

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

**“Caracterización electrofisiológica de neuronas
del asta dorsal de la médula espinal que responden a estimulación
periférica y al núcleo paraventricular del hipotálamo de la rata”**

T E S I S

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

P R E S E N T A

LBM. MÓNICA ANDREA LÓPEZ HIDALGO

DIRECTOR DE TESIS: Dr. MIGUEL CONDÉS-LARA

CAMPUS UNAM-JURIQUILLA,

QUERÉTARO 2007



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.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
(CONACyT) por el apoyo que me brindo para realizar
estudios de Maestría en el Instituto de Neurobiología de la
Universidad Nacional Autónoma de México.
Número de becario:194523

Agradezco a la Dra. Guadalupe Martínez Lorenzana por su asistencia y colaboración en el análisis histológico del presente trabajo experimental.

Agradezco el apoyo brindado por los bibliotecarios Pilar Galarza Barrios y Rafael Silva Cruz durante la realización de mi trabajo de tesis.

Agradezco a la responsable del área de enseñanza: Quím. Leonor Casanova Rico.

Dicen que el dolor es el hijo del aire y de la tierra, que son elementos indispensables para la vida, dicen que se viste con amplios ropajes blancos y emblade un puñal, y que se hermana con aquella que viste de negro y siempre lleva una guadaña. Parece pues, que el dolor es el compañero inseparable de la muerte, la constatación y la prueba del sufrimiento último, que paradójicamente es el cese de todas las emociones

ANONIMO

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES	7
I. Bases neurofisiológicas de la transmisión de información nociceptiva.....	7
A. Origen y transmisión de la información nociceptiva.....	7
B. Integración de la información sensorial en el asta dorsal de la médula espinal.....	8
C. Vías ascendentes que transmiten la información nociceptiva.....	8
1. Tracto espinocervicotalámico.....	9
2. Tracto de las columnas dorsales.....	10
3. Tracto espinoparabraquial.....	10
4. Sistema anterolateral.....	11
a) Tracto espinotalámico.....	11
b) Tracto espinoreticular.....	11
c) Tracto espinomesencefálico.....	13
II. Modulación de la información nociceptiva.....	13
A. Controles segmentales.....	14
B. Vías descendentes.....	17
1. Vía noradrenérgica.....	17
2. Vía serotoninérgica.....	18
3. Vía oxitocinérgica.....	21
a) La OT y su receptor.....	21
b) La OT como modulador de la información nociceptiva en la médula espinal.....	22
CAPÍTULO 3: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
CAPÍTULO 4: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	26
I. Hipótesis.....	26
II. Objetivo general.....	26

II. Objetivos particulares.....	26
CAPÍTULO 5: MATERIAL Y MÉTODOS.....	27
I. Preparación experimental.....	27
II. Registro y estimulación.....	27
III. Aplicación de fármacos.....	29
IV. Análisis de los registros electrofisiológicos.....	29
V. Histología.....	30
VI. Análisis estadístico.....	30
CAPÍTULO 6: RESULTADOS.....	32
I. Efecto de la estimulación eléctrica del NPV sobre las respuestas neuronales.....	32
II. Papel del AOT y BIC sobre el efecto producido por la estimulación del NPV o la aplicación tópica de OT.....	34
III. Papel de la Nalx sobre el efecto antinociceptivo de la estimulación del NPV o por la aplicación tópica de OT.....	39
IV. Efecto de la BIC, AOT y Nalx sobre las respuestas neuronales	42
V. Localización de los sitios de registro.....	43
CAPÍTULO 7: DISCUSIÓN	44
I. La OT como un modulador de la nocicepción.....	44
II. Mecanismos de acción de la OT.....	46
III. Participación de interneuronas inhibitorias espinales en el circuito hipotálamo-espinal.....	48
IV. Activación fisiológica de la vía hipotálamo-espinal.....	52
CAPÍTULO 8: CONCLUSIONES.....	56
APENDICE 1: TIPOS DE DOLOR.....	57
APENDICE 2: MEDIADORES QUÍMICOS DEL DOLOR.....	63
CAPÍTULO 9: BIBLIOGRAFÍA.....	67
CAPITULO 10: ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS.....	77

RESUMEN

Evidencias recientes han sugerido que la oxitocina (OT) liberada por fibras descendentes del Núcleo Paraventricular Hipotalámico (NPV), disminuye las respuestas nociceptivas en el asta dorsal de la médula espinal. De igual manera se ha sugerido que la oxitocina indirectamente inhibe la transmisión sensorial en el asta dorsal a través de la activación de interneuronas inhibitorias. Sin embargo, no se conocen las interacciones sinápticas que a nivel de la médula espinal participan en los efectos antinociceptivos mediados por OT.

En este trabajo, se propone que la proyección hipotálamo-espinal ejerce sus efectos antinociceptivos a través de la activación de interneuronas inhibitorias GABAérgicas y/o encefalinérgicas. Para este propósito, se realizaron registros extracelulares unitarios en el asta dorsal de los segmentos lumbares de ratas anestesiadas. Los microelectrodos de registro se acoplaron a pipetas triples de inyección las cuales se llenaron con bicuculina (antagonista del receptor GABA_A), Naloxona (antagonista opiáceo), AOT (antagonista específico de la OT) y OT. De esta manera, se evaluó el efecto de estos fármacos sobre las respuestas neuronales provocadas por la estimulación de los campos receptivos periféricos, antes y después de la estimulación eléctrica del NPV.

Los hallazgos indican que la estimulación del NPV inhibe únicamente las respuestas provocadas por la activación de fibras A-delta y C. Asimismo, el efecto de la estimulación eléctrica del NPV fue bloqueado en presencia del AOT y bicuculina. En contraste, la aplicación de Naloxona produjo sólo una ligera reducción en el efecto inhibitorio provocado por la estimulación del NPV. Estos resultados sugieren que los efectos antinociceptivos producidos por la activación de la vía oxitocinérgica hipotálamo-espinal, están mediados por receptores GABA_A y a opiáceos.

ABSTRACT

Recent evidences has shown that oxytocin (OT) released by descending Paraventricular Hypothalamic Nucleus (NPV) fibers, diminishes the nociceptive dorsal horn neuronal responses, resulting in the production of antinociception and analgesia. It has been suggested that OT indirectly inhibits sensory transmission in dorsal horn neurons by exciting spinal inhibitory interneurons. However little is known about the synaptic interactions at spinal cord level involved in this phenomenon.

In this work is proposed that oxytocinergic hypothalamo-spinal projection mediates its antinociceptive effects by activating GABAergic and/or enkephalinergic dorsal horn inhibitory interneurons. In anaesthetized rats single-unit extracellular recordings were made from dorsal horn lumbar segments. The recording electrode was coupled to triple-barrelled glass micropipettes. The micropipette barrels were filled with bicuculline (GABA_A antagonist), naloxone (opiate antagonist) OT antagonist (AOT) or OT. The drug's effects on neuronal responses evoked by peripheral receptive field stimulation before and after electrical stimulation of ipsilateral NPV were tested.

Data showed that NPV electrical stimulation inhibits neuronal responses evoked only by A delta and C-fiber activation. The effect of NPV electrical stimulation was blocked by topical administration of AOT and bicuculline. On the other hand, naloxone application produced only a slight reduction on the effects caused by NPV stimulation. Similar results were obtained when instead of NPV stimulation OT was applied. These results suggest that NPV-antinociceptive effects in the spinal cord are mediated by opioids and GABA_A receptors.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) define al dolor como una experiencia emocional y sensorial asociada con un daño tisular real o potencial, o descrita en tales términos (Merskey y Bogduk, 1994). El dolor es influenciado por experiencias previas por lo que se dice que tiene una connotación individual (Merskey y Bogduk, 1994) y tiene como función la de proteger y alertar al organismo de un posible daño. Dicha función aplica para las manifestaciones agudas como por ejemplo el dolor producido por un pinchazo, el cual es delimitado en el tiempo y desaparece con la resolución del proceso de la lesión; sin embargo, pierde el significado de proteger y alertar al organismo en el caso del dolor crónico. Este tipo de dolor persiste por un período de tiempo extendido independiente del estímulo y se encuentra asociado a procesos patológicos crónicos que causan sufrimiento en las personas (Nathan, 1977; Merskey y Bogduk, 1994) (para su revisión ver Apéndice 1). Al respecto, se estima que en Estados Unidos el 10% de la población sufre migraña, 25% sufre lumbalgia y 75% de las personas que tienen cáncer sufren de dolor. Sin embargo, el dolor crónico no sólo pone en riesgo la integridad física y emocional de la persona, sino que además, se vuelve un problema de salud pública muy costoso. En este sentido, un paciente con dolor crónico puede tener costos en salud que varían de 500 a 35,000 dólares por año, sin tomar en cuenta los procedimientos quirúrgicos, los que aumentarían en mucho los cálculos. El costo anual calculado en la atención de problemas de lumbalgia, migraña y artritis es de cerca de 40 mil millones de dólares. Este cálculo no incluye los días laborales perdidos ni las compensaciones asociadas, que pueden hacer que esta cifra crezca de modo impredecible, en especial al envejecer la población y aumentar la expectativa de vida (Latham y Davis, 1994). Por tales razones, el estudio de los mecanismos de dolor y analgesia que pudieran beneficiar las condiciones

personales (emocionales y físicas) y sociales (económicas y laborales), debieran ser preponderantes en la investigación básica y clínica.

Un estímulo nocivo es capaz de provocar un daño tisular sin producir dolor necesariamente. Este tipo de estímulo activa receptores específicos llamados nociceptores, los cuales generan una experiencia a la que se le denomina nociceptiva. Del mismo modo, un fenómeno doloroso puede ocurrir espontáneamente sin la presencia de un estímulo nociceptivo, tal es el caso del dolor no nociceptivo, provocado por la reducción del umbral de los receptores como resultado de una alteración en el sistema nervioso central (SNC) (Casey, 2000). De esta manera, se hace una diferencia entre los términos nocicepción y dolor; el primero, se refiere a las manifestaciones neurofisiológicas producidas por el estímulo nocivo y a la identificación de las características propias de éste (localización espacial y temporal, e intensidad, entre otros). Mientras que el segundo involucra un componente cognitivo-afectivo que le atribuye un aspecto emocional (aversivo) a dicha experiencia, el cual requiere de la capacidad de abstracción y elaboración de un impulso sensorial (Millan, 1999). Por tales motivos, cuando se hace referencia al dolor en los animales, se prefiere utilizar el término nocicepción, ya que es imposible conocer el componente emocional que este le atribuye a cada estímulo. Por las razones antes mencionadas, en el presente trabajo se abordará el problema del dolor desde el punto de vista de la nocicepción.

Un descubrimiento muy importante para el estudio de la nocicepción, fue el conocer que había mecanismos propios del SNC, capaces de modificar la transmisión de la información nociceptiva a lo largo de los diferentes relevos sensoriales en el trayecto hacia la corteza somatosensorial. Una de las primeras evidencias de esto fue dada por Reynolds en 1969, cuando observó que la estimulación eléctrica del mesencéfalo de las ratas disminuía las respuestas a

estímulos nociceptivos. A dicho fenómeno le denominó analgesia producida por estimulación (SPA).

La médula espinal es uno de los sitios donde ha sido ampliamente estudiada la modulación de la información nociceptiva. Esta modulación ocurre a través de la activación de circuitos espinales (controles segmentales), o a través de la activación de neuronas localizadas en estructuras supraespinales las cuales proyectan directamente a las neuronas de la médula espinal. Si bien estos circuitos pueden ser independientes, generalmente se interconectan, es decir, las vías descendentes utilizan los circuitos neuronales intrínsecos de la médula espinal para ejercer su efecto. Un ejemplo de dicha relación se observa con las vías serotoninérgica y noradrenérgica, originadas en la Sustancia Gris Periacueductal (SGP) y en el *Locus Coeruleus* (LC) respectivamente, las cuales utilizan interneuronas GABAérgicas y encefalinérgicas de la médula espinal para ejercer su efecto (Westlund et al. 1984a,b).

Evidencias recientes, electrofisiológicas y conductuales, han permitido proponer que las neuronas del Núcleo Paraventricular del Hipotálamo (NPV) que proyectan a la médula espinal, modulan las respuestas a estímulos nociceptivos (Miranda-Cárdenas et al. 2006; Condés-Lara et al. 2006). Sin embargo, se desconocen los circuitos neuronales y los mensajeros químicos que participan en la modulación de dichas respuestas a nivel del asta dorsal. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue analizar si al igual que otras vías descendentes que modulan la información nociceptiva, la activación de la vía oxitocinérgica hipotálamo-espinal, utiliza interneuronas espinales encefalinérgicas y GABAérgicas para ejercer su efecto. Para este estudio se utilizaron ratas macho adultas (Wistar), ya que en esta especie se ha caracterizado con detalle la vía oxitocinérgica hipotálamo-espinal en el laboratorio, así como los efectos antinociceptivos de la oxitocina.

Finalmente, el conocer los mecanismos por los cuales los sistemas endógenos modulan la información nociceptiva puede, eventualmente, ayudar al desarrollo de nuevos fármacos y terapéuticas con mejores resultados en el control del dolor, y a un uso más racional de los fármacos.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

I. BASES NEUROFISIOLÓGICAS DE LA TRANSMISIÓN DE LA INFORMACIÓN NOCICEPTIVA

A. ORIGEN Y TRANSMISIÓN DE LA INFORMACIÓN NOCICEPTIVA

La propagación de la información nociceptiva se inicia con la activación de receptores específicos denominados nociceptores. Estos receptores se encuentran ampliamente distribuidos en la piel, mucosa, membranas, ligamentos, tejido conectivo de vísceras, órganos, entre otros (Almeida et al. 2004). Los nociceptores son terminales nerviosas libres las cuales se pueden clasificar de acuerdo al tipo de estimulación que los activa en dos clases: los primeros (unimodales), son aquellos que responden a estímulos mecánicos o térmicos, y se activan por presión o temperaturas extremas y; los nociceptores polimodales, que responden a una gran variedad de estímulos sensoriales (temperatura, presión, etc) pero en particular, son sensibles a los efectos destructivos del estímulo y no presentan relación con las propiedades físicas de la modalidad sensorial (Bessou y Perl, 1969).

La información de los nociceptores es transmitida a las neuronas del asta dorsal de la médula espinal a través de fibras aferentes primarias o neuronas de primer orden. Existen 2 tipos de fibras por las que se transmite la información nociceptiva: Las fibras A δ , ligeramente mielinizadas de 2-5 μm de diámetro y que conducen la información a una velocidad entre 4 y 36 m/seg; y C, sin mielina de 0.3-3 μm diámetro y que conducen la información a una velocidad entre 0.4 y 2 m/seg (Gasser y Erlanger, 1930).

B. INTEGRACIÓN DE LA INFORMACIÓN SENSORIAL EN EL ASTA DORSAL DE LA MÉDULA ESPINAL

Las neuronas de primer orden proyectan hacia el asta dorsal de la médula espinal, donde hacen contacto con las neuronas de segundo orden localizadas principalmente en las láminas I, II y V de Rexed (laminación a lo largo de la médula espinal con base en la citoarquitectura de las neuronas; Rexed, 1952). Con base en la recepción e integración de los estímulos aferentes, las neuronas del asta dorsal pueden ser clasificadas en neuronas de proyección, las cuales directamente transmiten la información a los centros supraespinales; neuronas intersegmentales o propioespinales, que integran la información en distintos niveles espinales ipsi y contralateralmente, mediando la inhibición descendente que participa en los mecanismos de sensibilización; y en interneuronas, que pueden ser inhibitorias o excitatorias (Almeida et al. 2004). También pueden clasificarse con base en el tipo de estímulo al que responden, en nociceptivas específicas (SN), las que reciben únicamente información dolorosa; no nociceptivas (N-NOC), que reciben diferentes estímulos exceptuando los nociceptivos y, las de amplio rango dinámico (WDR), las cuales son de gran importancia para la integración de la información y la modulación de la nocicepción ya que en ellas converge información sensorial tanto nociceptiva como no nociceptiva (Craig, 2003).

C. VÍAS ASCENDENTES QUE TRANSMITEN LA INFORMACIÓN NOCICEPTIVA

Después de las interacciones directas e indirectas con las neuronas del asta dorsal de la médula espinal, la mayoría de los axones de las neuronas de segundo orden forman fascículos que son los encargados de transmitir la información nociceptiva a regiones como el tallo cerebral y el diencefalo. Entre las áreas que reciben información nociceptiva se encuentran estructuras como el

tálamo, la SPG, el núcleo parabraquial, la formación reticular bulbar y pontina, el complejo amigdalino, el núcleo septal, el hipotálamo, entre otras (Willis y Westlund, 1997; Almeida et al. 2004).

Los tractos ascendentes se pueden clasificar filogenéticamente en dos sistemas. El primero y más antiguo, viaja a través de la región medial del tallo cerebral y está conformado por una rama del tracto espinotalámico, y los tractos espinoreticular, espinomesencefálico, espinoparabraquio-amigdalino, espinoparabraquio-hipotalámico y espinohipotalámico. El otro sistema, más reciente, ocupa la región lateral del tallo cerebral y está integrado por otra rama del tracto espinotalámico, el tracto espinocervicotalámico y el tracto de las columnas dorsales (Willis y Westlund, 1997; Almeida et al. 2004). Las vías más estudiadas por las que se transmite la información nociceptiva son el tracto espinocervicotalámico, el tracto de las columnas dorsales, el tracto espinoparabraquial (amigdalino e hipotalámico) y los pertenecientes al sistema anterolateral (tracto espinotalámico, tracto espinoreticular, tracto espinomesencefálico). En los siguientes párrafos se hará una breve descripción de estas vías.

1. TRACTO ESPINOCERVICOTALÁMICO

Es una vía por la que se transmite la información proveniente de receptores cutáneos nociceptivos y no nociceptivos. Se origina principalmente a partir de las neuronas WDR y N-NOC de las láminas III y V de Rexed (Craig y Tapper, 1978; Brown et al. 1980). Ascienden por el funículo dorsolateral ipsilateral, realizando un primer relevo sináptico en el núcleo cervical lateral (NCL) en los niveles C2-C3 de la médula espinal. En este nivel decusan por la comisura blanca anterior y ascienden por el lemnisco medio (Figura 1). Las principales proyecciones de este tracto van al núcleo ventral posterior lateral del tálamo (VPL), aunque también se han reportado colaterales que van al núcleo del tracto solitario (NTS). La información que es transmitida por esta vía está relacionada principalmente con la localización del sitio donde se recibe el estímulo (componente sensorial-

discriminativo) y con el contexto emocional relacionado con el estímulo nociceptivo -generalmente aversivo- (componente motivacional-afectivo) (Millan, 1999).

2. TRACTO DE LAS COLUMNAS DORSALES

Por este tracto viajan las proyecciones de aferentes primarias (cutáneas) que proyectan directamente a los núcleos de las columnas dorsales (NCD), gracilis y cuneatus. De igual manera, por esta vía ascienden axones de neuronas de segundo orden de tipo WDR, SN y N-NOC localizadas sobre todo en las láminas III y V de Rexed. Estos axones ascienden ipsilateralmente a los NCD, los cuales reciben información de las regiones lumbo-sacras y torácicas respectivamente (Al-Chaer et al. 1997). Las proyecciones que surgen de los NCD proyectan al tálamo vía el lemnisco medial (Figura 1). La lesión de esta vía parece ser una manera efectiva de aliviar el dolor visceral (más que la lesión del sistema anterolateral) por lo que se le considera la principal vía aferente en donde se integra la información nociceptiva de origen visceral (Besson y Chaouch, 1987; Almeida et al. 2004).

3. TRACTO ESPINOPARABRAQUIAL

El núcleo parabraquial se encuentra situado en las porciones pontinas y mesencefálicas (Figura 1). Recibe aferencias directas de las neuronas SN de las láminas I y II e indirectas de colaterales provenientes de otros tractos que convergen en el núcleo parabraquial (Bester et al. 2000). Estas neuronas proyectan principalmente a la amígdala e hipotálamo y participan en la regulación de los sistemas autonómico, neuroendocrino, el componente motivacional y afectivo, en respuesta sobre todo a dolor visceral causado por procesos inflamatorios o por estímulos térmicos nociceptivos (Bester et al. 1997; Buritova et al. 1998).

