



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

MODULACIÓN CORTICO-TALÁMICA DE LA NOCICEPCIÓN MENÍNGEA.

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:  
AGUSTIN MELO CARRILLO

DIRECTOR DE TESIS  
DR. JORGE ALBERTO LÓPEZ AVILA  
FACULTAD DE MEDICINA  
COMITÉ TUTOR:  
DR. MIGUEL PÉREZ DE LA MORA  
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR  
DR. FRANCISCO JULIO PELLICER GRAHAM  
FACULTAD DE MEDICINA

MÉXICO, D.F. AGOSTO 2013.



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.

## **INDICE.**

<b>1. RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>2. ABREVIATURAS.</b>	<b>4</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN.</b>	<b>6</b>
3.1. Aspectos históricos de la migraña.	6
3.2. Epidemiología.	8
3.3. Componentes genéticos y ambientales.	9
3.4. Manifestaciones clínicas.	9
3.4.1. Migraña sin aura.	9
3.4.2. Migraña con aura.	10
3.5. Vías de nocicepción meníngea.	11
3.6. Fisiopatología.	13
3.7. Teorías de nocicepción meníngea.	14
3.7.1. Depresión cortical difusa.	14
3.7.2. Hiperexcitabilidad cortical.	15
3.7.3. Generadores endógenos en el tronco-encéfalo.	17
3.7.4. Inflamación neurogénica meníngea.	17
3.7.5. La sensibilización periférica y central.	18
3.8. Tratamiento.	20
3.8.1. Tratamiento no farmacológico.	20
3.8.2. Tratamiento farmacológico.	21
3.8.3. Tratamiento para ataques en agudo.	21
3.8.4. Tratamiento profiláctico.	22
3.9. Modelos animales para el estudio del dolor cráneo-facial.	24
3.9.1. Modelos basados en anastomosis arteriovenosas y vasos sanguíneos aislados.	25
3.9.2. Modelos basados en la depresión cortical difusa.	25
3.9.3. Modelos animales basados en circuitos neurovasculares.	26
<b>4. JUSTIFICACIÓN.</b>	<b>28</b>
<b>5. OBJETIVOS.</b>	<b>29</b>

<b>6. MATERIAL Y MÉTODOS.</b>	30
6.1. Consideraciones éticas.	30
6.2. Periodo de habituación.	30
6.3. Procedimientos quirúrgicos.	31
6.3.1. Craneotomía y posicionamiento de cánula.	31
6.3.2. Colocación de los electrodos para el registro del EEG.	34
6.4. Registro conductual.	35
6.5. Análisis conductual.	36
6.5.1. Análisis de la conducta nociceptiva.	38
6.6. Análisis y adquisición del EEG.	38
6.7. Grupos experimentales.	38
6.7.1. Grupos conductuales.	38
6.7.2. Grupos conductuales con intervención farmacológica.	39
6.7.3. Grupos de EEG.	39
6.8. Análisis estadístico.	39
6.8.1. Análisis estadístico conductual.	39
6.8.2. Análisis estadístico del EEG.	40
6.9. Análisis histológico.	40
<b>7. RESULTADOS.</b>	41
7.1. Resultados conductuales.	41
7.2. Conducta de reposo.	41
7.2.1. Promedio de la conducta durante 7 días.	41
7.2.2. Análisis día a día.	41
7.3. Conducta de freezing.	42
7.3.1. Promedio de la conducta durante 7 días.	42
7.3.2. Análisis día a día.	42
7.4. Conducta de exploración.	42
7.4.1. Promedio de la conducta durante 7 días.	42
7.4.2. Análisis día a día.	42
7.5. Conducta de aseo corporal y facial.	43
7.6. Observaciones de conducta adicionales: aseo facial ipsilateral.	47

7.7. Análisis de la conducta nociceptiva.	47
7.8. Resultados de la intervención farmacológica.	48
7.8.1. Zolmitriptan – resultados conductuales.	48
7.8.1.1. Conducta de reposo.	48
7.8.1.1.1. Promedio de la conducta durante 7 días.	48
7.8.1.1.2. Análisis día a día.	48
7.8.1.2. Conducta de freezing.	48
7.8.1.2.1. Promedio de la conducta durante 7 días.	48
7.8.1.2.2. Análisis día a día.	49
7.8.1.3. Conducta de exploración.	49
7.8.1.3.1. Promedio de la conducta durante 7 días.	49
7.8.1.3.2. Análisis día a día.	49
7.8.1.4. Conducta de aseo facial y corporal.	49
7.8.1.5. Aseo facial ipsilateral.	49
7.8.1.6. Conducta nociceptiva.	50
7.8.2. Ketorolaco – resultados conductuales.	50
7.8.2.1. Aseo facial ipsilateral..	50
7.8.2.2. Conducta nociceptiva.	50
7.8.3. Acetaminofen – resultados conductuales.	51
7.8.3.1. Aseo facial ipsilateral.	51
7.8.3.2. Conducta nociceptiva.	51
7.9. Resultados EEG.	53
7.10. Resultados histológicos.	56
<b>8. DISCUSIÓN.</b>	<b>57</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.</b>	<b>60</b>
<b>10. ANEXOS.</b>	<b>78</b>

## 1. Resumen.

*Antecedentes:* la migraña es una patología neurovascular crónica caracterizada por cefaleas unilaterales recurrentes, altamente incapacitante, que se presenta en un 15% de la población mexicana y un 12% de la población mundial. A pesar de la vasta investigación básica y clínica que se ha generado en este campo, la fisiopatología y el tratamiento eficaz de la migraña no se han dilucidado. Una de las principales causas por las cuales se desconoce la génesis y mantenimiento de la migraña es que en la actualidad carecemos de un modelo animal que mimetice las manifestaciones clínicas de dicha patología.

*Objetivos:* desarrollar un modelo animal crónico de nocicepción meníngea que genere manifestaciones conductuales, farmacológicas y electrofisiológicas similares a las desplegadas por los pacientes con migraña.

*Material y métodos:* los procedimientos fueron aprobados por la comisión de ética de nuestra Institución. Se utilizaron ratas Wistar macho, las cuales fueron habituadas tanto al sitio de registro como a la manipulación. Posteriormente, bajo anestesia general se realizó una craneotomía en la cual se implanta una cánula superficial a la meninge sin lesionarla, a través de la cual, se infunde el vehículo o la sustancia inductora del proceso migrañoso [sopa inflamatoria (SI): histamina, bradicinina, serotonina a 1mM y PGE2 a 0.1mM].

Se analizaron las siguientes características extrapolables a las manifestaciones inducidas por la migraña en el humano: actividad motora, conductas anti-nociceptivas, actividad electroencefalográfica, sueño y respuesta farmacológica en los siguientes grupos: Grupo control: infusión de vehículo; Grupo sham: falso operado; Grupo experimental: infusión meníngea de SI; Grupos zolmitriptan, ketorolaco y acetaminofen: con infusión de SI más el tratamiento farmacológico con cada uno de estos activos.

*Resultados:* se demostró que la inducción repetida del proceso migrañoso (SI) despliega una conducta nociceptiva en los animales caracterizada por el aumento de la conducta de reposo y congelamiento motor, así como un incremento en las conductas anti-nociceptivas. Se lograron identificar cambios electroencefalográficos similares a los que se presentan en los pacientes migrañosos como: cambios en el patrón de sueño y la presencia de alteraciones en la actividad cortical. Aunado a esto todas las manifestaciones fueron parcialmente revertidas por el tratamiento farmacológico.

*Conclusiones:* los resultados muestran que el modelo animal presenta características muy similares a la condición humana, en el sentido en que mimetiza diversas manifestaciones clínicas como incremento del reposo, conductas anti-algésicas, disminución del sueño y alteraciones electroencefalográficas en la actividad cortical similares a la depresión cortical difusa. Así mismo los tratamientos farmacológicos actuales en el humano muestran una eficacia similar en nuestro modelo animal.

Lo mencionado anteriormente nos permite proponer este modelo animal como una nueva herramienta para el estudio de la migraña, la cual podría contribuir al estudio de la fisiopatología, así como al desarrollo de nuevos abordajes terapéuticos para la migraña.

*Background:* Migraine is a chronic neurovascular disease characterized by recurrent unilateral headaches, highly disabling and occurs in 15% of the Mexican population and in 12% of the world population. Despite extensive clinical and basic research that has been conducted in this field, the pathophysiology and effective treatment for migraine have not been elucidated. One of the main reasons why the genesis and maintenance of migraine is actually unknown is that there are no proper models for the study of this disease.

*Objectives:* To develop an animal model of chronic meningeal nociception which could produce measurable changes on behavior, on the pharmacological response and on the electrophysiological activity similar to those displayed by patients with migraine.

*Material and Methods:* The procedures were approved by the ethics committee of the National Institute of Psychiatry. Male Wistar rats were used for all the procedures. The rats were habituated to the experimental area for further recordings. Subsequently, a craniotomy was performed under general anesthesia and a cannula was implanted on the surface of the skull, without damaging the meninges. A vehicle solution or an inflammatory soup containing histamine, bradykinin, and 1 mM serotonin 0.1mM PGE2 was infused after 15 minutes of basal recording.

We analyzed the following characteristics extrapolated to the manifestations induced by migraine in humans: motor activity, anti-nociceptive behaviors, electroencephalographic activity, sleep and pharmacological response to different drugs in the following groups: Control group: infusion of vehicle; Sham group: false operated; Experimental group: IS meningeal infusion. The pharmacological groups were Zolmitriptan group, Ketorolac group and Acetaminophen group, all of them were treated with each drug before the infusion of IS.

*Results:* We found that the induction of repeated meningeal nociception (through the IS infusion) leads to a nociceptive behavior in animals characterized by the increase in freezing behavior and rest behavior, and increased anti-nociceptive behaviors. We were able to identify EEG changes similar to those shown by migraine patients, and also changes in sleep patterns as well as the presence of alterations in cortical activity. In addition to this all behavioral manifestations of nociception were partially reversed by drug treatment.

*Conclusions:* The results show that the animal model we developed, share similarities with the human condition, in the sense that it mimics various clinical manifestations such as increased rest, anti-algesic behavior, loss of sleep and EEG changes in cortical activity similar to the cortical spreading depression. Likewise current pharmacological treatments in humans show similar efficacy in our animal model.

The above results allow us to propose this animal model as a new tool for the study of migraine, which could contribute to the study of the pathophysiology, and the development of new therapeutic approaches for migraine.



## **2. Abreviaturas.**

<b>AC</b>	<b>Altern Current (corriente alterna)</b>
<b>AINES</b>	<b>Anti-inflamatorios No Esteroideos</b>
<b>AOL</b>	<b>Actividad de Ondas Lentas</b>
<b>BOLD</b>	<b>Blood Oxygen Level Dependant</b>
<b>RMf</b>	<b>Resonancia Magnética Funcional</b>
<b>GC</b>	<b>Ganglio Cervical</b>
<b>CGRP</b>	<b>Calcitonin Gene Related Peptide</b>
<b>DCP</b>	<b>Depresion Cortical Propagante</b>
<b>EEG</b>	<b>Electroencefalograma</b>
<b>IASP</b>	<b>International Association for the Study of Pain</b>
<b>ICHD</b>	<b>International Classification of Headache Disorders</b>
<b>LC</b>	<b>Locus Coeruleus</b>
<b>MAO</b>	<b>Mono Amino Oxidasa</b>
<b>OMS</b>	<b>Organización Mundial de la Salud</b>
<b>SGp</b>	<b>Sustancia Gris Periacueductal</b>
<b>PGE2</b>	<b>Prostaglandina E2</b>
<b>Sp5C</b>	<b>Núcleo Caudado del complejo sensitivo trigeminal</b>
<b>SP</b>	<b>Sustancia P</b>
<b>GEP</b>	<b>Ganglio Esfenopalatino</b>
<b>NSS</b>	<b>Núcleo Superior Salivatorio</b>

**GT**

**Ganglio Trigeminal**

**CTC**

**Complejo Trigémico-Cervical**

### **3. Introducción.**

La cefalea de tipo migrañosa es una de las más comunes y es considerada un problema de salud pública debido a su alto impacto socioeconómico en la población, así como por su efecto negativo en la vida diaria de los pacientes (1).

La migraña es una patología común, crónica e incapacitante de origen neurovascular caracterizada por ataques de cefalea, disfunción del sistema nervioso autónomo y en algunos pacientes síntomas neurológicos que preceden el ataque conocido como aura (1).

Debido a la complejidad de la patología, desarrollar un modelo adecuado para su estudio es algo difícil de lograr. Cabe mencionar que la mayoría de los estudios realizados hasta ahora para conocer la fisiopatología de la migraña se han realizado en modelos de nocicepción aguda, siendo que la enfermedad es por definición crónica. En este trabajo se decidió desarrollar un modelo animal donde fuera posible analizar las diferentes características de la enfermedad incluyendo su cronicidad.

