OT exógena, estuvo conformado por animales que fueron sometidos a un modelo de dolor neuropático, producido por la técnica de la ligadura floja del nervio ciático descrito por Bennett y Xie (1988) con una posterior intervención quirúrgica para la implantación de una cánula intratecal a nivel del ensachamiento lumbo-sacro. En el estudio conductual se valoró la respuesta observada ante la presencia de estímulos térmicos y mecánicos (contacto con acetona en la parte dorsal de las patas posteriores y estimulación en la superficie plantar de las patas posteriores con tres diferentes filamentos de von Frey, respectivamente). Para evaluar los efectos de la OT endógena, se trabajó con un grupo de ratas, el cual además de ser sometido a la ligadura floja del nervio ciático y a la cánula intratecal, se le implantó un electrodo en el PVN del hipotálamo, el cual permitió valorar las respuestas en mediciones

control y mediciones con inyecciones intratecales de OT o, mediciones bajo el efecto de la estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo.

Una vez finalizado el estudio conductual, los animales del grupo experimental OT endógena fueron anestesiados profundamente y sacrificados para extraer el encéfalo con el fin de conocer con precisión la ubicación del electrodo, y correlacionar la localización del sitio de estimulación con los resultados observados. En el caso del grupo OT exógena, al finalizar el estudio conductual, los animales fueron profundamente anestesiados para verificar visualmente la posición de la punta de la cánula.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 DOLOR Y NOCICEPCIÓN

El dolor es una experiencia subjetiva, difícil de definir ya que involucra además de la transducción de un estímulo nocivo, el procesamiento cognitivo y emocional que forman parte de una experiencia neuronal. El dolor que se produce tras una lesión tisular tiene un papel protector que alerta al organismo respecto al daño, sin embargo el dolor crónico representa en sí mismo un problema y es considerado como una enfermedad (Penzo, 1989). La Asociación Internacional para el estudio del Dolor, lo define como “una experiencia emocional y sensorial desagradable asociada con un daño tisular potencial o real, o descrita en términos de este daño”. (International Association for Study of Pain, 1986)

En contraste, la definición de dolor en los animales se puede expresar como: “Una experiencia sensorial aversiva causada por un daño que provoca una reacción motora y vegetativa para evitarlo” (León-Olea, 2002). Con base en esta definición, se entiende que el dolor en los animales se puede inferir por la respuesta motora que provoca un comportamiento característico, si bien este patrón conductual es semejante en la mayoría de los animales, dependerá de la evolución del sistema nervioso de cada especie la expresión de comportamientos más complejos. La habilidad para responder a los estímulos nocivos es una característica básica de todos los animales dentro de la escala filogenética. Esta capacidad para detectar y reaccionar a los estímulos que comprometan su integridad se puede incluir en el término nocicepción. La nocicepción entonces, es la *sensación* generada por el proceso de reconocimiento de señales sensoriales específicas en el sistema nervioso central (SNC), mientras que el dolor, en cambio, es la *percepción* de una sensación desagradable que se origina en una parte del cuerpo (Jesell y Kelly, 1991).

## 2.2 CONDUCCIÓN DEL DOLOR

En los mamíferos los órganos sensoriales encargados de la detección de los estímulos dolorosos, son las terminaciones nerviosas libres que se encuentran casi en cualquier tejido del cuerpo (Bessou y Perl, 1969).

Los estímulos dolorosos se transmiten al SNC mediante dos sistemas de fibras. Uno está formado por pequeñas fibras mielinizadas  $A\delta$ , que miden de 2 a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro y que conducen a una velocidad de 5 a 30 m/seg, estas fibras al ser activadas son las responsables del dolor agudo. El otro sistema consiste en fibras no mielinizadas llamadas fibras C, con un diámetro de 0.4 a 1.2  $\mu\text{m}$  y con una velocidad de conducción de 0.5 a 2 m/seg, son las responsables del dolor crónico cuando se activan (Perl, 1992; Campbell y LaMotte, 1983). Ambos sistemas de fibras terminan en neuronas de segundo orden en el asta dorsal de la médula espinal. Las fibras  $A\delta$  llegan a la capa marginal de la médula espinal así como a la lámina V, aunque a esta última llega un menor número de fibras. Por su parte las fibras C, al igual que un grupo reducido de fibras  $A\delta$ , hacen sinapsis en la sustancia gelatinosa (ver figura 1). Ambos sistemas de fibras entran por las partes más laterales de las raíces dorsales. Se ramifican en forma longitudinal en 2 o 3 segmentos medulares, siguiendo el tracto de Lissauer, para luego hacer sinapsis en la zona marginal, en la sustancia gelatinosa y en la lámina V (Paille, 1990; Bonica, 1990; Fields, y Martin, 2001).



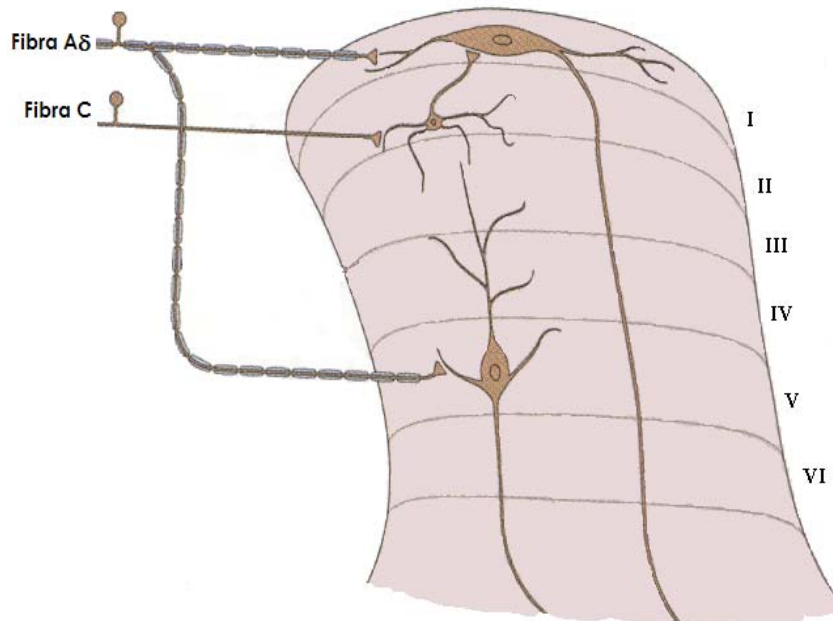


Figura 1 **Ingreso de las fibras nociceptivas a la médula espinal.** Las neuronas de proyección de la lámina I reciben estímulos de las fibras A $\delta$  así como de las fibras C (estas últimas por medio de interneuronas localizadas en la lámina II). Un grupo diferente de fibras A $\delta$  tienen proyección a láminas más profundas del asta dorsal de la médula espinal, como es el caso de la lámina V. (Modificación a la adaptación de Fields, 1987)

Las neuronas espinales que reciben información nociceptiva se clasifican en dos tipos (William y Spiegel, 1983; Sosnowski y col., 1992):

- 1) Neuronas nociceptivas específicas (NE): responden de manera casi exclusiva a estímulos nociceptivos; se encuentran principalmente en las láminas I y II, aunque también se localizan en menor proporción en las láminas IV y V.
- 2) Neuronas de amplio rango dinámico (WDR): se concentran principalmente en las láminas V y VI, y en menor proporción en las láminas I, II y IV. Reciben aferencias de diversa naturaleza como: fibras A $\alpha$  y A $\beta$  que conducen sensibilidad táctil y fibras A $\delta$  y fibras C, responsables de conducir

estímulos nociceptivos. El rasgo característico es que aumentan su frecuencia de descarga en proporción a la intensidad de un estímulo dado.

Una gran proporción de las neuronas nociceptivas medulares, envían sus axones a centros supraespinales, bulbares y talámicos, donde la información se procesa para percibirse como dolor (Wilson y Lamer, 1995).

### 2.3 CLASIFICACION DEL DOLOR

En esta sección se mencionarán algunas de las clasificaciones más utilizadas para referirse a los distintos tipos de dolor.

Con base en su mecanismo fisiopatológico, el dolor puede dividirse en dos grupos:

- Somático
- Neuropático

El dolor somático es aquel que se manifiesta cuando un estímulo potencialmente dañino para la integridad física excita los receptores nociceptivos. Estrictamente, debiera incluir el dolor originado en cualquier parte del cuerpo que no sean nervios periféricos o centrales; sin embargo, frecuentemente se habla de dolor somático cuando los receptores están en la piel, músculos o articulaciones, y se habla de dolor visceral cuando los receptores activados por el estímulo se localizan en una víscera (Cervero y Laird, 1999). El dolor somático por lo general es bien localizado. El dolor visceral, en cambio, es menos localizado y puede ser referido a un área cutánea que tenga la misma inervación (Dagnino, 1994).

El dolor neuropático es el que resulta de lesiones o alteraciones crónicas en vías nerviosas periféricas o centrales. A pesar de que el encéfalo no está inervado por nociceptores, las meninges que lo rodean y que rodean a la médula espinal así como el epineuro que cubre los nervios periféricos, están inervados por fibras C,

de esta forma una lesión en el SNC o periférico, puede provocar dolor. Por esta razón, este tipo de dolor puede desarrollarse y persistir en ausencia de un estímulo nocivo evidente (Torregosa, 1994).

Los síntomas que se manifiestan con este tipo de dolor pueden ser focales o generalizados. Característicamente, el síntoma se presenta como una sensación basal dolorosa o quemante (disestesia) con una respuesta exagerada ante un estímulo doloroso (hiperalgesia) o con la percepción de un estímulo cualquiera como doloroso (alodinia). Estos términos se agrupan en el de hiperpatía y son característicos de una hipersensibilidad alterada (Torregrosa, 1994; Dagnino, 1994).

Otra clasificación del dolor, se basa en el tiempo de su duración, de esta forma existe:

- Dolor agudo
- Dolor crónico

El dolor agudo es la consecuencia inmediata de la activación de los nociceptores, generalmente ocasionada por un daño tisular somático o visceral, el cual habitualmente desaparece con la lesión que lo originó (Bonica y Procacci, 1990).

Cuando un dolor supera el mes de prevalencia, nos referimos a él como dolor crónico, generalmente este tipo de dolor no es constante, sino que presenta picos y remisiones además, este dolor se caracteriza porque puede persistir aún en ausencia de la lesión (Dagnino, 1994).

Ambos tipos de dolor, varían en su intensidad poniendo en evidencia la acción de mecanismos endógenos que tienden a suprimir o disminuir la sensación de dolor.

## 2.4 NOCICEPTORES

La mayor parte de los órganos y sistemas del cuerpo están inervados por un grupo especial de receptores sensoriales denominados nociceptores. Los nociceptores son las terminaciones periféricas de las neuronas sensoriales primarias, cuyos cuerpos celulares se encuentran en los ganglios de las raíces dorsales y del trigémino. La característica esencial de un nociceptor es que solo responde ante estímulos nocivos (Mense, 1993). Otra de sus características es aumentar progresivamente su respuesta ante un estímulo repetitivo, fenómeno llamado sensibilización.

En función de su localización los nociceptores se clasifican en:

- Cutáneos
- Musculares
- Articulares
- Viscerales

Mientras que en función de sus características, se distinguen cuatro grupos:

- Térmicos
- Mecánicos
- Polimodales
- Silentes

En general, las fibras C forman parte de los receptores térmicos activados por temperaturas extremas ( $>45^{\circ}\text{C}$  o  $<5^{\circ}\text{C}$ ) mecanorreceptores de bajo umbral y receptores a sustancias algogénicas tales como los iones hidrógeno, las prostaglandinas y la sustancia P. Este tipo de fibras C se catalogan como receptores polimodales (Burgess y Perl, 1967). Por otro lado, existe una clase de receptores que no responden a la estimulación mecánica nociva a menos que

exista un proceso inflamatorio, estos se conocen como nociceptores silentes (Willis y Westlund, 1997).

Las fibras A $\delta$  se clasifican en dos grupos: Tipo I y Tipo II. Las primeras corresponden a fibras de alto umbral que responden principalmente a estimulación mecánica dentro del rango de estimulación nociva, mientras que responden débilmente a la estimulación térmica o química (Handwerker y Kopal, 1993; Meyer y col., 1994; Simone y Kajander, 1997; Treede y Magerl, 1995). Las fibras A $\delta$  de Tipo II son mecanotérmicas, principalmente se activan en presencia de estímulos térmicos aunque también responden débilmente a estímulos mecánicos (Beydoun y col., 1996).

## 2.5 UMBRALES AL DOLOR

A causa de las marcadas diferencias individuales en la experiencia del dolor, resulta difícil establecer un índice general en cuanto a la cantidad o intensidad necesaria de un estímulo para producir una respuesta dolorosa, así como para evaluar conductualmente la sensibilidad diferencial de las respuestas. Esta dificultad radica en el hecho de que estímulos muy diferentes pueden provocar dolor y no necesariamente producirlo con la misma intensidad.

Los umbrales al dolor no solamente pueden ser afectados por la magnitud de la estimulación dolorosa, sino por la manera en que se distribuye esa estimulación. Messing y Campbell (1971) demostraron con ratas que cuando se dividía un choque eléctrico en dos sitios o puntos anatómicos distintos muy separados (el cuello y la cola) la reacción para evitarlo era menor que cuando se aplicaba el mismo choque eléctrico en una región anatómica única (el cuello o la cola) es decir, con estímulos aplicados en un sitio único, el dolor resultante es mayor que cuando se aplican la misma intensidad repartida en choques a lugares anatómicos separados.

Así mismo existen factores subjetivos que también afectan la percepción del dolor tales como la sugestibilidad, la actitud, la atención, la distracción y la ansiedad. Estas variables motivacionales tienen profundos efectos sobre la percepción del dolor (Melzack y Wall, 1965; Melzack, y Casey, 1968; Fernández y Turk, 1992).

## 2.6 VÍAS ASCENDENTES DE TRANSMISIÓN NOCICEPTIVA

Una gran proporción de las neuronas nociceptivas a nivel de la médula espinal envía sus axones a centros supraespinales, bulbares y talámicos, siendo los más importantes el complejo medular reticular, el complejo reticular mesencefálico, la sustancia gris periacueductal y el núcleo ventroposterolateral del tálamo. La mayor parte de esta información nociceptiva se transmite por vías cruzadas ascendentes, situadas en la región anterolateral de la médula espinal, aunque existen fibras que ascienden ipsilateralmente.

Las vías ascendentes de transmisión de la sensibilidad más estudiadas son cinco:

- Espinotalámica
- Espinorreticular
- Espinomesencefálica
- Cervicotalámica
- Espinohipotalámica

La vía principal es la espinotalámica lateral, que comprende los axones de las neuronas específicas de la nocicepción y de las láminas I y V-VII del asta posterior. Su activación tiene lugar en la zona de entrada de las raíces de la médula espinal, para subir o bajar de uno a tres segmentos por el tracto de Lissauer, antes de encontrar a la neurona de segundo orden cuyo axón cruza la línea media en la médula, para ascender y llegar al núcleo ventral posterolateral del tálamo o al núcleo ventral caudal externo con un arreglo somatotópico (ver figura 2).

La estimulación eléctrica de esta vía provoca dolor, mientras que las lesiones de ésta inducen considerables reducciones de la sensibilidad dolorosa en el lado opuesto al de la lesión medular.

En la segunda vía, los axones de las neuronas nociceptivas en las láminas VII y VIII del asta posterior de la médula espinal forman el tracto espinorreticular, el cual asciende en el cuadrante anteroexterno de la médula espinal. En contraste con la vía espinotalámica, en el cual todas las fibras cruzan la línea media, en este caso, algunas fibras tienen proyecciones no cruzadas para terminar en ambas formaciones reticulares, y el tálamo, concretamente en el núcleo ventral caudal externo y núcleos intralaminares (ver figura 2)

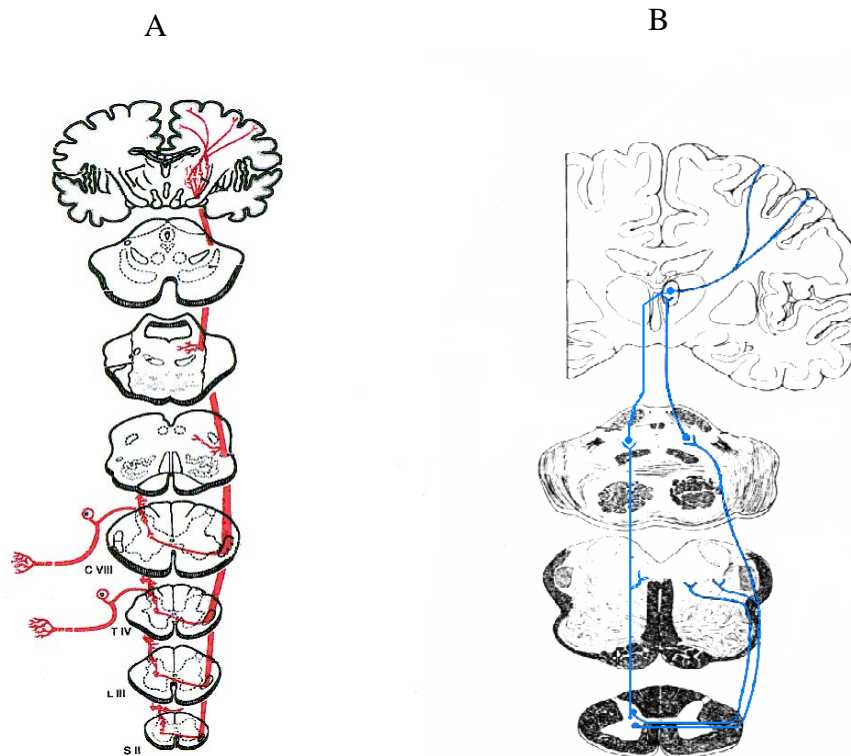


Figura 2 **Esquemización de las dos principales vías ascendentes de la transmisión nociceptiva.** En el extremo izquierdo se muestra la vía espinotalámica lateral mientras que en el extremo derecho la vía espinorreticular (Modificado de (A) Carpenter, 1994 y (B) Willis 1985).