4. SISTEMA ANTEROLATERAL

El tracto espinotalámico, junto con el espinoreticular y el espinomesencefálico, viajan juntos por el funículo anterolateral contralateral y forman el sistema anterolateral. Este sistema es la principal vía por la que se transmite la información nociceptiva a estructuras supraespinales (Almeida et al. 2004).

a) Tracto espinotalámico

Se origina principalmente de las neuronas SN y WDR de las láminas I, V y VI de Rexed. La gran mayoría de las proyecciones neuronales de este sistema, cruzan en la comisura blanca anterior y ascienden por el funículo anterolateral del lado contralateral (Basbaum y Jessell, 2000). El tracto espinotalámico, proyecta diferentes núcleos talámicos (Figura 1) entre los que se encuentra el núcleo ventroposteromedial (VPM), los núcleos del complejo intralaminar del tálamo (CI) relacionados con el componente afectivo del dolor y principalmente al VPL, relacionado con el componente discriminativo que permite conocer la localización del estímulo nociceptivo (Albe-Fessard et al. 1985; Almeida et al. 2004).

b) Tracto espinoreticular

Se encuentra formado por neuronas WDR, SN y N-NOC, provenientes principalmente de las láminas V, VI, VII y VIII de Rexed. Asciende de manera contralateral y proyecta al tallo encefálico, sobre todo a la formación reticular bulbar (FRB) y pontina (FRP) (Figura 1) de las cuales (sobre todo la pontina), se originan tractos descendentes capaces de suprimir la información nociceptiva. Por todo esto, la activación de esta vía juega un papel importante en la respuesta al dolor, ya que además de activar componentes vegetativos, activa también mecanismos endógenos descendentes capaces de modular la información nociceptiva (Willis y Westlund, 1997; Almeida et al. 2004).

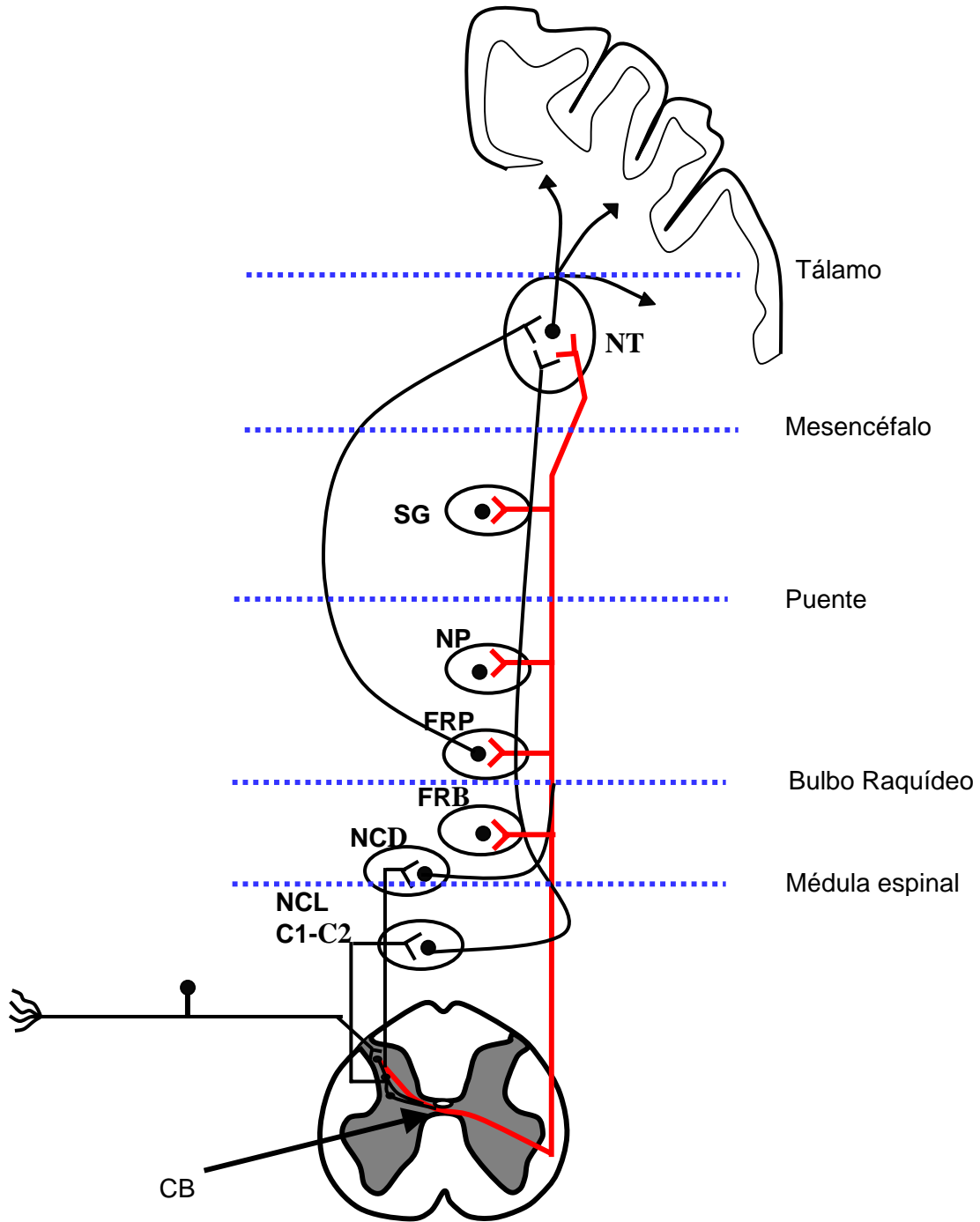


Figura 1. Principales vías por las que se transmite la información nociceptiva.

CB, Comisura blanca; **NCL**, núcleo cervical lateral localizado en los niveles cervicales 1 y 2 (**C1-C2**); **NCD**, núcleo de las columnas dorsales; **FRB**, formación reticular bulbar; **NP**, núcleo parabraquial; **FRP**, formación reticular pontina; **SGP**, sustancia gris periacueductal; **NT**, núcleos talámicos. Las líneas punteadas indican los límites entre la médula espinal, el bulbo raquídeo, puente, mesencéfalo y tálamo. El sistema anterolateral está indicado en color rojo (basado en Almeida et al. 2004).

c) Tracto espinomesencefálico

Este tracto tiene su origen en las neuronas WDR, SN y N-NOC principalmente de las láminas I, II, V, VI de Rexed. De acuerdo con el sitio de origen de la proyección se pueden considerar dos sistemas: el haz espinoanular, originado de las neuronas nociceptivas y WDR que proyecta a la SGP (Figura 1); y el haz espinotectal, que alcanza las láminas profundas del colículo superior (Millan, 1999). Las proyecciones que alcanzan a la SGP en la porción dorsal al surco limitante tienen un efecto excitatorio sobre la transmisión aferente nociceptiva, mientras que las que proyectan más ventralmente activan mecanismos inhibitorios. Al igual que el tracto espinoreticular, la activación de este tracto permite una respuesta más completa al dolor, promoviendo respuestas autonómicas, cardiovasculares, motivacionales y afectivas (Fields, 1987).

II. MODULACIÓN DE LA INFORMACIÓN NOCICEPTIVA

La información nociceptiva no siempre llega a las cortezas sensoriales. Esto es debido a que existen diversos mecanismos propios del SNC capaces de modificar la transmisión de la información nociceptiva. Aunque los mecanismos espinales son muy importantes en dicha modulación, es importante resaltar que esto ocurre a lo largo de toda la vía, desde los nociceptores (para su revisión ver Apéndice 2) hasta las cortezas sensoriales. Sin embargo, los sistemas moduladores descendentes que llegan a la médula espinal, juegan un papel relevante en la modulación selectiva de la información dolorosa. Esto se basa en el hecho de que la información nociceptiva y la no nociceptiva viajan a través de fibras aferentes primarias diferentes, por lo que la modificación de una modalidad sin afectar otra es más fácil a nivel espinal.

Un ejemplo de como el SNC modula la nocicepción, se observa cuando en condiciones de estrés las reacciones normales provocadas por estímulos

dolorosos (reflejo de retirada, escape, etc.) pueden resultar desfavorables para la preservación del organismo, por lo que la supresión de dichas reacciones favorecen las respuestas apropiadas a las demandas en un ambiente extremo.

Algunas de las estructuras que participan en la modulación de la nocicepción son activadas por las vías ascendentes que transmiten la información nociceptiva. Uno de los sitios iniciales de dicha modulación se da a nivel espinal, utilizando principalmente 2 mecanismos: Un control segmental, en el que participan circuitos locales de la médula espinal y otro a través de la proyección de neuronas localizadas en estructuras supraespinales (vías descendentes). A continuación se describen con más detalle estos mecanismos de control.

A. CONTROLES SEGMENTALES

A mediados del siglo XX, Melzack y Wall (1965) propusieron que la información táctil no nociceptiva (mediada por fibras A β), modula la información nociceptiva que llega a la médula espinal. Esta regulación se lleva a cabo debido a que las aferentes nociceptivas y no nociceptivas, que establecen conexiones excitatorias con neuronas WDR, activan también de manera convergente interneuronas inhibitorias. Estas interneuronas son capaces de modular las respuestas de las aferentes nociceptivas (fibras C) cuando las aferentes no nociceptivas se activan. Es decir, la activación de una modalidad sensorial no nociceptiva “cierra” y las aferentes nociceptivas “abren” una compuerta que determina la intensidad del dolor. A este postulado le denominaron “teoría de la compuerta”. Esta teoría proporcionó la base neurofisiológica de las conductas estereotipadas que se dan en respuesta a un estímulo nociceptivo, como el reflejo de retirada o el “sobarse”, ya que en ambas respuestas se activan las fibras no nociceptivas. Así mismo, el conocimiento de este circuito promovió la implementación en el uso clínico de la estimulación eléctrica transcutánea como una método para el alivio del dolor (Besson y Chaouch, 1987; Millan, 1999).

Las interneuronas que participan en los procesos de modulación de la nocicepción a nivel de la médula espinal son principalmente encefalinérgicas y GABAérgicas, las cuales se encuentran localizadas sobre todo en las láminas I, II, y I, II, IV y X de Rexed respectivamente, (Ruda, 1982; Wisden et al. 1991; Todd et al. 1992; Todd y Spike, 1993; Bernardi et al. 1995, Yoshimura y Furue, 2006). Estas neuronas establecen conexiones con las terminales de las aferentes primarias (conexiones presinápticas), con interneuronas excitadoras así como con las neuronas de segundo orden (conexiones postsinápticas) (Figura 2).

Las interneuronas encefalinérgicas, pueden actuar a nivel presináptico (Ma et al. 1997) o postsináptico (Ruda, 1982). Al respecto Besson y Chaouch (1987), demostraron que el mecanismo mediante el cual las encefalinas modulan la transmisión nociceptiva de forma presináptica, es disminuyendo la liberación de neurotransmisor en las terminales y, postsinápticamente por una hiperpolarización de las neuronas de proyección. Los receptores a los que se une la encefalina (μ , δ y κ) pertenecen a la familia de los receptores opiáceos (Martin, 1984; Yaksh y Wilson, 1985). En este sentido, Fields y Basbaum (1985) demostraron que la administración intratecal de agonistas opiáceos como la morfina, disminuyen la respuesta a estímulos nociceptivos en las neuronas del asta dorsal. Del mismo modo, la aplicación de Naloxona (Nalx) (antagonista inespecífico de los receptores opiáceos $-\mu$, δ , κ , y σ) intratecal en ratas que no cursan por un proceso de dolor, produce un incremento en las respuestas neuronales, lo cual sugiere un efecto tónico inhibitorio sobre las neuronas de la médula espinal (Magnuson y Dickenson, 1991).

Las interneuronas GABAérgicas actúan generalmente sobre las neuronas de segundo orden y aferentes primarias, incluyendo las que transmiten la información nociceptiva (A δ y C) (Desarmenien et al. 1984a; Bernardi et al. 1995; Seagrove et al. 2004). En la médula espinal se encuentran receptores

ionotrópicos ($GABA_A$) o metabotrópicos ($GABA_B$ y $GABA_C$) los cuales están distribuidos sobre todo en las láminas I y II de Rexed (Bernardi et al. 1995; Simeone et al. 2003; Zheng et al. 2003). Respecto al receptor $GABA_C$, poco se conoce acerca de su papel funcional debido en parte a su similitud farmacológica con el receptor $GABA_A$ (Zheng et al. 2003; Heinke et al. 2004). El receptor $GABA_B$, además de encontrarse en fibras aferentes primarias, se encuentra en los axones de vías descendentes que llegan a la médula espinal, por lo que se le ha sugerido un papel en la modulación de los neurotransmisores o neuropéptidos que son liberados por activación de las vías descendentes (Simeone et al. 2003). Finalmente, el receptor $GABA_A$ es el más abundante y el que tiene una mayor participación en la modulación de la nocicepción. La activación de este receptor promueve el paso de iones cloro a través de la membrana. A diferencia de otras neuronas, las fibras aferentes primarias, presentan en su membrana un cotransportador de $Na^+ - K^+ - 2Cl^-$ que le permite acumular Cl^- en el interior de la célula (Álvarez-Leefmans et al. 1998). De esta manera, la activación de este receptor produce la salida de cargas negativas (Cl^-) y por lo tanto la depolarización de las aferentes primarias (PAD) (Desarmenien et al. 1984b). Dicha depolarización produce un decremento en las respuestas neuronales al disminuir la liberación del neurotransmisor producido por la inactivación de canales de calcio dependientes de voltaje (Dunlap, 1998).

Diversos grupos han intentado esclarecer la participación del GABA en la modulación nociceptiva. En este sentido, Seagrove et al. 2004, observaron que la aplicación intratecal de un antagonista del receptor a $GABA_A$ (bicuculina), producía un incremento en la frecuencia de disparo de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal, sugiriendo una inhibición tónica GABAérgica. Por otro lado, en procesos patológicos que producen inflamación, se ha observado un aumento en la inmunoreactividad a encefalinas, GABA y sus receptores en neuronas del asta dorsal de la médula espinal (Castro-Lopes et al. 1994),

sugiriendo con esto un importante papel en la modulación de la información nociceptiva.

B. VÍAS DESCENDENTES

El concepto de una red específica e independiente que modifica el dolor, fue primero sugerida por las observaciones de que la estimulación eléctrica del mesencéfalo en la rata era capaz de suprimir las respuestas a estímulos nociceptivos (Reynolds, 1969). Esta inhibición era selectiva para la información sensorial nociceptiva, ya que las ratas fueron capaces de deambular y responder a estímulos inocuos. Este fenómeno denominado analgesia producida por estimulación (SPA) se observa también en humanos (Richardson y Akil, 1977; Baskin et al. 1986) permitiendo que la activación de los sistemas endógenos moduladores de la información nociceptiva, sea utilizada como una herramienta terapéutica para aliviar el dolor. Algunas de las vías moduladoras que participan en dicha modulación son la serotoninérgica, la noradrenérgica, y más recientemente la oxitocinérgica, las cuales serán descritas a continuación.

1. VÍA NORADRENÉRGICA

Una vía descendente que modula las respuestas nociceptivas en la médula espinal se origina en los grupos celulares A5, A6 (*locus coeruleus*, LC) y A7 (*subcoeruleus*) del puente (Westlund et al. 1984a,b). El papel de la vía noradrenérgica en la modulación de la nocicepción, ha sido probado en diversos estudios conductuales. De esta manera, la aplicación intratecal de noradrenalina tiene un efecto antinociceptivo cuando se mide con la prueba de retirada de la cola en la rata (Concepción et al, 1984; Vaida et al. 1986). Asimismo, El uso de agonistas y antagonistas noradrenérgicos, ha dejado claro que la activación de los receptores α_2 produce una profunda analgesia en animales normales y que, bajo condiciones patológicas como la inflamación es aún más potente (Kingery et al. 2000).

A pesar de que las terminales noradrenérgicas se encuentran distribuidas en todas las láminas de la médula espinal, estas terminales se encuentran más concentradas en las láminas superficiales (I y II), en la zona intermediolateral (IML) y en el asta ventral, en donde establecen sinápsis axo-somáticas, axo-dendríticas y axo-axonicas (Hagihira et al. 1990; Willis, 1992). Las sinápsis en el asta dorsal se establecen principalmente con interneuronas de la sustancia gelatinosa, con fibras aferentes primarias nociceptivas y con neuronas del tracto espino-talámico (Willis, 1988; Yoshimura y Furue, 2006; Millan, 2002). Los principales receptores adrenérgicos pueden ser divididos en 3 grupos: $\alpha 1$, $\alpha 2$ y β , sin embargo, los receptores tipo β no han sido encontrados en la médula espinal. Los receptores $\alpha 1$ se encuentran principalmente en interneuronas inhibitorias encefalinérgicas, GABAérgicas y glicinérgicas. Su activación promueve la apertura de canales de Ca^{+2} y la activación de fosfolipasa C (PLC) por lo que se le atribuye un efecto facilitatorio. Los receptores $\alpha 2$ se encuentran en interneuronas glutamatérgicas así como en las fibras C y $A\delta$. La activación de estos receptores produce un efecto inhibitorio ya que se encuentran acoplados a una proteína G_i/o la cual es la responsable de la apertura de canales de K^+ . De esta manera se explica su efecto modulador de las respuestas nociceptivas. Por una parte, disminuye la liberación de glutamato de las interneuronas glutamatérgicas, así como de las fibras aferentes nociceptivas (principalmente actúa sobre las fibras $A\delta$) a través de la activación del receptor $\alpha 2$ y por otra, activa interneuronas inhibitorias a través de la activación de receptores $\alpha 1$ (Westlund, 1984b; Olave y Maxweel, 2003 a,b; Yoshimura y Furue, 2006).

2. VÍA SEROTONINÉRGICA

Las fibras serotoninérgicas se originan en núcleos localizados dentro de la Médula Rostral Ventromedial (RVM) entre los cuales la principal fuente de fibras serotoninérgicas a la médula espinal es el Núcleo Magno del Rafe (NMR) (Pomeroy y Behbehani, 1979). Al igual que las fibras noradrenérgicas, éstas

descienden a la médula espinal a través del funículo dorsolateral donde se bifurcan y contactan con neuronas localizadas principalmente en las láminas I, II y V principalmente, aunque también se pueden encontrar en la lamina X, en la zona IML y en el asta ventral (Basbaum y Fields, 1984; Millan, 2002). Los estudios conductuales en los que se estimuló eléctricamente el NMR, así como en los que se aplicaron agonistas o antagonistas del receptor a serotonina, han mostrado generalmente un efecto inhibitorio (El-Yassir et al. 1990), aunque algunas veces también se ha reportado un efecto facilitatorio (Rocha-Gonzalez, et al. 2005). Poco se conoce acerca de los mecanismos celulares que podrían estar mediando dichos efectos. En este sentido, existe una gran población de interneuronas que son activadas por serotonina en las láminas superficiales (Millar y Williams, 1989). La mayoría de las interneuronas de esta lámina son GABAérgicas, glicinérgicas y encefalinérgicas. De esta manera, la estimulación de la RVM produce un incremento de glicina la cual inhibe las respuestas de las neuronas nociceptivas (Sorkin et al. 1993). Más aun, la activación de los receptores 5-HT₃ localizados principalmente en interneuronas encefalinérgicas, permite el paso de cationes a través de este receptor-canal, produciendo un efecto facilitatorio sobre la transmisión sináptica. Sin embargo, la activación de los receptores 5-HT₃ inhibe la transmisión de información nociceptiva, ya que las interneuronas encefalinérgicas disminuyen la liberación del glutamato de las aferentes nociceptivas (Fonseca et al. 2001). Los efectos encefalinérgicos han sido también probados en estudios conductuales en donde la aplicación de antagonistas opiáceos es capaz de bloquear los efectos antinociceptivos de la serotonina. (Budai y Fields, 1998; Cannon et al. 1982). Estos resultados sugieren que los aminoácidos inhibitorios (GABA y glicina), así como las encefalinas pueden estar contribuyendo a los efectos de la vía serotoninérgica.

Ha sido motivo de controversia la existencia de un efecto directo de la serotonina sobre las aferentes nociceptivas (presináptico), debido en gran parte a que no se

ha podido caracterizar molecularmente ni farmacológicamente el tipo de receptor presente en las aferentes. Sin embargo, la activación de fibras A δ y C por la estimulación de la raíz dorsal es inhibida con serotonina aun suprimiendo los efectos postsinápticos (Yoshimura y Furue, 2006).

Una característica que distingue a la vía noradrenérgica de la serotoninérgica es que la activación de la primera modifica preferencialmente las respuestas nociceptivas de las fibras A δ , mientras que la segunda modula las respuestas provocadas por la estimulación de las fibras A δ y C por igual. En la figura 2, se muestra un diagrama de los posibles mecanismos que subyacen la modulación de las respuestas nociceptivas por parte de la vía noradrenérgica y serotoninérgica.