#### **3.1 Aspectos históricos de la migraña.**

Los primeros informes acerca del dolor de cabeza datan desde el antiguo Egipto y la mitología griega. Más tarde, en el 450 antes de Cristo, el padre de la medicina, Hipócrates, parece haber descrito la migraña oftálmica o cefalea oftálmica, nombre con el que se le conoce actualmente. Sin embargo, la primera descripción de la migraña como una entidad distinta en el amplio campo de las cefaleas es obra de Areteo de Capadocia (30 - 90 DC) quien hizo hincapié en el carácter unilateral y la presencia de náuseas y vómitos. Cien años más tarde, Galeno tomó esta descripción al hablar de "hemicránea", un término que con el tiempo se convertirá en la migraña. Durante el Renacimiento, Ambroise Paré (1509-1590) fue el principal defensor de la teoría vascular al escribir: "la causa de la migraña puede provenir de las venas o arterias, tanto internos como externos o meninges o sustancia cerebral". El francés André Simon Tissot (1727-1797) señaló la importancia de los factores emocionales al distinguirse de otros dolores de cabeza (2).

Uno de los primeros intentos terapéuticos fue la administración de derivados del cornezuelo de centeno en 1868, pero debido a su toxicidad dejaron de ser utilizados rápidamente. A finales del siglo XIX, Jean Martin Charcot hizo la primera diferenciación sistemática de la migraña sobre las demás cefaleas, pero no estaba reconocida como una enfermedad por sí misma por la mayoría de los practicantes

de la época. Según Sigmund Freud, la migraña sería la expresión dramática de un conflicto psicológico inconsciente. (2)

Después de este período, comenzó el estudio sistemático de la migraña. El trabajo pionero llevado a cabo en seres humanos por Ray y Wolff (1940) y Penfield y McNaughton (1940) mostró que el dolor de cabeza era provocado por la activación de los aferentes primarios que inervan la duramadre. El trabajo confirmó más tarde que el dolor se generaba principalmente en los vasos sanguíneos de menor calibre y las meninges, que son dos áreas con una rica inervación.

Durante el siglo pasado, el neuropsicólogo Karl Lashley analizó de manera sistemática la progresión de su propia aura visual. Lashley describió el aura como una zona ciega compuesta por un escotoma rodeado de bordes brillantes que se movían en todo su campo visual (3). En aquel momento sugirió que estos cambios podrían ser resultado de una depresión neuronal localizada en la corteza visual y que los bordes brillantes eran resultado de la excitación neuronal intensa alrededor del escotoma.

Unos años más tarde, el brasileño Aristides Leão describe por primera vez el fenómeno en la corteza visual de conejos, y lo llama depresión cortical propagante. Él calcula que es una onda que se extiende lentamente a través de la corteza visual a una velocidad de 3 mm/minuto. (Depresión cortical propagante, DCP; 4). Leão sugiere posteriormente que el aura visual es la manifestación clínica de la depresión cortical propagante y que ésta podría ser la principal causa de la migraña (5).

Estudios realizados por Strassman en 1986 al igual que Davis y Dostrovsky en 1986 y 1988, pudieron comprobar que las aferencias meníngeas vasculares podían activar a neuronas de segundo orden situadas en el núcleo caudal del trigémino, complejo Sp5C, y los segmentos cervicales de C1 y C3 (6, 7, 8). Y que estos impulsos eran llevados por las neuronas del Sp5C a estructuras cerebrales implicadas en la percepción del dolor localizado en el tronco cerebral, el tálamo y corteza. Fue hasta el 2004 en los trabajos de Strassman et al, que se describió por primera vez que estas aferentes pertenecían a la rama oftálmica del nervio trigeminal.

Por otro lado en 1993, Moskowitz mostró que la activación del sistema trigémino-vascular también provoca la liberación de neuropéptidos vasoactivos contenidos en las terminaciones nerviosas periféricas. Basado en estudios animales pudo mostrar que posterior a la estimulación del ganglio trigeminal, existe una liberación del péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP) y sustancia P (SP); estos dos neuropéptidos son fuertes vasodilatadores. La vasodilatación de los

vasos sanguíneos meníngeos genera extravasación plasmática, degranulación de mastocitos y secreción de otras sustancias pro-inflamatorias en la duramadre, causando inflamación neurogénica. (9). La activación del nervio trigeminal también conduce a la vasodilatación de los vasos sanguíneos meníngeos por la activación de las neuronas ganglionares parasimpáticas localizadas en el núcleo superior salivatorio (10, 11).

Estudios realizados por Goadsby en 1990 y Sarchielli y colaboradores en el 2000 probaron en seres humanos que durante los ataques de migraña los pacientes presentan un incremento en el nivel plasmático de CGRP (Calcitonine Gene Related Peptide) (12, 13). El mismo Goadsby en 1993, demostró que este incremento disminuye posterior al tratamiento con sumatriptan y está en relación con el nivel de dolor que los pacientes refieren. (14). Sin embargo, actualmente el papel de CGRP durante los ataques de migraña es muy controversial, Tvedskov y colaboradores reportaron en el 2005 que no existe ningún incremento del CGRP durante los ataques de migraña (15). Además de que la existencia de la inflamación neurogénica asociada con la migraña no ha sido demostrada de manera directa en los seres humanos (16).

Todos estos avances nos llevan a la formulación de teorías más aceptadas acualmente que serán tratadas en la sección 2.7 de esta tesis.

### **3.2 Epidemiología.**

La migraña ha sido clasificada como un trastorno de origen neurovascular cuya prevalencia general en los países occidentales es de 6 a 8% de los hombres y de 15 a 25% en las mujeres (17, 18). Hay una clara tendencia con respecto al género, existe una prevalencia de tres mujeres por cada hombre. La edad de presentación en los hombres es entre los 10 y los 12 años y en las mujeres es entre los 14 y los 16 años (19).

Alrededor del 5% de la población mundial sufre por lo menos 18 días de dolor de cabeza por año, según la OMS ocupa el lugar 19 a nivel mundial dentro de las enfermedades que se consideran incapacitantes. En México, se calculan pérdidas anuales de 770 millones de pesos (Reporte anual de la Secretaría de Salud, Gobierno de la República Mexicana, 2009) debido a la disminución en la productividad de los pacientes que sufren ataques de migraña.

### **3.3 Componentes genéticos y ambientales.**

La migraña tiene un componente genético de alrededor del 50%, pero este porcentaje puede ser mayor en pacientes con migraña con aura. Este componente genético es poligénico y multifactorial, por lo tanto es probable que sea un factor que dependa tanto de factores exógenos como endógenos para generar migraña (156).

A pesar de la identificación de varios loci en los cromosomas 1q, 4q24, 19p13 y Xq24-28 (20), los genes que causan la migraña no han sido identificados todavía. Sin embargo, se destacó la migraña hemipléjica familiar, cuyo modo de transmisión es de tipo mendeliano, de herencia autosómica dominante en la mayoría de las familias afectadas. La migraña hemipléjica familiar ha sido ligada al cromosoma 19p13, que presenta una mutación genética relacionada al canal de calcio Cav2.1 de tipo P / Q (21).

Hay una variedad de factores exógenos y endógenos que los pacientes con migraña presentan, favoreciendo la aparición o la frecuencia de los ataques migrañosos. Dentro de estos factores se encuentra: el estrés, la ansiedad, la menstruación, la fatiga, la falta o exceso de sueño, el alcohol, el chocolate, la luz y el calor (22, 23). Sin embargo, hasta ahora no existen estudios concluyentes que muestren el nivel de implicación de los factores ambientales en la génesis de la migraña. Además, la migraña ha sido asociada con muchas enfermedades tales como la epilepsia, el derrame cerebral y ciertos trastornos psiquiátricos tales como la depresión y la ansiedad (24).

### **3.4 Manifestaciones clínicas.**

La publicación de los criterios de diagnóstico para las cefaleas establecidos por la International Headache Society (1988) y su actualización en 2004 (International Classification of Headache Disorders, ICHD), ayudó a establecer criterios uniformes de clasificación reconocidos por toda la comunidad científica internacional. La migraña para su estudio y tratamiento se divide en dos tipos de migraña: con aura y sin aura.

#### **3.4.1 Migraña sin aura.**

Se define como una cefalea recurrente que se manifiesta en ataques que pueden durar entre 4 a 72 horas. Las características de esta cefalea son: dolor unilateral, pulsátil, de intensidad moderada a severa, además que se puede agravar con la

actividad física de rutina. Esta cefalea puede estar asociada a náusea, vómito y fotofobia o fonofobia (25). Los criterios diagnósticos se ilustran en el cuadro 1.

Cuadro 1.- Criterios diagnósticos de la migraña sin aura:

- A. Por lo menos 5 ataques que cumplan con los criterios de B y D.
- B. Ataques de cefalea de 4 a 72 horas (intratables o tratados sin éxito).
- C. Cefaleas con por lo menos dos de las siguientes características.
  - a. Localización unilateral
  - b. Pulsátil
  - c. De intensidad moderada a severa.
  - d. Se agrava con la actividad física de rutina o limita la actividad física de rutina (caminar, subir o bajar escaleras, atarse los zapatos).
- D. Durante la cefalea debe tener presente por lo menos uno de los siguientes:
  - a. Náusea y/o vómito
  - b. Fotofobia y fonofobia.
- E. La cefalea no se debe atribuir a ninguna otra patología (25).

### **3.4.2 Migraña con aura.**

El aura se caracteriza por alteraciones neurológicas focales reversibles que comúnmente se presentan de manera gradual de 5 a 20 minutos y dura menos de 60 minutos. La cefalea es igual a la que se presenta en la migraña sin aura (11, 25, 26, 27).

Los síntomas prodrómicos que ocurren en el aura suceden horas o días previos al ataque migrañoso, y los más frecuentes son: fotofobia, fonofobia, náusea, alteraciones visuales, fatiga, dificultad para concentrarse, rigidez de nuca y palidez. Se ha demostrado una relación directa entre la disminución del flujo cerebral y la presentación de estos síntomas. Sin embargo es importante mencionar que no todos los síntomas prodrómicos desembocan en migraña (11, 25, 26, 27). Los criterios diagnósticos se ilustran en el cuadro 2.

- A. Por lo menos dos ataques que cumplan con el B o D
- B. Aura caracterizada por lo menos con una de las siguientes, sin debilidad motora.
  - a. Síntomas visuales completamente reversibles que incluyen características positivas (fosfenos, luces, puntos o líneas) y negativas (perdida de la visión).
  - b. Síntomas sensoriales completamente reversibles incluyendo características positivas (temblor, sensación de piquetes) o negativas (debilidad).
  - c. Alteraciones difásicas del habla completamente reversibles.
- C. Por lo menos dos de las siguientes:
  - a. Síntomas visuales homónimos y/o síntomas sensoriales unilaterales.
  - b. Por lo menos un síntoma de aura que se presente gradualmente por mas de 5 minutos y/o diferentes síntomas de aura que ocurren en sucesión por mas de 5 minutos.
  - c. Cada síntoma debe durar más de 5 minutos y menos de 60 minutos.
- D. La cefalea cumple los criterios de cefalea migrañosa sin aura más las características del aura en los 60 minutos previos.
- E. No se atribuye a ninguna otra enfermedad (25).

### 3.5 Vías de nocicepción meníngea.

Las aferentes sensoriales de la cabeza y el cuello viajan por el ganglio trigeminal (GT) o por el nervio occipital a través del ganglio cervical (GC), haciendo sinapsis con neuronas de segundo orden en el complejo trigeminocervical (CTC). Las neuronas del CTC proyectan a través del tracto quintotalámico, decusando en el tallo cerebral y haciendo sinapsis en el tálamo (28, 29).

Existen también conexiones del CTC con neuronas del núcleo superior salivatorio (NSS) a nivel del puente, y de éste, hacia la vasculatura craneal a través del ganglio esfenopalatino (GEP), lo que provee al sistema de una carga parasimpática específica. Esta vía específica activa el reflejo trigeminal autonómico, lo que contribuye a la aparición de los síntomas autonómicos presentes en la mayoría de las cefaleas primarias (28).



Las neuronas de segundo orden en el CTC también envían proyecciones directas hacia varias estructuras del tallo cerebral incluido el locus coeruleus (LC) y la sustancia gris periacueductal (SGp), y hacia estructuras superiores como el hipotálamo y el tálamo, que envían señales ascendentes hacia la corteza (29).

Finalmente, también existen proyecciones descendentes desde la corteza hacia el tálamo, estructuras hipotalámicas y al LC. La modulación descendente de las neuronas del CTC se genera a partir de núcleos hipotalámicos incluyendo al núcleo dopaminérgico A11, así como vías descendentes directas del CTC hacia el SGp que pasan por la médula rostral ventromedial (30) (Figura 1).