La vía espinomesencefálica comprende los axones de las neuronas de las láminas I y V, que se proyectan al cuadrante anteroexterno de la médula espinal hasta la formación reticular del mesencéfalo y la sustancia gris periacueductal, y por la vía espinoparabraquial que llega al núcleo de la amígdala, que es un componente del sistema límbico (sistema nervioso implicado en las emociones). Por eso se piensa, que esta vía posiblemente contribuye al componente afectivo del dolor.

La vía cervicotalámica surge de las neuronas del núcleo cervical externo. Este núcleo recibe señales de las neuronas nociceptivas de las láminas III y IV. La mayoría de los axones de esta vía cruzan la línea media y ascienden por el lemnisco medio a los núcleos del mesencéfalo.

La vía espinohipotálamica comprende los axones de las neuronas de las láminas I, V y VIII. Se dirige directamente a los centros de control autónomo supraespinal, y se piensa que activan respuestas neuroendocrinas y cardiovasculares complejas (Carpenter, 1994).

## 2.7 MODULACIÓN DE LA TRANSMISIÓN NOCICEPTIVA

Una vez que los estímulos nociceptivos son conducidos a través de las fibras A $\delta$  y de las fibras C hasta las neuronas de proyección (NP) localizadas en las astas dorsales de la médula espinal, se activa una serie de mecanismos encargados de ejercer una regulación para que el organismo encuentre un estado homeostático. Este mecanismo comprende las vías descendentes (VD) extra segmentarias las cuales, mediante acciones directas o través de interneuronas (IN) pueden actuar sobre las NP. De esta forma también se activan las motoneuronas (MN) localizadas en las astas ventrales de la médula espinal las cuales generan una respuesta motora de evitación. A través de las neuronas preganglionares (PreG) simpáticas se generan las respuestas simpáticas características que suelen acompañar al dolor tales como la taquicardia y la sudoración (Ver figura 3)



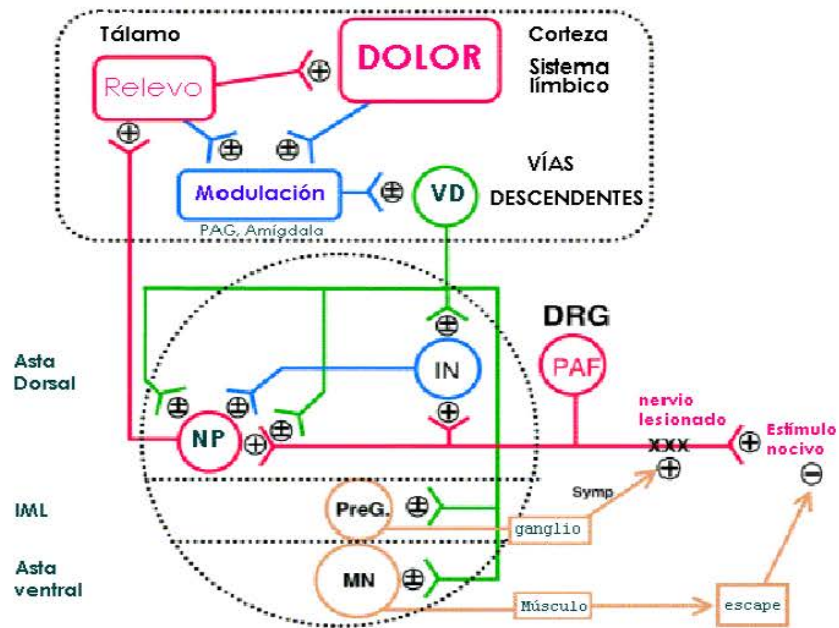


Figura 3 **Regulación de la transmisión nociceptiva**. Esquematización de los mecanismos activados ante la presencia de un estímulo nocivo (Modificado de Millan, 2002)

Por otro lado, en los años sesenta Melzack y Wall (1965) formularon la teoría de la compuerta en la que se enfatiza el hecho de que la percepción dolorosa no sólo depende de la estimulación periférica y de la transmisión, sino también de la modulación medular y central. Esta teoría postula esencialmente la existencia de un mecanismo neuronal a nivel de las astas dorsales en la médula espinal, el cual tiene la propiedad de aumentar o disminuir el flujo de los impulsos nerviosos provenientes de las fibras periféricas (ver figura 4) y se centra en la interacción de cuatro clases de neuronas en el asta posterior de la médula espinal:

- 1) fibras aferentes nociceptivas no mielinizadas (fibras C);
- 2) fibras aferentes no nociceptivas mielinizadas (fibras A $\beta$ );
- 3) neuronas de proyección;
- 4) interneuronas inhibitoras.

La neurona de proyección recibe información de ambos tipos de fibras nociceptivas y no nociceptivas, y el equilibrio de estos estímulos determina la intensidad del dolor. La interneurona inhibidora se activa espontáneamente, y normalmente inhibe a la neurona de proyección, con lo que se reduce la intensidad del dolor. El incremento de las fibras aferentes no nociceptivas mielinizadas ( $A\beta$ ), tiende a cerrar la compuerta, mientras que un aumento de la actividad de las fibras más delgadas (fibras C) la abre. Por tanto la proporción de impulsos nociceptores que pueden alcanzar los centros más altos y en consecuencia ser percibidos como dolor, son determinados por un equilibrio entre la actividad relativa de las fibras gruesas y delgadas (Melzack, 1973; Merk y Dohme, 1985).

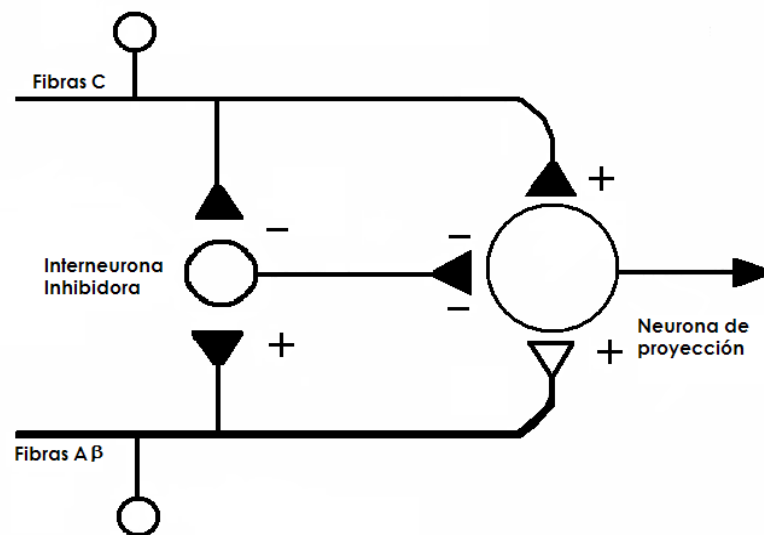


Figura 4 **Teoría de la compuerta**. Representación esquemática del sistema de control por compuerta para la transmisión del dolor (Modificado de Melzack y Wall, 1965)

Por su parte, las VD también juegan un papel importante en la modulación de la transmisión nociceptiva. Estas vías pueden dividirse en tres (Jean Marie y Athmane, 1987):

**1) Neuronas en la sustancia gris periacueductal y periventricular.** Realizan conexiones excitatorias en el bulbo raquídeo rostroventral, una región que incluye el núcleo serotoninérgico del rafe magno y el núcleo reticular adyacente paragigantocelular. Finalmente, las vías descendentes del Rafe y del núcleo reticular, ejercen una acción inhibitoria de las aferentes primarias.

**2) Neuronas en la médula rostroventral.** Hacen conexiones inhibitorias en las láminas I, II y V del asta dorsal de la médula espinal; estas láminas son también el sitio de llegada de la información nociceptiva. La estimulación de estas células inhibe a las neuronas nociceptivas de aferentes primarias, incluyendo a las que participan en la vía espinotalámica. Otros sistemas de fibras descendentes originados en el bulbo raquídeo y puente concluyen en las astas dorsales de la médula y suprimen la actividad nociceptiva de ésta área.

**3) Circuitos locales inhibitorios.** Se ubican a todo lo largo de las vías sensoriales encargadas de transmitir la información referente al dolor y en cada nivel o estructura nerviosa se puede activar un sistema local inhibitorio.

También existen otros sistemas inhibidores que suprimen la actividad de las neuronas nociceptivas del asta posterior se originan en el locus coeruleus noradrenérgico (ver figura 5) y en otros núcleos del bulbo y la protuberancia. Estas proyecciones descendentes bloquean la activación de neuronas de las láminas I y V mediante acciones inhibitorias directas e indirectas. También interactúan con los circuitos que contienen opioides endógenos del asta posterior. En los años 70's Pert y Zinder demostraron la presencia de receptores a opiodes en las células nerviosas. A partir de este hallazgo se han realizaron experimentos para demostrar que la microinyección de pequeñas dosis de morfina o de otros

opiáceos directamente en regiones específicas del cerebro de la rata, produce analgesia (Akil y col., 1984; Bian y col., 1995). Así mismo, se ha demostrado que la estimulación nociceptiva, induce la liberación de  $\beta$ -endorfina que actúa como mediador en el proceso de dolor (Zangen y col., 1998). Del mismo modo, otros experimentos han probado que la administración de naloxona, un antagonista de los opiáceos, bloquea la analgesia producida por la morfina. Se han identificado tres clases principales:  $\mu$ ,  $\delta$  y  $\kappa$ . Los receptores opioides  $\mu$  están muy concentrados en la sustancia gris periacueductal, la parte ventral del bulbo y la parte superficial del asta posterior de la médula espinal. Todas estas estructuras son importantes para la regulación del dolor.

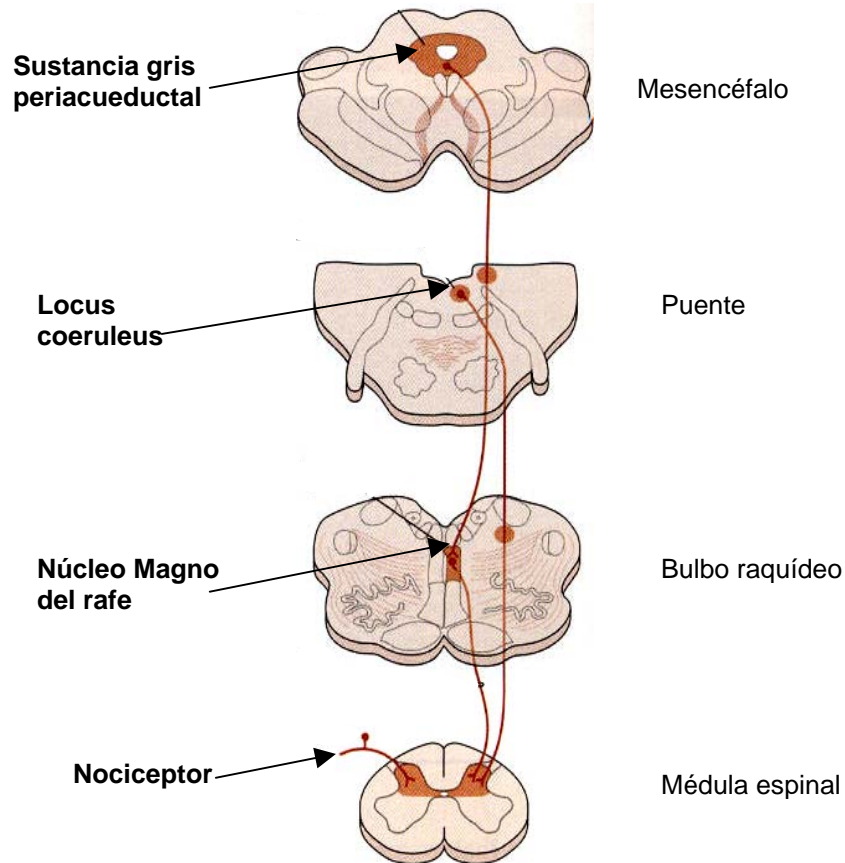


Figura 5 **Vías descendentes moduladoras de la transmisión nociceptiva**. La vía surge en la sustancia gris periacuductal, se proyecta al núcleo magno del rafe y luego, a través del funículo dorsolateral al asta posterior de la médula espinal.

## 2.8 SENSIBILIZACIÓN CENTRAL

La actividad sostenida o repetitiva de los nociceptores, puede producir alteraciones de la respuesta del sistema nervioso central a puntos de entrada procedentes de la periferia. Es decir, la estimulación nociva periférica puede sensibilizar a los nociceptores y además, si la estimulación es continua también puede modificar las propiedades de las neuronas espinales, en las que pueden originarse alteraciones funcionales extrínsecas. Cuando se aplican en la piel, en repetidas ocasiones, estímulos nocivos a un determinado nivel, ya sea desde el tejido dañado o desde fuera, se produce una progresiva respuesta de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal, fenómeno conocido como “wind-up” (Mendell y Wall, 1965; Price y col., 1978). Este fenómeno permite que aumente el tamaño del campo receptivo de la neurona del asta dorsal. También puede aumentar la excitabilidad neuronal y puede perderse la capacidad codificadora de impulsos nociceptivos. Estos cambios se conocen con el nombre de “sensibilización central” y contribuyen directamente a la aparición de alteraciones sensoriales que surgen como consecuencia de algún daño en el sistema nervioso periférico, tales como la hiperalgesia y la alodinia (Cervero y col., 1992).

La alodinia puede definirse como un dolor producido por un estímulo inocuo. Esta definición implica un cambio cualitativo en la sensación para diferenciarlo de una hiperestesia (aumento de la sensibilidad al estímulo). Por otro lado la hiperalgesia se refiere a la respuesta exagerada ante un estímulo nocivo, este es un caso especial de hiperestesia (Wolf y Mannion, 1999) la cual se clasifica en dos tipos: primaria y secundaria (Coderre y col., 1993).

La hiperalgesia primaria se refiere a un aumento en la sensibilidad ante la presencia de estimulación nociva en el sitio en que se produjo el daño.

La hiperalgesia secundaria por su parte, implica un aumento de la sensibilidad extendida más allá del sitio del daño, es decir, en áreas distantes del tejido lesionado.

## 2.9 NEUROTRANSMISORES

Existen algunas sustancias neurotransmisoras que intervienen en el sistema de analgesia, este es el caso de las encefalinas y la serotonina. Muchas de las fibras nerviosas que se originan en los núcleos periventriculares, en el área gris periacueductal y en el núcleo magno del rafe, secretan encefalinas en sus terminaciones. Además, existen fibras que surgen del núcleo magno del rafe, terminan en las astas dorsales de la médula espinal y secretan serotonina. La serotonina secretada puede actuar sobre neuronas medulares para que ellas a su vez secreten encefalinas, de esta forma, la modulación ejercida por la serotonina puede ser mediada por encefalinas (Hees, 1982).

Por otro lado, en los años 80's, Sawchenko y Swanson describieron una vía que se origina en el PVN del hipotálamo, cuyas neuronas envían sus axones a la superficie del asta dorsal de la médula espinal (ver figura 7) En esta vía descendente, el neurotransmisor involucrado es la OT. Los sitios hasta los que llegan las proyecciones oxitocinérgicas han sido identificados (Reiter y col., 1994) encontrándose que su distribución es principalmente en las láminas I y II, así como en la lámina V y la lámina que rodea al canal central (ver figura 6).



Figura 6 **Sitios de unión de la oxitocina.** Histoautoradiografía que muestra los sitios de unión de la oxitocina en la médula espinal (Reiter y col., 1994).