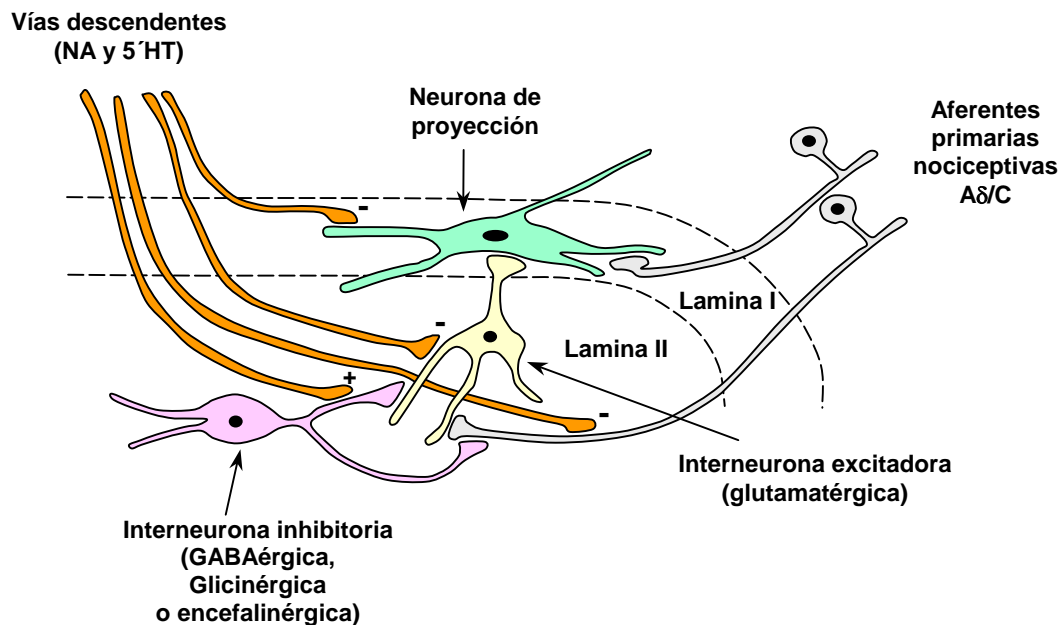


Figura 2. Circuitos locales que ocurren en las láminas superficiales del asta dorsal de la médula espinal. La información nociceptiva viaja a través de fibras aferentes A δ y C las cuales contactan con interneuronas excitadoras (vía polisináptica) o con neuronas de proyección (vía monosináptica). Las vías descendentes moduladoras que liberan noradrenalina (NA) o serotonina (5-HT), pueden modular las respuestas nociceptivas a través de la activación de interneuronas inhibitorias, o de la inhibición de interneuronas excitadoras, neuronas de proyección, o aferentes nociceptivas.

3. VÍA OXITOCINÉRGICA

La existencia de una vía descendente hipotálamo-espinal originada en el núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV) fue primero propuesta por Kabat et al. en 1935 y Magoun en 1940. Tiempo después, mediante el uso de técnicas de inmunoreactividad y con marcadores retrógrados se demostró que la vía era directa (Kuypers y Maisky, 1975; Saper et al. 1976), y que los principales péptidos liberados eran vasopresina (VP), neurofisinas (NF), y oxitocina (OT) (Swanson y McKellar, 1979; Sofroniew et al. 1981), siendo esta última la más abundante (Cecheto y Saper, 1988). Diversos autores han mostrado que la estimulación del NPV (Condés-Lara et al. 2006; Miranda-Cárdenas et al. 2006; Shiraishi et al. 1995), así como la aplicación de OT (Arletti et al. 1993; Yang, 1994; Condés-Lara et al. 2006; Miranda-Cárdenas et al. 2006; Xu y Wiesenfeld-Hallin, 1994), son capaces de disminuir las respuestas electrofisiológicas y conductuales al dolor.

A continuación se describen los componentes de esta vía y su participación en la modulación nociceptiva.

a) La oxitocina y su receptor

La OT fue el primer neuropéptido cuya estructura se determinó (Du-Vigneaud et al. 1953) a pesar de que sus efectos periféricos endocrinos sobre la glándula mamaria y el útero ya se habían descrito 50 años antes. Es un nanopéptido el cual es sintetizado como prohormona y almacenado en asociación con la NF 1, junto con la que se colibera. La OT, al igual que la VP es sintetizada en los núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular, siendo este último el principal núcleo encargado de su síntesis (Armstrong, 1998). Las neuronas del NPV pueden ser clasificadas de acuerdo a su tamaño en magnocelulares (24-25 μm) y parvocelulares (16-18 μm) y, de acuerdo a las proyecciones neuronales en 3 grupos: las que proyectan a la neurohipófisis (principalmente magnocelulares);

las que proyectan a la eminencia media (magno y parvocelulares); y las que proyectan a regiones extrahipotalámicas (principalmente parvocelulares). Una de las estructuras que recibe proyecciones parvocelulares oxitocinérgicas (ipsilaterales en la rata), es la médula espinal (Saper et al. 1976), la cual recibe inervación principalmente de la zona dorsomedial, ventromedial y del subnúcleo posterior (Sawchenko y Swanson, 1982).

Hasta la fecha se conoce un sólo receptor a OT, el cual ha sido clonado y secuenciado. Comparte un 35-50% de homología con los diferentes receptores de vasopresina. Es un receptor de 7 dominios transmembranales acoplado a una proteína Gq/G11, la cual activa a la PLC que a su vez hidroliza al fosfatidilinositol produciendo diacilglicerol y trifosfatidil inositol. Este último incide sobre los receptores intracelulares de calcio produciendo un aumento de calcio intracelular (Gimpl y Fahrenholz, 2001).

El mRNA del receptor a OT se encuentra ampliamente distribuido a lo largo de todo el SNC de la rata (putamen, amígdala, hipocampo, tálamo, hipotálamo, médula espinal, entre otros). La activación del receptor produce efectos muy variados con relación al sistema autónomo, funciones somáticas, reproductivas, conducta materna, memoria y aprendizaje, entre otras (para revisión ver Gimpl y Fahrenholz, 2001).

b) La oxitocina como modulador de la información nociceptiva en la médula espinal

Las terminales hipotalámicas inmunoreactivas a OT terminan principalmente en las láminas superficiales (I y II de Rexed), zona intermedia lateral y medial (lámina VII de Rexed) (Swanson y McKellar, 1979), en donde han sido también descritos los sitios de unión a OT (Reiter et al. 1994). Estas laminas se encuentran relacionadas con la integración y transmisión de estímulos

nociceptivos y respuestas autonómicas. Las fibras oxitocinérgicas establecen sinápsis principalmente con las neuronas de la lámina II (Rousselot et al. 1990), en donde han sido descritas un gran número de interneuronas: excitadoras glutamatérgicas e inhibitoras GABAérgicas, así como encefalinérgicas y glicinérgicas, que participan en la modulación de la información aferente y eferente de la médula espinal (Price et al. 1979; Besson y Chaouch, 1987; Willis y Westlund, 1997).

Por otro lado, la administración de OT de manera sistémica (Xu y Wiesenfeld-Hallin, 1994), intracerebroventricular (Arletti et al. 1993) e intratecal (Yang, 1994), reduce de manera significativa la respuesta conductual al dolor. En este sentido, datos recientes de nuestro grupo han mostrado que la estimulación eléctrica del NPV o la aplicación intratecal de OT reducen las respuestas a estímulos nociceptivos. Estos efectos fueron observados tanto en estudios conductuales realizados en ratas que cursaban por dolor neuropático (Miranda-Cárdenas et al. 2006), como en registros electrofisiológicos en la médula espinal (Condés-Lara et al. 2006), además de que fueron revertidos con la aplicación intratecal del antagonista de OT (AOT).

Asimismo, mediante registros electrofisiológicos de la médula espinal en el animal integro (Condés-Lara et al. 2003) o en rebanadas (Robinson et al. 2002), se observó que la transmisión sináptica sensorial mediada por glutamato era disminuida por la aplicación de OT. Por otro lado, trabajos realizados en neuronas en cultivo del asta dorsal de la médula espinal de ratas neonatas, muestran una facilitación en la frecuencia de ocurrencia de las corrientes postsinápticas glutamatérgicas espontáneas al aplicar OT (Jo et al. 1998). Estos resultados no son contradictorios, ya que ambos efectos fueron obtenidos en preparaciones diferentes, lo cual podría explicar las diferencias. Es decir, mientras que el grupo de Robinson (2002) observó los efectos sobre la actividad

sináptica entre las aferentes primarias y neuronas del asta dorsal, Jo y colaboradores (1998) analizaron la actividad sináptica entre neuronas del asta dorsal. Estas observaciones son importantes, ya que entre las neuronas del asta dorsal se encuentran interneuronas inhibitorias, lo que sugiere que las vías descendentes oxitocinérgicas indirectamente inhiben la transmisión sensorial (entre fibras aferentes primarias y el asta dorsal), a través de la activación de interneuronas espinales inhibitorias. Debido a que el GABA y las encefalinas participan en los efectos antinociceptivos de otras vías descendentes, en este trabajo se analizó si estos neuroquímicos participaban en la modulación de la nocicepción producida por la activación de la vía hipotálamo-espinal.

CAPÍTULO 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Estudios electrofisiológicos y conductuales señalan que la activación de la vía oxitocinérgica hipotálamo-espinal tiene un efecto analgésico. Del mismo modo, resultados recientes de nuestro grupo han mostrado que la aplicación intratecal de OT, así como la estimulación eléctrica del NPV, disminuyen la información nociceptiva de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal.

En otros sistemas descendentes como el serotoninérgico y el noradrenérgico, las interneuronas inhibitorias encefalinérgicas o GABAérgicas participan en la modulación de la transmisión de información nociceptiva. Asimismo, se ha postulado que en la modulación de la información nociceptiva por efecto de la aplicación de OT, participen también interneuronas inhibitorias. En este sentido, en la presente tesis se estudio la participación de interneuronas encefalinérgicas y GABAérgicas en el efecto antinociceptivo de la OT en la médula espinal.

CAPÍTULO 4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

I. HIPÓTESIS

El GABA y/o las encefalinas participan en el efecto antinociceptivo producido por la estimulación del NPV o la aplicación de OT a nivel de la médula espinal.

II. OBJETIVO GENERAL

Determinar la participación del GABA y de las encefalinas en la inhibición de las respuestas nociceptivas mediadas por la vía descendente oxitocinérgica hipotálamo-espinal, en neuronas del asta dorsal de la médula espinal de la rata.

III. OBJETIVOS PARTICULARES

- Explorar si el AOT bloquea el efecto antinociceptivo provocado por la aplicación tópica de OT o por la estimulación del NPV, en neuronas del asta dorsal de la médula espinal de la rata.
- Analizar el efecto de la BIC sobre el efecto antinociceptivo provocado por la estimulación del NPV o por aplicación tópica de OT, en neuronas del asta dorsal de la médula espinal de la rata.
- Evaluar el efecto de la naloxona sobre el efecto antinociceptivo provocado por la estimulación del NPV o por la aplicación tópica de la OT, en neuronas del asta dorsal de la médula espinal de la rata.

CAPÍTULO 5. MATERIAL Y MÉTODOS

I. PREPARACIÓN EXPERIMENTAL

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (200-300 grs.), las cuales fueron anestesiadas con una mezcla de 3% de halotano, 60% de óxido nitroso y 30% de oxígeno. Una vez anestesiadas, se les realizó una traqueotomía y se conectó a una bomba de respiración artificial con el fin de controlar el ritmo respiratorio y la anestesia. Los animales fueron colocados en un aparato estereotáxico (David Kopf modelo 1730) donde la cabeza y las vértebras fueron fijadas. La temperatura de los animales se mantuvo constante (38°C), se monitoreó la frecuencia cardíaca y el electroencefalograma para valorar el estado general de la rata y la profundidad de la anestesia. Se realizó una craneotomía y se colocó un electrodo bipolar (Phymep) en el NPV de lado izquierdo (Ap: 7.12, L: 0.45, H:2; Paxinos y Watson, 1998). Posteriormente, se realizó una laminectomía exponiendo los segmentos espinales L3 y L4 (ensanchamiento lumbar). Todos los experimentos se realizaron conforme a las directrices aceptadas por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) (Zimmermann, 1983) y los lineamientos del Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

II. REGISTRO Y ESTIMULACIÓN

Se realizaron registros extracelulares unitarios de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal en los segmentos L3 y L4 (ipsilateral al sitio de estimulación del NPV). Se utilizaron pipetas de borosilicato con una resistencia entre 7-10 M Ω (diámetro de la punta 0.7 μ m), las cuales fueron llenadas con azul de pontamina disuelta en 1M de KCl. Las neuronas registradas que recibían información periférica, fueron localizadas por estimulación mecánica de la pata trasera ipsilateral. Se analizaron únicamente aquellas neuronas que presentaron respuestas de fibras A β , A δ y C, es decir aquellas que recibían tanto información

no nociceptiva como nociceptiva (WDR). Para esto, una vez localizado el campo receptivo periférico, se estimuló (frecuencia de estimulación 0.5Hz) con pulsos crecientes de corriente eléctrica (iniciando con 0.1mA que es la intensidad cercana al umbral de activación de las fibras A β) hasta que se observaron las respuestas de fibras C. La intensidad se fijó 3 veces la necesaria para activar las fibras C (máximo 1.5 mA) con la finalidad de asegurar las respuestas a estímulos dolorosos (y no dolorosos) a lo largo de todo el protocolo experimental. Las respuestas neuronales se registraron por 120 segundos, el cual ha sido reportado por Condés-Lara y colaboradores (2006) como tiempo suficiente para observar la recuperación de las respuestas disminuidas por el efecto de la activación de la vía oxitocinérgica.

Los estímulos eléctricos utilizados para la estimulación del NPV, consistieron en trenes de pulsos de 6 segundos de duración (con pulsos bipolares de 1 ms) a una frecuencia de 60Hz y con una intensidad de 300 μ A. Estos parámetros fueron probados por Yirmiya y colaboradores (1990), quienes mostraron que la estimulación eléctrica del NPV es capaz de inhibir las respuestas de retirada de la cola en ratas, producidas por la aplicación de un estímulo nociceptivo térmico. De la misma manera, Shiraishi y colaboradores (1995) reportaron que la estimulación eléctrica del NPV con los mismos parámetros, incrementa la latencia de retirada en la prueba de la plancha caliente. Finalmente, en nuestro laboratorio, hemos descrito previamente que tanto las respuestas de retirada de la pata en ratas que cursan por un dolor neuropático, como las respuestas nociceptivas en neuronas del asta dorsal, son proporcionales al tiempo e intensidad de estimulación del NPV (Condés-Lara et al. 2006).

III. APLICACIÓN DE LOS FÁRMACOS

La aplicación de los fármacos se realizó con pipetas triples de inyección (diámetro interno: $2\mu\text{m}$; diámetro externo: $3\mu\text{m}$; distancia entre las pipetas de inyección: $2\mu\text{m}$), las cuales se acoplaron a una pipeta de registro (distancia entre la pipeta de registro y las de inyección: $4\mu\text{m}$). Las pipetas triples fueron conectadas individualmente a picobombas de inyección (PV830 WPI) con las cuales se aplicaron volúmenes entre 200-300pl. La inyección de volúmenes similares de solución salina no parecen tener ningún efecto sobre la actividad neuronal (datos no publicados de nuestro laboratorio). Esta técnica permite hacer aplicaciones tópicas muy cercanas a la neurona registrada y administrar los fármacos sólo en las regiones cercanas a los sitios de registro (no en toda la médula espinal como ocurre con la aplicación intratecal). Las pipetas de inyección fueron llenadas con OT (10^{-6}M –Syntocin-), OTA ($\text{d}(\text{CH}_2)_5[\text{Tyr}(\text{Me})^2, \text{Thr}^4, \text{tyr-NH}_2^9]\text{OVT}$) (10^{-5}M –gentilmente donada por el Dr. Maurice Manning de la Medical College of Ohio), BIC (antagonista del receptor a GABA_A) (10^{-3}M –Sigma Aldrich-) y Nalx (antagonista inespecífico de los receptores a opiáceos μ y κ) (1^{-3}M -Sigma Aldrich-).

IV. ANÁLISIS DE LOS REGISTROS ELECTROFISIOLÓGICOS

Las neuronas que se registraron son del tipo WDR, es decir, reciben información de diversas aferentes primarias ($A\beta$, $A\delta$ y C). La activación repetitiva de fibras C genera una respuesta típica retardada conocida como posdescarga (PD) la cual fue observada en la mayoría de las neuronas WDR registradas. Los componentes de las respuestas producidas por la activación de las fibras $A\beta$, $A\delta$ y C se analizaron por separado con ayuda del programa SPIKE 2, realizando histogramas postestímulo. De esta manera fue posible cuantificar el número de respuestas correspondientes a la activación de las diferentes fibras aferentes por medio de su latencia de respuesta ($A\beta$, 0-20 ms; $A\delta$, 20-90 ms; C, 90-300 ms; y PD, 300-1000 ms).

V. HISTOLOGÍA

Se realizó la reconstrucción histológica de los sitios de estimulación, haciendo lesiones electrolíticas en el NPV por efecto de la aplicación de corriente directa (100 μ A por 10s). Así como de los sitios de registro, inyectando azul de pontamina por microiontoferesis a través de los electrodos de registro conectados a una fuente de corriente directa (15-20 μ A por 15 min).

VI. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las respuestas neuronales se contabilizaron y compararon antes y después de la estimulación del NPV, o de la aplicación tópica de OT, y se analizaron con una t de Student pareada. Se analizaron las respuestas neuronales en ausencia y presencia de los fármacos (BIC, AOT y Nalx) con y sin la estimulación del NPV. Esto permitió distinguir los efectos en la actividad neuronal producidos únicamente por la estimulación del NPV y los producidos por la aplicación de los fármacos. El análisis poblacional del efecto del AOT, BIC y Nalx sobre la modulación de la información nociceptiva se analizó con una t de Student pareada. Los resultados son mostrados como porcentaje de cambio \pm error estándar (EE). Se consideró como diferencia estadísticamente significativa una $p < 0.05$. A manera de ejemplo, en la Tabla 1 se muestra para diez experimentos el número de potenciales de acción en diez respuestas antes y después de la estimulación del NPV. Para cada experimento, se calculó el porcentaje de cambio de las respuestas neuronales provocadas por la estimulación de las fibras A β , A δ , C y PD.

Exp No.	A β				A δ				C				PD			
	antes NPV	desp. NPV	% Ctrl	% Norm	antes NPV	desp. NPV	% Ctrl	% Norm	antes NPV	desp. NPV	% Ctrl	% Norm	antes NPV	desp. NPV	% Ctrl	% Norm
1	32	33	103.1	+3.1	11	4	36.3	-63.7	36	18	50.0	-50	11	5	45.4	-54.6
2	81	74	91.3	-8.7	2	1	50.0	-50	164	71	43.2	-56.8	127	31	24.4	-75.6
3	59	49	83.0	-17	10	4	40.0	-60	82	35	42.6	-57.4	31	6	19.3	-80.7
4	21	17	80.9	-19.1	17	13	76.4	-23.6	46	5	10.8	-89.2	45	11	24.4	-75.6
5	75	68	90.6	-9.4	10	0	0.0	-100	72	31	43.0	-57	36	9	25.0	-75
6	29	21	72.4	-27.6	28	0	0.0	-100	11	4	36.3	-63.7	36	16	44.4	-55.6
7	100	92	92.0	-8	8	6	75.0	-25.0	191	78	40.8	-59.2	154	25	16.2	-83.8
8	46	52	113.0	+13	22	8	36.3	-63.7	144	58	40.2	-59.8	362	0	0.0	-100
9	58	60	103.4	+3.4	3	0	0.0	-100	51	2	3.9	-96.1	45	20	44.4	-55.6
10	97	109	112.3	+12.3	7	3	42.8	-57.2	58	11	18.9	-81.1	58	10	17.2	-82.8
prom \pm EE			94.2 \pm 4.2	-5.8 \pm 4.2			35.6 \pm 9.0	-64.4 \pm 9.0			33.0 \pm 4.9	-67.0 \pm 4.9			26.1 \pm 4.6	-73.9 \pm 4.6

Tabla 1. Cuantificación del porcentaje del cambio de las respuestas neuronales por efecto de la estimulación del NPV. Los potenciales de acción fueron separados y cuantificados con base en su latencia en A β , A δ , C y PD. Se calculó el porcentaje de cambio del número de potenciales de acción para cada neurona (Exp No), antes y después de la estimulación del NPV. La tabla muestra el promedio y EE de los porcentajes de cambio para 10 neuronas registradas (%Ctrl), así como el porcentaje de cambio normalizado (prom – 100; %Norm).

CAPÍTULO 6. RESULTADOS

Se utilizaron 64 ratas en las cuales se realizó el registro electrofisiológico de 90 neuronas del tipo WDR. De estas neuronas 49 fueron probadas con la estimulación del NPV, a 28 se les administró tópicamente OT, a 34 BIC, a 31 AOT y a 37 Nalx. Las neuronas que se incluyeron para el análisis fueron aquellas cuyas respuestas neuronales fueron moduladas por la estimulación del NPV o por la aplicación tópica de OT. 77 neuronas mostraron una disminución en su actividad y 13 (silentes) se activaron.

I. EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NPV SOBRE LAS RESPUESTAS NEURONALES

En la Figura 3A, se muestra un registro electrofisiológico típico de una neurona que responde a la estimulación eléctrica de su campo receptivo periférico y que a juzgar por el número de potenciales de acción mostrado como un histograma postestímulo (Figura 3B y 3C), disminuye las respuestas a estímulos nociceptivos, después de la estimulación del NPV. El análisis poblacional de las neuronas registradas, muestra que la estimulación del NPV tuvo un efecto selectivo sobre las respuestas correspondientes a fibras $A\delta$, C y la postdescarga, sin observarse un cambio significativo sobre las respuestas de fibras $A\beta$ ($p < 0.05$. t Student pareada) (Figura 3D).

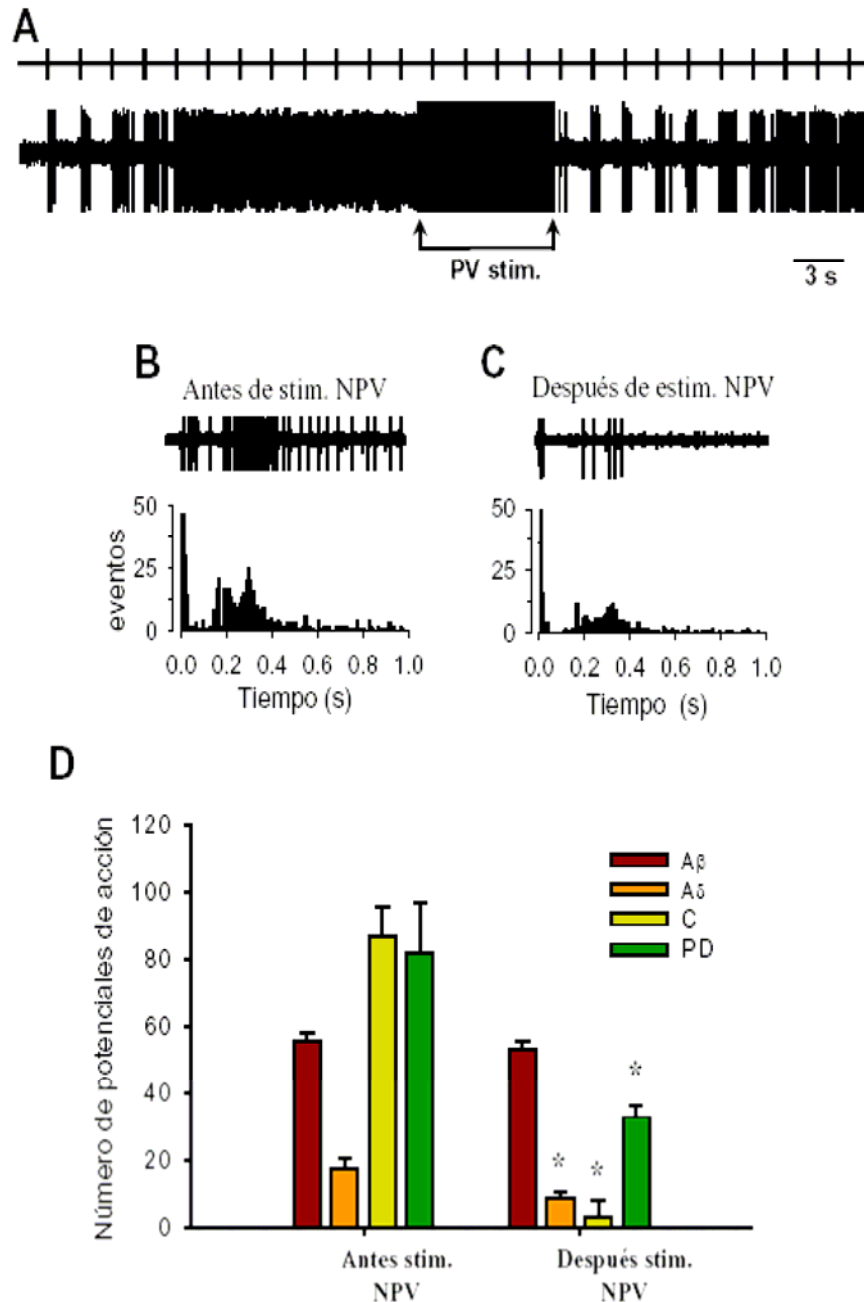


Figura 3. Efecto de la estimulación del NPV sobre las respuestas neuronales producidas por la activación del campo receptivo periférico.

En **A**, el primer trazo indica la estimulación del campo receptivo periférico, y el segundo trazo muestra el registro de una neurona la cual se inhibe cuando se estimula el NPV. En **B** y **C**, se ilustra una sola respuesta (trazo superior) y el histograma postestímulo (tamaño del bin 0.05s) (trazo inferior) antes y después de la estimulación del NPV. En **D**, se gráfica el promedio y el error estándar de las respuestas A β , A δ , C y postdescarga de las neuronas registradas antes y después de la estimulación del NPV. Nótese que el efecto del NPV no modifica las respuestas del componente A β (* $p < 0.05$; t de student pareada).

II. PAPEL DEL AOT Y BIC SOBRE EL EFECTO PRODUCIDO POR LA ESTIMULACIÓN DEL NPV O LA APLICACIÓN TÓPICA DE OT

La disminución en las respuestas de fibras nociceptivas por efecto de la estimulación del NPV (Figura 4A) fue menor cuando se administro el AOT antes de la estimulación del NPV (Figura 4B). Asimismo, la aplicación tópica de BIC sobre la misma célula (Figura 4C), al igual que el AOT, fue capaz de disminuir el efecto de la estimulación del NPV. El promedio del porcentaje de la disminución de las respuestas provocadas por la estimulación del NPV, en presencia de AOT y BIC se muestra en la Figura 5. Como se puede observar la estimulación del NPV, así como la aplicación tópica de OT (Figura 6), disminuyeron de manera significativa las respuestas de fibras $A\delta$, C, así como la postdescarga, sin afectar las respuestas del componente $A\beta$. Sin embargo, cuando se registró la actividad unitaria en presencia del AOT o BIC no se observó ningún efecto producido por la estimulación del NPV o la OT (Figura 5 y 6).

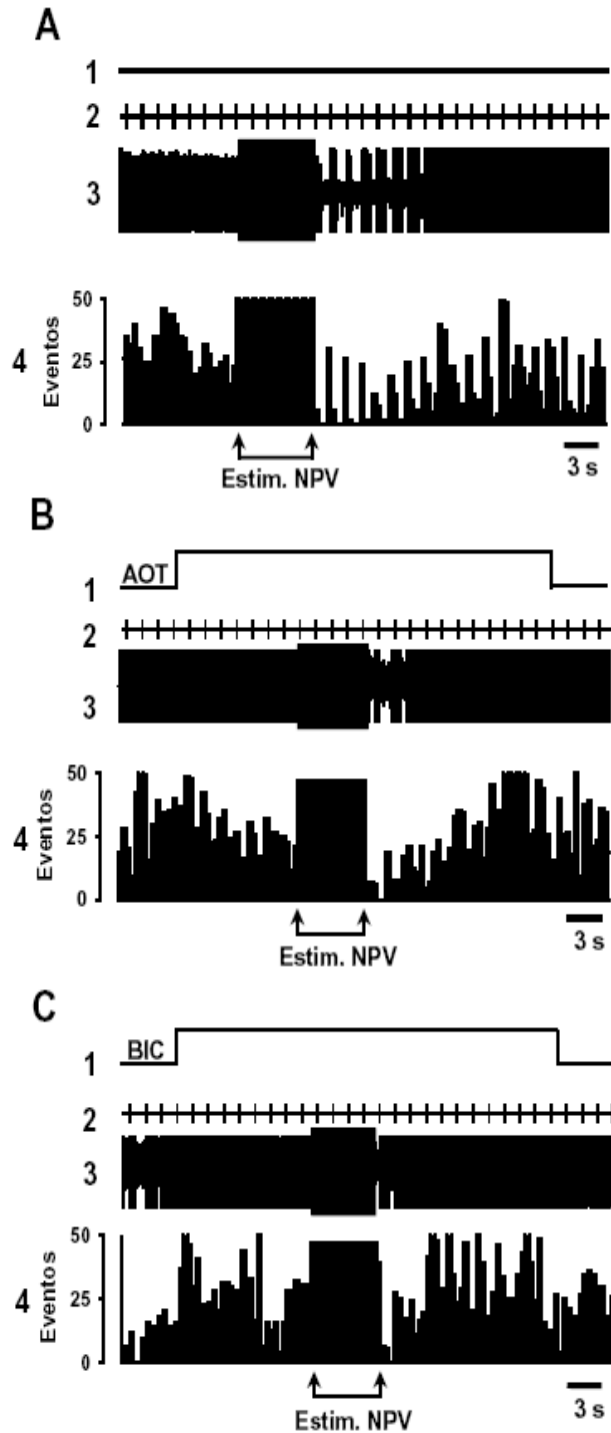


Figura 4. Efecto de la estimulación del NPV sobre las respuestas nociceptivas en neuronas del asta dorsal registradas en presencia de AOT y BIC.

En **A**, **B** y **C**; 1 indica el tiempo de inyección de los fármacos; 2, es el trazo de la estimulación del campo receptivo; 3, son las respuestas neuronales a la estimulación del campo receptivo periférico; y 4, el histograma de frecuencia de las respuestas de la célula registrada. Nótese que el efecto la estimulación del NPV (**A**) no se observa cuando se registra en presencia de AOT (**B**) y BIC (**C**).

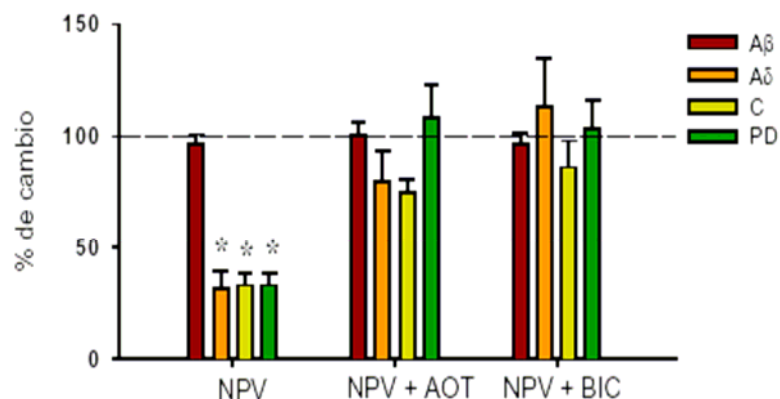


Figura 5. El AOT y la BIC bloquean la inhibición de las respuestas neuronales provocadas por la estimulación del NPV.

En la gráfica se observa el efecto de la estimulación del NPV (primera serie de barras) sobre la respuesta de las fibras aferentes primarias (A β , A δ , C) y postdescarga (PD), así como el efecto del AOT (segunda serie de barras) y BIC (tercera serie de barras) sobre dicha inhibición. La línea punteada representa el 100% de las respuestas previas a la estimulación del NPV. Nótese, que la aplicación de AOT y BIC bloquea la disminución de las respuestas de fibras C y postdescarga (* $p < 0.05$; t de student pareada).

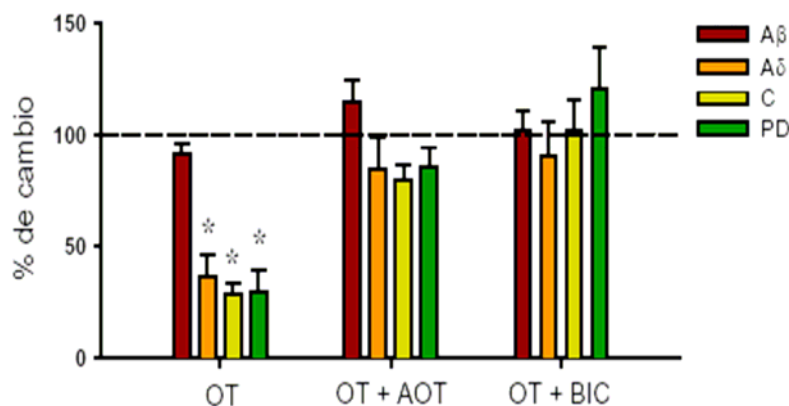


Figura 6. La inhibición de las respuestas por efecto de la aplicación tópica de OT es bloqueada cuando se registra en presencia de BIC.

La aplicación de OT disminuye las respuestas neuronales de las fibras A δ y C, sin modificar de manera significativa las A β y postdescarga (PD; primera serie de barras). Dicha inhibición no se observó cuando se registró en presencia de AOT o BIC (segunda y tercera serie de barras respectivamente). La línea punteada representa el 100% de las respuestas previas a la aplicación de OT (* $p < 0.05$; t de student pareada).

En 13 casos fue posible el registro simultáneo de 2 neuronas, una de ellas respondía a la estimulación periférica y la otra era silente. Después de estimular el NPV, la primera disminuyó sus respuestas nociceptivas y la segunda se activó (Figura 7). Cuando las neuronas se registraron en presencia de BIC se observó un ligero incremento en las respuestas de la neurona que se activó y un bloqueo (casi total) del efecto del NPV sobre las aferencias nociceptivas.

La estimulación del NPV (sin la estimulación del campo receptivo periférico), es capaz por sí sola de activar a la neurona silente (Figura 7 y Figura 8). Como era de esperarse, esta activación no se observó cuando se aplicó AOT previo a la estimulación del NPV (Figura 8).

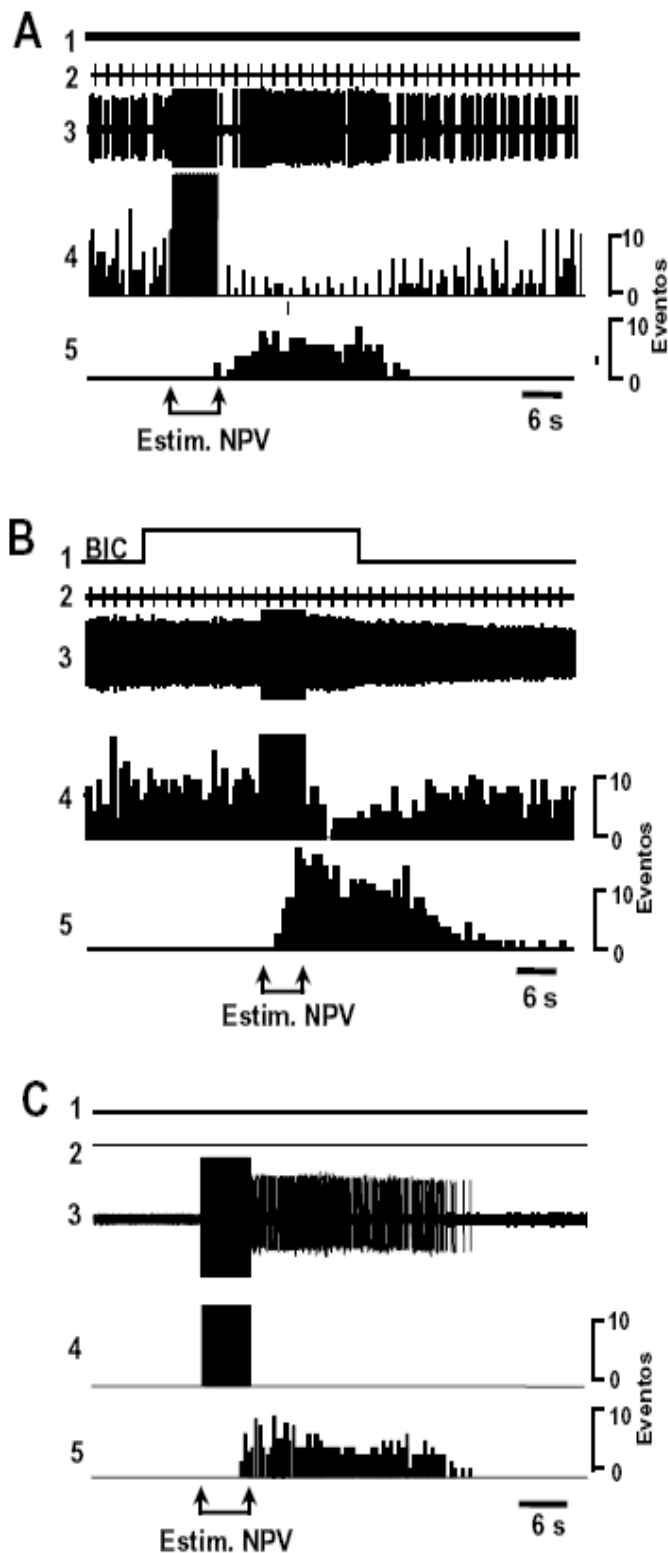


Figura 7. Efecto de la estimulación del NPV en un registro de 2 células en presencia de BIC.

En **A**, **B** y **C**, 1 indica la duración de la inyección de los fármacos; 2, trazo de la estimulación del campo receptivo; 3, respuestas neuronales a la estimulación del campo receptivo periférico; 4, histograma de frecuencia de las respuestas de la célula registrada que responde a la estimulación periférica; y 5, histograma de frecuencia de las respuestas de la célula registrada que no recibe información periférica. La estimulación del NPV produce la disminución de las respuestas neuronales provocadas por la estimulación periférica y la activación de neuronas que no responden al campo receptivo. Al registrar en presencia de BIC (**B**), la neurona que respondía al campo receptivo no mostró una disminución en las respuestas de igual magnitud ni temporalidad que en **A**, mientras que la neurona que se activaba por efecto de la estimulación del NPV siguió activándose. La estimulación del NPV, en ausencia de estímulos periféricos, es capaz por si sola de activar la neurona que estaba silente (**C**).

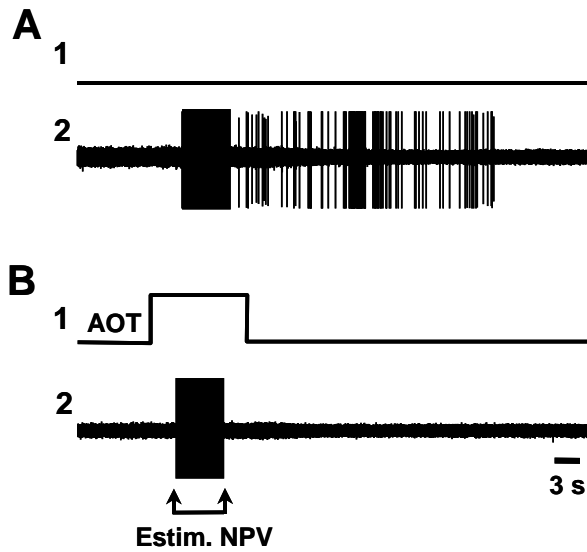


Figura 8. Efecto del AOT sobre la activación neuronal producida por la estimulación del NPV. En A y B, 1, indica la duración de la inyección de los fármacos; 2, respuestas neuronales. La estimulación del NPV (cuyo artefacto de estimulación está denotado por las flechas), es capaz por sí solo de activar la neurona que estaba silente (A). Cuando se registra en presencia de AOT no se observa la activación neuronal (B).

III. PAPEL DE LA NALX SOBRE EL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE LA ESTIMULACIÓN DEL NPV O POR LA APLICACIÓN TÓPICA DE OT

La estimulación del NPV disminuye el número de respuestas neuronales de las fibras A δ , C y PD sin afectar las respuestas de fibras A β . Este efecto se mantuvo cuando las neuronas fueron registradas en presencia de Nalx (Figura 9). Sin embargo, el análisis cuantitativo de los componentes de las respuestas provocadas por la estimulación periférica, muestra que el efecto de la estimulación del NPV es menor (15%) cuando se registró en presencia de Nalx (Figura 9).

De igual manera, la modulación de las respuestas nociceptivas por efecto de la administración tópica de OT siguió observándose cuando se registró en presencia de Nalx (Figura 10). El análisis poblacional de las respuestas neuronales, muestra que al igual que con la estimulación del NPV, la Nalx no es capaz de bloquear el efecto de la aplicación de OT, aunque dicho efecto es significativamente menor (15%) (Figura 10).