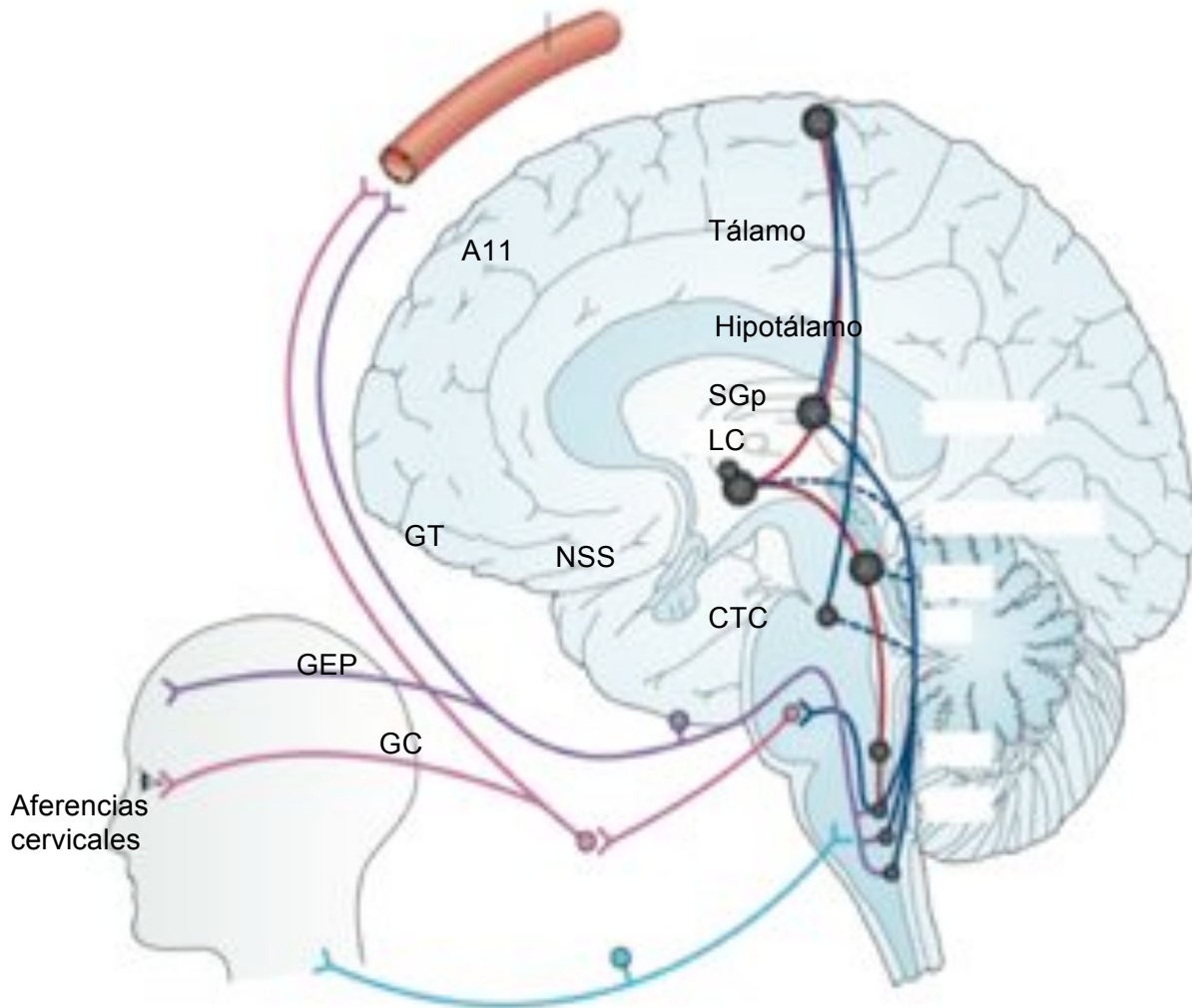


Figura 1.- Vías de nocicepción meníngea. Se muestran las conexiones sensoriales de la periferia y del CTC (Complejo Trigémino-Cervical, líneas en morado), las conexiones parasimpáticas hacia la cabeza y la vasculatura oro-facial (líneas en rosa) y la proyección del nervio occipital hacia la cara y el cuello y hacia proyecciones del CTC (líneas en azul). Las vías ascendentes del tracto quintotalámico y el SuS (Núcleo Superior Salivatorio, líneas en azul oscuro) y las proyecciones ascendentes del LC (Locus Coeruleus), SGp (Sustancia Gris Periacueductal) y núcleo hipotalámico (mostrado en líneas punteadas). También se muestran en rojo las proyecciones descendentes del CTC que controla su actividad (Modificado de: Akerman S, Hollan PR, Goadsby PJ, Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine. *Nature Reviews Neuroscience*. October 2011. Volume 12: 570-584).

### 3.6 Fisiopatología.

Preguntas importantes siguen sin respuesta con respecto a la fisiopatología, incluyendo la naturaleza de los mecanismos endógenos que conducen a la activación del sistema trigémino-vascular y los responsables del mantenimiento y

la progresión del dolor de la cefalea migrañosa. A continuación se tratarán las teorías más aceptadas en la actualidad.

### **3.7 Teorías de nocicepción meníngea.**

Actualmente numerosos estudios se han dedicado al análisis de los mecanismos cerebrovasculares involucrados en la nocicepción meníngea, dando como resultado diferentes teorías que se tratarán a continuación.

#### **3.7.1 Depresión cortical propagante.**

En los animales, la DCP puede ser desencadenada por estímulos intensos locales sobre la corteza cerebral: una señal eléctrica, mecánica o por la aplicación local de altas concentraciones de potasio. Se caracteriza por una onda de despolarización neuronal que se propaga lentamente (2-6 mm por minuto) sobre la superficie cortical. Se caracteriza por una despolarización intensa y breve seguida por una fase de depresión de la actividad neuronal que puede durar algunos minutos (31). Esta fase de despolarización está asociada con un aumento en el flujo sanguíneo cerebral o hiperemia, mientras que la fase de depresión se asocia a un flujo reducido u oligohemia (10).

Las correlaciones entre la migraña con aura y depresión cortical propagante han llevado a proponer la hipótesis de que esta pudiera ser el origen del aura (5, 27, 32, 33). Sin embargo, los registros electroencefalográficos en pacientes durante neurocirugía (34) y la aplicación de los estímulos que causan la depresión cortical propagante de manera experimental (35) no lograron demostrar los mismos fenómenos en los seres humanos. A pesar de ello, otros estudios han demostrado cambios corticales similares a la depresión cortical propagante en pacientes con traumatismo craneoencefálico (36), o lesiones corticales (37, 38). Estos resultados contradictorios pueden explicarse por el posible bloqueo de la actividad cortical como resultado de algunos anestésicos inhalados usados en cirugía (39), o debido a que la depresión cortical propagante es más difícil de inducir en los seres humanos debido al desarrollo cortical a diferencia de algunas especies menos evolucionadas.

El uso de la resonancia magnética funcional (BOLD RMf) ha mostrado cambios en la corteza occipital de pacientes con migraña similares a la depresión cortical propagante, estos cambios son más evidentes en pacientes con auras principalmente visuales (40). De hecho existe una correlación temporal entre el inicio de la percepción del aura y el aumento inicial de la señal BOLD asociado

con hiperemia cortical. Los cambios en la señal BOLD primero se desarrollaron en la corteza visual contralateral para llegar a regiones más rostrales de la corteza visual a una velocidad de 3.5 mm/minuto. Estas regiones representan el campo visual periférico, que corresponde a los movimientos progresivos de centelleos y la presencia de escotomas del campo visual.

Se ha podido analizar que la depresión cortical propagante puede causar hipoxia neuronal reversible en los animales (41). Por otro lado, la concentración de muchas sustancias, incluidos los iones de potasio, protones, óxido nítrico, ácido araquidónico y el aumento de prostaglandinas durante la depresión cortical propagante (42), sugiere que este fenómeno podría activar o sensibilizar aferentes meníngeas trigemino-vasculares (43, 44).

Esta activación del sistema trigémino-vascular y la inflamación resultante, dan como resultado la activación del sistema parasimpático que incrementa la vasodilatación, provocando la extravasación de proteínas plasmáticas en los vasos de la duramadre (10).

Se debe recordar que la mayoría de los pacientes con migraña no presentan aura, lo que debilita considerablemente la hipótesis de que la depresión cortical propagante pueda ser un mecanismo de activación de la migraña. Sin embargo, aunque esto todavía no se ha demostrado, es posible que los pacientes que padecen migraña sin aura si presenten depresión cortical propagante, solo que este fenómeno no genera ningún síntoma evidente en los pacientes (45, 46, 47, 48).

### **3.7.2 Hiperexcitabilidad cortical.**

Se ha descrito tanto en pacientes con migraña con aura como pacientes con migraña sin aura, que existe una disfunción de la corteza visual relacionada con hiperexcitabilidad, y que ésta puede inducir migraña. Esto se pudo comprobar a partir de algunas pruebas clínicas en las que los pacientes eran expuestos a estímulos visuales intensos, que podía en muchos de los casos culminar en un ataque migrañoso (49).

Pacientes que se estimulaban con un tambor optocinético presentaban, náuseas y dolor de cabeza, este efecto era perpetuado por mayor tiempo en pacientes con migraña que en los sujetos control sanos. Además posterior a la estimulación los pacientes presentaban fotofobia y sensibilidad del cuero cabelludo (50).

Por otro lado la estimulación magnética transcraneal en la corteza visual, mostró que los pacientes migrañosos tienen un umbral menor para la inducción de fosfenos al compararse con sujetos sanos controles (51, 52, 53, 54).

Así mismo, se conoce que la neocorteza funciona con diversos sistemas de neurotransmisión, como noradrenérgico, acetilcolinérgico, dopaminérgico y serotoninérgico (55, 56). Se sabe actualmente que los impulsos noradrenérgicos y colinérgicos del locus coeruleus y de los ganglios basales están relacionados con estados de alerta y de aumento de atención, así como que la influencia dopaminérgica en la corteza cerebral parece no jugar un papel muy importante en la excitabilidad cortical porque proyecta principalmente a regiones rostrales de la corteza (56). Sin embargo, se ha sugerido más recientemente que la dopamina puede estar implicada en la fase de los síntomas premonitorios de la migraña (57, 58).

Por otro lado, las proyecciones serotoninérgicas del núcleo dorsal del rafe tienen una gran influencia sobre la inhibición de la excitabilidad cortical (59). En efecto, el agotamiento de la serotonina facilita la inducción de la depresión cortical propagante en ratas, lo que sugiere que puede existir una relación entre el tono cortical y los niveles de serotonina en el sistema (60). Un aumento en los niveles de serotonina, norepinefrina, epinefrina y dopamina en el plasma o en el líquido cefalorraquídeo se han observado en pacientes con migraña (61), pero su papel fisiopatológico aún no están bien establecido.

Los mecanismos que conducen al estado de hiperexcitabilidad cortical siguen siendo en gran parte desconocidos y probablemente son múltiples. Las dificultades metodológicas, variabilidad inherente de los parámetros en la migraña, tales como la edad, duración de la enfermedad, frecuencia de los ataques y la periodicidad de los mismos, hace muy difícil este tipo de estudio. La posibilidad de una excitación excesiva debido a la liberación anormal de neurotransmisores excitatorios se ha reforzado mediante la demostración de una concentración plasmática de glutamato superior en la migraña (62, 63) y alterando el funcionamiento de los canales de calcio generados por mutaciones genéticas en la migraña hemipléjica familiar . En cualquier caso, todos los datos presentados anteriormente demuestran que el aumento en la actividad de la corteza cerebral en los pacientes con migraña es una posibilidad que debe ser tomada en cuenta.

### **3.7.3 Generadores endógenos en el tronco encefálico.**

Una hipótesis alternativa propone que el aura de la migraña y el dolor no son procesos secuenciales sino eventos interrelacionados que ocurren en paralelo. Además que la migraña es provocada por un mal funcionamiento episódico de los núcleos del tronco cerebral implicados en el control descendente del dolor (64, 65). Esta suposición se basa en observaciones de pacientes sanos que pueden experimentar dolores de cabeza de tipo migrañoso durante la estimulación eléctrica de la materia gris peri-ventricular con electrodos implantados (66). Por otro lado, actualmente se ha demostrado un aumento en el flujo sanguíneo cerebral confinado a varias regiones del tronco cerebral durante los ataques de migraña (45, 67, 68, 69, 70).

Aunque la resolución espacial de las técnicas de imagen cerebral es limitada y no permite la diferenciación precisa de núcleos del tronco cerebral, se ha propuesto que las regiones de máximo aumento en el flujo sanguíneo incluyen al núcleo dorsal del rafe y al locus coeruleus (70). En un estudio donde se provocaron los ataques de migraña en los pacientes por infusión de trinitrato de glicerol, se ha demostrado un aumento en el flujo de sangre en el tronco cerebral rostral dorsal ipsilateral en el momento en el que el dolor se encuentra lateralizado y bilateral cuando el dolor se vuelve holocraneano (71). Además, este aumento persiste más allá de 30 minutos después del alivio del dolor en pacientes tratados con sumatriptan (68, 69, 70).