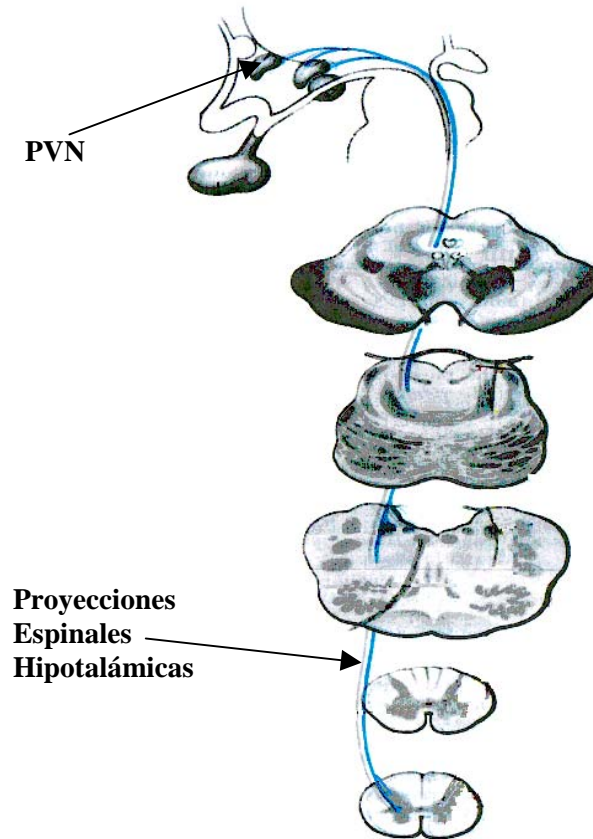


Figura 7 **Vía descendente de la oxitocina.** Las neuronas oxitocinérgicas localizadas en el núcleo paraventricular del hipotálamo, envían sus axones hasta las capas superficiales de la médula espinal (Modificado de Carpenter, 1994)

## 2.10 OXITOCINA

La OT es un neuropéptido que contiene 9 residuos de aminoácidos, con un puente disulfuro, y que es sintetizado en el PVN y en los SON del hipotálamo. Sus efectos más estudiados y caracterizados son su participación en las contracciones uterinas durante el parto y en la secreción láctea. Sin embargo, algunas evidencias indican efectos sobre la conducta animal (Drago y col., 1986). Ejemplo de esto es la conducta maternal inducida en ratas vírgenes y la conducta de aseo (Drago y col., 1986; Pedersen y col., 1982). La dosis efectiva de OT para inducir aseo, administrada i.c.v., es de 0.1 a 10  $\mu\text{g}$  (Argiolas y col., 1986). La OT también

incrementa el número de bostezos y erecciones del pene (Melis y col., 1986; Melis y Argiolas, 1995)

Estudios recientes han demostrado que la OT está involucrada en la modulación de la transmisión somatosensorial como es el caso de la nocicepción y del dolor (Uvnas-Moberg y col., 1992; Arletti y col., 1993; Lundeberg y col., 1994; Yuang y col., 2002; Robinson y col., 2002; Shuang-Quan y col., 2003) Arletti y col., (1993) reportaron que por medio de inyecciones i.c.v. de OT (1  $\mu$ g) se obtiene una disminución significativa de la nocicepción en ratas, provocada por la prueba del "hot plate". También existen estudios que señalan que la inyección de OT en la sustancia gris periacueductual, induce un efecto antinociceptivo dependiente de la dosis administrada (Robinson y col., 2002) y que dicho efecto es bloqueado por la administración de un antagonista de la OT (Yuang y col., 2002).

## 2.11 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA OXITOCINA

De manera general se ha reportado que la OT inhibe la transmisión glutamatérgica entre las aferentes primarias y las neuronas localizadas en el asta dorsal de la médula espinal (Robinson y col., 2002) Se han propuesto dos diferentes mecanismos para esta inhibición. Por una parte Jo y col., (1998) sugieren una acción presináptica, por medio de la cual, la OT inhibe indirectamente la transmisión sensorial entre las fibras aferentes primarias y las neuronas del asta dorsal mediante la activación de interneuronas inhibitorias espinales. Por su parte, los resultados de Robinson y col., (2002) sugieren un efecto inhibidor postsináptico por parte de la OT.

A nivel celular, los receptores a OT están acoplados a proteínas G y activan la vía de los inositoles, lo que conduce a un aumento de la concentración de calcio. Este mecanismo se ha estudiado en receptores uterinos y se ha visto que la unión de la OT a su receptor, activa la fosfolipasa C con la formación de un segundo mensajero, el inositol-1,4-5 trifosfato que libera  $Ca^{2+}$  al interior de la células del



músculo uterino (ver figura 8) sin embargo, se cree que el papel del segundo mensajero es relativamente de menor importancia ya que la activación directa o inducida por la despolarización de canales de calcio voltaje-dependientes de tipo L, pueden contribuir con la principal fuente de calcio (Barberis y col., 1998).

Kimura y col., (1995) fueron los primeros en identificar y aislar una cadena de DNAc que codificaba para el receptor de OT humano. Este receptor codifica para 389 aminoácidos y cuenta con 7 dominios transmembranales ( $\alpha$ -hélices). Pertenece a la clase I de receptores (tipo rodopsina) acoplados a proteínas G. La conservación entre los dominios transmembranales hace suponer que éstos podrían estar involucrados en mecanismos encargados de la activación y transducción de señales de proteínas G (Gimpl y Fahrenhloz, 2000).

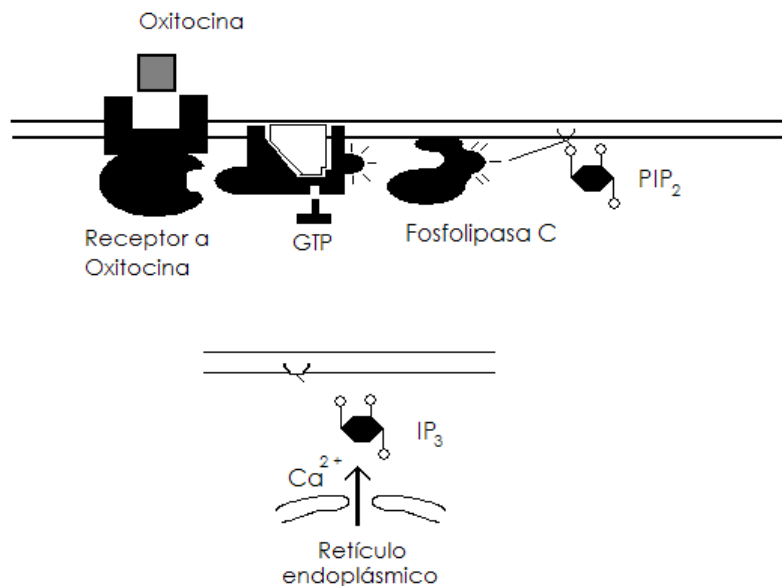


Figura 8 **Mecanismo de acción del receptor a oxitocina.** El receptor a oxitocina se encuentra acoplado a una proteína G con una subunidad, la cual activa a la enzima fosfolipasa C que hidroliza a los fosfolípidos de inositol en inositol trifosfato (IP<sub>3</sub>) y diacil glicerol. El IP<sub>3</sub> puede abrir canales de calcio localizados en la superficie del retículo endoplásmico provocando un incremento de calcio citoplasmático (Barberis y col., 1998).

## 2.12 NEUROPATÍA PRODUCIDA POR LA LIGADURA DEL NERVIO CIÁTICO

El dolor neuropático se define como un “dolor iniciado o causado por una lesión primaria o por una disfunción en el sistema nervioso central” (Merskey y Bogduk, 1994). También es considerado un síndrome complejo que puede tener diferentes mecanismos subyacentes (Mao y Chen, 2000; Ossipov y col., 2000). Independientemente de la causa responsable, el dolor neuropático se asocia a un dolor de tipo espontáneo que desencadena estados tales como la hiperalgesia y la alodinia (Thomas, 1984). Se han creado varios modelos animales para investigar los mecanismos causantes de la aparición del dolor neuropático, entre estas se encuentra el modelo de la ligadura floja alrededor del nervio ciático en rata descrito por Bennett y Xie (1988). Este modelo ampliamente estudiado exhibe muchas de las manifestaciones clínicas del dolor neuropático, como hiperalgesia, dolor espontáneo y alodinia, y ha resultado útil para ampliar el conocimiento sobre los mecanismos que contribuyen a la aparición del dolor neuropático, así como sus posibles tratamientos analgésicos (Bennett, 1993). Por ejemplo, utilizando este modelo se ha comprobado que la administración intravenosa de lidocaina a dosis altas (10-30 mg/Kg) durante un corto espacio de tiempo, tiene efecto analgésico (Chaplan y col., 1995; Abdi y col., 1998; Sinnott y col., 1999) así mismo, la administración subcutánea de dosis sistémicas relativamente pequeñas de lidocaina que coincide con las primeras fases de la aparición del dolor neuropático, produce efectos analgésicos (Smith y col., 2002).

## 2.13 NEUROPATÍAS DEL NERVIO CIÁTICO EN EL HOMBRE

La ligadura floja del nervio ciático en la rata, produce signos y síntomas parecidos a los que se observan en el *síndrome del dolor regional complejo*, en el hombre (Gradl y col., 2004). Este síndrome se considera un desorden doloroso originado después de un traumatismo que haya afectado a una extremidad con (Tipo I) o sin (Tipo II) una lesión en un nervio periférico (Baron, 2004).

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor, otorgó la categoría de Síndrome a este desorden, con el fin de permitir que se engloben en ella una serie de síntomas y signos clínicos que no tienen por qué tener una causa o etiología común. Para el diagnóstico de éste síndrome, se considera al dolor evocado o espontáneo. El término Dolor Regional intenta definir que el dolor, desproporcionado y continuo, sobrepasa la localización esperada en función de la causa aparentemente originaria, usualmente una extremidad, pero en otras ocasiones referido a otras partes del cuerpo. El término Complejo, intenta definir las múltiples formas de presentación de los síntomas y signos que lo caracterizan (Stanton-Hicks y col., 1995).

La Organización Internacional para el Estudio del Dolor, define el Síndrome del Dolor Regional Complejo como una “variedad de condiciones dolorosas de localización regional posteriores a una lesión, que presentan predominio distal de síntomas anormales, excediendo en magnitud y duración al curso clínico esperado del incidente inicial, ocasionando con frecuencia un deterioro motor importante, con una progresión variable en el tiempo”.

Otra de las neuropatías producidas por una lesión en el nervio ciático es la llamada Ciática, la cual es un síndrome doloroso que se localiza en el trayecto del nervio ciático. Es decir, al dolor que generalmente parte del glúteo y se irradia por la cara posterior del muslo, la cara posterior o externa de la pierna y puede llegar hasta el pie. El dolor ciático se origina en un proceso irritativo del nervio o de alguna de las raíces que lo originan, generalmente la quinta raíz lumbar o la primera raíz sacra (Fauci e Isselbacher, 2001).

Sus causas pueden ser cualquier presión, daño, espasmo muscular, tirón en la espalda o inflamación que afecte al nervio ciático. En la mayoría de los casos, sin embargo, la fuente del problema suele ser un disco vertebral (hernia discal o intervertebral) (Fauci e Isselbacher, 2001).

### **III. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL:**

- Estudiar los efectos conductuales que ejerce la OT sobre las respuestas a la estimulación somática en ratas con un modelo de dolor neuropático.

#### **OBJETIVOS PARTICULARES:**

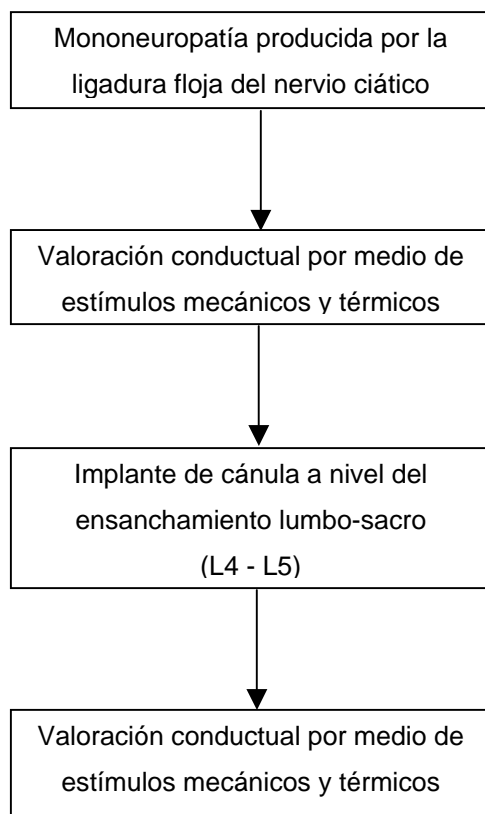
- Comparar los efectos de la OT exógena y de la OT endógena.
- Evaluar si los resultados observados con la estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo, son debidos a la OT secretada.
- Evaluar la posible participación de los péptidos opioides en el mecanismo de acción de la OT.
- Establecer si existe una correlación entre el sitio de estimulación del PVN del hipotálamo y los resultados observados.

### **IV. HIPÓTESIS**

A partir de los antecedentes que se tienen sobre el efecto de la OT en los mecanismos de antinocicepción, se postula que tanto la administración exógena (vía intratecal) como endógena (vía estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo) de este neuropéptido, será capaz de disminuir las respuestas provocadas por la estimulación mecánica y térmica, en ratas con un modelo de dolor neuropático producido por la ligadura floja del nervio ciático.

## V. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

### Efectos de la Oxitocina exógena (Grupo OT exo)



Día	1	5	7	9	12	14	18	23	26	28	31	33
Tratamiento	LNC	C	C	CI	C	OT	C	OT	C	OT	C	OT

LNC: Ligadura del nervio ciático  
C: Mediciones control

CI: Cánula intratecal  
OT: Administración de oxitocina

n = 20

a) Mononeuropatía (Ligadura floja del nervio ciático)

Todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron bajo anestesia intraperitoneal de una mezcla de Ketamina/Xilacina (70-6 mg/Kg). La neuropatía periférica unilateral fue producida siguiendo la técnica de constricción crónica del nervio ciático, descrita por Bennett Xie (1988), con la diferencia de que sólo se realizaron dos dobles ligaduras flojas y no cuatro como en la técnica original. Se expuso el nervio ciático izquierdo de 20 ratas (120 – 150g) a un nivel próximo a la trifurcación del nervio, para ello, se hizo una incisión en la piel de 2 a 2.5cm partiendo del glúteo superficial al bíceps femoral (“*femoris*”), se separaron las dos capas de músculo para exponer el nervio ciático, se liberó del tejido conectivo subyacente, colocándose por arriba de la trifurcación y alrededor del nervio, dos ligaduras flojas con hilo quirúrgico 4-0, con una separación de 1 – 1.5 mm entre ambas. El músculo que lo recubría se suturó con sutura simple, usando hilo quirúrgico 4-0, y la piel se suturó de igual manera con 4 suturas simples con el mismo tipo de hilo quirúrgico.

Se tuvo un grupo falso operado (n = 8) cuya intervención consistió en la exposición del nervio ciático izquierdo tal como se describió, con la diferencia que no se realizaron las ligaduras. También se tuvo un grupo control (n = 9) a cuyos animales no se les realizó ningún tipo de intervención quirúrgica. Todos los grupos estuvieron bajo las mismas condiciones ambientales, las cuales fueron comida y agua *ad-libitum* y ciclos de luz oscuridad 12h/12h.

Los experimentos se realizaron conforme a las directrices aceptadas por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (Zimmermann, 1983) y todos los protocolos experimentales fueron realizados siguiendo los lineamientos del comité de bioética del Instituto del Neurobiología, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

## b) Valoración conductual

Una vez realizada la técnica de la doble ligadura floja, los animales se dejaron recuperar 4 días y al 5to día, se empezó a registrar el umbral al dolor mediante estímulos mecánicos y térmicos.

Estímulos mecánicos: La técnica utilizada fue la descrita por Chaplan y col., (1994). Los animales fueron colocados individualmente en compartimientos de acrílico montados sobre una rejilla metálica la cual permitió tener acceso a las patas posteriores (ver figura 9). La superficie plantar de las patas posteriores, fue estimulada con una serie de filamentos de von Frey de calibre ascendente (1.0, 6.0 y 10 g). Para cada filamento, el estímulo fue repetido al menos 10 veces con intervalos de 1-2 segundos entre cada estimulación, con el fin de abarcar toda la superficie de la planta incluyendo los dedos. El filamento fue presionado contra la superficie ventral de la pata hasta conseguir que el filamento se doblara, y fue mantenido en esta posición por 3 o 4 segundos. Para clasificar las respuestas emitidas por los animales, se estableció una escala semicuantitativa donde las respuestas fueron catalogas como:

- ausencia de respuesta
- (+): movimiento continuo de la rata para cambiar de lugar o bien, movimiento de la cabeza dirigiendo su vista y/u olfato hacia la pata que se está estimulando, sin mostrar movimientos para retirar la pata.
- (++) : Retirada de la pata la cual puede manifestarse levantando bruscamente la pata o bien, levantándola lentamente y doblándola hacia su tronco, con el fin de que la pata no esté expuesta al filamento.
- (+++) : Levantamiento brusco de la pata, acompañado con sacudidas de la pata y/o lamidas de la misma; conducta de escape o vocalización.



Figura 9. **Estimulación mecánica.** Fotografías en las que se puede apreciar el compartimiento de acrílico y la rejilla metálica en las que se realizaron las estimulaciones mecánicas y térmicas (esta última no se observa en las fotografías).

Una vez terminada la primera ronda de mediciones, se cuantificaron las respuestas ante un estímulo térmico (como se describirá más adelante) después nuevamente se registró con los filamentos de von Frey en el orden indicado, y por último se volvió a aplicar el estímulo térmico.

Las respuestas se cuantificaron y se transformaron en porcentaje promedio de respuesta.

Estímulos térmicos: La técnica empleada fue una modificación de la que describe De la Calle (2002). Se cuantificaron las respuestas de sacudida de las patas posteriores ante el contacto de dos gotas de acetona en la parte dorsal de las patas. Las respuestas fueron promediadas y convertidas a porcentaje de respuesta.