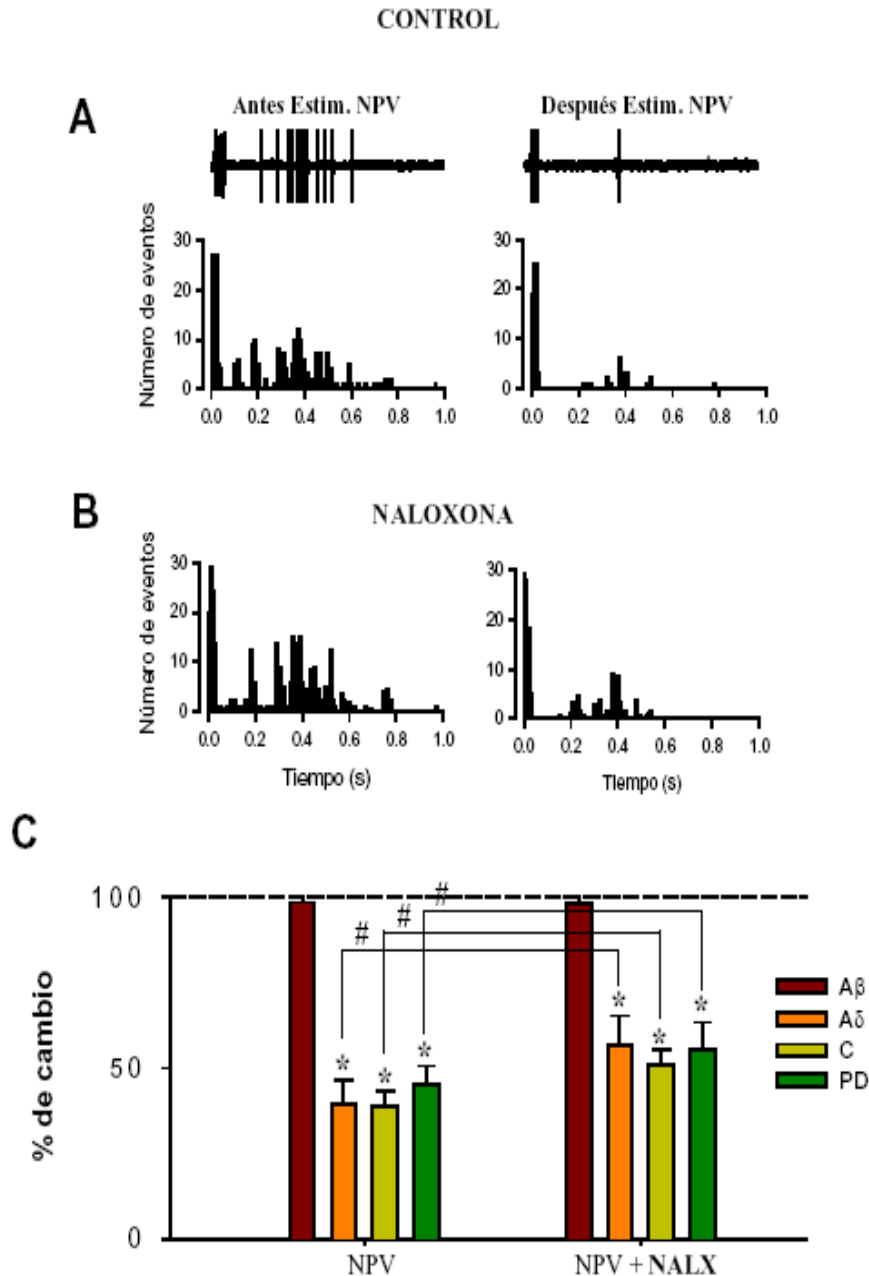


Figura 9. El efecto antinociceptivo producido por la estimulación del NPV es menor cuando se registra en presencia de naloxona.

Respuestas neuronales típicas (trazo superior) a la estimulación eléctrica del campo periférico, antes (izquierdo) y después (derecho) de estimular el NPV en ausencia (A) o presencia de naloxona (B). En C, se muestra el análisis de 20 neuronas en el cual se observa que el efecto producido por la estimulación del NPV es menor en presencia de naloxona (# $p < 0.05$; t de student pareada). La línea punteada representa el 100% de las respuestas previas a la estimulación del NPV. Nótese que a pesar de la reducción del efecto antinociceptivo, dicho efecto es significativo con respecto al control (* $p < 0.05$; t de student pareada).

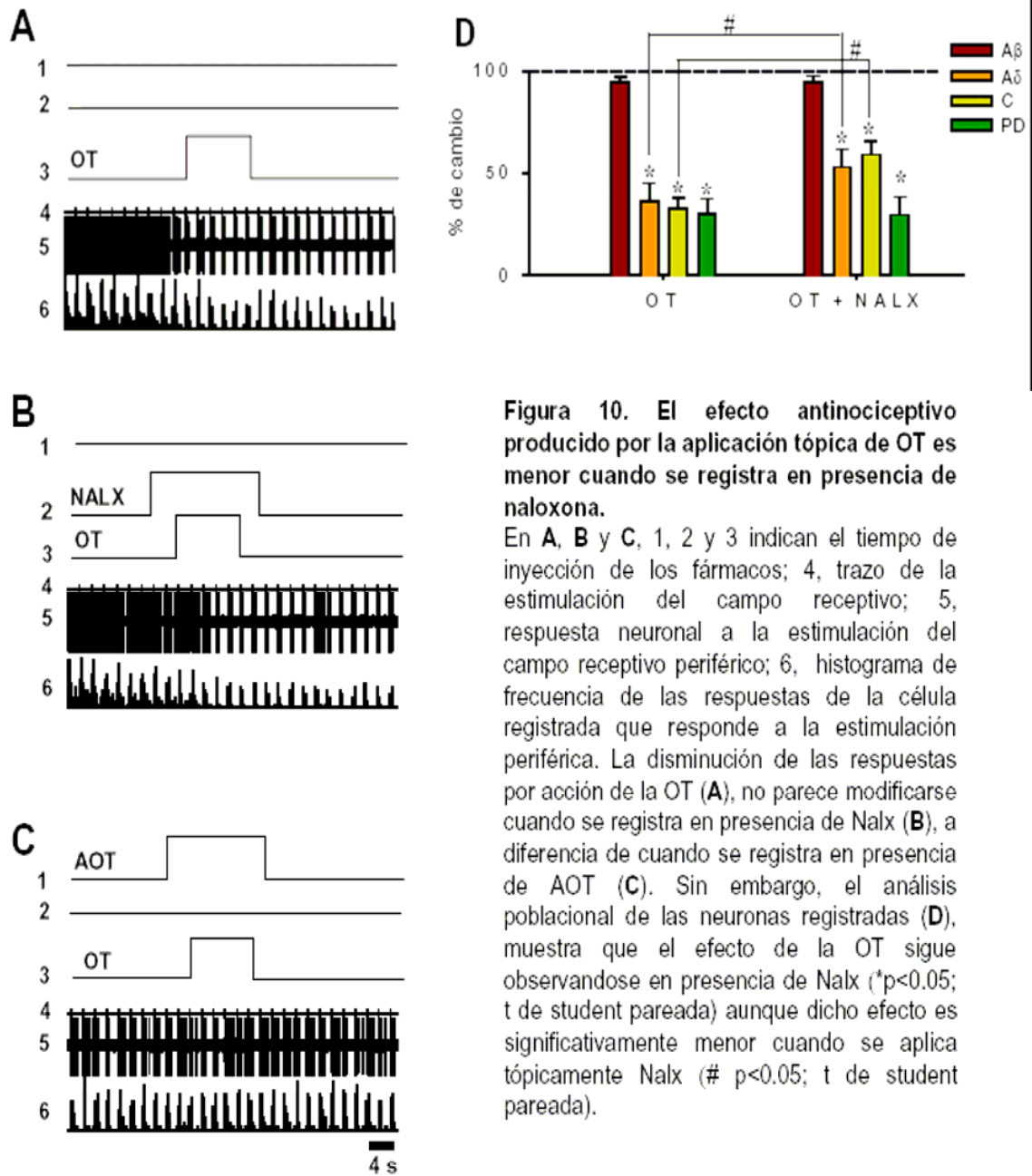


Figura 10. El efecto antinociceptivo producido por la aplicación tópica de OT es menor cuando se registra en presencia de naloxona.

En **A**, **B** y **C**, 1, 2 y 3 indican el tiempo de inyección de los fármacos; 4, trazo de la estimulación del campo receptivo; 5, respuesta neuronal a la estimulación del campo receptivo periférico; 6, histograma de frecuencia de las respuestas de la célula registrada que responde a la estimulación periférica. La disminución de las respuestas por acción de la OT (**A**), no parece modificarse cuando se registra en presencia de Nalx (**B**), a diferencia de cuando se registra en presencia de AOT (**C**). Sin embargo, el análisis poblacional de las neuronas registradas (**D**), muestra que el efecto de la OT sigue observándose en presencia de Nalx (* $p < 0.05$; t de student pareada) aunque dicho efecto es significativamente menor cuando se aplica tópicamente Nalx (# $p < 0.05$; t de student pareada).

IV. EFECTO DE LA BIC, AOT Y NALX SOBRE LAS RESPUESTAS NEURONALES

Con la finalidad de explorar si en nuestras condiciones experimentales los distintos fármacos utilizados producían un cambio en las respuestas neuronales, se analizaron los efectos de la aplicación de BIC, AOT y Nalx en ausencia de la estimulación del NPV. La administración de AOT o Nalx no produjeron ningún cambio significativo, sin embargo, la aplicación de BIC fue acompañada de un incremento significativo en las respuestas producidas por la estimulación de fibras A δ (Tabla 2).

	% de cambio Normalizado		
	AOT (n=9)	BIC (n=15)	NALX (n=20)
Aβ	-6,4 \pm 4.6	4.0 \pm 4.8	6.7 \pm 3.4
Aδ	17.7 \pm 9.8	150.3 \pm 43.8 *	-20.4 \pm 10.3
C	-6.8 \pm 3.3	12.5 \pm 8.5	-1.0 \pm 6.9
PD	-0.8 \pm 4.7	27.6 \pm 17.7	11.7 \pm 12.8

Tabla 2. Resumen del porcentaje de cambio observado en las respuestas neuronales producidas por la aplicación de AOT, BIC y NALX en ausencia de la estimulación del NPV. Las respuestas neuronales no se modificaron por efecto de la aplicación de AOT o Nalx. Sin embargo, la aplicación de BIC produjo un incremento en las respuestas neuronales mediadas por fibras A δ (prom \pm EE, *p<0.05; t de student pareada).

El resumen de los efectos descritos anteriormente se muestra en la Tabla 3.

Estímulos	% de cambio Normalizado				n
	A β	A δ	C	Postdescarga	
NPV	-3.4 \pm 2.3	-62.5 \pm 4.7 *	-62.0 \pm 3.0 *	-67.0 \pm 3.1 *	49
NPV + BIC	-3.3 \pm 4.9	12.9 \pm 21.7	-13.9 \pm 11.8	3.5 \pm 13.0	21
NPV + AOT	-0.2 \pm 5.8	-19.5 \pm 12.6	-25.4 \pm 5.9	2.9 \pm 15.3	21
NPV + NALX	-2.0 \pm 3.0	-43.3 \pm 8.5 *	-49.1 \pm 4.5 *	-44.4 \pm 7.8*	20
OT	-4.7 \pm 1.9	-66.1 \pm 5.9 *	-69.1 \pm 2.8 *	-65.0 \pm 9.5*	28
OT + AOT	6.0 \pm 9.6	-15.8 \pm 4.5	-20.2 \pm 6.4	-14.9 \pm 9.0	10
OT + BIC	1.8 \pm 8.8	-9.8 \pm 15.2	2.0 \pm 13.2	20.1 \pm 19.2	13
OT + NALX	-5.4 \pm 2.9	-46.9 \pm 8.6 *	-40.6 \pm 6.6 *	-70.6 \pm 8.7 *	17

Tabla 3. Resumen del porcentaje de cambio observado en las respuestas neuronales producidas por la estimulación del NPV o la aplicación de OT en presencia y ausencia de AOT, BIC y NALX. Nótese que la inhibición producida por la activación de la vía oxitocinérgica hipotálamo-espinal es bloqueada casi en su totalidad por la aplicación de AOT y BIC pero no por la aplicación de Nalx (prom \pm EE, * p <0.05; t de student pareada).

V. LOCALIZACIÓN DE LOS SITIOS DE REGISTRO

En la figura 11, se esquematiza la localización de los sitios de registro de 13 neuronas representativas registradas con BIC y 12 registradas con Nalx. En general, los sitios de registro se distribuyeron a lo largo de toda el asta dorsal.

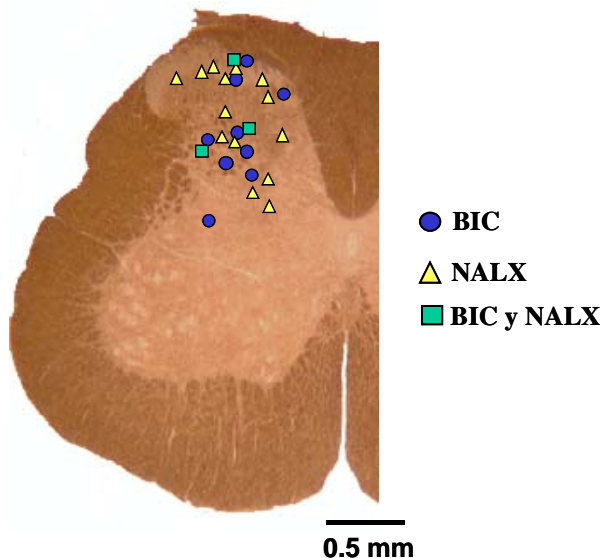


Figura 11. Localización de algunos sitios de registro

Sitios representativos de la localización de las neuronas registradas en presencia de BIC (círculos), NALX (triángulos) o ambos (cuadrados), marcadas iontoforéticamente con azul de pontamina momentos después del registro.

CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se muestra que la estimulación eléctrica del NPV disminuye significativamente las respuestas neuronales producidas por la activación de las fibras A δ y C. Este mismo efecto se observa cuando se aplica OT en la vecindad de la neurona registrada (Figuras 3, 5 y 6). Los efectos de la estimulación del NPV así como la aplicación de OT fueron bloqueados en presencia de AOT o BIC (Figuras 5 y 6) y ligeramente reducidos en presencia de Nalx (Figuras 9 y 10). Los resultados sugieren que la estimulación del NPV, a través de la liberación de OT, activa interneuronas GABAérgicas las cuales producen una disminución en las respuestas nociceptivas mediadas por fibras A δ y C, y que la naloxona modula dicho efecto.

I. LA OT COMO UN MODULADOR DE LA NOCICEPCIÓN

La OT en el SNC es producida y liberada por las neuronas del NPV y supraóptico del hipotálamo (Armstrong, 1998). Las neuronas del NPV proyectan ipsilateralmente (en la rata) a la médula espinal, en donde hacen sinápsis (axo-dendríticas) (Rousselott et al. 1990) principalmente con las neuronas del núcleo intermediolateral, y las de las láminas I y II del asta dorsal (Saper et al. 1976; Sawchenko y Swanson, 1982) en donde han sido también descritos los sitios de unión a OT (Reiter et al. 1994). Estas zonas están relacionadas con respuestas autonómicas y con la modulación de la información nociceptiva respectivamente, lo que ha sugerido que la OT participa tanto en la modulación de la transmisión de información nociceptiva como en la respuesta vegetativa al dolor.

Diversos grupos han mostrado el efecto analgésico de la OT y de la estimulación eléctrica del NPV utilizando diversos modelos conductuales. En éstos, se ha evaluado su efecto midiendo la magnitud y número de respuestas provocadas por estímulos nociceptivos en condiciones normales (Agren et al. 1995; Arletti et al. 1993; Lundeberg et al. 1994; Shiraishi et al. 1995; Uvnas-Moberg et al. 1992;

Yirmiya et al. 1990; Condés-Lara et al. 2006), así como durante el desarrollo del dolor inflamatorio (Lundeberg et al. 1993; Petersson et al. 2001; Yu et al. 2003) o neuropático (Condés-Lara et al. 2005; Miranda-Cárdenas et al. 2006). En este sentido, Miranda-Cárdenas et al. (2006), utilizando un modelo de dolor neuropático producido por la ligadura floja del nervio ciático (unilateral), observaron que la aplicación intratecal de OT así como la estimulación eléctrica del NPV, disminuyeron el número de respuestas de retirada de la pata cuando ésta fue estimulada mecánicamente con filamentos de Von Frey, o térmicamente con acetona. En concordancia con nuestros resultados (Figura 5 y 9) Miranda-Cárdenas et al. (2006) observaron que los efectos antinociceptivos de la vía hipotálamo-espinal fueron bloqueados por el AOT y reducidos en presencia de Nalx.

Actualmente, existe poca evidencia electrofisiológica acerca de la modulación de la información nociceptiva por efecto de la estimulación del NPV, o la aplicación de OT. En este sentido, recientemente resultados de nuestro grupo (Condés-Lara et al. 2006), mostraron que la estimulación eléctrica del NPV, así como la aplicación intratecal de OT disminuyeron las respuestas producidas por la activación de fibras A δ y C, sin afectar las respuestas A β , y que tales efectos eran revertidos cuando se aplicaba (intratecalmente) AOT. Estos resultados concuerdan con los nuestros (Figura 3, 5 y 6), sugiriendo que tanto la aplicación intratecal de OT, como la aplicación tópica es capaz de modular la información nociceptiva a nivel espinal.

El efecto analgésico de la OT ha sido también reportado en otras áreas del SNC. Al respecto, Lund et al. (2002) observaron que las ratas que recibían estimulación táctil repetida (“masajes”), mostraban un aumento en la latencia a estímulos térmicos nociceptivos (analgésia). Este efecto analgésico fue atribuido a la acción de la OT, pues observaron que la estimulación sensorial incrementa la inmunoreactividad a la OT en la SGP y en el plasma y, que el efecto

analgésico observado era mimetizado cuando se aplicaba la OT directamente en la SGP.

II. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA OT

A pesar de la diversidad de trabajos en los que se ha abordado el papel antinociceptivo de la OT sobre la conducta, pocos son los que han intentado esclarecer los mecanismos neuronales mediante los cuales este péptido ejerce su efecto en la médula espinal. Al respecto, evidencias electrofisiológicas obtenidas en cultivos de neuronas de las láminas I-III del asta dorsal (Jo et al. 1998) así como en rebanadas de médula espinal (neuronas de la lámina II) (Freund-Mercier, 2006), han mostrado que la OT incrementa la frecuencia de las corrientes postsinápticas espontáneas y miniatura mediadas por el receptor a glutamato tipo AMPA. Por otro lado, realizando registros electrofisiológicos en rebanadas de médula espinal y en experimentos con animal íntegro, se ha observado que la OT disminuye la transmisión glutamatérgica entre las fibras aferentes primarias y las neuronas del asta dorsal de la médula espinal (Robinson et al. 2002; Condés-Lara et al. 2003). Estos resultados aunque contradictorios pueden ser explicados por las diferentes aproximaciones metodológicas utilizadas, ya que mientras los primeros registran interneuronas del asta dorsal, los segundos registran el efecto sobre las neuronas de segundo orden que reciben entrada sináptica de aferentes sensoriales.

La activación de los receptores a oxitocina en la médula espinal y en otras áreas del SNC (Di Scala-Guenot et al. 1994; Gimpl y Fahrenholz, 2001; Lambert et al. 1994; Raggenbass et al. 1992) produce un aumento del calcio citosólico (bien por la liberación de calcio de los reservorios intracelulares por efecto de la activación de proteínas G, o por la activación de canales de calcio dependientes de voltaje, por acción de la activación de canales de Na⁺ resistentes a TTX) (Huber et al. 2005; Raggenbass et al. 1992; Zaninetti et al. 2000). Debido a esto, el papel funcional que se le ha atribuido a la OT es excitatorio, por lo que se ha propuesto que la OT ejerce su efecto inhibitorio sobre las fibras nociceptivas de

manera indirecta a través de la activación de interneuronas inhibitorias (Robinson et al. 2002).

Esta propuesta concuerda con los resultados obtenidos al registrar 2 neuronas (Figura 7), en donde una neurona silente sin campo receptivo aparente, se activó cuando la neurona que recibía información sensorial se inhibió por efecto de la estimulación del NPV. Estos efectos fueron bloqueados cuando se registró en presencia de AOT (Figura 5 y 6) dejando clara la participación de la OT. La BIC bloqueó únicamente el efecto sobre las neuronas que recibían información sensorial (Figura 5 y 6), sugiriendo fuertemente que las neuronas que se activaron con la estimulación del NPV eran interneuronas GABAérgicas que producían la disminución de las respuestas nociceptivas.

El efecto de la aplicación tópica de la OT o la estimulación del NPV, no afectó de manera significativa las respuestas mediadas por fibras $A\beta$ (Figura 3 y 6), las cuales se encargan de transmitir información de tipo cutánea no nociceptiva. Sin embargo, su efecto fue específico sobre fibras $A\delta$ y C, las cuales se encargan de transmitir información nociceptiva. Estos resultados sugieren que el efecto de la OT se da a nivel presináptico, sobre las aferentes nociceptivas ($A\delta$ y C), ya que un efecto directo sobre las neuronas de segundo orden, estaría acompañado de una reducción en la respuesta de las fibras $A\beta$. Esto sugiere un acoplamiento entre la vía oxitocinérgica hipotálamo-espinal, interneuronas inhibitorias del asta dorsal y las fibras aferentes nociceptivas.