Otros estudios de imágenes realizados en seres humanos sugieren una activación diferencial de las estructuras del cerebro basado en el origen del dolor cefálico (28, 67, 68, 72, 73, 74). El aumento del flujo sanguíneo en el tronco cerebral bien podría reflejar una alteración de los controles descendentes inhibitorios, lo que reduciría el umbral de excitabilidad de las neuronas Sp5C (65, 74, 75, 76).

### **3.7.4 Inflamación neurogénica meníngea.**

El término inflamación neurogénica se refiere a una cascada de reacciones inflamatorias provocadas por la activación de las aferentes primarios( en este caso las ramas meníngeas trigeminales) y la liberación de neuropéptidos que la preceden, incluyendo el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), la sustancia P (neurocinina que se acopla al receptor NK1) y otras neurocininas (9, 77). Esta activación neurogénica induce vasodilatación y extravasación de proteínas plasmáticas en las vénulas post-capilares debido a la activación de los receptores a neurocinina NK1 localizados en las células endoteliales. La apertura de uniones comunicantes permite el paso de macromoléculas en el espacio

intersticial, lo cual genera un edema inflamatorio, la degranulación de mastocitos y la producción de mediadores inflamatorios (78, 79). Este fenómeno se ha reproducido en los tejidos meníngeos de la rata (80, 81) y se ha sugerido que este método sería un buen modelo para estudiar los mecanismos detrás del dolor de tipo migrañoso en los seres humanos.

Esta hipótesis comenzó a tomar forma después de los estudios farmacológicos en ratas, que muestran que los derivados del cornezuelo de centeno (92) y los triptanos (83) fueron capaces de inhibir la extravasación plasmática de origen neurogénico, evitando episodios de migraña a quien los consumía. Estas observaciones condujeron al desarrollo de antagonistas de los receptores NK1 (84). Pero, lamentablemente, no presentó los resultados esperados como un fármaco anti-migrañoso (85, 86). Estos estudios han cuestionado el papel del receptor de NK1 en la generación de la inflamación neurogénica (87, 88).

Estudios en animales han demostrado que el uso de triptanos, inhiben la liberación de neuropéptidos vasoactivos y por ende la extravasación de proteínas plasmáticas, debido a la interacción que tienen sobre los receptores de serotonina 5HT1B/D/F (83, 89, 90). Los triptanos son también capaces de inhibir de manera parcial la transmisión nociceptiva de las aferentes meníngeos que inervan las neuronas trigémino-vasculares y los primeros segmentos cervicales (11, 91).

A pesar de numerosos estudios preclínicos y la experiencia clínica con respecto a la inflamación neurogénica y la extravasación de plasma, la participación directa de estos fenómenos durante los ataques de migraña en los seres humanos no se ha demostrado (92, 93).

### **3.7.5 La sensibilización periférica y central.**

El dolor de cabeza pulsátil típico durante la migraña y la exacerbación de los síntomas con la actividad física de rutina (94), pueden ser el resultado de la sensibilización periférica de las aferencias vasculares trigeminales. (43). La sensibilización periférica se genera debido a una disminución en los umbrales de activación de las neuronas trigémino-vasculares periféricas, esta es la razón por la que se pudiera presentar alodinea en algunos pacientes. La aplicación de productos químicos en la duramadre, tales como potasio, protones o agentes inflamatorios (sopa inflamatoria), activan y sensibilizan a los aferentes trigeminovasculares periféricos (43).

Posterior a la sensibilización de las neuronas trigémino vasculares periféricas, si se mantiene esta activación neuronal, se presentará un aumento concomitante en

el tamaño de los campos receptivos meníngeos y cutáneos de estas neuronas, provocando la activación y sensibilización de neuronas del núcleo trigeminal caudado Sp5C, causando una disminución en sus umbrales de activación (95).

Esta sensibilización central de las neuronas del Sp5C se caracteriza por un aumento en la actividad espontánea que pueden persistir durante más de 10 horas (95). Por lo tanto, parece claro que la inducción de la sensibilización central, depende de la activación de las aferencias nociceptivas. Sin embargo, una vez establecido, la sensibilización central parece ser independiente de la actividad de los nociceptores sensibilizados, como se indica por la ausencia de cambios en la alodinea cutánea tras el bloqueo anestésico del aferente primario meníngeo en ratas (95).

Se ha sugerido que en los seres humanos se puede observar sensibilización de las neuronas de segundo orden del trigémino durante el ataque de migraña. Estudios de imágenes cerebrales han demostrado una activación progresiva de las redes centrales nociceptivas tras el desarrollo de alodinea cutánea (96). Además, otros estudios han demostrado la presencia de alodinea cutánea en pacientes con migraña, esta sintomatología se presenta en la región periorcular ipsilateral al dolor de cabeza. Cuando la migraña continúa, la alodinea puede alcanzar regiones extra-trigeminales, incluyendo el cuello y las extremidades superiores (97). La alodinea periorcular se ha interpretado como un signo de sensibilización central de las neuronas trigeminales Sp5C, mientras que la alodinea extra-trigeminal se ha descrito como resultado de la sensibilización de regiones tálamo-corticales (98).

Los cambios en la actividad de las neuronas en el asta dorsal (166) y la interrupción de las vías endógenas de modulación del dolor, tales como la materia gris periacueductal y el sistema rafe-espinal (99) podría explicar el mantenimiento de la sensibilización central. En los últimos años, el papel de los sistemas corticofugas en la modulación del dolor se volvió a introducir, y podrían explicar en gran parte los efectos observados durante la sensibilización central (100, 101).

Las teorías actuales, concluyen que el dolor en la migraña se desencadena por aferentes meníngeas situadas alrededor de algunos vasos sanguíneos, principalmente cerca de las ramas vasculares arteriales de la arteria cerebral media (piamadre) y de la arteria meníngea media (duramadre). El cuerpo celular de las aferentes meníngeas está localizado en el ganglio del trigémino o ganglio de Gasser y activan subsecuentemente al grupo neuronal localizado en el núcleo trigeminal. Estos impulsos se transmiten a las estructuras cerebrales implicadas en la percepción del dolor, incluyendo la región ventro-postero-medial del tálamo (VPM) y algunas áreas corticales recientemente descritas como la corteza



somatosensorial, la corteza insular entre otras. La activación del sistema trigémino-vascular también estimula el núcleo salival superior, que es el origen del flujo parasimpático de los vasos intracraneales a través del ganglio esfenopalatino. (19, 102, 103, 104).

La migraña debe entenderse como un desorden primario del cerebro (1, 105). Diversos estudios han demostrado que la dilatación de los vasos meníngeos son consecuencia de la activación de diversos circuitos neuronales. (106, 107, 108).

De acuerdo con la teoría vascular de la migraña, estudios preliminares han sugerido que los síntomas durante el aura son causados por isquemia focal transitoria inducida por la vasoconstricción. Esta teoría menciona que el dolor es causado por la vasodilatación refleja y la posterior activación mecánica de las fibras sensoriales perivasculares (33,109), lo cual actualmente es controversial.

Estudios más recientes de neuroimagen mostraron que durante un ataque de migraña con aura, hay primero una hiperemia cortical difusa, seguida de una fase oligohémica. Esta última fase persiste durante el mismo periodo de tiempo que el aura, y puede extenderse a la fase dolorosa (110, 111). Sin embargo, no hay evidencia de cambios hemodinámicos sistémicos durante los ataques de migraña (112). En este sentido, se ha demostrado que la migraña puede producirse sin dilatación de las arterias meníngeas (113). Estos datos indican que la teoría vascular no es suficiente para explicar la génesis de la migraña en la mayoría de los pacientes (11).

### **3.8 Tratamiento.**

El tratamiento para la migraña se puede dividir en farmacológico y no farmacológico.

#### **3.8.1 Tratamiento no farmacológico.**

Dado que los pacientes migrañosos tienen el sistema trigeminal sensibilizado, son susceptibles a desencadenar un evento migrañoso con un estímulo nociceptivo de cualquier origen, como cefalea tensional, dolor bucal, dolor facial, etc, e incluso con estímulos no nociceptivos como problemas de acomodación focal, principalmente el astigmatismo (2, 114, 115).

El tratamiento no farmacológico incluye educar al paciente acerca de su padecimiento, los mecanismos que lo generan, los posibles tratamientos y

cambios en el estilo de vida que disminuyen la frecuencia y/o intensidad de los eventos migrañosos. En este contexto uno de los principales tratamientos no farmacológicos es la prevención, que consiste en identificar los factores desencadenantes de la migraña (alimentos, estrés, privación de sueño y otros) y evitarlos al máximo (116).

### **3.8.2 Tratamiento farmacológico.**

Tratar un padecimiento cuya fisiopatología no ha sido dilucidada con precisión es altamente complicado, circunstancia que sucede con la migraña, por este motivo se han desarrollado diversos tratamientos, los cuales han sido parcialmente eficaces. El tratamiento actualmente descrito para la migraña es efectivo en menos del 40% de los pacientes migrañosos. Así mismo se sabe que no hay un tratamiento eficaz después de que se instaura el evento migrañoso, al paciente únicamente le resta reposar hasta que el evento termine (117).

#### **3.8.2.1 Tratamiento para ataques en agudo.**

Durante la última década, el advenimiento de agonistas serotoninérgicos 5-HT<sub>1B/1D</sub> altamente efectivos, han sido un parteaguas en el tratamiento de la migraña. Los triptanos funcionan como vasoconstrictores a través de los receptores vasculares 5-HT<sub>1B</sub> e inhibiendo la liberación de neurotransmisores de vías nociceptivas trigeminales tanto centrales como periféricas actuando sobre receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> (118). Los receptores 5-HT<sub>1</sub> son una subfamilia de los receptores 5-HT, normalmente se encuentran acoplados a proteínas G inhibitoras como la Gi o Go, lo cual genera que los receptores al activarse, pueden modular la transmisión neural.

El sitio de acción relevante para la eficacia de los triptanos sigue siendo motivo de controversia, posiblemente la eficacia de los triptanos esté dada por la capacidad de acción que tienen sobre estos tres sitios (119). Sumatriptan, fue el primer triptano, pero muchos otros, como Zolmitriptan, Naratriptan, Rizatriptan, Eletriptan, Almotriptan y Frovatriptan se han desarrollado (tabla 1). Por estudios de meta-análisis se ha determinado qué triptano tiene mayor eficacia, y se ha visto que el Zolmitriptan y Sumatriptan en dosis terapéuticas, inyectados de manera subcutánea han demostrado ser la mejor opción. Existe diferencia entre las diversas vías de administración siendo la vía oral la menos eficaz y la vía subcutánea la mejor (103, 108, 120, 121, 122, 123) (Tabla 1).

Fármaco	Sumatriptan	Almotriptan	Eletriptan	Frovatriptan	Naratriptan	Rizatriptan	Zolmitriptan
Vida media (hr)	2.0	3.5	5.0	25.0	5.0 – 6.3	2.0	3.0
Tiempo de máxima concentración (hr) Durante ataques	2.5	2.0 – 3.0	2.8	3.0	----	1.0	4.0
Tiempo de máxima concentración (hr) Fuera de los ataques	2.0	1.4 – 3.8	1.4 – 1.8	3.0	2.0 – 3.0	1.0	4.0
Biodisponibilidad oral (%)	14	69	50	24 - 30	63 - 74	40	40
Metabolismo primario	MAO	CYP450 y MAO	CYP3A4	Renal, 50%	Renal 70%	MAO	CYP450
Metabolismo secundario	----	----	----	----	CYP450	----	MAO

\*MAO: Mono amino oxidasa, CYP: citocromo P

Tabla 1.- Farmacocinética de los triptanos.

Existen nuevas líneas de investigación con respecto a los receptores serotoninérgicos y el péptido relacionado con calcitonina (CGRP) que muestran resultados prometedores. El tratamiento debe ser basado en un análisis exhaustivo de cada uno de los pacientes, desgraciadamente no se ha descrito ninguna terapia que mejore de manera significativa el dolor o que lo desaparezca por completo (132, 124).

### 3.8.2.2 Tratamiento profiláctico.

El tratamiento profiláctico antimigrañoso debe ser manejado de manera individual, tomando en cuenta el subtipo de migraña, la discapacidad que genera, la historia clínica del paciente, así como enfermedades concomitantes. El tratamiento profiláctico es útil para reducir la frecuencia de los episodios de migraña (125).

El mayor inconveniente que tienen los medicamentos usados de manera profiláctica es la frecuencia de aparición de síntomas secundarios. Recientemente se han estudiado nuevos profilácticos con un menor número de eventos secundarios, los cuales son bien tolerados, pero poco efectivos en comparación con los clásicos profilácticos (beta bloqueadores, ácido valproico, antagonistas de Calcio, antiserotoninérgicos y tricíclicos). Actualmente se están probando medicamentos como la riboflavina, la coenzima Q10, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina e inhibidores de la angiotensina II, de los cuales no hay aún información acerca de su eficacia y efectos secundarios a largo plazo (75, 125) (Tabla 2).