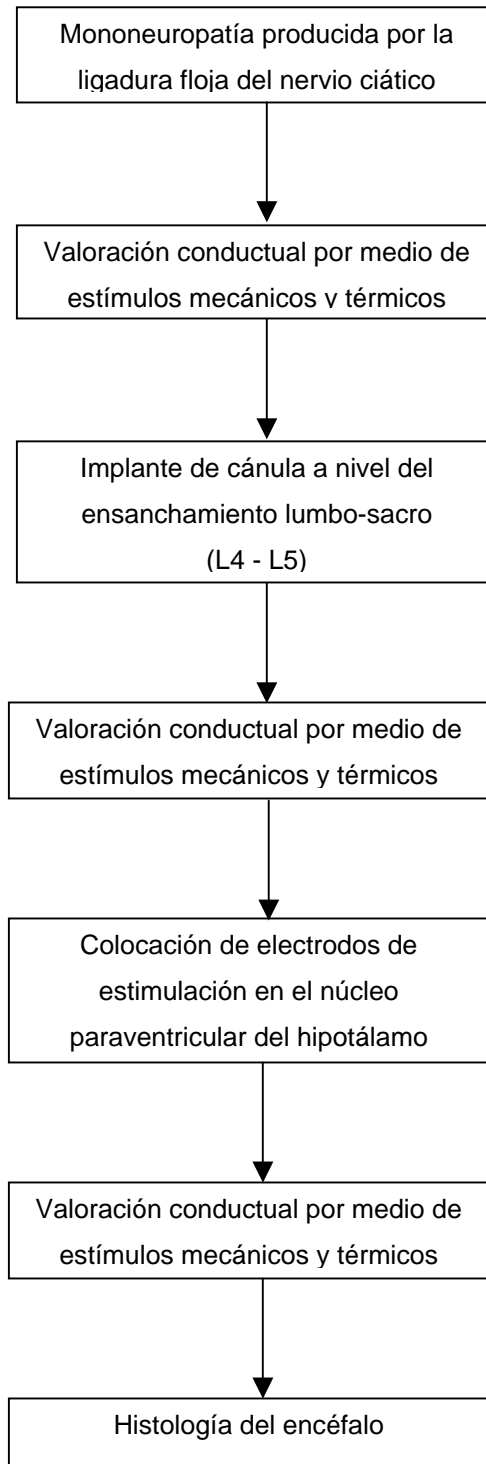
Estas mediciones en presencia de acetona, se realizaron por duplicado, la primera fue después de la primera ronda de mediciones con los filamentos de von Frey y la segunda, después de la segunda ronda.

### c) Cánula intratecal

A los 15 días después de la ligadura del nervio ciático (tiempo en que se observó claramente el desarrollo y estabilidad de la neuropatía) ambos grupos experimentales, se sometieron a una nueva cirugía para la implantación de una cánula intratecal, la técnica empleada fue la descrita por Yaksh y Rudy (1976). El procedimiento se realizó bajo anestesia intraperitoneal con una mezcla de ketamina y xilacina (70-6 mg/Kg). Los animales fueron colocados en un aparato estereotáxico y los músculos del cuello fueron separados, la membrana atlanto-occipital fue expuesta y rasgada cuidadosamente y se deslizó a través de ella un tubo de polietileno (PE10) hasta el ensanchamiento lumbar (L4 – L5), se observó que el animal no tuviera movimientos de los miembros anteriores o posteriores. Las cánulas fueron fijadas mediante hilo quirúrgico 4-0 a los músculos del cuello dejando sobresalir 5 centímetros para efectuar las inyecciones intratecales. Las cánulas fueron previamente llenadas con solución salina y selladas en el extremo externo, y tuvieron una longitud de 8.5cm.

Los animales se dejaron recuperar 2 días después de la operación y posteriormente se retomó la valoración conductual.

## Efectos de la Oxitocina endógena (Grupo OT endo)



Día	1	4	6	8	11	13	15	18	20	21	24	25	26
Tratamiento	LNC	C	C	C	C	C	CI	C	C	E	C	PVN	C

Día	27	28	29	34	35	37	39	41	43	46
Tratamiento	OT	C	AOT/PVN	C	PVN	C	NX/PVN	C	PVN	C

LNC: Ligadura del nervio ciático

C: Mediciones control

CI: Cánula intratecal

AOT/PVN: Antagonista a oxitocina / estimulación

NX/PVN: Naloxona / estimulación

E: Implantación de electrodo

OT: Administración de oxitocina

PVN: Estimulación eléctrica

n = 7

El grupo experimental que únicamente fue sometido a las dos intervenciones quirúrgicas antes descritas, se denominó grupo experimental OT exo. Un grupo fue sometido a una tercera cirugía para la implantación de un electrodo (como se describe más adelante), este último grupo se identificó como grupo experimental OT endo.

#### d) Estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo

A los 21 días posteriores de la ligadura del nervio ciático, a los animales del grupo experimental OT endo, se les implantó un electrodo bajo anestesia intraperitoneal de una mezcla de ketamina y xilacina (70-6 mg/Kg). Los animales fueron colocados en el aparato estereotáxico y de acuerdo a las coordenadas del atlas de Paxinos y Watson (1997) de la zona magnocelular del núcleo paraventricular del hipotálamo (A – P: +7.2, M – L: +0.5 y D – V: 2.0 a la izquierda) y con la calibración del cero para cada rata, se implantó un electrodo bipolar de acero inoxidable. Los animales estuvieron en recuperación durante 3 días, y después nuevamente fueron sometidos a las pruebas conductuales (ver figura 10) pero intercalando las mediciones: con OT intratecal, controles, estimulación del PVN del

hipotálamo. La estimulación eléctrica consistió en trenes de pulsos de 1ms a 60Hz sobre periodos de 6 segundos. La intensidad de la estimulación estuvo entre el rango de 100 – 300  $\mu$ A y fue ajustada individualmente para cada rata, a fin de evitar que la estimulación provocara una respuesta estresante.



Figura 10 **Electrodo en el núcleo paraventricular.** En esta fotografía se puede observar la forma en que queda implantado el electrodo.

Cabe mencionar que tanto en las mediciones con OT intratecal, como en las mediciones con estimulación del PVN del hipotálamo, la administración del péptido (15 $\mu$ l de  $10^{-6}$ M) como la estimulación eléctrica, fue previa a la exposición de los estímulos mecánicos y térmicos.

#### e) Pruebas de coordinación motora

Para eliminar la posibilidad de que la disminución de respuestas observadas en ambos grupos experimentales, debida a la inyección de oxitocina, fuera causada por un mecanismo propio de la OT que impidiera el movimiento de las ratas, una vez finalizado el estudio conductual del grupo OT exo, se llevaron a cabo pruebas de coordinación motora. Para este fin, se utilizó el equipo Rotorod (Omni-Rotor Treadmill, Omnitech Electronics, Columbus, OH). Este aparato consiste de un cilindro giratorio controlado por un motor que permite la selección de velocidad y aceleración.

Después de una prueba de ensayo inicial y de un periodo de entrenamiento (ambos se realizaron previa exposición a la OT), se evaluó la coordinación motora usando dos velocidades de aceleración. El tiempo del cilindro así como la velocidad a la cual cayó el animal fueron registradas.

Para el caso de animales con neuropatía, se observó que el programa habitual de velocidades y duración de las mismas utilizado para ratas, era demasiado riguroso y los animales eran incapaces de llevarlo a cabo incluso después de 5 entrenamientos, esto puede ser explicado a partir del hecho de que los dolores neuropáticos producen dolor espontáneo e hiperalgesia mecánica, por lo que puede resultar muy estresante para los animales desempeñarse igual que una rata control. Por lo que se adaptó un programa menos riguroso para el grupo experimental OT exo. El programa establecido para el grupo experimental OT exo fue el siguiente:

Duración (segundos)	Velocidad Final (rpm)
10	2.5
20	5
40	10
20	5
5	0

Tabla 1. Valores del programa del rotorod empleados en el grupo OT exo.

f) Inspección visual de la ubicación de la punta de la cánula intratecal

Una vez finalizado el estudio conductual y después de que los animales realizaron la prueba de coordinación motora, estos fueron profundamente anestesiados con una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (33 mg/Kg de peso corporal), después, se administraron intratecalmente 15  $\mu$ l del colorante orgánico azul de pontamina y se expuso la médula espinal para realizar una inspección visual y determinar la zona en que llegó la punta de la cánula.

#### g) Localización del electrodo de estimulación

Se realizó un estudio histológico del encéfalo de las ratas del grupo experimental OT endo para determinar la zona exacta en la que se implantaron los electrodos, y establecer si la respuesta observada está en función del sitio de estimulación eléctrica.

Los resultados de las pruebas conductuales fueron analizados empleando un análisis de varianza (ANOVA) Kruskal-Wallis, para determinar si existió diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en las respuestas entre los distintos grupos (Experimental OT, Control y Falso operado) a lo largo del estudio conductual. Las pruebas post-hoc para esta prueba, fue la de las comparaciones múltiples de Dunn's. Para analizar las diferencias entre los grupos experimentales (mediciones control vs tratamiento) se utilizó una ANOVA no-paramétrica de Friedman ( $P < 0.05$ ), seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Wilcoxon. El programa estadístico empleado fue el "GraphPad InStat tm V2.03 (1990-1993)".

## VI. RESULTADOS

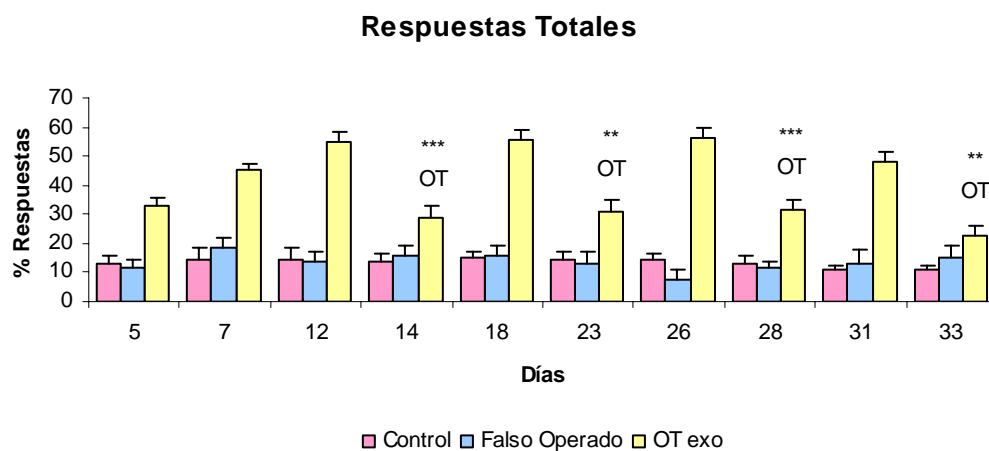
En la figura 11 se puede apreciar la comparación en el porcentaje de respuestas totales, térmicas y mecánicas, obtenido en los grupos control, falso operado y OT exo a lo largo del estudio conductual. Se observó diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en el número de respuestas entre los grupos control y falso operado en el día 5, lo cual se debió probablemente a que la intervención de la ligadura del nervio ciático sensibiliza a los animales dentro de los primeros 5 días. A partir del día 7, no se encontró diferencia significativa entre las respuestas del grupo control y falso operado, esto significa que el aumento en el número de respuestas que tuvo el grupo OT exo, fue producto de la lesión provocada por la ligadura floja del nervio ciático y que la cirugía para exponer el nervio así como su disección, no tienen un efecto significativo en el aumento de respuestas a partir del día 7.

En el día 7, se observó una diferencia significativa ( $P < 0.001$ ) entre el grupo control y OT exo, lo que indica que a partir del día 7, el desarrollo del dolor neuropático es evidente. Dentro del grupo OT exo, la comparación de respuestas entre los diferentes días, señaló una diferencia significativa entre el día 5 y el día 7 ( $P < 0.05$ ), lo cual sugiere que la neuropatía se desencadena durante la primera semana después de la ligadura floja del nervio ciático. También se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre el porcentaje de respuestas totales y mecánicas durante los días previos a la administración intratecal de OT y los días de administración; esto indica que la administración exógena (vía intratecal) de oxitocina ( $15 \mu\text{l}$ ,  $10^{-6}\text{M}$ ) disminuye significativamente el porcentaje de respuestas mecánicas en el grupo de animales sometidos a la ligadura floja del nervio ciático.

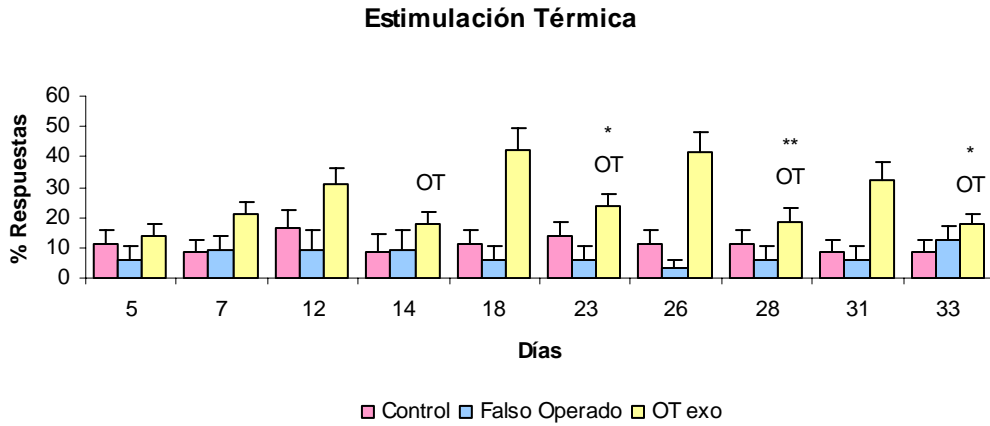
La permanencia similar en el porcentaje de respuestas observado en el grupo control y falso operado a lo largo de todo el estudio, son evidencia de que la disminución durante los días de inyección que se presentó en el grupo OT exo, son producto de la OT y no debido a una posible habituación ante la presencia repetida de los estímulos. Esto se corrobora también porque las mediciones control subsiguientes regresaron a sus valores habituales.

## EFFECTO DE LA OXITOCINA EXÓGENA

A



B



C

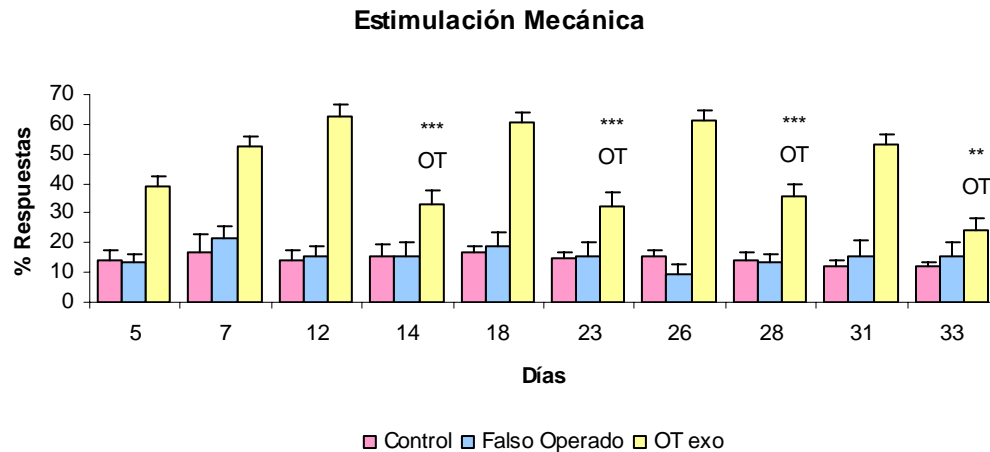


Figura 11. Histograma comparativo de respuestas entre los grupos control (n=9), falso operado (n=8) y OT exo (n=20). Las barras en cada histograma de frecuencia corresponden al porcentaje de respuestas observadas  $\pm$  S.E.M. Las diferencias entre los grupos fueron analizadas usando una ANOVA Kruskal – Wallis ( $P < 0.05$ ) seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn's. Las diferencias entre las mediciones control y las mediciones con inyecciones intratecales fueron analizadas usando una ANOVA no-paramétrica Friedman ( $P < 0.05$ ) seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Wilcoxon. Los asteriscos señalan diferencia significativa (\*\* $P < 0.01$  y \*  $P < 0.05$ ) en las respuestas de la medición control previa a la inyección y la obtenida con la inyección.

Los efectos de la OT endógena (por estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo) se observan en la figura 12. En este grupo se puede apreciar mejor el



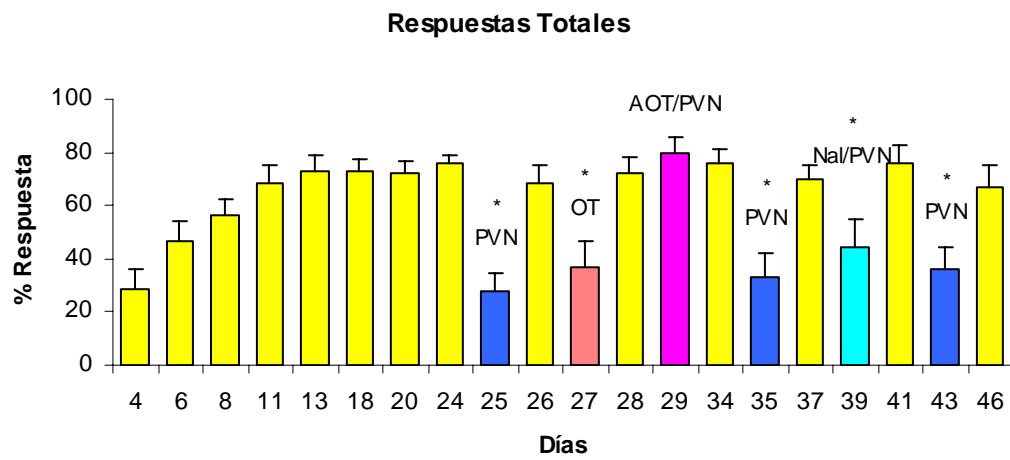
desarrollo de la neuropatía, además, se puede notar que una vez desarrollado el proceso de nocicepción, este se mantiene constante (ver días de mediciones control) hasta por un periodo de 46 días. También es importante señalar que ni la intervención quirúrgica para implantar la cánula (realizada el día 15) ni para colocar los electrodos (día 21) alteraron el porcentaje de respuestas. Los días en que se estimuló eléctricamente el PVN del hipotálamo (día 25, 35 y 43) se observó una disminución significativa en el porcentaje de respuestas totales y mecánicas.