Algunas neuronas registradas como la que se muestra en la Figura 3, presentan un fenómeno de facilitación denominado wind-up, el cual es un incremento progresivo de las respuestas de fibras C por efecto de la estimulación repetitiva y constante de las mismas (Mendell y Wall, 1965). Los mecanismos que subyacen la generación del wind-up no han sido completamente esclarecidos. Sin embargo, se ha mostrado que el establecimiento del wind-up depende de la activación de los receptores a glutamato tipo NMDA (Dickenson y Sullivan, 1990)

y que es debido en parte, a una modificación en la excitabilidad de las neuronas de segundo orden (Cervero et al. 1984). El papel funcional del wind-up es aun desconocido, sin embargo ha sido interpretado como un mecanismo para la amplificación de la información nociceptiva en la médula espinal, el cual esta relacionado con el inicio y mantenimiento de la sensibilización central que lleva al establecimiento de dolor crónico (Dickenson et al. 1997; Herrero et al. 2000). En este sentido los resultados obtenidos por nuestro grupo (Condés-lara et al. 2006) y en el presente trabajo, muestran que la OT es capaz de bloquear momentáneamente el wind-up (Figura 3A). Dicho efecto puede deberse probablemente a la supresión de las respuestas de fibras C, ya que como se mencionó anteriormente, para el establecimiento del wind-up es necesario una activación constante y repetitiva de fibras C. Estos resultados tienen una relevancia importante en el estudio del dolor crónico, ya que el bloqueo de mecanismos plásticos como el wind-up, puede ser una poderosa herramienta para evitar el establecimiento del dolor crónico.

Los efectos antinociceptivos provocados por la activación de la vía oxitocinérgica hipotálamo-espinal no mostraron una correlación con los sitios de registro de la actividad neuronal (Figura 11). Esto sugiere que el mecanismo de modulación de la información nociceptiva descrito en este trabajo se lleva a cabo en neuronas WDR de toda el asta dorsal de la médula espinal de la rata.

III. PARTICIPACIÓN DE INTERNEURONAS INHIBITORIAS ESPINALES EN EL CIRCUITO HIPOTÁLAMO-ESPINAL

GABA

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC. Sus acciones son mediadas principalmente a través de la activación de los receptores GABA_A y GABA_B los cuales se encuentran localizados en las aferentes primarias y las neuronas del asta dorsal (Désarmenien et al. 1984a; Feltz et al. 1984; Price et al. 1984). Estos receptores se encuentran distribuidos principalmente en neuronas

de las láminas superficiales del asta dorsal (Barber et al. 1978; Bernardi et al. 1995), donde se encuentran modulando diferentes tipos de información sobre todo a nivel presináptico (Seagrove et al. 2004). Désarmenien y colaboradores en 1984, demostraron que los receptores GABA_A y GABA_B coexistían en las fibras aferentes primarias A δ y C. Asimismo, diversos grupos han observado que la aplicación de agonistas GABA_A (como el muscimol) o GABA_B (baclofen) en la médula espinal tiene efectos antinociceptivos (Roberts et al. 1986; Aley y Kulkarni, 1989; Hammond et al. 1993) sugiriendo que el GABA juega un papel importante en la modulación de la información nociceptiva. Estos resultados concuerdan con nuestros hallazgos, pues, la aplicación tópica de BIC en ausencia de la estimulación del NPV (Tabla 2), fue capaz de incrementar (más de 150%) las respuestas neuronales mediadas por fibras A δ , debido probablemente a una desinhibición de estas fibras.

Recientemente, Freund-Mercier et al. (2006) utilizando la técnica de patch clamp en rebanadas de médula espinal de la rata, observaron que la OT facilitaba la transmisión sináptica GABAérgica y glutamatérgica, sin modificar la glicinérgica. Por otro lado, en la inhibición presináptica clásica descrita en la médula espinal, se ha propuesto la participación de interneuronas GABAérgicas. La activación de los receptores GABA_A produce una depolarización de las aferentes primarias lo cual se traduce en una reducción en la liberación del neurotransmisor, y por lo tanto en una inhibición de las respuestas que se transmiten por estas fibras (para revisión ver Rudomin y Schmidt, 1999).

En este sentido, los presentes resultados muestran por primera vez que la modulación de la información nociceptiva mediada por la activación de la vía hipotálamo-espinal depende de la participación de interneuronas GABAérgicas, ya que al registrarse las células en presencia de BIC no se observó ningún efecto de la estimulación del NPV (Figura 4, 5 y 6).

Encefalinas

La participación de las encefalinas en la modulación de la nocicepción a nivel de la médula espinal ha sido ampliamente estudiada en diversos modelos animales (Yaksh y Rudy, 1976), así como en humanos (Cousins y Mather, 1984; Onofrio y Yaksh, 1990). Las principales vías descendentes que activan a las interneuronas encefalinérgicas en la médula espinal son las noradrenérgicas, originadas en el LC, y las serotoninérgicas de la FRB (Budai y Fields, 1998). Las encefalinas modulan la excitabilidad neuronal ejerciendo su efecto sobre las fibras aferentes primarias (disminuyendo la liberación del neurotransmisor) (Moises et al. 1994; Taddese et al. 1995) o sobre las neuronas nociceptivas del asta dorsal (hiperpolarizándolas) (Glaum et al. 1994). Sin embargo, este no parece ser el único mecanismo mediante el cual las encefalinas ejercen su efecto antinociceptivo en la médula espinal. En este sentido, resultados farmacológicos apoyan la existencia de un sinergismo entre los sistemas encefalinérgico y GABAérgico. Así, el efecto antinociceptivo del baclofen (antagonista GABA_B) se revierte cuando se da un pretratamiento con Nalx (Aley y Kulkarni, 1989). De igual manera, la aplicación de benzodiazepinas –las cuales actúan principalmente sobre receptores GABA_A– potencian el efecto antinociceptivo de los opiáceos a nivel espinal (Roberts et al. 1986). Estos resultados se complementan con diversos estudios morfológicos en los cuales se ha mostrado la coexistencia de la inmunoreactividad a encefalinas y GABA en neuronas superficiales del asta dorsal (Todd et al. 1992; Jo et al. 2004). Además, Gong et al. (1997) mostraron que las terminales axónicas GABAérgicas contactan con algunas neuronas superficiales que expresan el receptor opiáceo μ . Mas aún, las corrientes mediadas por GABA, son potenciadas por agonistas de receptores opiáceos μ en las neuronas del asta dorsal de la médula espinal (Wang y Randic, 1994).

Diversos autores han propuesto que el sistema encefalinérgico se encuentra activado de manera tónica tanto en condiciones fisiológicas como en casos de dolor crónico (Jones y Gebhart, 1987; Onofrio y Yaksh, 1990), y que la presencia de Nalx excita a las neuronas por efecto de una desinhibición. Sin embargo, los

resultados obtenidos por la aplicación tópica de Nalx en ausencia de la estimulación del NPV (Tabla 2), no muestra cambios significativos en las respuestas neuronales. Estas diferencias pueden deberse a que las aplicaciones que se utilizaron en el presente trabajo son tópicas y por lo tanto ejercen su acción solo en la vecindad de las neuronas registradas, a diferencia de las aplicaciones intratecales en donde los fármacos difunden a lo largo de la médula espinal. De esta manera, podemos distinguir los efectos directos sobre la vía hipotálamo-espinal, de los indirectos sobre otros sistemas descendentes moduladores o intrínsecos de la médula espinal.

Los resultados del presente trabajo muestran que la aplicación tópica de Nalx no es capaz de bloquear el efecto antinociceptivo de la OT en su totalidad, pero sí disminuye la antinocicepción de manera significativa (~15%) (Figuras 9 y 10). La aplicación de Nalx en ausencia de OT (Tabla 2), no fue capaz de modificar las respuestas neuronales (Tabla 2), sugiriendo que el efecto de la Nalx no se debe a una desinhibición del sistema encefalinérgico, sino que, participa de manera directa en la vía hipotálamo-espinal (posiblemente actuando de manera sinérgica con el GABA).

Resultados obtenidos por otros grupos han mostrado que el efecto antinociceptivo de la aplicación intratecal de OT, medido como un aumento en la latencia de retirada de la cola (Yang, 1994) o la pata (Arletti et al. 1993) ante estímulos térmicos nociceptivos, es bloqueado cuando se administra simultáneamente un antagonista opiáceo (Nalx o naltrexona). Estos resultados no son contradictorios con los nuestros, ya que las aplicaciones intratecales producen efectos más generalizados, pudiendo actuar de manera indirecta sobre otras vías descendentes.

IV. ACTIVACIÓN FISIOLÓGICA DE LA VÍA HIPOTÁLAMO-ESPINAL

Los estados que de manera fisiológica activarían la vía oxitocinérgica hipotálamo-espinal han sido poco estudiados. Al respecto se ha descrito que la estimulación mecánica vaginocervical (VC) activa a las neuronas del NPV vía el nervio vago y el NTS (Komisaruk y Whipple, 2005). De manera interesante, entre los efectos sensoriales generados por la estimulación VC, que de manera natural se da durante la cópula o el parto, está la producción de un efecto analgésico (Komisaruk y Larsson, 1971; Komisaruk, 1982). Poco se conoce acerca de los mecanismos por los cuales la estimulación VC produce un efecto antinociceptivo. En este sentido, Johnson y Komisaruk (1996), utilizando la técnica de autoradiografía para la 2-Deoxyglucosa, mostraron que la estimulación VC suprime las respuestas neuronales provocadas por estimulación nociceptiva en las láminas I y II de la médula espinal. Estos autores proponen que la estimulación VC ejerce su efecto a través de la inhibición presináptica de las terminales de aferentes primarias.

Algunos de los principales neurotransmisores que se han propuesto como mediadores de la analgesia producida por la estimulación VC son la serotonina y norepinefrina. Esta hipótesis se basa en el hecho de que los niveles de ambos neurotransmisores aumentan sus concentraciones en la médula espinal durante dicha estimulación. De la misma manera, la supresión de la síntesis de norepinefrina reduce los umbrales de vocalización producidos por la estimulación vaginal y los antagonistas serotoninérgicos atenúan dicho efecto antinociceptivo (Steinman et al. 1983). Adicionalmente, Sansone et al. (2002) mostraron que la estimulación VC aumenta significativamente la concentración de OT en la médula espinal, y que dicho efecto es independiente de la liberación hipofisiaria de OT. Estos resultados permiten sugerir una posible interacción entre las vías moduladoras que, en conjunto modularían las respuestas nociceptivas, así como las vegetativas al dolor.

Bajo condiciones de estrés o de adaptación a un medio extremo o demandante, un animal que reacciona de manera normal al dolor (reflejo de retirada, escape, entre otros) podría estar en desventaja. Durante el estrés, estas reacciones al dolor son suprimidas a favor de una conducta que favorezca la supervivencia. El curso temporal de dicha analgesia producida por estrés puede durar de minutos a horas, dependiendo sobre todo de la severidad del estímulo (Basbaum y Jessell, 2000).

Actualmente existe evidencia de que el estrés estimula tanto mecanismos opiáceos como no opiáceos. En este sentido, Robinson et al. (2002) utilizando técnicas inmunocitoquímicas, describieron que los estímulos estresantes son capaces de activar a las neuronas del NPV (Robinson et al. 2002). Por otro lado, la analgesia producida por estrés parece depender de igual modo de la presencia de OT, pues la aplicación intratecal del AOT, o la deficiencia del gen de OT en un ratón knockout atenúa la antinocicepción producida por el estrés (Robinson et al. 2002).

El efecto de la aplicación del AOT en la médula espinal en ausencia de la estimulación del NPV administrado intratecalmente (Condés-Lara et al. 2006) o tópicamente (Tabla 2), no produjo ningún cambio significativo en las respuestas neuronales sugiriendo que la vía oxitocinérgica hipotálamo-espinal no se encuentra activada de manera tónica.

El NPV es un centro regulador de la analgesia (Truesdell y Bodnar, 1987; Yirmiya et al. 1990; Shiraishi et al. 1995; Miranda-Cárdenas et al. 2006; Condés-Lara et al. 2006). Además de la OT, otros péptidos liberados por el NPV han sido relacionados con la modulación de la información nociceptiva, tal es el caso de la leu-encefalina, β -endorfina y la vasopresina (VP). En este sentido Yang et al. (2006a,b) observaron que la estimulación del NPV con glutamato producía un incremento en el umbral al dolor, y que dicho efecto disminuía cuando se administraba intracerebroventricular un anticuerpo de leu-encefalina y de β -

endorfina, y completamente revertido con la administración de un anticuerpo contra VP. Además, la inyección intracerebroventricular de VP incrementa el umbral al dolor. Sin embargo, la administración intratecal de VP o el anticuerpo de VP no modificó el umbral al dolor. Estos resultados han sugerido que el NPV modula las respuestas nociceptivas a diferentes niveles del SNC utilizando diferentes péptidos, entre los que destacan la OT y VP.

A continuación se muestra un modelo en el que se propone el posible circuito neuronal que, con base en nuestros resultados y en la literatura, explica los efectos antinociceptivos producidos por la activación de la vía hipotálamo-espinal.

CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES

1. La estimulación del NPV y la aplicación tópica de OT disminuyen las respuestas neuronales mediadas por la activación de fibras A δ y C.
2. La disminución de las respuestas de fibras A δ y C por estimulación del NPV o por la inyección de OT, es bloqueada al registrarse en presencia de AOT.
3. La BIC bloquea la inhibición de las respuestas de fibras nociceptivas A δ y C producida por la estimulación del NPV o la inyección de OT.
4. La Nalx reduce el efecto de la OT o la estimulación del NPV sobre las respuestas nociceptivas.

APÉNDICE 1: TIPOS DE DOLOR

Cada individuo aprende el significado de la palabra dolor a través de la experiencia personal; tiene múltiples causas, diversas características anatómicas, fisiopatológicas, y variadas interrelaciones con aspectos psicológicos y culturales. La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) ha desarrollado una taxonomía del dolor que permite clasificarlo de acuerdo a 5 características: el sistema involucrado, las características temporales del dolor, la intensidad declarada por el paciente, y la etiología. Las clasificaciones más utilizadas son las que clasifican al dolor por su temporalidad en agudo y crónico, y por el sistema involucrado en somático y neuropático (IASP, 1986; Bonica, 1990; Ferrante, 1993).

CLASIFICACIÓN CON BASE EN SU TEMPORALIDAD

DOLOR AGUDO: Es aquel que se produce cuando un estímulo nocivo (lesiones tisulares, viscerales o musculares, entre otros) es capaz de activar a receptores específicos del dolor (nociceptores). También puede deberse a una función anormal de músculos o vísceras que no necesariamente produce daño tisular efectivo, aun cuando su prolongación podría hacerlo. El dolor agudo, es limitado en el tiempo, suele asociarse con daño tisular bien definido y la patología es aparente rápidamente. Se presenta mientras dure el estímulo nociceptivo y una vez que este cesa, los nociceptores afectados regresan a su umbral de reposo (Bonica, 1990).

Si bien los factores psicológicos tienen una gran influencia en la manera en que se experimenta el dolor agudo, con raras excepciones éste obedece a causas psicopatológicas o ambientales. Esto contrasta con el dolor crónico, en el que los factores psicológicos juegan un papel principal. El dolor agudo, tiene como

función la de proteger y alertar al organismo de un posible daño. En este sentido, el dolor limita la actividad, previniendo un daño mayor o ayudando a la curación (Fields, 1987).

Fisiológicamente, el dolor agudo genera una respuesta sistémica y local, con cambios inflamatorios, autonómicos, endocrinos e inmunológicos (Jänig y Levine, 2006) importantes que se detallan en la Tabla 4.

1. Respuestas autonómicas (segmentarias y suprasegmentarias)
 - a) Aumento del tono simpático lo cual produce:
 - Vasoconstricción arterial y venosa.
 - Aumento del gasto cardiaco.
 - Aumento en la presión arterial.
 - Aumento del índice metabólico y consumo de energía.
 - Disminución del tono gastrointestinal.
 - Retención urinaria.
 - b) Aumento del tono de músculos esqueléticos.
2. Respuestas endocrinas:
 - a) Aumento de ACTH, cortisol, ADH, GH, AMPc, catecolaminas, aldosterona, glucagón.
 - b) Disminución de insulina, testosterona.

Tabla 4. Respuestas sistémicas y locales que se presentan durante el dolor agudo.

Cuando el dolor agudo persiste y es intenso puede convertirse en una enfermedad, con efectos potencialmente dañinos que se manifiestan con una respuesta neuroendocrina generalizada que involucra diversos sistemas.

DOLOR CRÓNICO: La persistencia del estímulo, de la enfermedad, o de ciertas condiciones fisiopatológicas, puede conducir al establecimiento de un dolor crónico. Bonica (1990) lo define como aquel dolor que persiste por más de un mes del curso habitual de una enfermedad aguda o del tiempo razonable para que sane una herida, o aquel asociado a un proceso patológico crónico que

causa dolor continuo o recurrente. El dolor crónico tiene efectos fisiológicos, psicológicos y conductuales sobre el paciente y su familia, además de un costo social enorme. Podría decirse que mientras el dolor agudo es un síntoma de una enfermedad o traumatismo, el dolor crónico constituye una enfermedad en sí mismo. La mayoría de los pacientes con dolor crónico no manifiestan las respuestas autonómicas y el patrón neuroendocrino característicos del dolor agudo, a menos que existan exacerbaciones. Cuando el dolor es continuo o casi continuo, la respuesta se extingue apareciendo diversos cambios, muchos de ellos desencadenados por la inactividad que se observa frecuentemente en los pacientes con dolor crónico. Hay pérdida de masa y de coordinación muscular, osteoporosis, fibrosis y rigidez articular. La menor fuerza muscular puede llevar a una alteración respiratoria restrictiva. Hay un aumento de la frecuencia cardíaca basal y una disminución de la reserva cardíaca. En el sistema digestivo se observa una disminución de motilidad y secreción, constipación y desnutrición. Con frecuencia se observa retención urinaria e infección. También suele haber depresión, confusión, alteraciones del sueño y disfunción sexual. La respuesta inmunitaria está alterada por el estrés y la desnutrición. Estas consecuencias físicas y psicológicas, frecuentemente devastadoras, pueden observarse en prácticamente todos los pacientes con dolor crónico.

CLASIFICACIÓN DEL DOLOR CON BASE EN EL SISTEMA INVOLUCRADO

El dolor puede ser primariamente somático o neuropático.

a) Dolor somático: Es aquel que aparece cuando un estímulo potencialmente dañino para la integridad física excita los nociceptores. Estrictamente, debiera incluir el dolor originado en cualquier parte del cuerpo excepto los nervios o el sistema nervioso central. Sin embargo, frecuentemente se habla de dolor somático propiamente cuando los receptores están en la piel, músculos o

articulaciones, y de dolor visceral cuando los receptores activados por el estímulo están en una víscera. El dolor somático es habitualmente bien localizado y el paciente no tiene grandes dificultades en describirlo (Bonica, 1990; Fields, 1987).

- **Dolor visceral:** En sus etapas tempranas, el dolor visceral puede ser difícil de identificar, debido en parte a la baja densidad de inervación sensorial en las vísceras y a la extensa divergencia de la entrada de la información visceral al SNC. El dolor visceral es vago, difuso y genera una sensación pobremente definida. Asimismo la distensión anormal, la contractura intensa o la anoxia de la musculatura de una víscera son algunos de los estímulos que pueden producir este tipo de dolor.

A diferencia de otros tipos de dolores, el dolor de un órgano visceral puede ser experimentado en un sitio del cuerpo cuya inervación entra a la médula espinal en el mismo nivel que la inervación de la víscera relacionada (dolor referido). La convergencia de las fibras aferentes somáticas y viscerales en las mismas neuronas sensoriales de la médula espinal, dan lugar a una mala interpretación por los centros cerebrales superiores. Por ejemplo, el estímulo de receptores en el miocardio activa aferentes viscerales que terminan en los cuatro primeros segmentos medulares torácicos; esta información converge sobre las mismas neuronas que reciben los estímulos cutáneos, por lo que el dolor es referido muchas veces al hombro y brazo izquierdo (Bonica, 1990; Jänig y Levine, 2006).

El dolor referido es puntual, mejor localizado y se ve acompañado de menor respuesta neurovegetativa y emocional, es similar al dolor somático profundo del que debe ser diferenciado. El dolor visceral

puede ser asociado con hiperalgesia (incremento en la sensibilidad al estímulo nociceptivo y disminución del umbral al dolor) del tejido del área dolorosa.

b) Dolor neuropático: Se debe generalmente a daño en las neuronas periféricas o a la lesión en niveles superiores del SNC que provocan la generación, propagación o percepción anormal de señales. Aunque es posible que sea idiopático, el daño neuronal puede ser consecuencia de causas iatrogénicas (cirugía, radiación, efecto adverso de medicamentos como agentes quimioterapéuticos, antivirales empleados para tratar la infección por VIH, entre otros) o enfermedades (por infiltración y compresión tumoral o evento cerebrovascular) (Fields, 1987).