Droga y Dosis	Efectos secundarios
Ácido valproico, 500 - 1000 mg por la noche. (liberación sostenida)	Toxicidad hepática, sedación, náusea, aumento de peso, temblor, teratogenicidad, posible toxicidad, pérdida de cabello, mareo
Beta bloqueadores: Propranolol, 40 – 240 mg Bisoprolol, 2.5 – 10 mg Metoprolol, 50 a 200 mg	Reduce la energía, cansancio, síntomas posturales, contraindicados en asma.
Flunarizina 5 – 10 mg dos veces al día	Mareo, aumento de peso, depresión, parkinsonismo.
Topiramato, 25 – 100 mg dos veces al día	Parestesia, fatiga, náusea, disfunción cognitiva.
Amitriptilina, 25 – 75 mg, por la noche	Aumento de peso, boca seca, sedación, mareo
Methysergide, 1 – 4 mg diario	Mareo, calambres, pérdida de cabello, fibrosis retroperitoneal
Gabapentina, 900 – 3600 mg diario	Mareo, sedación
Lisinopril 10 – 20 mg diario	Tos

Tabla 2.- Efectos secundarios de los tratamientos profilácticos.

### **3.9 Modelos animales para el estudio del dolor cráneo-facial.**

La investigación experimental del dolor, mediante la utilización de animales íntegros, se ha topado con diversos problemas metodológicos que involucran la esfera ética (126, 127) y el análisis e interpretación de resultados a través del tiempo. Es importante tener en cuenta las guías para la experimentación del dolor en animales, las cuales se cumplieron en esta tesis y mencionamos a continuación: (IASP, 1983).

1. Es esencial que los experimentos destinados al estudio del dolor en animales conscientes sean revisados previamente tanto por científicos como por personas que no trabajen dentro del campo. Se debe demostrar fehacientemente el beneficio potencial de tales experimentos a nuestra comprensión de los mecanismos del dolor y terapia del dolor si es el caso. El investigador debe ser consciente de la necesidad ética de continuar.
2. Si es posible, el investigador debe tratar el estímulo doloroso en sí mismo, este principio se aplica para la mayoría de los estímulos no invasivos que causan dolor agudo.
3. Para hacer posible la evaluación de los niveles de dolor, el investigador debe evaluar cuidadosamente cambios en la conducta normal del animal. Para este fin, se deben medir parámetros fisiológicos y de comportamiento.
4. En los estudios de dolor agudo o crónico debe existir una seguridad razonable de que el animal está expuesto al dolor mínimo necesario para los fines del experimento.
5. Un animal que presumiblemente esté experimentando dolor crónico debe ser tratado para el alivio del dolor, o se debe permitir la auto-administración de agentes o procedimientos analgésico, siempre y cuando esto no interfiera con el objetivo de la investigación.
6. Los estudios de dolor en animales paralizados con un agente de bloqueo neuromuscular no deben ser realizados sin anestesia general o sin un procedimiento quirúrgico adecuado que elimine la conciencia sensorial.
7. La duración del experimento debe ser tan corta como sea posible y el número de animales implicados reducirse al mínimo.

Actualmente existen diferentes modelos animales para el estudio de la migraña, basados en diferentes métodos de nocicepción meníngea o trigeminal, a continuación se describirán los más importantes.

### **3.9.1 Modelos basados en anastomosis arteriovenosas y vasos sanguíneos aislados.**

Algunos investigadores han hipotetizado que los ataques de migraña están asociados a una dilatación de las anastomosis arteriovenosas. Aunado a esto, la velocidad del flujo sanguíneo se encuentra reducida en un gran número de vasos cerebrales, posiblemente debido a esta dilatación (128, 129, 130). De acuerdo con esta hipótesis, la vasodilatación regional estimula receptores de elongamiento en la pared del vaso sanguíneo durante el ataque, activando las terminales perivasculares del nervio trigeminal llevando a una sensibilización a nivel central tanto del núcleo trigeminal como la activación de estructuras neuronales superiores como el tálamo, la corteza prefrontal e incluso la corteza anterior del cíngulo. (131, 132). Se han desarrollado principalmente dos modelos para evaluar esta posibilidad, el primero en animales in vivo, es un modelo que produce de manera farmacológica la vasodilatación carotídea. (131, 133). Por ejemplo en cerdos despiertos, el número de cortocircuitos arteriovenosos carotídeos es de menos del 3% en la circulación venosa yugular, sin embargo esta fracción se eleva hasta más del 80% durante la administración de pentobarbital detectado por microesferas radioactivas. (134). Este modelo ha sido aplicado para poder evaluar el efecto de los medicamentos antimigrañosos sobre el flujo cerebral (131). Gracias a este modelo se pudo determinar que los receptores 5-HT<sub>1B</sub> y 1D causaban vasoconstricción en un número relevante de la población de vasos cerebrales, principalmente en los vasos de la dura y de la pía madre (135).

El segundo modelo se desarrolló con vasos sanguíneos aislados y se ha podido utilizar para determinar la eficacia de algunos medicamentos antimigrañosos que tienen actividad sobre la vasoconstricción de arterias cerebrales (136). Este modelo es útil gracias a que los receptores 5-HT de los vasos sanguíneos cerebrales se expresan en el músculo liso del vaso sanguíneo, por lo que ha servido para poder medir de manera objetiva la eficacia de los triptanos (sumatriptan, zolmitriptan, naratriptan, etc) sobre la vasodilatación, que son agonistas de estos receptores. (137). Sin embargo sigue sin quedar claro si el efecto más relevante que se produce por la activación del receptor está en la pared vascular o en sitios alternativos a este. (138).

### **3.9.2 Modelos basados en la depresión cortical propagante.**

En modelos animales la depresión cortical propagante estimula de manera ipsilateral los axones trigeminales que rodean los vasos sanguíneos corticales (10). La depresión cortical propagante provoca una ruptura de la barrera hemato-

encefálica por mecanismos dependientes de una matriz de metaloproteinasa-9 (139).

### **3.9.3 Modelos animales basados en circuitos neurovasculares.**

Los modelos neurovasculares se basan en la relación que guardan los cambios neurovasculares observados en los cuadros de ataques migrañosos y la consecuente activación trigeminal. Una de las teorías alrededor de esto es que la migraña es causada por una activación trigeminal axonal cercana a los vasos que rodean el tejido meníngeo. (81, 140, 141, 142).

La estimulación eléctrica de la dura madre causa cefalea en humanos, en este sentido se han creado modelos animales en ratas, gatos y primates no humanos. (143, 144). La estimulación química de las meninges por inyecciones de sustancias nociceptivas se ha reportado en roedores principalmente. Los estímulos nociceptivos utilizados son: sangre autóloga (145), capsaicina (146) y la sopa inflamatoria (que es un compuesto formado por Bradicinina, PGE2, Histamina y Serotonina) (147), este último con mejores resultados que los anteriores y actualmente el más aceptado. Tanto la estimulación química como la eléctrica ha demostrado activar tanto el núcleo trigeminal como la rama meníngeo y las ramas periféricas del nervio trigeminal, esto comprobado por electrofisiología. (147, 148) Además de que ambos modelos han demostrado una disminución de la mencionada actividad nerviosa con la administración de triptanos (148).

La sopa inflamatoria se ha utilizado de manera satisfactoria para el estudio de los mecanismos de la nocicepción meníngeo. Actualmente el uso de electrofisiología (148), análisis conductual (149, 150), y biología molecular (151) han probado ser técnicas útiles para el estudio de los cambios en el procesamiento del sistema trigémino-vascular. En este respecto, se han analizado los efectos que se pueden producir por la sopa inflamatoria en la conducta alimentaria (151), la alodinea facial (152), la alodinea cefálica y extracefálica (153), la respuesta farmacológica a ciertas drogas (150) y las diferencias que existen en género con relación a la liberación y los efectos en el CGRP (150).

No obstante, ninguno de estos estudios describe si la sopa inflamatoria, administrada de manera aguda o crónica, puede generar conductas nociceptivas espontáneas y si estos cambios se pueden prevenir con el uso de terapias anti-migrañosas.

Resulta evidente que es con el estudio multidisciplinario, donde los modelos animales de experimentación han jugado un papel determinante en la

comprensión de fenómenos complejos como la migraña, y que gracias al advenimiento de estos modelos es que podremos dar respuesta a interrogantes sin responder con relación a la fisiopatología de la migraña.



#### **4. Justificación.**

No obstante de que se ha descrito la vía de nocicepción meníngea, aún no se conoce qué región de la corteza procesa y modula de manera corticofuga dicho estímulo. Aunado a esto y a pesar de que se sabe que la migraña es un proceso nociceptivo crónico, únicamente se ha estudiado en modelos animales de nocicepción aguda. En este trabajo se decidió desarrollar un modelo animal de nocicepción meníngea crónica, donde fuera posible estudiar los cambios electroencefalográficos durante la nocicepción y su posible modificación por el uso de la terapéutica más aceptada actualmente.

## **5. Objetivos.**

El objetivo principal del proyecto es:

1. Generar un modelo animal de nocicepción meníngea crónica, en donde se puedan cuantificar conductas específicas, actividad electroencefalográfica y respuesta farmacológica similar a las que se presentan en un paciente con migraña.

Objetivos secundarios:

1. Generar un modelo animal de nocicepción meníngea crónica, en donde se puedan identificar y cuantificar conductas relacionadas directamente con dicha nocicepción.
2. Describir los cambios electroencefalográficos de las cortezas occipital, parietal y frontal producidos por la nocicepción meníngea crónica.
3. Evaluar la eficacia de la administración de los triptanos y AINES (Anti-inflamatorios no esteroideos) en la disminución de las conductas nociceptivas generadas por la nocicepción meníngea crónica.

## **6. Material y métodos.**

### **6.1 Consideraciones éticas.**

Los experimentos se realizaron en ratas Wistar macho (250-300 gr); todos los animales fueron utilizados de acuerdo a los estándares éticos descritos por el Comité de Investigación de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, 1983), y bajo la aprobación del Comité de Ética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

Debido a que en nuestro experimento, los animales se les induciría un estado doloroso, el número de ratas utilizadas para el estudio se restringió al mínimo necesario para poder tener diferencias estadísticamente significativas ( $n=6$  para el tamaño del grupo = 1.5 DE;  $\alpha = 0.05$ ; poder = 0.80).

### **6.2 Periodo de Habitación.**

Todos los animales fueron mantenidos en un ambiente controlado, a una temperatura de 23 (+/-) 2 °C y una humedad de 50 (+/-) 10% dentro de las instalaciones del Instituto. Todas las ratas se mantuvieron en cajas de acrílico transparente individuales con ciclos invertidos de luz-oscuridad 12 x 12h, y con alimentación e hidratación *ad libitum*.

La habitación consistió en un periodo de siete días previo a la cirugía, y se realizaba de la siguiente manera: cada rata se colocaba en una caja de observación (Figura 2) por un periodo de 15 minutos, posteriormente el animal era manipulado por el investigador y colocado nuevamente dentro de la caja de observación por un periodo de 45 minutos, cuando este tiempo terminaba, el animal era regresado a su caja individual. La manipulación consistió en sostener al animal por un periodo de un minuto tocando en repetidas ocasiones la parte superior del cráneo.



Figura 2.- Caja de observación.

### **6.3 Procedimientos quirúrgicos.**

#### **6.3.1 Craneotomía y posicionamiento de cánula.**

Posterior al periodo de habituación y bajo anestesia general (pentobarbital 40mg/kg), la rata se colocaba en un marco estereotáxico (KOPF instruments, Tujunga, California). Se utilizó una solución al 10% de clorexidina como un agente antiséptico antes de iniciar el procedimiento. Con la finalidad de prevenir el dolor como resultado de la incisión quirúrgica, se realizó una inyección subcutánea de 1 ml de bupivacaina (5mg/1ml) a manera de anestesia local preventiva. Se realizó una incisión hasta exponer el cráneo por completo, después utilizando un taladro con una fresa se realizó una craneotomía en el hueso frontal derecho (+1.5 mm de Bregma y +1.5 mm lateral), cuidando siempre de no lesionar la menínge. Se colocó al terminar petrolato estéril sobre la dura para prevenir la fijación de esta a la calvaria.

Utilizando las coordenadas anteriormente mencionadas se colocó una cánula (18GA guide and cannula dummy, Plastics One, Roanoke, VA) por encima de la craneotomía, sin tocar el tejido meníngeo. Se aplicó cera de hueso quirúrgica alrededor de la cánula para evitar que cualquier sustancia pudiera entrar alrededor de la cánula hacia la craneotomía. Posterior a la aplicación de la cera de hueso se aplicó ionómero de vidrio hasta cubrir la cánula por completo, y para finalizar se fijó completamente todo este arreglo con acrílico (Metil-metacrilato Nic-Tone). Toda la cirugía se realizó utilizando un microscopio quirúrgico (WPI, Sarasota, FL). (Figura 3 y 4)

El mandril de la cánula era .5 mm más largo que la cánula misma. Así, el mandril se colocó y la piel era suturada con Nylon 4-0. Se aplicó al final de la cirugía neomicina tópica (0.350g/100g) para prevenir cualquier infección del área quirúrgica. La respiración y los movimientos de la rata eran observados hasta que la misma se despertaba por completo y recuperaba sus movimientos normales. En este punto el animal era colocado en una caja individual limpia y tenía dos días de recuperación postquirúrgica antes de iniciar el periodo de experimentación.