En el caso de las respuestas térmicas, únicamente se encontró diferencia significativa los días 25 y 35 de estimulación. Note que la administración intratecal de un antagonista selectivo a la OT ( $15\mu\text{l}$ ,  $10^{-5}\text{M}$ , AOT), dos minutos previos a la estimulación, impidió la disminución de respuestas tanto mecánicas como térmicas.

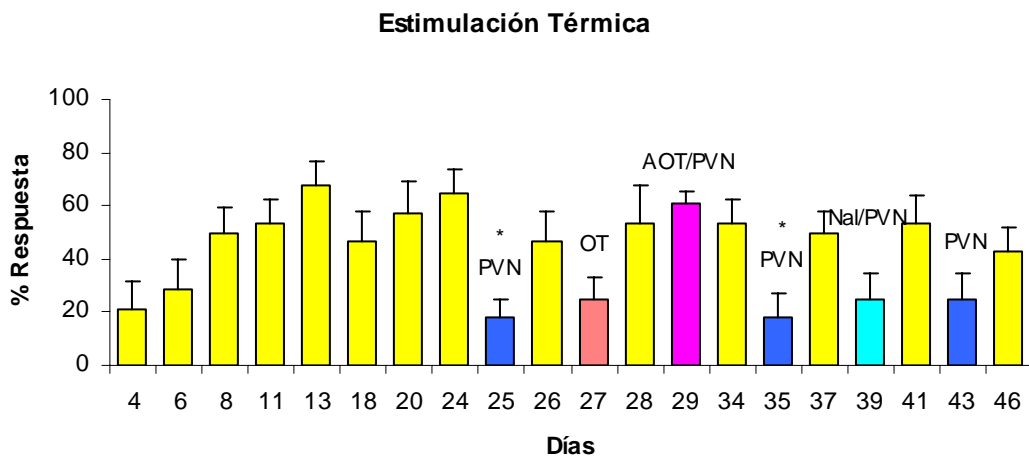
El día 27 se administró intratecalmente OT ( $15\mu\text{l}$ ,  $10^{-6}\text{M}$ ) y los resultados obtenidos fueron similares a los que se tuvieron el grupo OT exo, es decir, hubo una disminución significativa en el porcentaje de respuestas totales y mecánicas, no así en las térmicas. La administración intratecal de naloxona previa a la estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo produjo una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) en el número de respuestas totales y mecánicas. Sin embargo, esta disminución fue de menor magnitud (diferencia no-significativa) que la observada únicamente con la estimulación eléctrica.

EFFECTO DE LA ESTIMULACIÓN DEL NÚCLEO PARAVENTRICULAR DEL HIPOTÁLAMO EN PRESENCIA O AUSENCIA DE NALOXONA O DEL ANTAGONISTA SELECTIVO A OXITOCINA

A



B



C

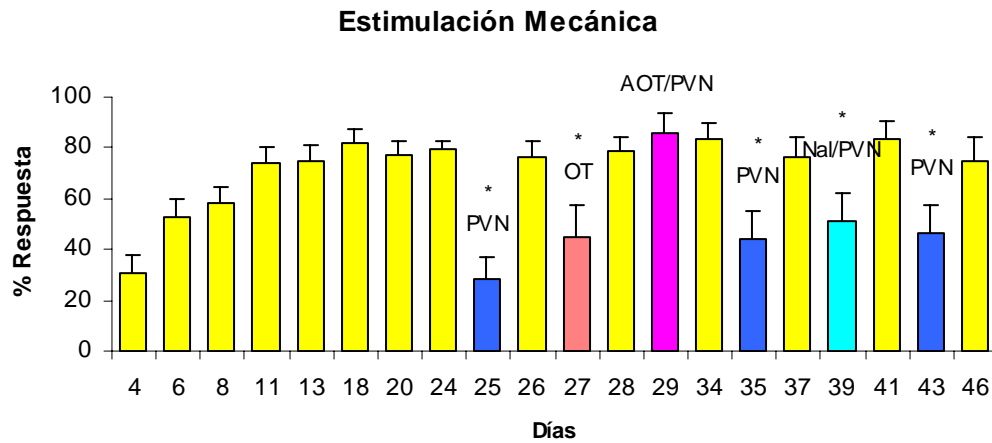
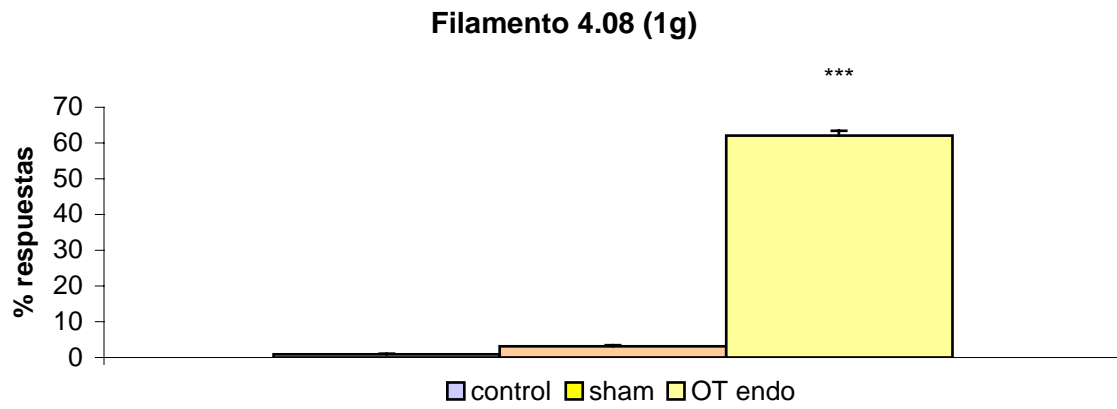


Figura 12. Histogramas de frecuencia del porcentaje de respuestas totales (A), térmicas (B) y mecánicas (C) del grupo OT endo (n=7). Cada barra corresponde al porcentaje de respuestas  $\pm$  S.E.M. Las diferencias entre los distintos tratamientos fueron analizadas usando una ANOVA no paramétrica de Friedman ( $P < 0.05$ ) seguida de una prueba de comparaciones múltiples de Wilcoxon.

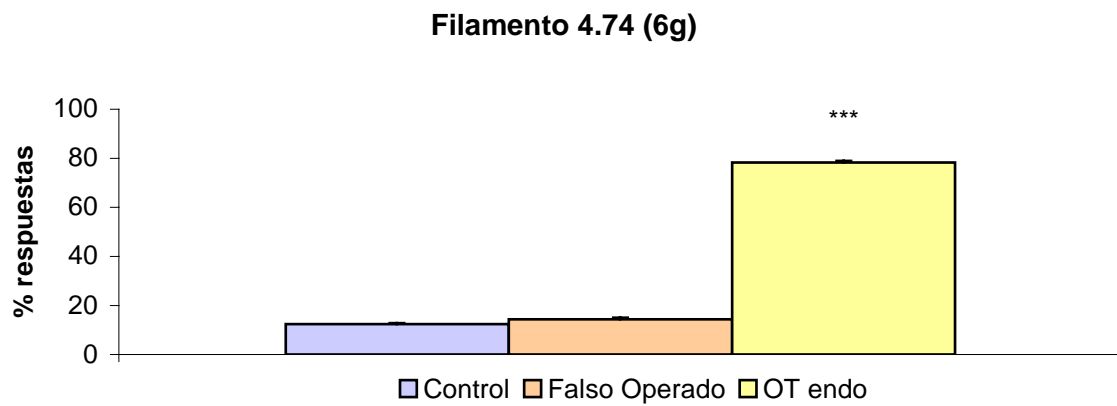
En la figura 13 se puede observar el porcentaje de respuestas en las mediciones control de todo el estudio conductual de los grupos control, falso operado y OT endo. Se puede notar que el porcentaje obtenido para el filamento de von Frey de menor calibre (4.08), que puede ejercer una presión de hasta 1g en la superficie plantar de las patas de las ratas, no produce prácticamente respuestas en el grupo control (menos del 1%) ni en el grupo falso operado (3.1%), en cambio en el grupo OT endo, las respuestas obtenidas en las mediciones control superan el 50%. Para el caso del filamento 4.74, que ejerce una presión hasta de 6 g, la respuestas del grupo control fueron del 12%, en el grupo falso operado del 14% y en el grupo OT endo del 78%. Por último para el filamento de mayor calibre (5.07) que ejerce una presión hasta de 10g, la respuesta en el grupo control fue del 27%, en el grupo falso operado del 29% y en el grupo OT endo del 80%.

## DESARROLLO DE ALODINIA MECÁNICA

A



B



C

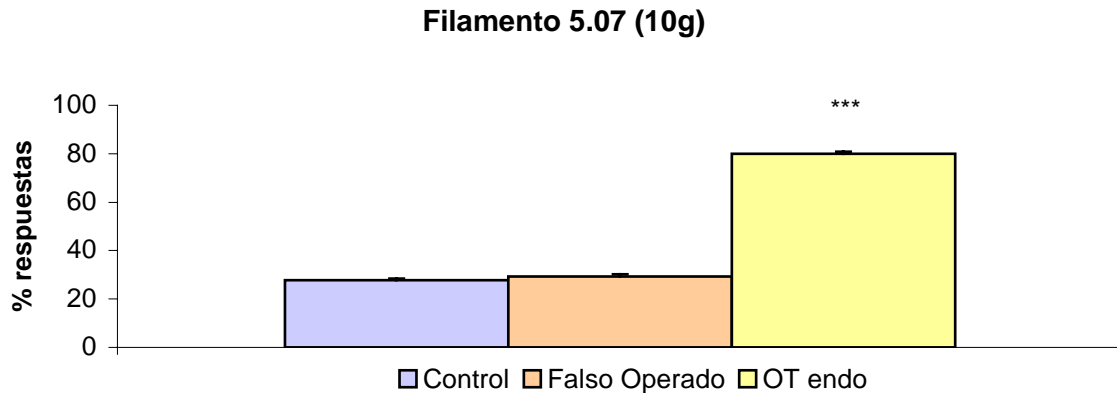
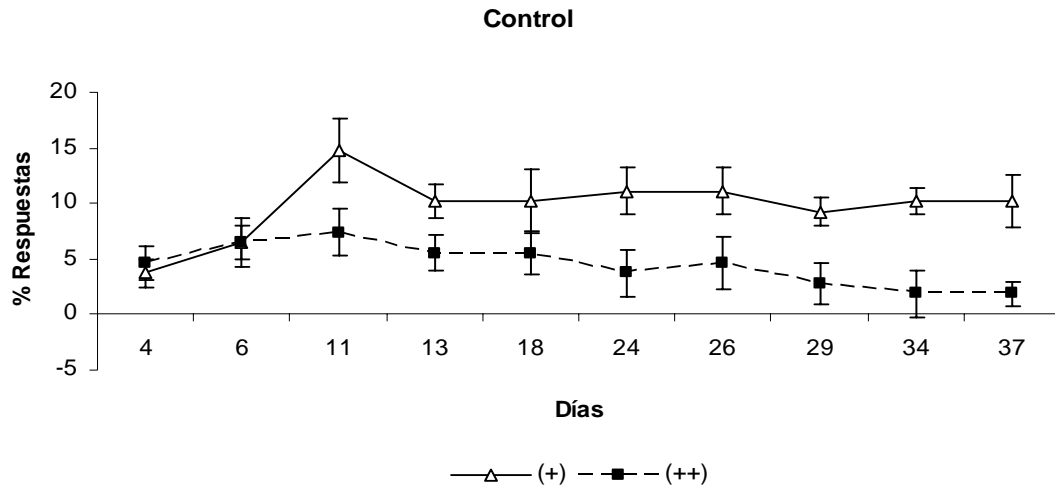


Figura 13. Las gráficas muestran el porcentaje de respuestas obtenido en las mediciones control a lo largo del estudio conductual de los grupos control, falso operado y OT endo, con cada uno de los diferentes filamentos de von Frey utilizados en la estimulación mecánica. Las diferencias entre los grupos fueron analizadas utilizando una ANOVA Kruskal-Wallis (\*\*\*) seguida de una prueba de comparaciones múltiples de Dunn's.

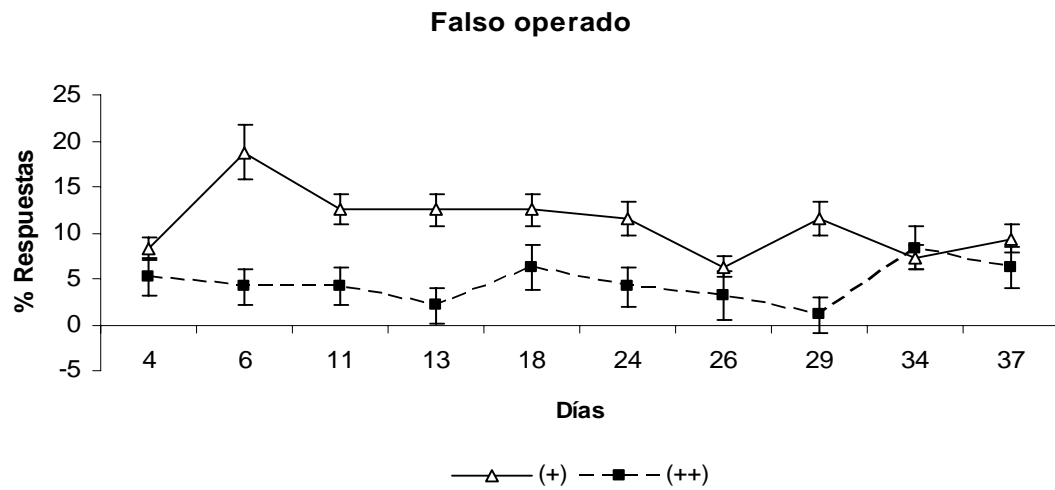
En la figura 14 se puede observar el análisis de la intensidad de respuestas producida por la estimulación mecánica en los grupos control (A), falso operado (B) y OT endo (C). Se puede notar que tanto el grupo control como el grupo falso operado únicamente presentaron respuestas de intensidad (+) y (++) y mas aún, que la respuesta mayoritaria en ambos grupos es la de intensidad (+), la cual no supera en ninguno de los casos el 15%, sin embargo, en el caso del grupo OT endo, la respuesta principal es la de intensidad (++) , la cual presenta valores de más del 50%, además, la estimulación mecánica en este grupo genera una respuesta más intensa que no presentaron los grupos control y falso operado y que fue catalogada con una intensidad de (+++).

# INTENSIDAD DE RESPUESTA PROVOCADA POR LA ESTIMULACIÓN MECÁNICA

A



B



C

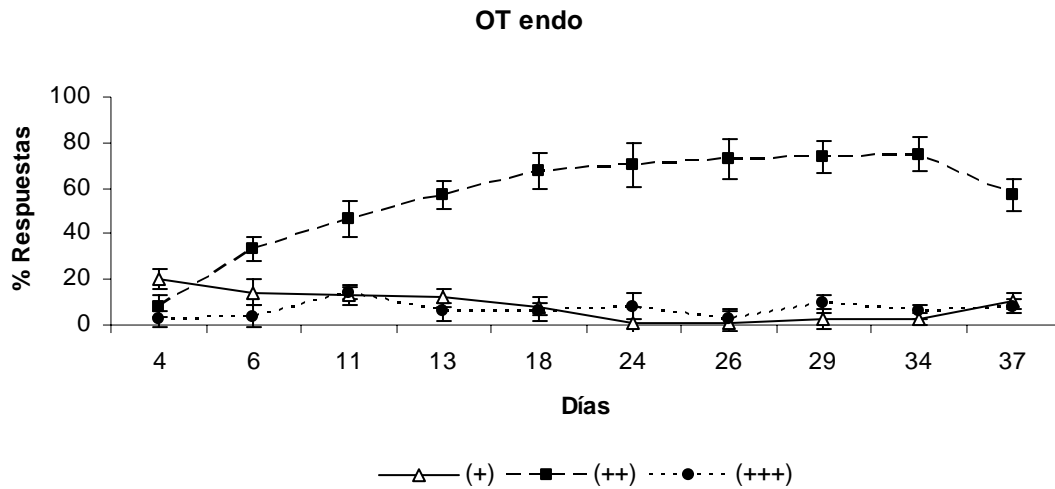
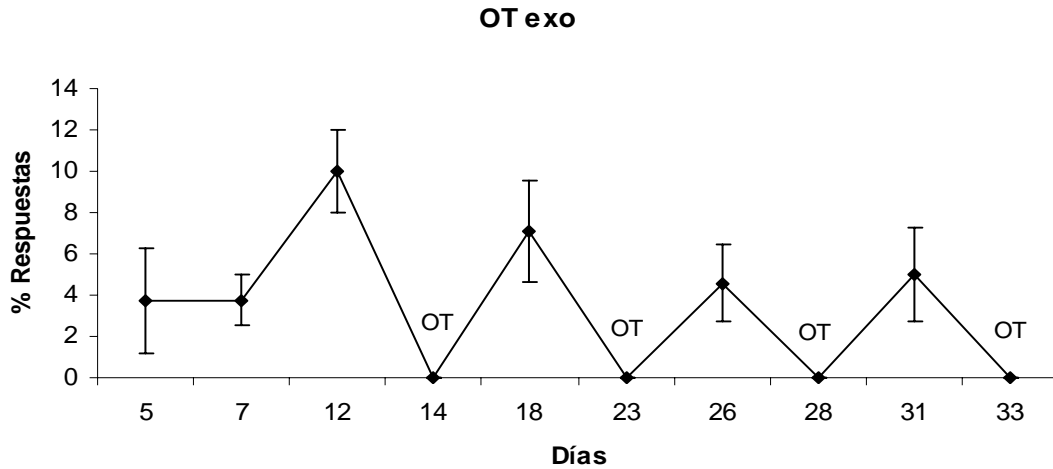


Figura 14. La estimulación mecánica (filamentos de von Frey) produjo 3 diferentes respuestas las cuales fueron clasificadas con base en su intensidad. Obsérvese que las respuestas de menor intensidad (+) y (++) las presentan los tres grupos (A) control, (B) Falso operado y (C) OT endo. Sin embargo, en los grupos control y Falso operado la respuesta principal es la de intensidad (+), mientras que en el grupo OT endo, es la respuesta de intensidad (++) . Además, se puede notar que en el grupo OT endo (Gráfica C) aparecen respuestas de intensidad (+++).