Como consecuencia del dolor neuropático, la región corporal se vuelve más sensible a los estímulos (mecánicos o térmicos) lo que provoca dolor crónico severo, hiperalgesia y alodinia (respuestas dolorosas a estímulos no nociceptivos). La sensibilización periférica puede contribuir al desarrollo de hiperalgesia secundaria y sensibilización central. El paciente frecuentemente usa términos como: quemante, punzante o como piquetes. Otras palabras empleadas para describirlo son calor, frío, comezón, dolor sordo, ardor. Los síntomas pueden ser focales o más generalizados (Bonica, 1990; Jänig y Levine, 2006). Las principales diferencias entre el dolor somático y el neuropático aparecen resumidas en la Tabla 5.

	Dolor Somático	Dolor Neuropático
Estímulo nociceptivo	Generalmente evidente	No hay estímulo obvio
Localización	Bien localizado Visceral puede ser referido	Generalmente difuso
Características	Similar a otros en la experiencia del paciente	distinto
Efecto de narcóticos	Bueno	Alivio parcial
Efecto de placebos	20% - 30%	60%

Tabla 5. Comparación entre el dolor somático y neuropático.

BIBLIOGRAFÍA

Bonica JJ. 1990. Definitions and taxonomy of pain. En: Bonica JJ. The management of pain. 2nd edition. Philadelphia: Lea & Febiger pp18-196.

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

Ferrante FM. 1993. Acute pain management. *Anesth Analg* 76, S102-S108.

Fields HL. 1987. Pain. (pp1-99), McGraw-Hill. New York.

Jänig W y Levine JD. 2006. Autonomic-endocrine-immune interactions in acute and chronic pain. En: McMahon SB y Koltzenburg M (Eds). Wall and Melzack's textbook of pain. (pp 205-218) Elsevier Churchill Livingston. USA.

Kehlet H. 1989. Surgical stress: the role of pain and analgesia. *BrJ Anaesth.* 63, 189-195.

APÉNDICE 2: MEDIADORES QUÍMICOS DEL DOLOR

El estudio del dolor ha centrado gran parte de sus esfuerzos en la identificación de los mediadores químicos involucrados en la generación, transmisión y modulación de las respuestas nociceptivas. De tal manera, que el estudio de estos mediadores y moduladores del dolor ha permitido entender los mecanismos involucrados en los procesos de dolor anormales o patológicos. En las siguientes tablas (6 y 7) así como en la Figura 13, se resumen los efectos de los principales mediadores químicos del dolor que a nivel periférico activan y modulan la actividad de los nociceptores, y que a nivel del asta dorsal están involucrados en la transmisión de la información nociceptiva.

MEDIADOR QUÍMICO	ORIGEN	BLANCO	EFECTO
Bradicinina	Tejido dañado	Nociceptor (Receptores B1/B2).	-Sensibilización de nociceptores (activación de la PLC y PKC, modulación de canales TRPV1) -Activación de fibras C
Protones	Tejido dañado	Nociceptores y cels. del ganglio de raíz dorsal (activación de Canales TRPV1)	Sensibilización de nociceptores a estímulos mecánicos
Serotonina	Mastocitos y plaquetas	Nociceptores	Incrementa la respuesta de los nociceptores a la bradicinina
Eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos)	Tejido inflamado	Nociceptores y aferentes articulares (actúan sobre Na _v 1.8)	Incremento en la excitabilidad de los nociceptores
Adenosina y fosfatos de adenosina	Tejido inflamado o dañado, plaquetas	Cels. del ganglio de raíz dorsal (actúan sobre receptores P2X)	Activación de nociceptores
Histamina	Mastocitos	Vasos sanguíneos y nociceptores (actúan sobre receptor H1)	Activación de fibras C y vasodilatación

Citocinas	Macrófagos	Receptores en Nociceptores	Sensibilización de nociceptores (efecto directo sobre nociceptores o indirecto a través de la estimulación de la liberación de prostaglandinas)
Aminoácidos excitadores	Macrófagos, cels. dendríticas dérmicas, epidérmicas, de Schwann y nociceptores	Nociceptores y cels. del ganglio de raíz dorsal (actúan sobre receptores ionotrópicos iGlu y metabotrópicos mGluR1 y mGluR5)	Activación directa de nociceptores
Factor de crecimiento nervioso (NGF)	Macrófagos, tejido inflamado	Mastocitos, nociceptores y cels. del ganglio de raíz dorsal (actúan sobre los receptores Na _v 1.8 o TrkA)	Liberación de histamina y serotonina por los Mastocitos. Sensibilización de nociceptores
Opioides	Keratinocitos, macrófagos, monocitos y linfocitos	Nociceptores (actúan sobre receptores μ y κ)	Analgesia periférica
Capsaicina	extracorpórea (Chile)	Nociceptores (actúan sobre receptores TRPV1)	Sensibilización de nociceptores e hiperalgesia térmica
Acetilcolina	No determinado hasta el momento	Receptores nicotínicos y muscarínicos	Receptores nicotínicos: sensibilización de aferentes C; receptores muscarínicos: Desensibilización de aferentes C
GABA	No determinado hasta el momento	Aferentes no mielinizadas (actúan sobre receptores GABA _A)	Efecto bimodal: bajas concentraciones atenúan y altas concentraciones incrementan conductas asociadas a dolor
Somatostatina	No determinado hasta el momento	Aferentes no mielinizadas (actúan sobre receptores SSTR2A)	Mantiene un control tónico inhibitorio en los nociceptores cutáneos

Tabla 6. Mediadores químicos que modulan la actividad de los nociceptores y aferentes periféricas. (Basado en McMahon et al. 2006; Meyer et al. 2006).

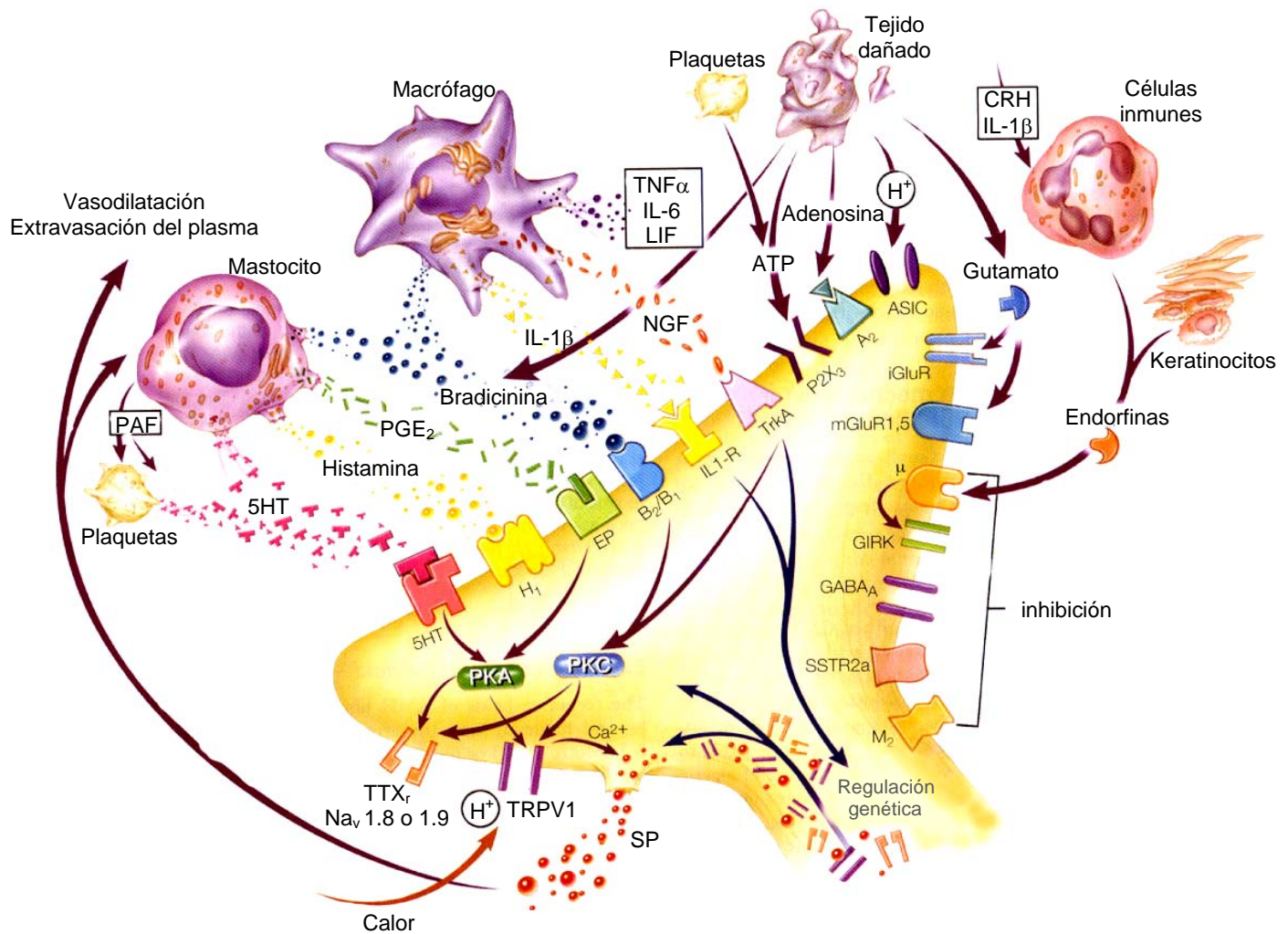


Figura 13. Resumen de los principales mediadores químicos que modulan la actividad de las terminales nociceptivas. CRH, hormona liberadora de corticotropina; GIRK, proteína G acoplada a canales de K⁺ rectificadores; iGLUR, receptor a glutamato ionotrópico; IL-1 β , interleucina 1 β ; IL-6, interleucina 6; 5HT serotonina, mGLUR, receptor a glutamato metabotrópico; NGF, factor de crecimiento nervioso; PAF, factor activador de plaquetas; PGE₂ prostaglandina E₂; PKA, proteína cinasa A; PKC, proteínas cinasa C; SP, Sustancia P; SSSTR2A, receptor a somatostatina 2A; TNF- α , factor de necrosis tumoral α ; TrKA, tirosina cinasa A; TTX_r, canales de sodio resistentes a tetrodotoxina; μ , receptor opiáceo μ . (Tomado de Meyer et al. 2006).

MEDIADOR QUÍMICO	ORIGEN	BLANCO	EFEECTO
Glutamato	Aferentes primarias interneuronas	Neuronas del asta dorsal (proyección, interneuronas)(actúan sobre receptores ionotrópicos -NMDA, AMPA y Kainato- y metabotrópicos	Transmisión sináptica excitatoria entre neuronas del asta dorsal, así como entre aferentes primarias y neuronas de proyección
Substancia P	Aferentes primarias nociceptivas	Neuronas de segundo orden en el asta dorsal (actúan sobre receptores a neurocininas NK1/NK2)	Modulación de la excitabilidad de neuronas del asta dorsal y neuronas de proyección
GABA y Glicina	Interneuronas del asta dorsal	Aferentes primarias e interneuronas del asta dorsal	Transmisión sináptica inhibitoria
Monoaminas (serotonina y norepinefrina)	Sistemas descendentes serotoninérgicos y norepinefrinérgicos	Neuronas de las láminas I-II del asta dorsal de la médula espinal	Modulación de las respuestas nociceptivas
Péptidos opioides endógenos	Interneuronas del asta dorsal	Receptores μ , δ y κ en interneuronas excitatorias del asta dorsal y aferentes primarias nociceptivas	Inhibición de la transmisión de información nociceptiva

Tabla 7. Mediadores químicos que modulan la transmisión de información nociceptiva a nivel de la médula espinal. (Basado en Todd AJ y Koerber R. 2006).

BIBLIOGRAFÍA

Meyer RA, Ringkamp M, Campbell JN y Raja SN. 2006 Peripheral mechanisms of cutaneous nociception. En: McMahon SB y Koltzenburg M (Eds). Wall and Melzack's textbook of pain. (pp 3-34) Elsevier Churchill Livingston. USA.

McMahon SB, Bennett DLH y Bevan S. 2006 Inflammatory mediators and modulators of pain. En: McMahon SB y Koltzenburg M (Eds). Wall and Melzack's textbook of pain. (pp 49-72) Elsevier Churchill Livingston. USA.

Todd AJ y Koerber R. 2006 Neuroanatomical substrates of spinal nociception. En: McMahon SB y Koltzenburg M (Eds). Wall and Melzack's textbook of pain. (pp 73-90) Elsevier Churchill Livingston. USA.

CAPÍTULO 9. BIBLIOGRAFÍA

Agren G, Lundeberg T, Uvnas-Moberg K y Sato A. 1995. The oxytocin antagonist 1-deamino-2-D-Tyr-(Oet)-4-Thr-8-Orn-oxytocin reverses the increase in the withdrawal response latency to thermal, but not mechanical nociceptive stimuli following oxytocin administration or massage-like stroking in rats. *Neurosci Lett.* 187, 49-52.

Albe-Fessard D, Berkley KJ, Kruger L, Ralston HJ 3rd y Willis WD Jr. 1985. Diencephalic mechanisms of pain sensation. *Brain Res.* 356, 217-296.

Al-Chaer ED, Westlund KN y Willis WD. 1997. Nucleus Gracilis: An Integrator for Visceral and Somatic Information. *J Neurophysiol.* 78, 521-527.

Aley KO y Kulkarni SK. 1989. GABAergic agents-induced antinociceptive effect in mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 11, 597-601.

Almeida TF, Roizenblatt S y Tufik S. 2004. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res.* 1000, 40-56.

Alvarez-Leefmans FJ, Nani A y Márquez S. 1998. Chloride transport, osmotic balance, and presynaptic inhibition. En: Rudomin P, Romo R, Mendell L (Eds). *Presynaptic inhibition and neural control.* (pp 50-79) Oxford University Press, New York.

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

Armstrong WE. 1998. Hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei. En: Paxinos G (Eds). *The rat nervous system.* Vol 1 (pp119-126). Academic Press, New York.

Barber RP, Vaughn JE y Saito K. 1978. GABAergic terminals are presynaptic to primary afferent terminals in the substantia gelatinosa of the rat spinal cord. *Brain Res.* 141, 35-55.

Basbaum AY y Jessell TM. 2000. The perception of pain. En: Kandel ER, Schwartz JH, y Jessell TH (Eds.). *Principles of neural science.* (pp 472-491) New York.

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

Baskin DS, Mehler WR, Hosobuchi, Richardson DE, Adams JE y Flitter MA. 1986. Autopsy analysis of the safety, efficacy and cartography of electrical stimulation of the central gray in humans. *Brain Res.* 371, 231-236.

Bernardi PS, Valtschanoff JG, Weinberg RJ, Schmidt HH y Rustioni A. 1995. Synaptic interactions between primary afferent terminals and GABA and nitric oxide-synthesizing neurons in superficial laminae of the rat spinal cord. *J. Neurosci.* 15, 1363-1371.

Besson JM y Chaouch A. 1987. Peripheral and spinal mechanisms of nociception *Physiol Rev.* 67, 67-150.

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

Bester H, Matsumoto N, Besson JM y Bernard JF. 1997. Further evidence for the involvement of the spinoparabrachial pathway in nociceptive processes: a c-Fos study in the rat. *J Comp Neurol.* 383, 439-458.

Bester H, Chapman C, Besson JM y Bernard JF. 2000. Physiological properties of the lamina I spinoparabrachial neurons in the rat. *J Neurophysiol.* 83, 2239-2259.

Brown AG, Fyffe RE, Noble R, Rose PK y Snow PJ. 1980. The density, distribution and topographical organization of spinocervical tract neurones in the cat. *J. Physiol.* 300, 409-428.

Budai D y Fields HL. 1998. Endogenous opioid peptides acting at μ -opioid receptors in the dorsal horn contribute to midbrain modulation of spinal nociceptive neurons. *J. Neurophysiol.* 79, 677-687.

Buritova J, Besson JM y Bernard JF. 1998. Involvement of the spinoparabrachial pathway in inflammatory nociceptive processes: a c-Fos protein study in the awake rat. *J Comp Neurol.* 397,10-28.

Cannon JT, Prieto GJ, Lee A y Liebeskind JC. 1982. Evidence for opioid and non-opioid forms of stimulation-produced analgesia in the rat. *Brain Res.* 243, 315-321.

Casey KL. 2000. The imaging of pain: background and rationale. En: Casey KL, Bushnell MC (Eds). *Pain Imaging.* (pp 1-29).

Castro-Lopes JM, Tavares I, Tolle TR y Coimbra A. 1994. Carrageenan-induced inflammation of the hind foot provokes a rise of GABA-immunoreactive cells in the rat spinal cord that is prevented by peripheral neurectomy or neonatal capsaicin treatment. *Pain.* 56,193-201.

Cechetto DF y Saper CB. 1988. Neurochemical organization of the hypothalamic projection to the spinal cord in the rat. *J. Comp Neurol.* 72, 579-604.

Cervero F, Shouenborg J, Sjolund BH y PJ Waddell. 1984. Cutaneous inputs to dorsal horn neurones in adult rats treated at birth with capsaicin. *Brain Res.* 301, 47-57.

Concepcion M, Maddi R, Francis D, Rocco AG, Murray E y Covino BG. 1984. Vasoconstrictors in spinal anesthesia with tetracaine--a comparison of epinephrine and phenylephrine. *Anesth. Analg.* 63, 134-138.

Condés-Lara M, Gonzalez NM, Martínez-Lorenzana G, Delgado OL y Freund-Mercier MJ. 2003. Actions of oxytocin and interactions with glutamate on spontaneous and evoked dorsal spinal cord neuronal activities. *Brain Res.* 976, 75-81.

Condés-Lara M, Maie IA y Dickenson AH. 2005. Oxytocin actions on afferent evoked spinal cord neuronal activities in neuropathic but not in normal rats. *Brain Res.* 1045, 124-133.

Condés-Lara M, Rojas-Piloni G, Martínez-Lorenzana M, Rodríguez-Jiménez J, López-Hidalgo M y Freund-Mercier MJ. 2006. Paraventricular hypothalamic influences on spinal nociceptive processing. *Brain Res.* 1081, 126-137.

Cousins MJ y Mather LE. 1984. Intrathecal and epidural administration of opioids. *Anesthesiology.* 61, 276-310.

Craig AD Jr, y Tapper DN. 1978. Lateral cervical nucleus in the cat: functional organization and characteristics. *J Neurophysiol.* 41, 1511-1518.

Craig, AD. 2003. Pain mechanisms: labeled lines versus convergence in central processing. *Annu. Rev. Neurosci.* 26, 1-30.

Désarmenien M, Feltz P, Occhipinti G, Santangelo F y Schlichter R. 1984a. Coexistence of GABA_A and GABA_B receptors on A delta and C primary afferents. *Br J Pharmacol.* 81, 327-333.

Désarmenien M, Santangelo F, Loeffler JP y Feltz P. 1984b. Comparative study of GABA-mediated depolarizations of lumbar A delta and C primary afferent neurones of the rat. *Exp Brain Res.* 54, 521-528.

Di Scala-Guenot D, Mougnot D y Strosser MT. 1994. Increase of intracellular calcium induced by oxytocin in hypothalamic cultured astrocytes. *Glia.* 11, 269-276

Du-Vigneaud V, Ressler C y Tipett S. 1953. The sequence of amino-acids in oxytocin, with a proposal for the structure of oxytocin. *J. Biol. Chem.* 205, 949-957.

Dickenson AH, Chapman V y Green GM. 1997. The pharmacology of excitatory and inhibitory amino acid-mediated events in the transmission and modulation of pain in the spinal cord. *Gen Pharmacol.* 28, 633-638.

Dickenson AH y Sullivan AF. 1990. Differential effects of excitatory amino acid antagonists on dorsal horn nociceptive neurones in the rat. *Brain Res.* 506, 31-39.

Dunlap K. 1998. Mechanisms and physiological implications of receptor-mediated inhibition of voltage-dependent calcium channels. En: Rudomin P, Romo R, Mendell L (Eds). *Presynaptic inhibition and neural control.* (pp 80-94). Oxford University Press, New York.

El-Yassir N y Fleetwood-Walker SM. 1990. A 5-HT₁-type receptor mediates the antinociceptive effect of nucleus raphe magnus stimulation in the rat. 1990. *Brain Res.* 523, 92-109.

Feltz P, Occhipinti G, Santangelo F y Schlichter R. 1984. Existence of GABA_A and GABA_B receptors on A delta and C primary afferents. *J. Pharmacol.* 81, 327-333.