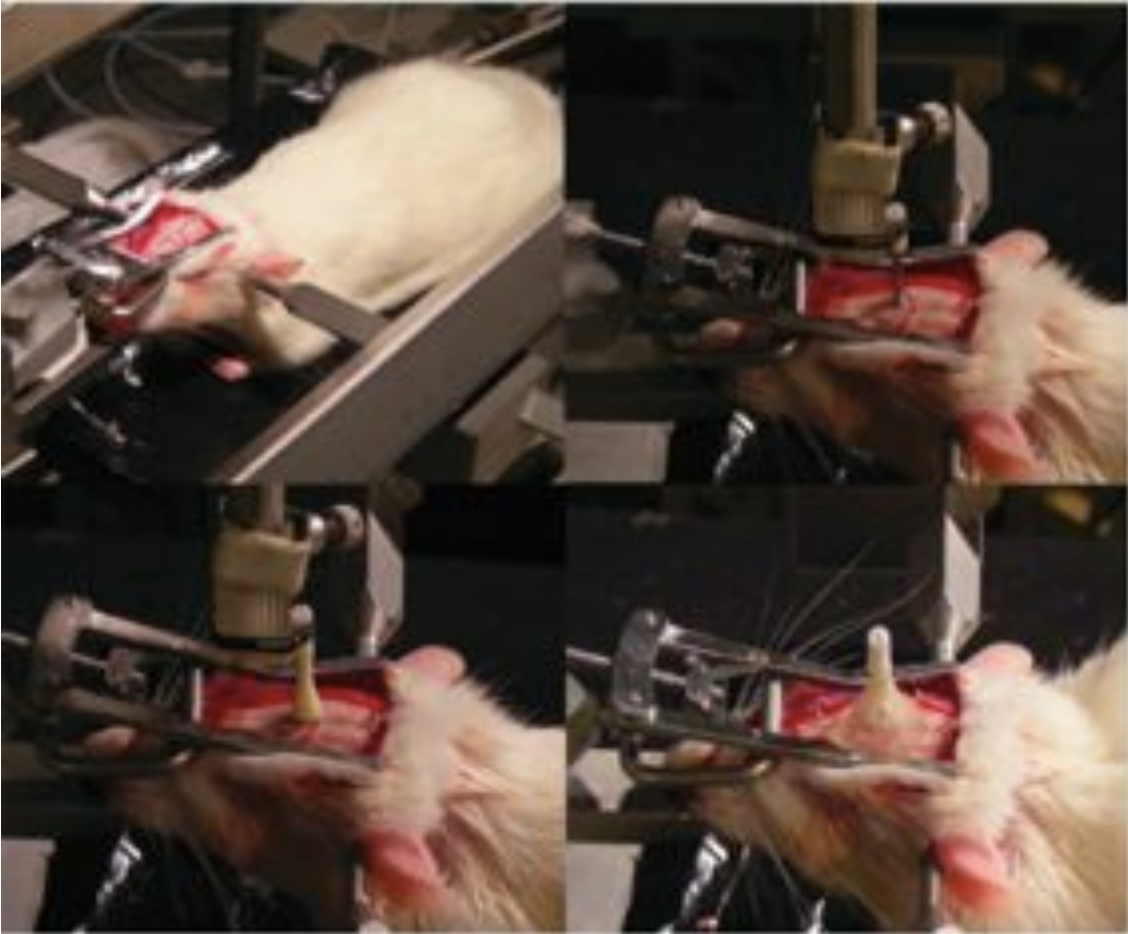


Figura 3.- Se muestra a la rata montada en el marco esterotáxico, así como la colocación y fijación de la cánula para la infusión meníngea.

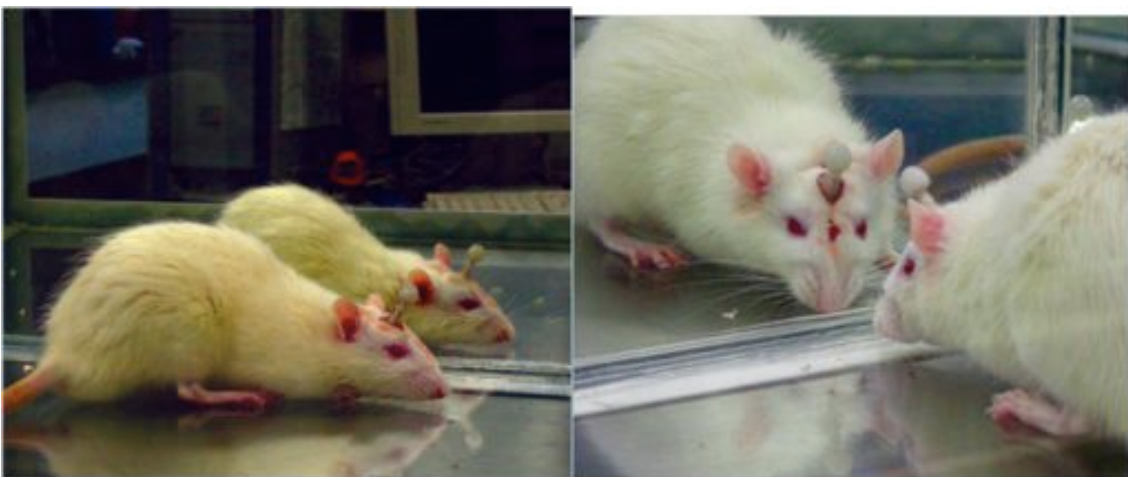


Figura 4.- Se muestra a la rata posterior a la colocación de la cánula y su recuperación quirúrgica dentro de la caja de observación.

### **6.3.2 Colocación de los electrodos para el registro del EEG.**

Estudios electroencefalográficos fueron realizados en ratas en libre movimiento con la finalidad de obtener registros control de la corteza frontal, parietal y occipital. Los electrodos fueron fabricados a mano debido a la necesidad de características especiales de los mismos para no lesionar el tejido meníngeo. Siete electrodos fueron colocados como sigue: dos electrodos para el registro de la corteza frontal (+3.0mm de Bregma y 2.0 mm lateral de la línea media en ambos lados), dos electrodos para el registro de la corteza parietal (-1.0mm de Bregma y 2.5 mm lateral de la línea media en ambos lados), dos electrodos para el registro de la corteza occipital (+1.0mm de Lambda y 3.5 mm lateral de la línea media en ambos lados), y un electrodo como tierra física en el hueso frontal izquierdo (Figura 5).

Todos los electrodos fueron fabricados y colocados de tal manera que la meninge no fuera lesionada en el procedimiento de colocación. El montaje de todos los electrodos fue aislado y fijado al cráneo con acrílico. El resto del procedimiento quirúrgico es igual al descrito anteriormente para la colocación de la cánula.





Figura 5.- Se muestra a la rata posterior a la cirugía de colocación de electrodos y cánula para el registro del EEG.

#### **6.4 Registro conductual.**

Todos los experimentos se llevaron a cabo entre las 7:00 y las 14:00 horas. Cada rata fue transportada de manera individual en su propia caja hasta el área de observación que se encontraba en el mismo cuarto. La luz del cuarto estaba provista por dos focos rojos incandescentes de 60W suspendidos 1 metro por arriba del área de observación. Una cámara de alta definición era colocada 60 cm enfrente de la caja de observación y era colocada de tal manera que cubriera todos los ángulos de la caja para evitar puntos ciegos durante la grabación y obtener una imagen completa de la rata el libre movimiento.

Después de preparar el área de observación, la rata era colocada dentro de la caja de observación y videograbada por 15 minutos; al terminar este periodo de tiempo, los animales recibían una infusión de 2 $\mu$ l de sopa inflamatoria (SI) (histamina, serotonina, bradicinina 1mM y PGE2 0.1mM) o salina, y eran videograbadas por otros 45 minutos posterior a la infusión. Todos los videos fueron grabados en



modo de visión nocturna con la finalidad de observar a los animales en la oscuridad (Handycam Sony, HDR-CX12, Japón). Después de esta manipulación la rata era regresada a su propia caja.

El mismo procedimiento era repetido por siete días y todos los registros de video fueron analizados como se describe en el análisis conductual. Al finalizar los registros conductuales los animales eran sacrificados con una sobredosis de pentobarbital y se realizaba un control histológico meníngeo (vide infra) para observar si el tejido presentaba algún daño.

### **6.5 Análisis conductual.**

Anteriormente se han descrito conductas relacionadas con la nocicepción trigeminal, las cuales fueron analizadas (154). Las conductas son las siguientes:

- Conducta de exploración.- caminar, correr, escalar, movimientos de la cabeza y olfatear (Figura 6 A).
- Conducta de “freezing” o congelamiento motor.- postura inmóvil, con las cuatro patas en contacto con la superficie y sin movimiento de las vibrisas (Figura 6 B).
- Conducta de reposo.- la cabeza descansando sobre las dos patas anteriores flexionadas con los ojos abiertos o cerrados (Figura 6 C).
- Conducta de aseo facial.- patrones de movimiento en el cual las patas anteriores hacen contacto con áreas faciales (Figura 6 D).
- Conducta de aseo corporal.- patas, lengua o incisivos entran en contacto con áreas del cuerpo excepto la cara (Figura 6 E).
- Observación de conductas adicionales.- Debido al hecho de que no era posible predecir cómo se iban a modificar las conductas, tomamos en cuenta la posible aparición de otras conductas además de las descritas anteriormente. Para poder realizar esto, todos los analizadores fueron instruidos para describir si algún otro comportamiento aparecía o se modificaba en los animales.

El tiempo total que los animales permanecían realizando cada conducta fue medido de manera manual con un cronómetro en periodos de tiempo de tres minutos, y fue registrado en segundos. Todos los videos fueron analizados por los investigadores de manera ciega.

# Análisis conductual

## A. Conducta de exploración



## B. Conducta de freezing



## C. Conducta de reposo



## D. Conducta de aseo facial



## E. Conducta de aseo corporal



Figura 6.- Imágenes tomadas de los videos en modo *nightshot*, donde se ejemplifican cada una de las conductas evaluadas.

### **6.5.1 Análisis de la conducta nociceptiva.**

Al final del análisis conductual, la conducta nociceptiva inducida por la sopa inflamatoria y el efecto de la terapia farmacológica fue analizada de la misma manera.

### **6.6 Análisis y adquisición del EEG.**

Las señales biológicas (EEG) fueron amplificadas y filtradas (0.3 – 50 Hz) por un preamplificador AC (Grass Technologies, USA) y digitalizadas por el sistema de registro Cerebus (Cyberkinetics, Neurotechnology Systems Inc. USA) (sampling rate 500/s). Todos los registros fueron almacenados en una computadora usando software para la recopilación de datos del sistema Cerebus para su análisis offline- Los registros que presentaban artefactos fueron excluidos de análisis posteriores.

Los análisis espectrales del EEG fueron realizados usando la transformada rápida de Fourier. El poder integrado del EEG fue analizado en bins de 2 segundos en los siguientes rangos de frecuencia: delta: 0-4 Hz, theta: 4.5-8 Hz, alfa: 8.5-13 Hz, beta: 13.5-30 Hz, y gamma: 30.5-50 Hz) (160) usando el software Neuroexplorer v4.053 (Nextechnologies, USA).

Para caracterizar los patrones de sueño en los animales durante la nocicepción meníngea se realizaron análisis espectrales de la actividad de ondas lentas (AOL: 0.5-4 Hz), que se conoce como uno de los marcadores para los estados de sueño-vigilia (165).

### **6.7 Grupos experimentales.**

Todos los animales fueron divididos en grupos de igual tamaño (6 ratas por grupo).

#### **6.7.1 Grupos conductuales.**

Grupo control conductual (Con-C) (n=6).- los animales eran colocados en la caja de observación y videograbados por un periodo de 15 minutos. A continuación, los animales recibían una infusión de 2 µl de solución salina a través de la cánula y eran videograbados por otros 45 minutos.

Grupo sopa inflamatoria (SI) conductual (SI-C) (n=6).- mismo procedimiento que

los animales del grupo Con-C, solo que se les realizaba una infusión de 2 µl de SI (histamina, serotonina, bradicinina 1mM y PGE2 0.1 mM) a través de la cánula.

Grupo Sham conductual (Shm-C) (n=6).- Los animales eran falsos operados. La cánula se fijaba al cráneo con ionómero de vidrio y acrílico, sin que hubiera una craneotomía. Los animales eran colocados en la caja de observación y videograbados por 15 minutos, posteriormente el animal era manipulado, simulando la infusión a través de la cánula y videograbado por otros 45 minutos.