En la figura 15 se observa el curso temporal de la respuesta de intensidad (+++) tanto para el grupo OT exo (5.A) como para el grupo OT endo (5.B). Como se puede notar en el grupo OT exo, las respuestas con dicha intensidad desaparecen con la administración intratecal de oxitocina, de igual forma, en el grupo OT endo, tanto con la administración intratecal de OT como con la estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo, las respuestas de intensidad (+++) desaparecen.

## INTENSIDAD DE RESPUESTA (+++)

A



B

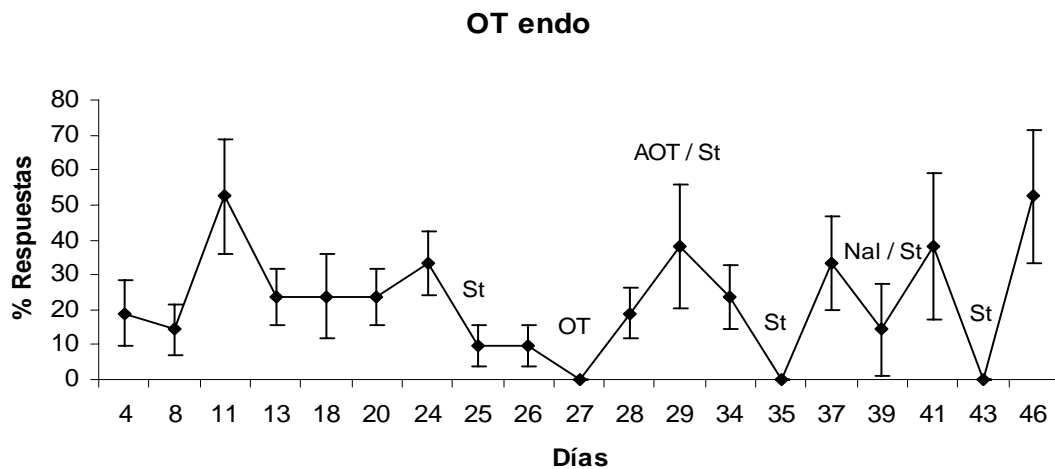


Figura 15. En la gráfica A, se presenta el porcentaje de respuestas de intensidad (+++) del grupo OT exo. En la gráfica B, se observa el mismo resultado del grupo OT endo. Obsérvese en la gráfica A, que los días en que se administró intratecalmente OT, las respuestas de intensidad (+++) desaparecieron. En el grupo OT endo, sucedió lo mismo, los días en que se estimuló el PVN del hipotálamo o el día en que se administró OT.

En la figura 16 se puede observar el promedio de las respuestas evocadas en cada pata por los estímulos térmicos (6.A) y mecánicos (6.B) en los grupos



control, falso operado y OT endo a lo largo del estudio conductual. La pata ipsilateral a la ligadura (pata izquierda) presentó mayor número de respuestas promedio en comparación con la pata contralateral (PD) y fue justamente la pata ipsilateral la que disminuyó más su promedio de respuestas ante la estimulación del PVN del hipotálamo, sobre todo ante la estimulación mecánica.

### CURSO TEMPORAL DE LA RESPUESTA EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES EN PATA IPSILATERAL Y CONTRALATERAL

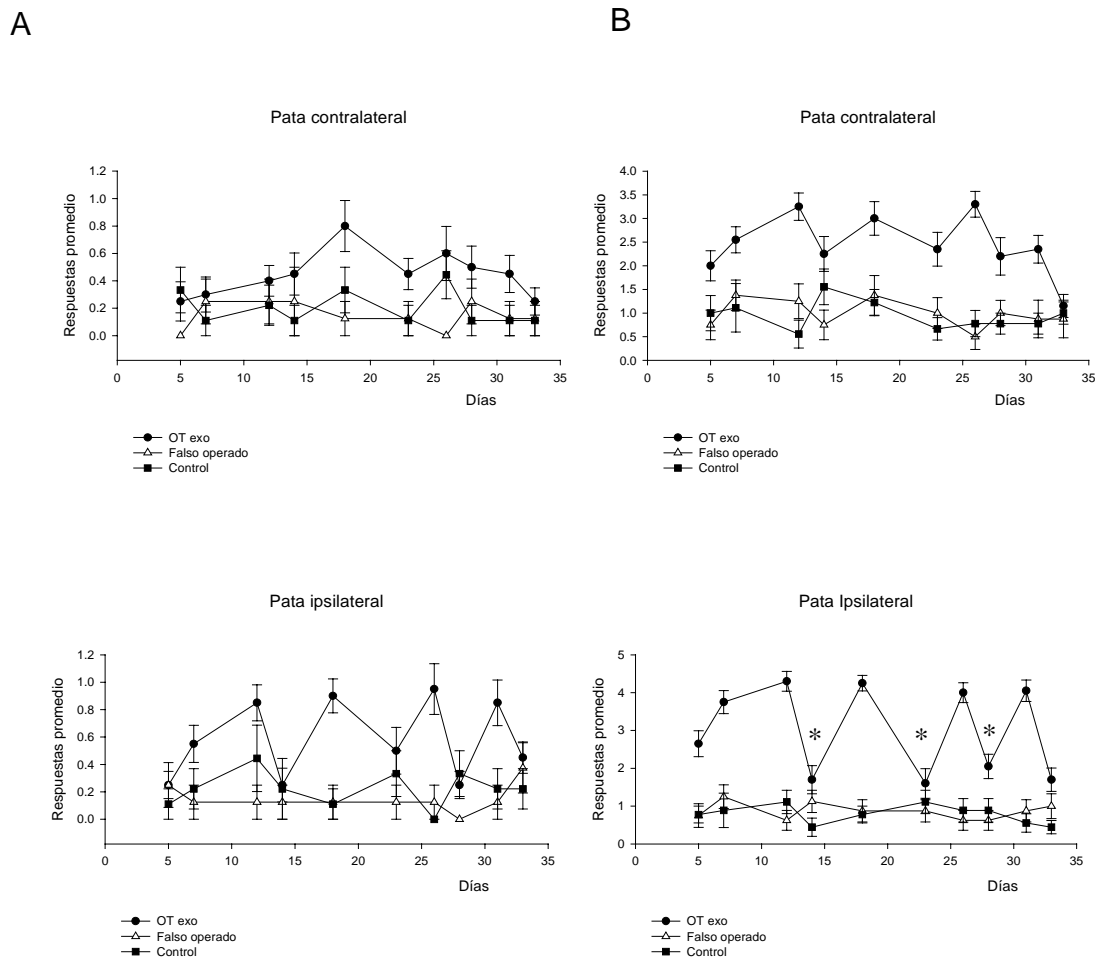


Figura 16. Comparación del promedio de respuestas en la pata ipsilateral a la ligadura (izquierda) y la pata contralateral (derecha) ante la estimulación térmica (A) y mecánica (B), en los grupos control, falso operado y OT exo. Los resultados muestran la media  $\pm$  S.E.M. Únicamente se encontró diferencia significativa en las respuestas del grupo OT. Los datos fueron analizados utilizando una ANOVA Kruskal Wallis, seguida de una prueba de comparaciones múltiples de Dunn's (\*  $P < 0.05$ ).

En la figura 17 se pueden observar los resultados del estudio histológico. En el panel izquierdo se muestra los diagramas del PVN del hipotálamo en las tres diferentes antero-posterioridades en las que se localizaron los electrodos de estimulación. Mientras que en el panel derecho se puede apreciar la magnitud de las lesiones producidas por el electrodo.

#### LOCALIZACIÓN DEL SITIO DE LOS ELECTRODOS DE ESTIMULACIÓN EN EL GRUPO OT ENDO

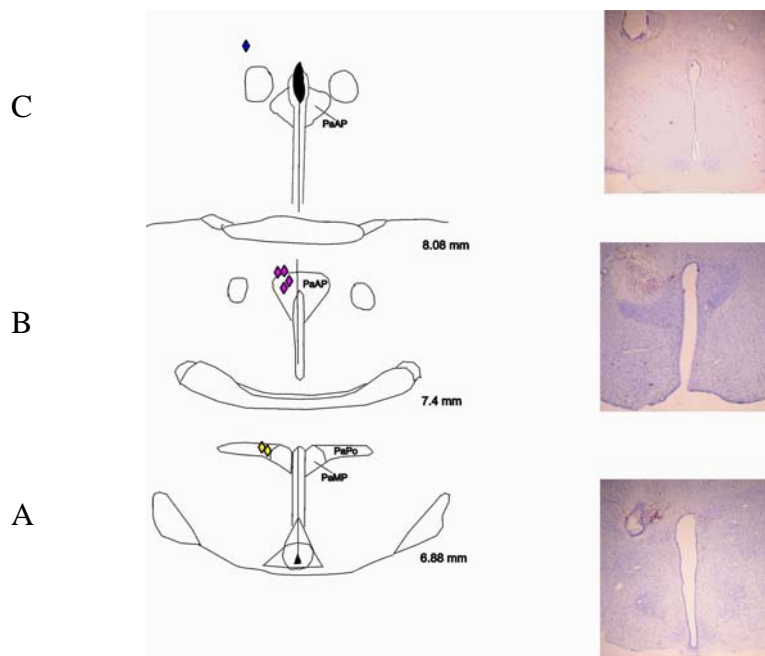


Figura 17. En el lado izquierdo de la figura se pueden observar los diagramas de las tres diferentes anterioposterioridades en las que se implantaron los electrodos en el grupo OT endo. 6.88 (A), que corresponde a un sitio fuera del PVN del hipotálamo, 7.4 (B), que es la región parvocelular del núcleo paraventricular y 8.08 (C), que corresponde a la región posterior de dicho núcleo. En el lado derecho se presentan fotografías que permiten ver la magnitud de la lesión provocada en cada anterioposterioridad.

En la figura 18 se presenta la disminución en el porcentaje de repuestas totales obtenido en cada una de las 7 ratas del grupo OT endo, el cual está en función del sitio de estimulación. Con base en estos resultados, es muy claro que la estimulación en el área parvocelular del PVN del hipotálamo, es la que produce

una mayor disminución en el porcentaje de respuestas totales en comparación con la estimulación en la región posterior. Un análisis conductual en función del sitio de estimulación también presenta grandes diferencias en base al patrón de conductas exhibidas en las ratas. Mientras que con la estimulación en el área parvocelular sólo una rata exhibió una conducta parecida a la inquietud (justamente corresponde con la barra en la que se observó menor disminución en el porcentaje de respuestas), con la estimulación en la región posterior, las ratas presentaron esta conducta. En la cual, inmediatamente después del estímulo eléctrico, el pelo se erizó y comenzaron a dar vueltas presentando en algunas ocasiones conducta de escape. Una vez finalizada la estimulación, se observó un periodo (aproximadamente 1 minuto) en el cual los animales siguieron un poco inquietos y tendieron a levantarse sobre las patas posteriores olfateando la parte superior de los compartimientos de acrílico sobre los que estaban. Después, se observó un acicalamiento de leve a moderado. En algunas ocasiones presentaron contracciones pélvicas, erecciones y lamida de genitales. Aunque este último repertorio de conductas fue más frecuente y pronunciado en las ratas que disminuyeron más su porcentaje de respuestas (área parvocelular). Por otro lado, tras la administración intratecal de OT en este grupo como en el grupo OT exo, las ratas también presentaron un patrón conductual que comenzó con un acicalamiento intenso, seguido de una serie de contracciones pélvicas que la mayoría de las veces generó ligeros “brincos” de las patas posteriores. También se observó lamida de genitales, erecciones e algunas veces incluso eyaculación. Dentro del grupo OT exo, algunos animales mostraron una conducta diferente, caracterizada por un periodo de tipo letargo en el cual, los animales no caminaban bien. En tres animales de este grupo, al final de la medición (aproximadamente cinco minutos después de la administración intratecal de OT) presentaron un ligero arrastramiento de alguna o de ambas extremidades posteriores.

## EFFECTO DEL SITIO DE ESTIMULACIÓN

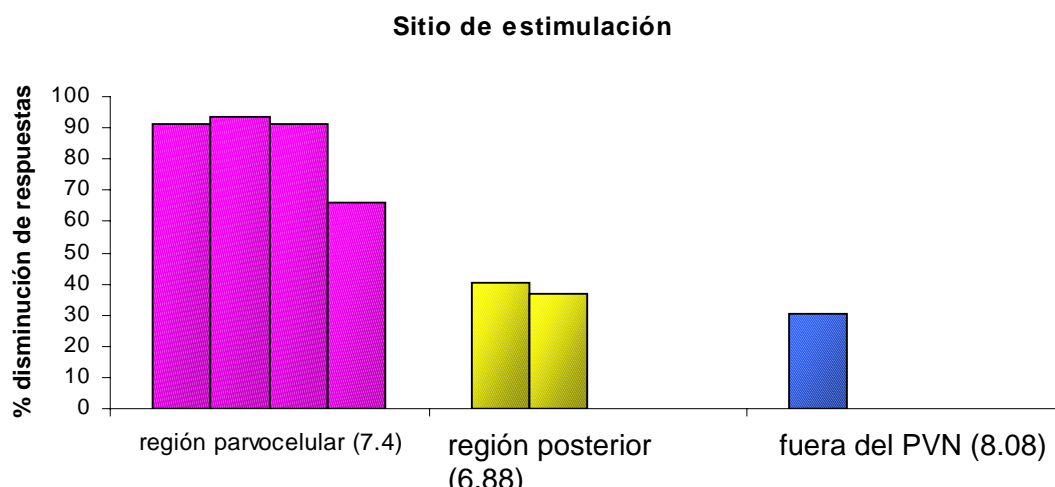


Figura 18. Histograma comparativo de la disminución de respuestas totales dentro del grupo OT en función del sitio de estimulación. Cada barra indica el porcentaje promedio de disminución.

Los resultados de la prueba de coordinación motora indican que las inyecciones intratecales de OT no impiden que 3 de las 4 ratas que fueron sometidas a esta prueba complete el programa (ver tabla 2). La conducta exhibida por la rata que no logró completar la prueba, fue parecida a la inquietud, una vez que era colocada sobre el rodillo defecaba u orinaba y en cuanto se bajaba la tapa de acrílico sobre el rodillo, antes de iniciar el programa, el animal se paraba en dos patas intentando escapar por el pequeño espacio entre la tapa de acrílico y las paredes que soportan al rodillo.

## COORDINACIÓN MOTORA

Día 22

Rata	Tratamiento	Resultado	Vel. final	Tiempo final	Fase
1	S/T	Exitoso		950	
2	S/T	Exitoso		950	
3	S/T	Exitoso		950	
4	S/T	Fallido	4.91	116.4	2.7
1	OT	Exitoso		950	
2	OT	Exitoso		950	
3	NaCl	Exitoso		950	
4	NaCl	Exitoso		950	

Día 25

Rata	Tratamiento	Resultado	Vel. final	Tiempo final	Fase
1	S/T	Exitoso		950	
2	S/T	Exitoso		950	
3	S/T	Exitoso		950	
4	S/T	Fallido	8.56	154.42	3.2
1	NaCl	Exitoso		950	
2	NaCl	Exitoso		950	
3	OT	Exitoso		950	
4	OT	Fallido	6.35	192.6	3

Día 32

Rata	Tratamiento	Resultado	Vel. final	Tiempo final	Fase
1	S/T	Exitoso		950	
2	S/T	Exitoso		950	
3	S/T	Exitoso		950	
1	OT	Exitoso		950	
2	OT	Exitoso		950	
3	OT	Exitoso		950	

Día 34

Rata	Tratamiento	Resultado	Vel. final	Tiempo final	Fase
1	NaCl	Exitoso		950	
2	NaCl	Exitoso		950	
3	NaCl	Exitoso		950	

Tabla 2. Resultados de la prueba de coordinación motora (S/T: sin tratamiento)

Se corroboró la zona a la que llegó la punta de la cánula en la médula espinal en el grupo OT exo, en las 14 ratas analizadas, la cánula llegó al nivel del ensanchamiento lumbo-sacro (ver tabla 3)

#### UBICACIÓN DE LA CÁNULA EN LA MÉDULA ESPINAL

Número de Ratas	Ubicación de la punta de la cánula
8	Ensanchamiento lumbo-sacro (por arriba)
4	Ensanchamiento lumbo-sacro (en medio)
2	Ensanchamiento lumbo-sacro (por abajo)

Tabla 3

## VII. DISCUSIÓN

El modelo de la ligadura floja del nervio ciático descrito por Bennet y Xie (1988) es un método que ha sido ampliamente utilizado para desencadenar un proceso de dolor neuropático. En este trabajo se realizó una modificación a la técnica original ya que en lugar de cuatro ligaduras únicamente se realizaron dos, sin embargo, los resultados obtenidos señalan que con dos ligaduras basta para desencadenar un proceso de dolor por medio del cual, se incrementan las respuestas de retirada de la pata ante la presencia de estímulos térmicos inocuos tales como una gota de acetona en la parte dorsal, y de estímulos mecánicos inocuos como diferentes filamentos de von Frey. La respuesta de retirada se incrementa de forma paulatina alcanzando su máximo valor entre el día 12 y 14, el cual permanece por un periodo hasta de 46 días, lo cual se corrobora con lo descrito por Bennet y Xie (1988) así como por Attal y col., (1990) que mencionan que mediante este modelo, los síntomas de alodinia e hiperalgesia se mantienen por un periodo de más de 2 meses.