Fields HL y Basbaum AI. 1985. Neural mechanisms of opiate analgesia. *Adv. Pain Res. Ther.* 9, 479-486.

Fields HL. 1987. Pain. (pp1-99), McGraw-Hill. New York.

Fonseca MI, Ni YG, Dunning DD y Miledi R. 2001. Distribution of serotonin 2A, 2C and 3 receptor mRNA in spinal cord and medulla oblongata. *Mol Brain Res.* 89, 11-19.

Freund-Mercier MJ, Breton JD, Rojas-Piloni G, López-Hidalgo MA, Martínez-Lorenzana G, Vergnano AM, Schlichter R, Condés-Lara M y Poisbeau P. 2006. Mechanisms of oxytocin antinociception in spinal pain pathways. *5th Forum of European Neuroscience.* Viena, Austria.

Gasser HS y Erlanger J. 1930. The ending of the axon action potential, and its relation to other events in nerve activity. *Am J Physiol.* 94, 247-277.

Gimpl G y Fahrenholz F. 2001. The oxytocin receptor system: structure, function and regulation. *Physiol. Rev.* 81, 629-683.

Glaum SR, Miller RJ y Hammond DL. 1994. Inhibitory actions of delta 1-, delta 2-, and mu-opioid receptor agonists on excitatory transmission in lamina II neurons of adult rat spinal cord. *J. Neurosci.* 14, 4965-4971.

Gong LW, Ding YQ y Wang D. 1997. GABAergic synapses on μ -opioid receptor-expressing neurons in the superficial dorsal horn: an electron microscope study in the cat spinal cord. *Neurosci Lett.* 227, 33-36.

Hagihira S, Senba E, Yoshida S, Tohyama M y Yoshiya I. 1990. Fine structure of noradrenergic terminals and their synapses in the rat spinal dorsal horn: an immunohistochemical study. *Brain Res.* 526, 73-80.

Hammond DL y Washington JD. 1993. Antagonism of L-baclofen-induced antinociception by CGP 35348 in the spinal cord of the rat. *Eur J Pharmacol.* 234, 255-262.

Heinke B, Ruscheweyh R, Forsthuber L, Wunderbaldinger G y Sandkühler J. 2004. Physiological, neurochemical and morphological properties of a subgroup of GABAergic spinal lamina II neurones identified by expression of green fluorescent protein in mice. *J. Physiol.* 560, 249-266.

Herrero JF, Laird JM y Lopez-Garcia JA. 2000. Wind-up of spinal cord neurones and pain sensation: much ado about something?. *Prog Neurobiol.* 61, 169-203.

Huber D, Veinante P y Stoop R. 2005. Vasopressin and oxytocin excite distinct neuronal populations in the central amygdala. *Science.* 308, 245-248.

Jo YH, Stoeckel ME, Freund-Mercier MJ y Schlichter R. 1998. Oxytocin modulates glutamatergic synaptic transmission between cultured neonatal spinal cord dorsal horn neurons. *J. Neurosci.* 18, 2377-2386.

Jo YH, Stoeckel E y Schlichter R. 2004. Electrophysiological properties of cultured neonatal rat dorsal horn neurons containing GABA and met-enkephalin-like immunoreactivity. *J. Physiol.* 560, 249-266.

Johnson BM y Komisaruk BR. 1996. Antinociceptive action of vaginocervical stimulation in rat spinal cord: 2-DG analysis. *Physiol Behav.* 60, 979-983.

Jones SL y Gebhart GF. 1987. Spinal pathways mediating tonic, coeruleospinal, and raphe-spinal descending inhibition in the rat. *J. Neurophysiol.* 58, 138-159.

Kabat H, Mogoum HW y Ranson SW. 1935. Electrical stimulation of points in the forebrain and midbrain. The resultant alteration in blood pressure. *Arch. Neurol. Psychiatry* 34, 931-940.

Kingery WS, Guo TZ, Davies MF, Limbird L y Maze M. 2000. The alpha(2A) adrenoceptor and the sympathetic postganglionic neuron contribute to the development of neuropathic heat hyperalgesia in mice. *Pain.* 85, 345-58.

Komisaruk BR. 1982. The role of brain stem-spinal systems in genital stimulation-induced inhibition of sensory and motor responses to noxious stimulation. En: Sjölund B y Björklund (Eds). Brain stem control of spinal mechanisms. (pp 493-508). Edit. Elsevier Medical Press.

Komisaruk BR y Larsson K. 1971. Suppression of spinal and a cranial nerve reflex by vaginal or rectal probing in rats. *Brain Res.* 35, 231-235.

Komisaruk BR y Whipple B. 2005. Functional MRI of the brain during orgasm in women. *Annu Rev Sex Res.* 16, 62-86.

Kuypers HGJ y Maisky VA. 1975. Retrograde axonal transport of horseradish peroxidase from spinal cord to brain stem cell groups in the cats. *Neurosci. Lett.* 1, 9-14.

Lambert RC, Dayanithi G, Moos FC y Richard P. 1994. A rise in the intracellular Ca²⁺ concentration of isolated rat supraoptic cells in response to oxytocin. *J Physiol.* 478, 275-287.

Latham J y Davis BD. 1994. The socioeconomic impact of chronic pain. *Disabil Rehabil.* 16:39.

Lund I, Yu LC, Uvnas-Moberg K, Wang J, Yu C, Kurosawa M, Agren G, Rosen A, Lekman M y Lundeberg T. 2002. Repeated massage-like stimulation induces long-term effects on nociception: contribution of oxytocinergic mechanisms. *Eur J. Neurosci.* 16, 330-336.

Lundeberg T, Meister B, Bjorkstrand E y Uvnas-Moberg K. 1993. Oxytocin modulates the effects of galanin in carrageenan-induced hyperalgesia in rats. *Brain Res.* 608, 181-185.

Lundeberg T, Uvnas-Moberg K, Agren G y Bruzelius G. 1994. Anti-nociceptive effects of oxytocin in rats and mice. *Neurosci Lett.* 170, 153-157.

Ma W, Ribeiro-da-Silva A, De Koninck Y, Radhakrishnan V, Cuello AC y Henry JL. 1997. Substance P and enkephalin immunoreactivities in axonal boutons presynaptic to physiologically identified dorsal horn neurons. An ultrastructural multiple-labelling study in the cat. *Neurosci.* 77, 793-811.

Magnuson DS y Dickenson AH. 1991. Lamina-specific effects of morphine and naloxone in dorsal horn of rat spinal cord in vitro. *J Neurophysiol.* 66, 1941-1950.

Magoun HW. 1940. Descending connections from the hypothalamus. *Res. Publ-Assoc. Nerv. Ment. Dis.* 20, 270-285.

Martin WR. 1984. Pharmacology of opioids. Axons which take up [³H] serotonin are presynaptic to enkephalin immunoreactive neurons in cat dorsal horn. *Brain Res.* 298, 389-391.

Melzack R y Wall PD. 1965. Pain mechanisms: a new theory. *Science.* 150, 971-979.

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

Merskey H y Bogduk N. 1994. Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms (p. 210). *IASP press.*

Millan MJ. 1999. The induction of pain: an integrative review, *Prog. Neurobiol.* 57, 1-64.

Millan MJ. 2002. Descending control of pain. *Prog Neurobiol.* 66, 355-474.

Millar J y Williams GV. 1989. Effects of iontophoresis of noradrenaline and stimulation of the periaqueductal gray on single-unit activity in the rat superficial dorsal horn. *J Comp Neurol.* 287, 119-133.

Miranda-Cárdenas Y, Rojas-Piloni G, Martínez-Lorenzana M, Rodríguez-Jiménez J, López-Hidalgo M, Freund-Mercier MJ y Condés-Lara M. 2006. Oxytocin and electrical stimulation of the paraventricular hypothalamic nucleus produce antinociceptive effects that are reversed by an oxytocin antagonist. *Pain.* 122, 182-189.

Moises HC, Rusin KI y McDonald RL. 1994. μ -Opioid receptor-mediated reduction of neural calcium current occurs via G α -type GTP-binding protein. *J. Neurosci.* 14, 3842-3851.

Nathan PW. 1977. Pain. *Br. Med. Bull.* 33, 149-156.

Olave MJ y Maxwell DJ. 2003a. Axon terminals possessing the alpha 2c-adrenergic receptor in the rat dorsal horn are predominantly excitatory. *Brain Res.* 965, 269-273.

Olave MJ y Maxwell DJ. 2003b. Neurokinin-1 Projection Cells in the Rat Dorsal Horn Receive Synaptic Contacts from Axons That Possess α_{2C} -Adrenergic Receptors. *J. Neurosci.* 23, 6837-6846.

Onofrio BM y Yaksh TL. 1990. Long-term pain relief produced by intrathecal morphine infusion in 53 patients. *Journal of Neurosurgery.* 72, 200-209.

Paxinos G y Watson C. 1998. The rat brain in stereotaxic coordinates. Fourth edition. Academic Press. New York.

Petersson M, Wiberg U, Lundeberg T y Uvnas-Moberg K. 2001. Oxytocin decreases carrageenan induced inflammation in rats. *Peptides*. 22, 1479-1484.

Pomeroy SL y Behbehani MM. 1979. Physiologic evidence for a projection from periaqueductal gray to nucleus raphe magnus in the rat. *Brain Res*. 176, 143-147.

Price DD, Hayashi H, Dubner R y Ruda MA. 1979. A functional relationship between neurons of marginal and substantia gelatinosa layers of primate dorsal horn. *J. Neurophysiol*. 44, 1590-1608.

Price GW, Wilkin GP, Turnbull MJ y Bowery NG. 1984. Are baclofen-sensitive GABAB receptors present on primary afferent terminals of the spinal cord?. *Nature*. 307, 71-74.

Raggenbass M y Dreifuss JJ. 1992. Mechanism of action of oxytocin in rat vagal neurones: induction of a sustained sodium-dependent current. *J Physiol*. 457, 131-142.

Reddy SV y Yaksh TL. 1980. Spinal noradrenergic terminal system mediates antinociception. *Brain Res*. 189, 391-401.

Reiter MK, Kremarik P, Freund-Mercier MJ, Stoeckel ME, Desaulles E y Feltz P. 1994. 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, 98-104.

Rexed B. 1952. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *J Comp. Neurol*. 96, 415-495.

Reynolds DV. 1969. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. *Science*. 164, 444-445.

Richardson DE y Akil H. 1977. Pain reduction by electrical brain stimulation in man. *J. Neurosurg*. 47, 178-183.

Roberts LA, Beyer C y Komisaruk BR. 1986. Nociceptive responses to altered GABAergic activity at the spinal cord. *Life Sci*. 39, 1667-1674.

Robinson DA, Wei F, Wang GD, Li P, Kim SJ, Vogt SK, Muglia LJ y Zhuo M. 2002. Oxytocin mediates stress-induced analgesia in adult mice. *J. Physiol*. 540, 593-606.

Rocha-Gonzalez HI, Meneses A, Carlton SM y Granados-Soto V. 2005. Pronociceptive role of peripheral and spinal 5-HT7 receptors in the formalin test. *Pain*. 117, 182-192.

Rousselot P, Papadopoulos G, Merighi A, Poulain DA y Theodosis, DT. 1990. Oxytocinergic innervation of the rat spinal cord. An electron microscopic study. *Brain Res*. 529, 178-184.

Ruda MA. 1982. Opiates and pain pathways: demonstration of enkephalin synapses on dorsal horn projections neurons. *Science*. 215, 1523-1525.

Rudomin P y Schmidt RF. 1999. Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp. Brain. Res.* 129, 1-37.

Sansone GR, Gerdes GR, Steinman JL, Wislow JT, Ottenweller JE, Komisaruk BR y Insel TR. 2002. Vagino-cervical stimulation releases oxytocin within the spinal cord in rats. *Neuroendocrinol.* 75, 306-315.

Saper CB y Loewy AD, Swanson LW y Cowan WM. 1976. Direct hypothalamo-autonomic connections. *Brain Res.* 117, 305-312.

Sawchenko PE y Swanson LW. 1982. Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the medulla or to the spinal cord in the rat. *J Comp Neurol.* 205, 260-272.

Seagrove LC, Suzuki R y Dickenson AH. 2004. Electrophysiological characterizations of rat lamina I dorsal horn neurons and the involvement of excitatory amino acid receptors. *Pain.* 108, 76-87.

Shiraishi T, Onoe M, Kojima T, Sameshima Y y Kageyama T. 1995. Effects of hypothalamic paraventricular nucleus: Electrical stimulation produce marked analgesia in rats. *Neurobiol.* 3, 393-403.

Simeone TA y Donevan SD, y Rho JM. 2003. Molecular biology and ontogeny of gamma-aminobutyric acid (GABA) receptors in the mammalian central nervous system. *Child Neurol.* 18, 39-48.

Sofroniew MV, Weindl A, Schrell U y Wetzstein R. 1981. Immunohistochemistry of vasopressin, oxytocin and neurophysin in the hypothalamus and extrahypothalamic regions of the human and primate brain. *Acta Histochem Suppl.* 24, 79-95.

Sorkin LS, McAdoo DJ y Willis WD. 1993. Raphe magnus stimulation-induced antinociception in the cat is associated with release of amino acids as well as serotonin in the lumbar dorsal horn. *Brain Res.* 618, 95-108.

Steinman JL, Komisaruk BR, Yaksh TL y Tyce GM. 1983. Spinal cord monoamines modulate the antinociceptive effects of vaginal stimulation. *Pain.* 16, 155-166.

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

Taddese A, Nah SY y McCleskey EW. 1995. Selective opioid inhibition of small nociceptive neurons. *Science.* 270, 1366-1369.

Todd AJ y Spike RC. 1993. The localization of classical transmitter and neuropeptides within neurons in laminae I-III of the mammalian spinal dorsal horn. *Prog Neurobiol.* 41, 609-645.

- Todd AJ, Spike RC, Russell G y Johnston HM. 1992. Immunohistochemical evidence that Met-enkephalin and GABA coexist in some neurones in rat dorsal horn. *Brain Res.* 584, 149-156.
- Truesdell LS y Bodnar RJ. 1987. Reduction in cold-water swim analgesia following hypothalamic paraventricular nucleus lesions. *Physiol Behav.* 39, 727-731.
- Uvnas-Moberg K, Bruzelius G, Alster P, Bileviciute I y T Lundeberg. 1992. Oxytocin increases and a specific oxytocin antagonist decreases pain threshold in male rats. *Acta Physiol Scand.* 144, 487-488.
- Vaida GT, Moss P, Capan LM y Turndorf H. 1986. Prolongation of lidocaine spinal anesthesia with phenylephrine. *Anesth. Analg.* 65, 781-785.
- Wang RA y Randic M. 1994. Activation of μ -opioid receptor modulates GABA_A receptor-mediated currents in isolated spinal dorsal horn neurons. *Neurosci Lett.* 180, 109-113.
- Westlund KN, Bowker RM, Ziegles MG y Coulter JD. 1984a. Origins and terminations of descending noradrenergic projections to the spinal cord of the monkey. *Brain Res.* 292, 1-16.
- Westlund KN, Bowker RM, Ziegles MG y Coulter JD. 1984b. Descending noradrenergic projections and their spinal terminations. En: Kuypers HM y Martin GF (Eds). *Descending pathways to the spinal cord.* *Brain Res.* 57, 219-238.
- Willis WD Jr. 1988. Anatomy and physiology of descending control of nociceptive responses of dorsal horn neurons: comprehensive review. *Prog Brain Res.* 77, 1-29.
- Willis WD. 1992. Descending control systems: physiological aspects. En: Besson JM, Builbaud G. Eds. *Towards the use of noradrenergic agonists for the treatment of pain.* Excerpta Medica. Amsterdam. p. 47-64. Elsevier.
- Willis WD y Westlund KN. 1997. Neuroanatomy of the pain system that modulate pain. *J. Clin. Neurophysiol.* 14, 2-31.
- Wisden W, Gundlach AL, Barnard EA, Seeburg PH y Hunt SP. 1991. Distribution of GABAA receptor subunit mRNAs in rat lumbar spinal cord. *Brain Res Mol Brain Res.* 10, 179-183.
- Xu XJ y Wiesenfeld-Hallin Z. 1994. Is systemically administered oxytocin an analgesic in rats?. *Pain.* 57, 193-196.
- Yaksh TL y Wilson PR. 1985. The physiology and pharmacology of spinal opiates. *Annu. Rev. Pharmacological. Toxicol.* 25, 433-462.
- Yaksh TL y Rudy TA. 1976. Analgesia mediated by a direct spinal action of narcotics. *Science.* 192, 1357-1358.
- Yang J. 1994. Intrathecal administration of oxytocin induces analgesia in low back pain involving the endogenous opiate peptide system. *Spine.* 19, 867-871.

Yang J, Chen JM, Song CY, Liu WY, Wang G, Wang CH y Lin BC. 2006a. Through the central V2, not V1 receptors influencing the endogenous opiate peptide system, arginine vasopressin, not oxytocin in the hypothalamic paraventricular nucleus involves in the antinociception in the rat. *Brain Res.* 1069, 127-138.

Yang J, Liu WY, Song CY y Lin BC. 2006b. Through central arginine vasopressin, not oxytocin and endogenous opiate peptides, glutamate sodium induces hypothalamic paraventricular nucleus enhancing acupuncture analgesia in the rat. *Neurosci Res.* 54, 49-56.

Yirmiya R, Ben-Eliyahu S, Shavit Y, Marek P y Liebeskind JC. 1990. Stimulation of the hypothalamic paraventricular nucleus produces analgesia not mediated by vasopressin or endogenous opioids. *Brain Res.* 537, 169-174.

Yoshimura M y Furue H. 2006. Mechanisms for the anti-nociceptive actions of the descending noradrenergic and serotonergic systems in the spinal cord. *J Pharmacol Sci.* 101, 107-117.

Yu SQ, Lundeberg T y Yu LC. 2003. Involvement of oxytocin in spinal antinociception in rats with inflammation. *Brain Res.* 983, 13-22.

Zaninetti M y Raggenbass M. 2000. Oxytocin receptor agonists enhance inhibitory synaptic transmission in the rat hippocampus by activating interneurons in stratum pyramidale. *Eur J Neurosci.* 12, 3975-3984.

Zheng W, i Xie W, Zhang J, Strong JA, Wang L, Yu L, Xu M y Lu L. 2003. Function of γ -Aminobutyric Acid Receptor/Channel γ_1 Subunits In Spinal Cord. *J. Biol. Chem.* 278, 48321-48329.

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

CAPITULO 10. ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Principales vías por las que se transmite la información nociceptiva	12
Figura 2. Circuitos locales que ocurren en las láminas superficiales del asta dorsal de la médula espinal.....	20
Figura 3. Efecto de la estimulación del NPV sobre las respuestas neuronales producidas por la activación del campo receptivo periférico	33
Figura 4. Efecto de la estimulación del NPV sobre las respuestas nociceptivas en neuronas del asta dorsal registradas en presencia de AOT y BIC	35
Figura 5. El AOT y la BIC bloquean la inhibición de las respuestas neuronales provocadas por la estimulación del NPV	36
Figura 6. La inhibición de las respuestas por efecto de la aplicación tópica de OT es bloqueada cuando se registra en presencia de BIC	36
Figura 7. Efecto de la estimulación del NPV en un registro de 2 células en presencia de BIC.....	38
Figura 8. Efecto del AOT sobre la activación neuronal producida por la estimulación del NPV	39
Figura 9. El efecto antinociceptivo producido por la estimulación del NPV es menor cuando se registra en presencia de naloxona.....	40
Figura 10. El efecto antinociceptivo producido por la aplicación tópica de OT es menor cuando se registra en presencia de naloxona.....	41
Figura 11. Localización de algunos sitios de registro	43
Figura 12. Posible mecanismo mediante el cual la activación de la vía hipotálamo-espinal modula las respuestas de aferentes nociceptivas A δ y C	55
Figura 13. Resumen de los principales mediadores químicos que modulan la actividad de las terminales nociceptivas	65

Tabla 1. Cuantificación del porcentaje del cambio de las respuestas neuronales por efecto de la estimulación del NPV.....	31
Tabla 2. Resumen del porcentaje de cambio observado en las respuestas neuronales producidas por la aplicación de AOT, BIC y NALX en ausencia de la estimulación del NPV.....	42
Tabla 3. Resumen del porcentaje de cambio observado en las respuestas neuronales producidas por la estimulación del NPV o la aplicación de OT en presencia y ausencia de AOT, BIC y NALX.....	43
Tabla 4. Respuestas sistémicas y locales que se presentan durante el dolor agudo.....	58
Tabla 5. Comparación entre el dolor somático y neuropático.....	62
Tabla 6. Mediadores químicos que modulan la actividad de los nociceptores y aferentes periféricas.....	64
Tabla 7. Mediadores químicos que modulan la transmisión de información nociceptiva a nivel de la médula espinal.....	66