### **6.7.2 Grupos conductuales con intervención farmacológica.**

En grupos separados de animales, la infusión de la SI fue precedida por una inyección subcutánea de uno de los siguientes fármacos: zolmitriptan (grupo Zol-C: 100 µg/kg), acetaminofen (grupo Act-C: 250 mg/kg) y ketorolaco (grupo Ket-C: 5 mg/kg) (n=6 para cada uno de los grupos). La inyección se realizaba una hora antes de la infusión de la SI para los grupos de zolmitriptan y ketorolaco, y 45 minutos antes para el grupo de acetaminofen.

### **6.7.3 Grupos de EEG.**

En grupos separados de animales, se colocaron los electrodos sobre el cráneo para el registro del EEG de la corteza frontal, parietal y occipital en ratas en libre movimiento. El procedimiento fue el mismo descrito para los grupos conductuales, solo que los animales tenían colocado el montaje necesario para el registro del EEG. Los animales fueron divididos en tres grupos: 1) grupo EEG control (Con-E, n=6); 2) grupo EEG SI (SI-E, n=6) y 3) grupo EEG zolmitriptan (Zol-E, n=6).

## **6.8 Análisis estadístico.**

### **6.8.1 Análisis estadístico conductual.**

Para poder establecer si existían diferencias entre los grupos, se realizó una ANOVA de medidas repetidas a los datos arrojados antes y después de la infusión meníngea. Se utilizó la prueba de Tukey como Post-Hoc de comparación múltiple entre grupos, considerando  $P < 0.05$  como el valor estadístico significativo. Todo el análisis fue realizado utilizando el software SPSS (statistical package for the social sciences, LEAD technologies v12.0).

### 6.8.2 Análisis estadístico del EEG.

Se realizó una ANOVA de una vía para cada una de las bandas. Se utilizó la prueba de Tukey como Post-Hoc para comparar de manera específica los datos arrojados por la ANOVA. Valores de  $P < 0.05$  fueron considerados como estadísticamente significativos. Todo el análisis se realizó utilizando el software SPSS.

### 6.9 Análisis Histológico.

Al final del periodo de experimentación, las ratas fueron sacrificadas con una sobredosis de pentobarbital y perfundidas con formol al 10%. El tejido meníngeo se obtuvo sin dañarlo (realizando una calota del cráneo de la rata para extraer la meníngeo) y se sumergió posteriormente en etanol al 10% para secarlo. El tejido se observó posteriormente bajo un microscopio de luz para analizar la continuidad del tejido, con la finalidad de determinar si el proceso quirúrgico había dañado el tejido meníngeo (para observar la cronología del experimento ver: Diagrama 1).

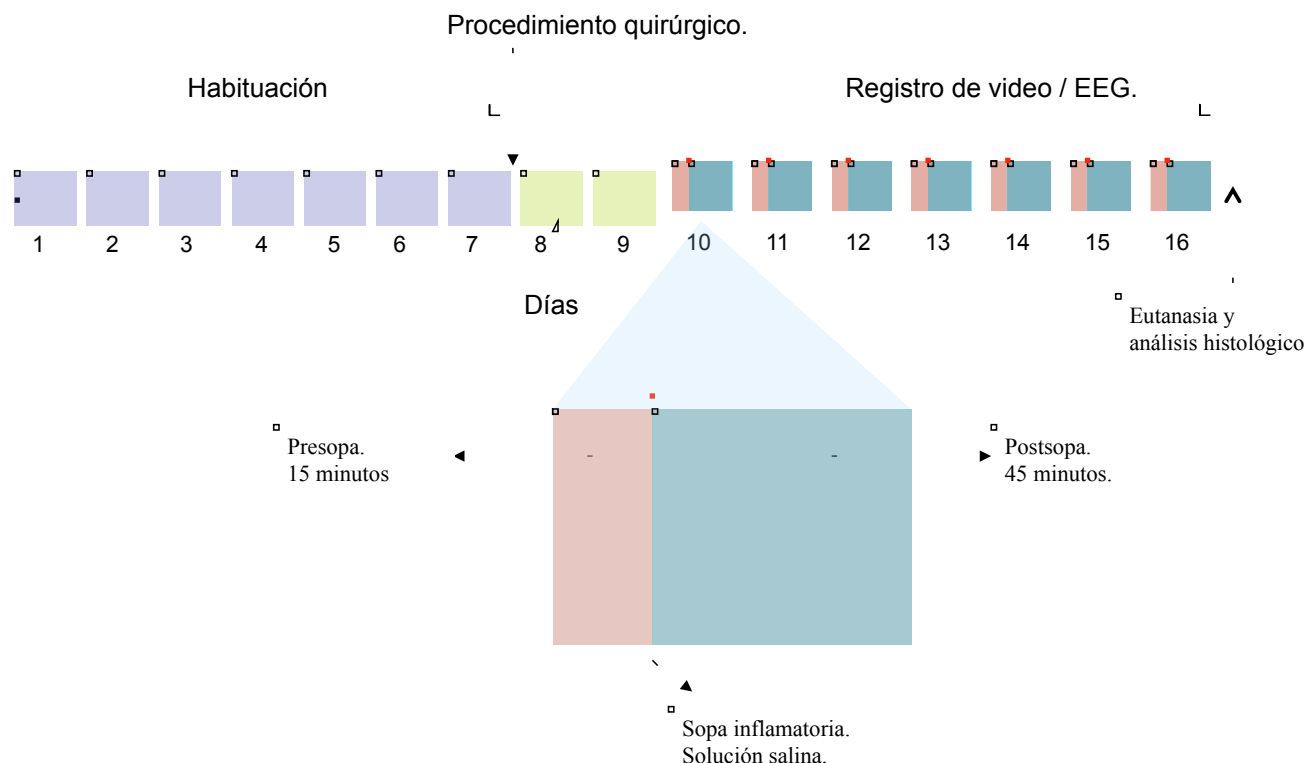


Diagrama 1.- Se muestra la cronología del experimento completo.

## **7. Resultados**

### **7.1 Resultados conductuales.**

Los resultados se mostrarán de dos maneras:

- a) Promedio de la conducta durante 7 días: el promedio  $\pm$  DE del tiempo que cada grupo de animales mostró una conducta en específico durante los 7 días de experimentación. Los registros fueron divididos en periodos de tres minutos por lo que el periodo de pre-infusión muestra 5 bloques y el periodo de post-infusión muestra 15 bloques.
- b) Análisis día a día: el promedio  $\pm$  DE del tiempo que cada grupo mostró una conducta específica a lo largo de los días.

Durante el periodo de pre-infusión no hubo diferencias significativas en ninguna de las conductas analizadas entre los grupos (ANOVA de medidas repetidas  $p > 0.05$ ; Figura 8). Es importante mencionar que el grupo Shm-C no presentó diferencias significativas al ser comparado contra el grupo Con-C en ninguna de las conductas analizadas (ANOVA de medidas repetidas  $p = 8.75$ ).

### **7.2 Conducta de Reposo.**

#### **7.2.1 Promedio de la conducta durante 7 días.**

El promedio de la conducta de reposo durante los siete días de experimentación fue significativamente mayor ( $72.23 \pm 2.81$  segundos) en el grupo SI-C ( $91.68 \pm 2.50$  segundos) durante el periodo de post-infusión al compararse con el grupo Con-C ( $19.44 \pm 2.35$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 7A).

#### **7.2.2 Análisis día a día.**

Después de analizar la conducta día a día en el periodo de post-infusión, resultó evidente, como se muestra en la figura 9A, que el grupo SI-C ( $641.81 \pm 3.02$  segundos) incrementó de manera significativa ( $505.67 \pm 3.10$  segundos) la conducta de reposo a lo largo de los 7 días al ser comparada con el grupo Con-C ( $136.13 \pm 2.10$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ).

### **7.3 Conducta de Freezing.**

#### **7.3.1 Promedio de la conducta durante 7 días.**

El promedio de la conducta de freezing durante los siete días de experimentación fue significativamente mayor ( $1.11 \pm 0.03$  segundos) en el grupo SI-C ( $1.24 \pm 0.02$  segundos) al compararse con el grupo Con-C ( $0.13 \pm 0.01$  segundos) en el periodo post-infusión (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 7B).

#### **7.3.2 Análisis día a día.**

Posterior a la infusión meníngea, el grupo SI-C ( $8.70 \pm 0.02$  segundos) mostró un aumento significativo ( $7.77 \pm 0.03$  segundos) de la conducta de freezing a lo largo de los 7 días al ser comparado con el grupo Con-C ( $0.92 \pm 0.03$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ). (Figura 9B).

### **7.4 Conducta de Exploración.**

#### **7.4.1 Promedio de la conducta durante 7 días.**

Con respecto al promedio en la conducta de exploración en el periodo de post-infusión, el grupo SI-C ( $50.81 \pm 2.18$  segundos) mostró un decremento significativo ( $72.56 \pm 2.79$  segundos) al compararse con el grupo Con-C ( $123.37 \pm 2.20$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 7C).

#### **7.4.2 Análisis día a día.**

El análisis día a día durante el periodo post-infusión, como se observa en la figura 9C, mostró un decremento significativo ( $507.96 \pm 3.81$  segundos) con respecto a la conducta de exploración en el grupo SI-C ( $355.67 \pm 3.21$  segundos) al compararse con el grupo Con-C ( $863.63 \pm 3.52$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ).

### **7.5 Conductas de aseo corporal y facial.**

No existieron diferencias significativas en el tiempo promedio de cada conducta a lo largo de los 7 días de experimentación ni en el análisis día a día. (ANOVA de medidas repetidas  $p > 0.05$ ) (Figuras 7D, 7E, 9D, 9E).



# Promedio de la conducta durante 7 días.

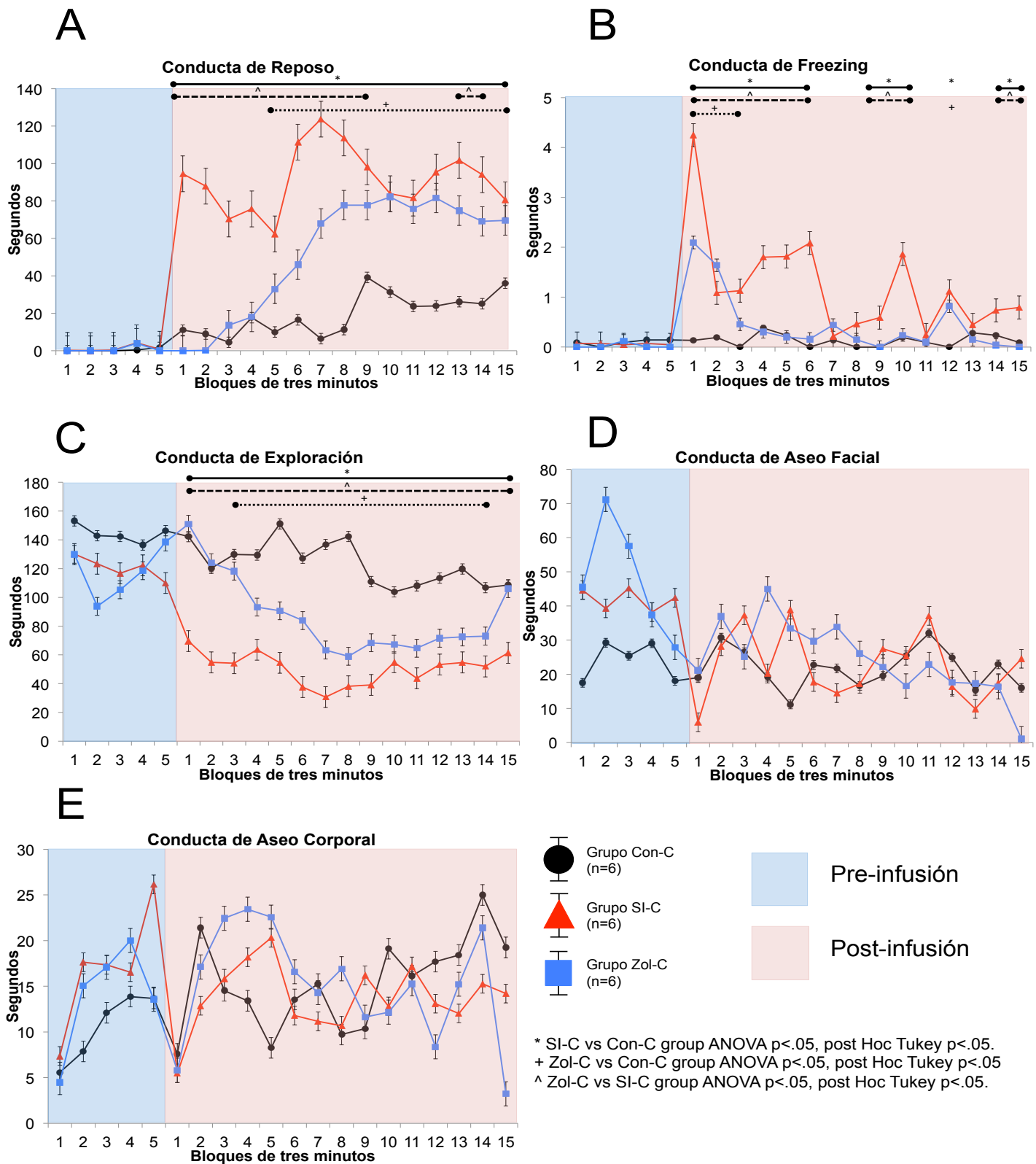


Figura 7.- La figura muestra el promedio de las conductas analizadas durante los siete días de experimentación divididos en dos periodos: pre-infusión (15 min) y post-infusión (45 min). Cada periodo fue analizado en bloques de tres minutos y analizado en segundos. Como resultado de la inflamación de la sopa inflamatoria (grupo SI-C), se observa un incremento de la conducta de reposo (A) y la conducta de freezing (B), así como una disminución significativa de la conducta de exploración (C) al compararse contra el grupo Con-C (\*). La administración de zolmitriptan reduce la respuesta evocada por la sopa inflamatoria (^) sin alcanzar los valores del grupo control (+).