Como puede apreciarse en la figura 6, el aumento en la respuesta de retirada de la pata en ambos grupos experimentales, no sólo se presentó en la pata ipsilateral a la ligadura (pata izquierda) sino también en la pata contralateral. Sin embargo, el aumento fue mayor en la pata en la que se lesionó el nervio ciático. La presencia de respuestas en la pata contralateral a la ligadura puede explicarse por el hecho de que las vías sensoriales son cruzadas, es decir, llevan información al lado contrario del lugar donde se aplicó el estímulo sensorial.

El método descrito por Yaksh y Rudy (1976) para implantar una cánula intratecal, permitió probar los efectos antinociceptivos de la oxitocina exógena, así como el efecto de un antagonista selectivo a este péptido. Además, la estimulación eléctrica de estructuras del sistema nervioso central, como es el caso del PVN del hipotálamo, permitió estudiar el efecto de la OT secretada por dicho núcleo y comparar su efecto con la OT administrada intratecalmente.

Los resultados observados con la estimulación eléctrica del PVN, así como con la administración previa (2 minutos) a la estimulación, de un antagonista selectivo a la OT, sugiere que:

Aunque la estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo no sólo produce y libera OT, es este neuropéptido el que contribuye a la disminución de respuestas evocadas por estímulos térmicos y mecánicos no nociceptivos, en ratas con el modelo de la ligadura floja del nervio ciático.

Al comparar los efectos de la OT exógena (vía intratecal) con los efectos de la OT endógena, se observa que tienen el mismo efecto, ya que la OT independientemente del tipo de administración, es capaz de disminuir las respuestas generadas por estímulos tanto mecánicos como térmicos. Esto sugiere que al administrar OT intratecalmente, esta llega a sus sitios de unión localizados en la médula espinal, los cuales se encuentran localizados en las capas superficiales (láminas I y II de Rexed) del asta dorsal, las columnas intermedio lateral (IML), la materia gris intermediomedial (IMM), así como alrededor de la lámina X que corresponde a la zona que rodea al canal central (Swanson y McKellar, 1979; Wagner y Clemens, 1993; Rabhi y col., 1999; Reiter y col., 1994) de igual forma que lo hace cuando se activa la vía oxitocinérgica generada en el PVN descrita por Sawchenko y Swanson (1982). Cabe señalar que los efectos antinociceptivos que se han descrito han sido vía intratecal (Shuang-Quan y col., 2003; Yang, 1994), vía intracerebroventricular (Arletti y col., 1993; Yuang y col., 2002; Lund y col., 2002) y vía estimulación del PVN del hipotálamo (Shiraishi y col., 1995). La administración sistémica no produciría estos efectos debido a que la OT no atraviesa la barrera hematoencefálica.

El mecanismo de acción de la OT endógena a nivel de la médula espinal, no se ha establecido completamente. Una posibilidad es que actúe directamente sobre la neurona de proyección, o bien, que actúe a nivel de la fibra aferente nociceptiva (ver figura 19).

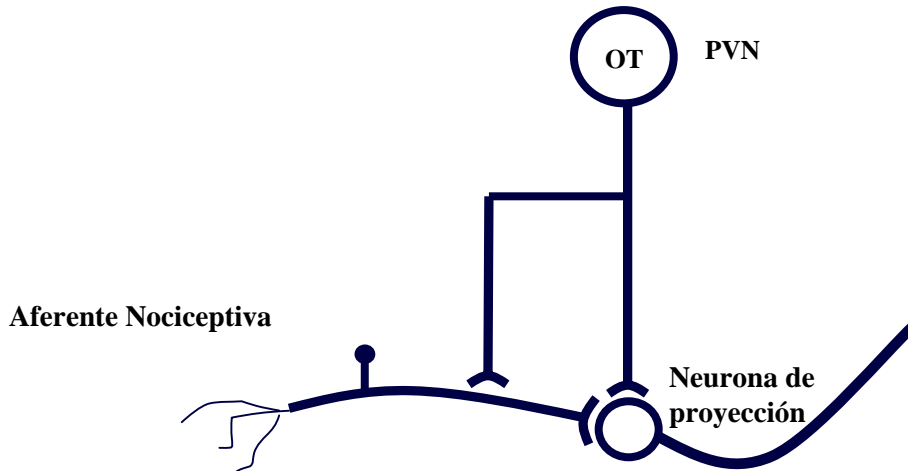


Figura 19. Posibles mecanismos de acción de la OT sintetizada y liberada por el PVN del hipotálamo.

Sin embargo, los registros electrofisiológicos del grupo de Condés-Lara, (2003) han demostrado que la estimulación del PVN del hipotálamo es capaz de disminuir significativamente la actividad de fibras de conducción lenta, no así en cambio, la actividad de las fibras de conducción rápida. Esto sugiere que la OT sobre la aferente nociceptiva y no sobre la neurona de proyección (ver figura 20).

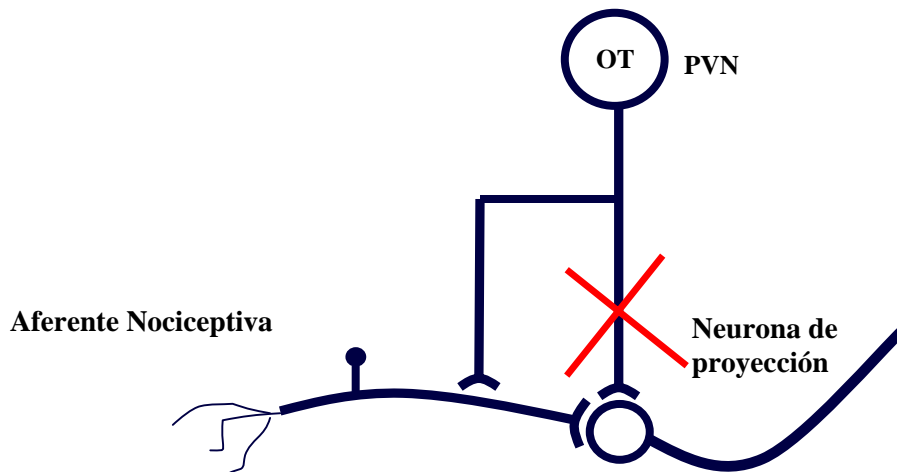


Figura 20. Mecanismo de acción propuesto para la OT liberada del PVN.

Algunos autores han sugerido que el mecanismo de acción de la OT a nivel de la médula espinal está mediado por los péptidos opioides (Caron y col., 1988;



Shuang-Quan y col., 2003). Sin embargo, Lundeberg y col., (1994) han señalado que los efectos antinociceptivos de la OT pueden ser bloqueados por un antagonista selectivo a la OT pero no por un antagonista a los opioides. Esto sugiere que el mecanismo de acción de la OT, no es directo sobre las neuronas de primer orden sino que está mediado por interneuronas inhibitorias. En este aspecto, los registros electrofisiológicos de Condés-Lara y col., (2003) han demostrado, que la actividad de fibras nociceptivas activadas por estimulación periférica, disminuye significativamente tras la estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo, y que además, la estimulación del PVN activa otras neuronas que no respondían a la estimulación periférica (ver figura 21). Estos resultados sugieren que la OT ejerce su efecto a través de interneuronas. Existen dos principales clases de neuronas inhibitorias localizadas en la superficie de las astas dorsales de la médula espinal, las encefalinérgicas y las GABAérgicas. Por lo que ahora, la pregunta a responder fue ¿qué clase de interneurona media la actividad de la OT?

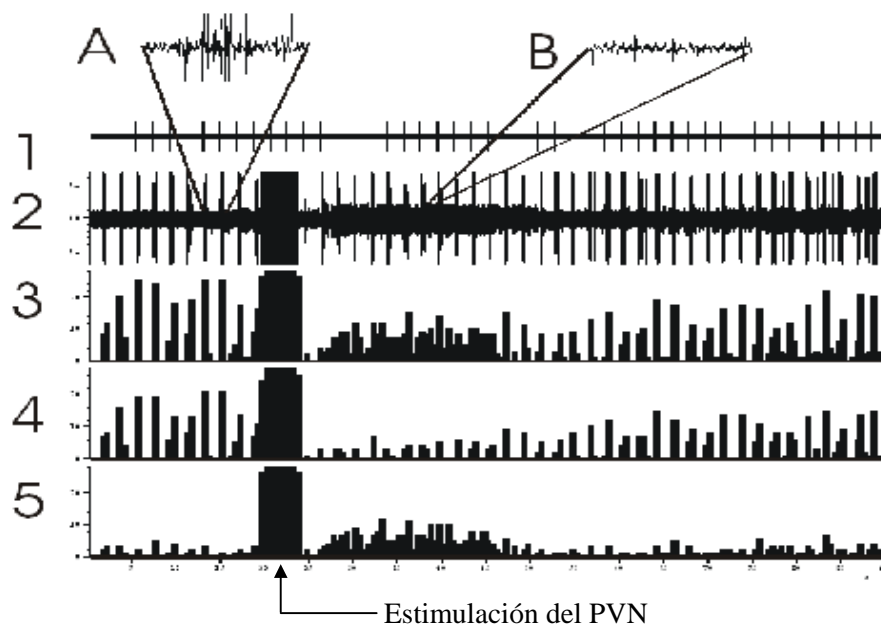


Figura 21. Registro electrofisiológico. Se observa en canal 1: artefactos de estimulación, canal 2: actividad generada por estimulación periférica antes y después de la estimulación del PVN. Note que la actividad disminuye pero al mismo tiempo, aparece una nueva actividad, canal 3: histograma de respuestas de la actividad, canales 4 y 5: histogramas de respuesta de las dos diferentes neuronas. En el canal 4 se muestra el patrón de actividad de la neurona que antes de la estimulación eléctrica respondía ante la presencia de estímulos periféricos nociceptivos. Obsérvese que la actividad disminuye después de la estimulación del PVN. En el canal 5 se exhibe el

comportamiento de otra neurona, la cual no responde a la estimulación periférica pero que se activa tras la estimulación del PVN.

En este trabajo se evaluó la posible participación de interneuronas encefalinérgicas en el mecanismo de acción de la OT, administrando intratecalmente dos minutos antes a la estimulación del PVN del hipotálamo, un antagonista selectivo a los opiodes, la naloxona. Los resultados señalan que la administración de naloxona previa a la estimulación del PVN del hipotálamo disminuye significativamente el porcentaje de respuestas, aunque esta disminución no alcanza los niveles obtenidos únicamente con la estimulación. Las inyecciones de naloxona fueron realizadas al nivel de los sitios de unión de OT en la médula espinal, debido a que los sitios de unión a OT, tienen una localización similar con los receptores mu, delta y kappa de los opiodes (Reiter y col., 1994). La reducción observada con la administración de naloxona, sugiere que los efectos de la OT no son mediados por el sistema opioide. Sin embargo, deben realizarse más mediciones administrando únicamente naloxona, y así como más mediciones con naloxona-estimulación del PVN del hipotálamo para llegar a una conclusión. Además, deben realizarse mediciones inyectando un antagonista a GABA<sub>A</sub> como lo es la bicuculina, sobre todo porque en los registros electrofisiológicos que se realizan en el laboratorio, la disminución de la actividad de fibras C, se ve bloqueada por la administración de bicuculina, lo cual sugiere que el mecanismo de acción de la OT pudiera estar mediado por interneuronas gabaérgicas, evidenciando más, la no participación de encefalinas. Cabe señalar que los resultados de los registros electrofisiológicos se han obtenido con ratas sin ningún proceso de dolor neuropático. Por tal motivo, para hacer un correlato electrofisiológico y conductual, deben hacerse más mediciones utilizando ambos antagonistas, mientras que en el caso de los registros, se deben realizar en ratas con procesos de dolor neuropático.

El análisis de las respuestas provocadas por los tres diferentes filamentos de von Frey en las mediciones control, indican que los tres filamentos son inocuos para

las ratas y que la ligadura del nervio ciático provoca una sensibilización central que genera un proceso de alodinia mecánica, por medio del cual un estímulo que en condiciones normales no produce una respuesta nociceptiva (reflejado en el porcentaje de respuestas observado), resulta nociceptivo (incremento significativo en el porcentaje de respuestas).

Solo en el grupo experimental (OT exo y OT endo) se observa la respuesta de mayor intensidad (+++), la cual es generada por la estimulación mecánica. Esta respuesta exacerbada indica que el modelo de la ligadura floja del nervio ciático genera hiperalgesia mecánica. Seguramente si se hubiera utilizado también un filamento que generara una respuesta nociceptiva en el grupo control y falso operado (entre el 50 y el 70% de respuestas) la hiperalgesia sería más clara de distinguir en una gráfica similar a la que se presenta en la figura 3. Por otro lado, la desaparición de esta respuesta los días en que se administró OT (exógena y endógenamente) señala que la OT disminuyen la hiperalgesia mecánica producida por la ligadura floja del nervio ciático.

Para descartar que los efectos en la disminución de respuestas provocado por la OT, fuera producto de un impedimento motor, se realizó una prueba de coordinación motora en 4 sujetos del grupo OT exo. Se tuvo que hacer una modificación en el programa de entrenamiento debido a que las ratas no pudieron completar el entrenamiento original, esto se explica debido a que las ratas con el proceso de neuropatía presentan alodinia mecánica y por tanto debe resultar muy molesto y complicado para ellas completar un programa diseñado para ratas sin ningún proceso de dolor que implique el contacto directo con superficies no lisas, así como movimiento constante de extremidades posteriores. En los resultados de esta prueba no se observó que la OT influyera en que se completara o no la prueba, sin embargo, una rata independientemente del tratamiento administrado (OT o NaCl) no logró llevar a cabo la prueba, ya que como se describió en los resultados, la conducta que presentó era parecida a la inquietud, por lo que la no-

completación de la prueba puede atribuirse más a un estado de inquietud que a un déficit motor provocado por la administración de OT.

La inspección visual de la región a la cual llegó la punta de la cánula implantada en el grupo OT exo, reveló que en todas las ratas inspeccionadas (14 de 20), la punta se localizó en el ensanchamiento lumbo-sacro (a diferentes niveles) que es la región donde converge la inervación de las patas posteriores.

## VIII. CONCLUSIONES

1. Este estudio demuestra que tanto la administración exógena (vía intratecal) como endógena (por medio de la estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo) de OT, disminuye las respuestas generadas por estímulos mecánicos no-nociceptivos, en ratas con un modelo de dolor neuropático producido por una doble ligadura floja del nervio ciático.
2. Tanto la administración intratecal de OT como la estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo, desaparecen las respuestas mecánicas de mayor intensidad (+++), las cuales únicamente se presentan en los grupos de animales sujetos al proceso de dolor neuropático.
3. La OT, independientemente de la vía de administración, genera una conducta única y diferente entre las ratas, de la cual sobresalen la eyaculación y el acicalamiento intenso, además por supuesto de los efectos antinociceptivos.
4. La no-disminución en el porcentaje de respuestas ante la administración previa a la estimulación del PVN del hipotálamo, de un antagonista selectivo a la OT, indica que pese a que la estimulación de este núcleo no sólo produce y libera OT, es este neurotransmisor el que está involucrado en el proceso de antinocicepción.
5. La disminución en el porcentaje de respuestas ante la administración intratecal de naloxona, previa a la estimulación del PVN del hipotálamo, sugiere que los péptidos opiodes no tienen una participación en el mecanismo de acción de la OT en ratas con un modelo de dolor neuropático.
6. Los efectos antinociceptivos generados por la estimulación eléctrica del PVN del hipotálamo están en función del sitio de estimulación, encontrándose mayores efectos en el área parvocelular en comparación con el área posterior.
7. Las pruebas de coordinación motora indican que la OT no impide el movimiento de las extremidades de las ratas, por lo que la disminución en

el porcentaje de respuestas observado ante la administración de este neuropéptido, se deben a sus propiedades antinociceptivas y no a una posible generación de problemas o deficiencias motoras.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

Abdi, S., Lee, DH. y Chung, JM. The anti-allodynic effects of amitriptyline, gabapentin, and lidocaine in a rat model of neuropathic pain. *Anesth Anal.*, 87 (1998) 1360 – 1366.

Akil, H., Watson, SJ., Young, E., Lewis, ME., Khachaturian, H. y Wlaker, JM. Endogenous opioids: biology and function. *Annu Rev Neurosci.*, 7 (1984) 223 – 255.

Argiolas, A., Melis, MR. y Gessa, GL. Oxytocin: an extremely potent inducer of penile erection and yawning in male rats. *Eur J Pharmacol.*, 130 (1986) 265 – 272.

Arletti, R., Benelli, A. y Bertolini, A. Influence of oxytocin on nociception and morphine antinociception. *Neuropeptides*, 24 (1993) 125 – 129.

Attal, N., Jazat, F., Kayser, V. y Guilbaud, G. Further evidence for 'pain-related' behaviours in a model of unilateral peripheral mononeuropathy. *Pain*, 41 (1990) 235 – 251.

Basbaum, AI. y Fields, HL. Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Annu Rev Neurosci.*, 7 (1984) 309 – 338.

Barberis, C., Tribollet, E. y Arsenijevic, Y. Vasopressin binding sites in the central nervous system: distribution and regulation. *Prog Brain Res.*, 119 (1998) 45 – 55.

Baron, R. y Janig, W. Complex regional pain syndromes –how do we escape the diagnostic trap? *Lancet*, 364 (2004) 1739 – 1741.

Bennett, GJ. An animal model of neuropathic pain: a review. *Muscle Nerve*, 10 (1993) 1040 – 8.

Bennett, GJ. y Xie, YK. A peripheral mononeuropathy in rats produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 33 (1988) 87 – 107.

Bessou, P. y Perl, ER. Response of cutaneous sensory units with unmyelinated fibers to noxious stimuli. *J Neurophysiol.*, 32 (1969) 1025 – 1043.

Beydoun, A., Dyke, DBS., Morrow, TJ. y Casey, KL. Topical capsaicin selectively attenuate heat pain and Ad fiber-mediated laser-evoked potentials. *Pain*, 65 (1996) 189 – 196.

Bian, D., Nichols, M.L., Ossipov, M.H., Lai, J. y Porreca, F. Characterization of the antiallodynic efficacy of morphine in a model of neuropathic pain in rats. *NeuroReport*, 6 (1995) 1981 – 1984.

Bonica, JJ. y Procacci P. *General considerations of acute pain.* . En Bonica JJ. The management of pain. Lea and Febiger, *Philadelphia* (1990) 159 – 179.

Bonica, JJ. Definitions and taxonomy of pain. En Bonica JJ. The management of pain. 2<sup>nd</sup> edition. Lea and Febiger, *Philadelphia* (1990) 18 – 27.

Burgess, PR. y Perl, E. Myelinated afferent fibers responding specifically to noxious stimulation of the skin. *J. Physiol*, 190 (1967) 54 – 62.

Campbell, JN. y LaMotte, RH. Latency to detection of first pain. *Brain Res.*, 266 (1983) 203 – 208.

Caron, RW., Leng, G., Ludwig, M. y Russell, JA. Naloxone-induced supersensitivity of oxytocin neurons to opioid antagonist. *Neuropharmacology*, 37 (1998) 887 – 897.

Carpenter, M. Neuroanatomía. Fundamentos. Editorial Médica Panamericana, 4ta ed. Buenos Aires, (1994) 92 – 97.

Cervero F, Laird JM. y Pozo MA. Selective changes of receptive field properties of spinal nociceptive neurones induced by noxious visceral stimulation in the cat. *Pain*, 51 (1992) 335 – 42.

Cervero, F. y Laird, J.M. Visceral pain. *Lancet*, 353 (1999) 2145 – 2148.

Coderre, T., Katz, J., Vaccarino, A. y Melzack, R. Contribution of Central Neuroplasticity to Pathological Pain. Review of clinical and experimental evidence *Pain*, 52 (1993) 259 – 285.

Condés-Lara, M., Veinante, P., Rabai, M. y Freud-Mercier, MJ. Correlation between sensitivity and oxytocin-binding sites in the amygdala of the rat: electrophysiological and histoautoradiographic study. *Brain Research*, 637 (1994) 277 – 286.

Condés-Lara, M., Marina-González, N., Martínez-Lorenzana, G., Luis-Delgado, O. y Freund-Mercier, MJ. Actions of oxytocin and interactions with glutamate on spontaneous and evoked dorsal spinal cord neuronal activities. *Brain Research*, 976 (2003) 75 – 81.

Chaplan, SR., Bach, FW., Progel, JW., Chung, JM. y Yaksh, TL. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods*, 53 (1994) 55 – 63.

Chaplan, SR., Bach, FW., Shafer, SL. y Yaksh, TL. Prolonged alleviation of tactile allodynia by intravenous lidocaine in neuropathic rats. *Anesthesiology*, 83 (1995) 775 – 785.



Dagnino, S.J. Boletín Esc. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile 23 (1994) 148 – 151.

De la Calle, L., Mena, MA. y González-Escalada, JR. Intrathecal transplantation of neuroblastoma cells decrease heat hyperalgesia and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Brain Research Bulletin*, 59 (2002) 205 – 211.

Drago, F., Pedersen, CA., Caldwell, JD. y Prange, AJ. Oxytocin potently enhances novelty-induced grooming behavior in the rat. *Brain Res.*, 368 (1986) 287 – 295.

Fauci, A.S. e Isselbacher, K.J. (Eds.). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw-Hill, New York (2001)

Fernández, E. y Turk, DC. Sensory and affective components of pain: Separation and synthesis. *Psychological Bulletin*, 112 (1992) 205 – 217.

Fields, H. En: *Pain*. McGraw-Hill, New York. (1987)

Fields, H. y Martin, JB. *Pain: Pathophysiology and management*. En: Braunwald. Philadelphia, (2001) 24 – 32.

Gimpl, G. y Fahrenholz, F. The human oxytocin receptor in cholesterol-rich Vs cholesterol-poor microdomains of the plasma membrane. *Eur J Biochem.*, 267 (2000) 2483 – 2497.

Gradl, G., Gaida, S., Gierer, P., Mittlmeimer, T. y Vollmar, B. In vivo evidence for apoptosis, but not inflammation in the hindlimb muscle of neuropathic rats. *Pain*, 112 (2004) 121 – 130.

Handwerker, HO. y Kobal, G. Psychophysiology of experimentally induced pain. *Physiol. Rev.*, 73 (1993) 639 – 671.

Hees, R. Neurophysiological mechanism of pain perception methods find. *Exp Clin Pharmacol*, 12 (1982) 13 – 9.

International Association for the Study of Pain, Subcommittee on Taxonomy. Classification of Chronic Pain. *Pain* 1986; 3 :S3-S12 y S216-S221.

Jean Marie, B. y Athmane, Ch. Peripheral and Spinal Mechanisms of Nociception. *Physiological Reviews*, 67 (1987)

Jessell, M y Basbaum, A. La percepción del dolor. En: *Principios de Neurociencia*. 4ta edición. McGraw-Hill. España (2000) 472 – 490.

Jo, YK., Stoeckel, ME., Freund-Mercier, MJ. y Schlichter, R. Oxytocin modulates glutamatergic synaptic transmission between cultured neonatal spinal cord dorsal horn neurons. *J Neurosci*, 18 (1998) 2377 – 86.

Kimura, T., Makino, Y., Saji, F., Takemura, M., Inoue, T., Kikuchi, T., Kubota, Y., Azuma, C., Nobunaga, T., Tokugawa, Y. y Tanizawa, O. Molecular characterization of a cloned human oxytocin receptor. *Eur J Endocrinol.*, 131 (1995) 385 – 390.

León-Olea, M. Evolución filogenética del dolor. *Elementos, ciencia y cultura.* 46 (2002) 19 – 24.

Ludenberg, T., Uvnas-Moberg, K., Agren, G. y Bruzelius, G. Anti-nociceptive effects of oxytocin in rats and mice. *Neuroscience Letters*, 170 (1994) 153 – 157.

Lund, I., Yu, LC., Uvnas-Moberg, J., Yu, C., Kurosawa, M., Agren, G., Rosen, A., Lekman, M. y Lundenberg, T. Repeated massage-like stimulation induces long-term effects on nociception: contribution of oxytocinergic mechanisms. *Eur J Neurosci.*, 16 (2002) 330 – 338.

Mao, J. y Chen, LL. Systemic lidocaine for neuropathic pain relief. *Pain*, 87 (2000) 7 – 17.

Melis, MR. y Argiolas, A. Neuromodulation of penile erection: an overview of the role of neurotransmitters and neuropeptides. *Progress in Neurobiology*, 47 (1995) 235 – 255.

Melis, MR., Argiolas, A. y Gessa, GL. Oxytocin-induced penile erection and yawning: site of action in the brain. *Brain Res.*, 29 (1986) 259 – 265.

Melzack, R. *The Puzzle of Pain.* Basic Books, Inc., Publishers. New York. 1973.

Melzack, R. y Wall, P. Pain mechanisms: a new theory. *Science*, 699 (1965) 971 – 979.

Melzack, R. y Casey, KL. *The skin senses.* Springfield IL (1968) 423 – 443.

Mendell, LM. y Wall, PD. Responses of single dorsal cord cells to peripheral cutaneous unmyelinated fibres. *Nature*, 206 (1965) 97 – 99.

Mense, S. Nociception from skeletal muscle in relation to clinical muscle pain. *Pain*, 54 (1993) 241 – 289.

Merk, S. y Dohme. *Sobre un mejor entendimiento del dolor.* De Venezuela C.A. (1985) 2 – 13.

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

Messing, RB. y Campbell, BA. Dissociation of arousal and regulatory behaviors induced by hypertonic and hypovolemic thirst. *J Comp Physiol Psychol.*, 76 (1971) 305 – 310.

Millan, MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol*, 66 (2002) 355 – 474.

Ossipov, MH., Lai, J., Malan, Jr TP. y Porreca, F. Spinal and supraspinal mechanisms of neuropathic pain. *Ann NY Acad Sci.*, 909 (2000) 12 – 24.

Paille C. Vías de conducción del estímulo doloroso. En C. Paille, H. Saavedra (Eds). *El dolor, aspectos básicos y clínicos*. Santiago: Mediterráneo, (1990) 31 – 47.

Paxinos, G. y Watson, C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Academic Press, Sydney, 4 edition, 1997.

Pedersen, CA, Ascher, JA., Monroe, YL. y Prange, AJ.Jr. Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. *Science*, 21 (1982) :648-649.

Penzo W. (1989). *El dolor crónico. Aspectos psicológicos*. Barcelona. Martinez Roca SA.

Perl, ER. Function of dorsal root ganglion neurons: An overview In: S.A. Scott, Editors, *Sensory neurons: Diversity, Development and Plasticity*, Oxford University Press, New York (1992) 3 – 23.

Pert, C. y Snyder, S. Opiate receptor demonstration in nervous tissue. *Science*, 179 (1973) 1001 – 1014.

Price DD, Hayes RL, Ruda M. y Dubner R. Spatial and temporal transformations of input to spinothalamic tract neurons and their relation to somatic sensations. *J Neurophysiol*, 41 (1978) 933 – 947.

Rabhi, J., Stoeckel, ME., Calas, A. y Freund-Mercier, MJ. Histoautographic localization of oxytocin and vasopressin sites in the central nervous system of the merione (*Meriones shawi*). *Brain Res Bull.*, 48 (1999) 147 –163.

Raggenbas, M. Vasopressin –and oxytocin- induced activity in the central nervous system: electrophysiological studies using in-vitro systems. *Prog Neurobiol.*, 64 (2001) 307 – 326.

Reiter, MK., Kremarik, P. Freund-Mercier, MJ., Stoeckel, ME., Desaulles, E. y Feltz, P. Localization of oxytocin binding sites in the thoracic and upper lumbar spinal cord of the adult and postnatal rat: a histoautoradiographic study. *Eur J Neurosci.*, 6 (1994) 98 – 104.

Robinson, D.A., Wei, F., Wang, G.D., Li, P., Kim, S.J., Vogt, S.K., Muglia, L.J. y Zhuo, M. Oxytocin mediates stress-induced analgesia in adult mice. *Journal of Physiology*, 540 (2002) 593 – 606.

Rojas-Piloni, G., Martínez-Lorenzana, G., Miranda-Cárdenas, Y, Sánchez Camacho, V., López-Hidalgo, MA., Rodríguez-Jiménez, J. y Condés-Lara, M. La proyección oxitocinérgica hipotálamoespinal modula las respuestas neuronales provocadas por estimulación nociceptiva en la rata. XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Guadalajara, Jalisco, 2005.

Sawchenko, P.E. y Swanson, L.W. Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the medulla or to the spinal cord in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 205 (1982) 260 – 272.

Shiraishi, T., Onoe, M., Kojima, T., Sameshima, Y. y Kageyama, T. Effects of hypothalamic paraventricular nucleus: electrical stimulation produced marked analgesia in rats. *Neurobiology*, 3 (1995) 393 – 403.

Shuang-Quan, Y., Lundeberg, T. y Long-Chuan Y. Involvement of oxytocin un spinal antinociception in rats with inflammation. *Brain Research*, 983 (2003) 13 – 22.

Simone, DA. y Kajander, KC. Responses of cutaneous A-fiber nociceptors to noxious cold. *J Neurophysiol*, 77 (1997) 2049 – 2060.

Sinnott, C.J., Garfield, JM. y Strichartz, GR. Differential efficacy of intravenous lidocaine in alleviating ipsilateral versus contralateral neuropathic pain. *Pain*, 80 (1999) 521 – 531.

Smith, LJ., Shih, A., Miletic, G. y Miletic, V. Continual systemic infusion of lidocaine provies analgesia in an animal model of neuropathic pain. *Pain*, 97 (2002) 267 – 273.

Sosnowski, M., Lebran, P. y Fodderie, L. Receptores; vías nerviosas y mecanismos. *Clin. Anest. Nortamer*, 2 (1992) 223 – 241.

Stanton-Hicks, Jäning, W. y Hassenbusch, S. Reflex sympathetic dystrophy: changing concepts and taxonomy. *Pain*, 63 (1995) 127 – 133.

Swanson, LW. y McKellar, S. The distribution of oxytocin and neurophysin-stained fibers in the spinal cord of the rat and monkey. *J Comp Neurol.*, 188 (1979) 87 – 106.

Treede, RD. y Magerl, W. Moder concepts of pain and hyperalgesia: beyond the polymodal C-nociceptor. *Physiol. Sci.*, 10 (1995) 216 – 228.

Thomas, PK. Clinical features and differential diagnosis of peripheral neuropathy. Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH, Bunge R, editors. *Peripheral neuropathy*, vol. 2. Philadelphia, PA: WB Saunders, (1984) 1169 – 1190.

Torregrosa, ZS. Mecanismos y vías del dolor. *Boletín Esc. de Medicina. P. Universidad de Chile*, 23 (1994) 202 – 206.

Uvnas-Moberg, K., Bruzelius, G., Alster, P., Bileviciute, I. y Lundeberg, T. Oxytocin increases and a specific oxytocin antagonist decreases pain threshold in male rats. *Acta Physiologica Scandinavica*, 144 (1992) 487 – 488.

Wagner, CK. y Clemens, LG. Neurophysin-containing pathway from the paraventricular nucleus of the hypothalamus to a sexually dimorphic motor nucleus in lumbar spinal cord. *J Comp Neurol.*, 336 (1993) 106 – 116.

William, G. y Spiegel, D. Neuropsychiatric Aspect of Pain Management. En: *The American Psychiatric Press. Textbook of Neuropsychiatry.* (1983) 246 – 273.

Willis, WD. En: *The pain System: The neural basis of nociceptive transmission in the mammalian nervous system.* Basel: Karger (1985)

Willis, WD., Westlund, KN. Neuroanatomy of the pain and the pathway that modulate pain. *J Clin Neurophysiol.*, 14 (1997) 2 – 31.

Wilson, P. y Lamer, T. En: *Evaluación del paciente con dolor: Mecanismos del Dolor. anatomía y fisiología.* Prithvi P: Manejo Práctico del Dolor. De. 2. México; (1995) 65 – 79.

Woolf, CJ. y Mannion RJ. Neuropathic pain: etiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet*, 353 (1999) 1959 – 1964.

Yaksh, TL. y Rudy, TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiology and Behavior*, 17 (1976) 1031 – 1036.

Yang, J. Intrathecal administration of oxytocin induces analgesia in low back pain involving the endogenous opiate peptide system. *Spine*, 19 (1994) 867 – 871.

Yuang, G., Ludenberg, T. y Long-Chuan, Y. Blockade effect of mu and kappa opioid antagonists on the anti-nociception induced by intra-periaqueductal grey injection of oxytocin in rats. *Brain Research*, 927 (2002) 204 – 207.

Zangen, A., Herzberg, U., Vogel, Z. y Yadid, G. Nociceptive stimulus induces release of endogenous  $\beta$ -endorphin in the rat brain. *Neuroscience*, 85 (1998) 659 – 662.

Zimmermann, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 16 (1983) 109 – 110.

## **ABREVIATURAS**

AOT antagonista selectivo a la oxitocina

i.c.v. inyecciones intracerebroventriculares

IN interneuronas

MN motoneuronas

NE neuronas nociceptivas específicas

NP neuronas de proyección

OT oxitocina

PreG neuronas preganglionares

PVN núcleo paraventricular

SNC sistema nervioso central

SON núcleo supraóptico

VD vías descendentes

WDR neuronas de amplio rango dinámico