# Análisis de la conducta día a día previo a la infusión meníngea.

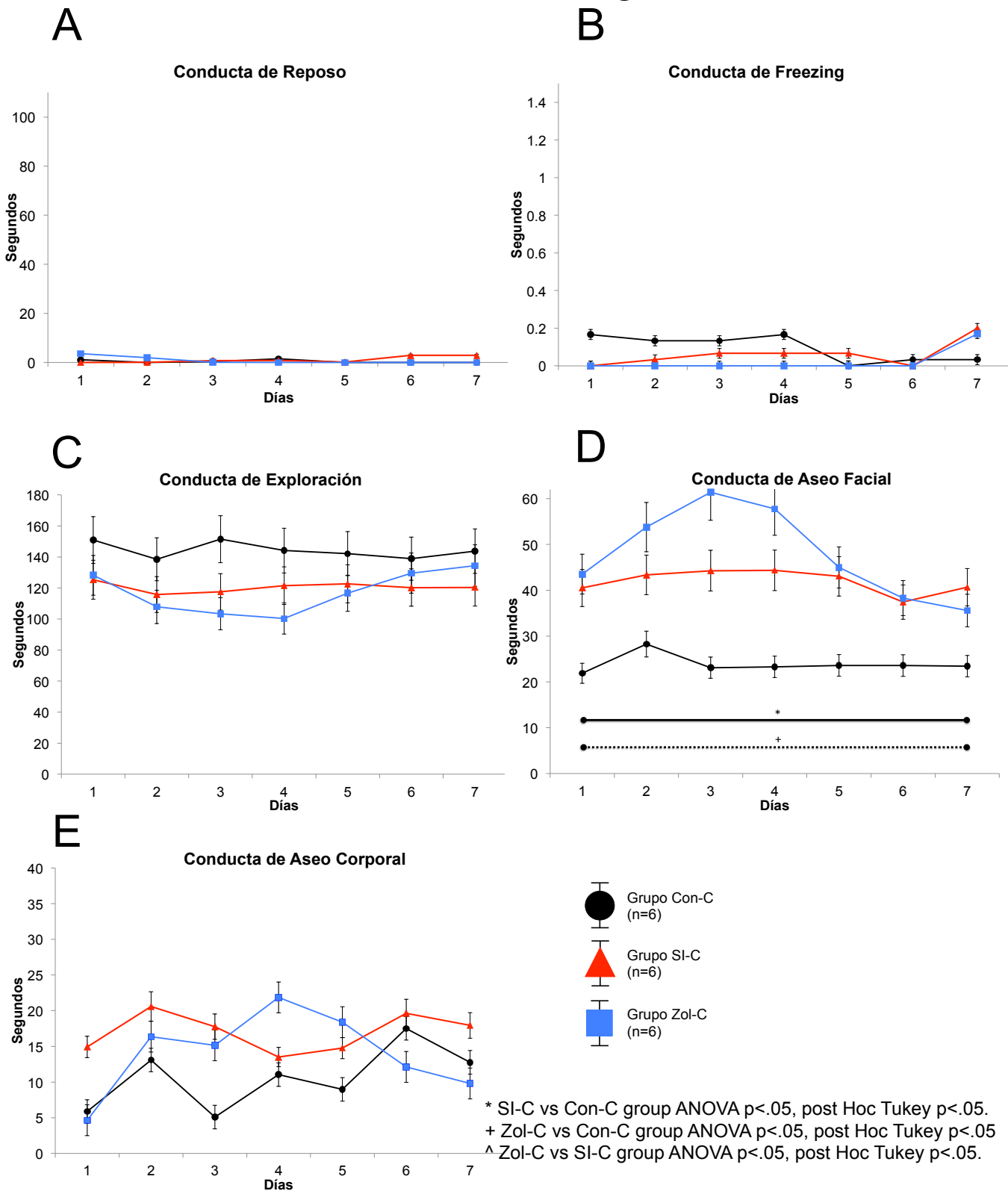


Figura 8.- La figura muestra el promedio en segundos de cada una de la conductas analizadas día a día previo a la infusión meníngea. Solo la conducta de aseo facial fue modificada previo a la infusión meníngea (D), en donde se observa que el grupo Con-C exhibe una disminución significativa de la conducta al compararse contra el grupo SI-C (\*) y el Zol-C (+).

# Análisis de la conducta día a día posterior a la infusión meníngea.

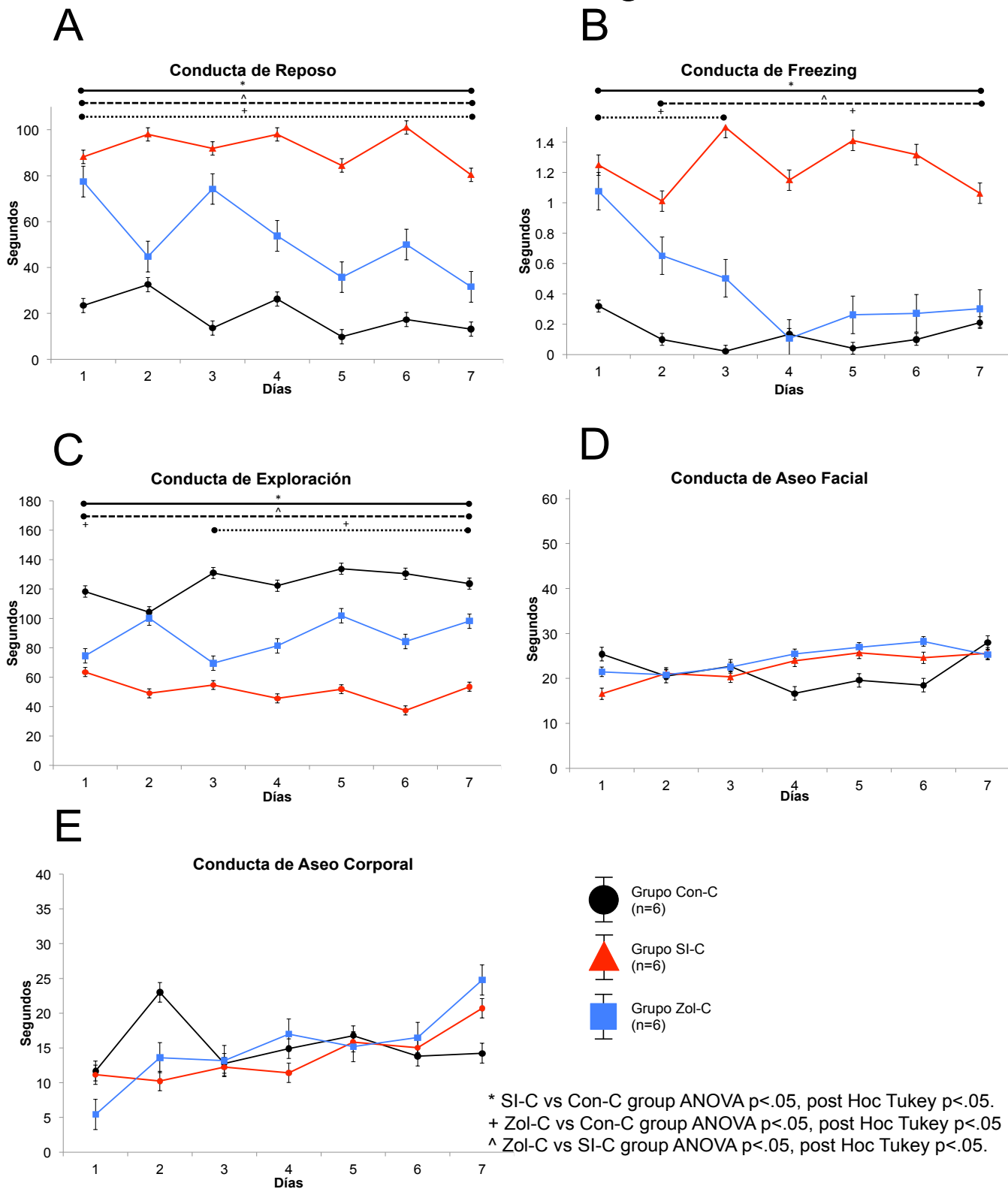


Figura 9.- La figura muestra el promedio en segundos de las conductas analizadas día a día durante los 45 minutos posterior a la infusión meníngea. La sopa inflamatoria (grupo SI-C) produce un incremento significativo de la conducta de reposo (A) y de freezing (B) así como una reducción significativa de la conducta de exploración (C) al compararse contra el grupo Con-C (\*). El tratamiento basado en zolmitriptan reduce de manera significativa las conductas evocadas por la sopa inflamatoria (^) pero nunca alcanza los valores del control (+).

## **7.6 Observaciones de conducta adicionales: aseo facial ipsilateral.**

Además de las conductas previamente descritas en los métodos, también pudimos observar otro tipo de comportamiento en los animales que recibieron la infusión de sopa inflamatoria. Los animales presentaron un patrón inusual de aseo facial, el cual llamamos: aseo facial ipsilateral.

De acuerdo a las características de la conducta de aseo facial, el animal debe tener un aseo facial con ambas patas delanteras al mismo tiempo como lo describe Voss (151). Sin embargo los animales presentaron un aseo facial más intenso, que solo era realizado con una pata trasera y siempre ipsilateral al sitio de implantación de la cánula (Figura 10). El tiempo que los animales presentaron esta conducta fue medido y se comparó entre grupos.

El grupo SI-C mostró un incremento significativo del tiempo dedicado a esta conducta ( $58.77 \pm 5.68$  segundos) en comparación en el grupo Con-C ( $16.03 \pm 2.06$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 11).

## **7.7 Análisis de la conducta nociceptiva.**

Tomando en cuenta el análisis de la conducta previamente descrita, logramos identificar tres conductas principalmente modificadas por la infusión de la SI: freezing, reposo y el aseo facial ipsilateral. Debido a que la conducta de aseo facial ipsilateral es una conducta no descrita anteriormente, se analizará por separado.

Nosotros definimos a la conducta nociceptiva como la suma de dos conductas en particular: la conducta de freezing y la conducta de reposo. Consideramos la suma del tiempo que los animales realizaron cada conducta por arriba del control y de este modo los podemos representar en porcentaje. Los datos muestran el porcentaje de inhibición de la respuesta nociceptiva inducida por la SI.

## **7.8 Resultados de la intervención farmacológica.**

### **7.8.1 Zolmitriptan – resultados conductuales.**

#### **7.8.1.1 Conducta de reposo.**

##### **7.8.1.1.1 Promedio de la conducta durante 7 días.**

Al analizar la conducta de reposo durante los 7 días de experimentación, el grupo Zol-C mostró una reducción significativa del tiempo dedicado a esta conducta ( $39.18 \pm 4.68$  segundos) al ser comparado contra el grupo SI-C ( $91.68 \pm 2.50$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ). Sin embargo también se observa un incremento significativo al compararse contra el grupo Con-C ( $19.44 \pm 2.35$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 7A).

##### **7.8.1.1.2 Análisis día a día.**

El análisis día a día mostró lo siguiente: el grupo Zol-C mostró una disminución significativa ( $274.29 \pm 2.92$  segundos) en la conducta de reposo al compararse contra el grupo SI-C ( $641.81 \pm 3.02$  segundos), pero también mostró un incremento significativo al compararse contra el grupo Con-C ( $136.13 \pm 2.10$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ). El grupo Zol-C mostró también una tendencia a disminuir la conducta de reposo a lo largo de los días (Figura 9A).

#### **7.8.1.2 Conducta de Freezing.**

##### **7.8.1.2.1 Promedio de la conducta durante 7 días.**

El grupo Zol-C mostró un incremento significativo ( $0.32 \pm 0.01$  segundos) al compararse con el grupo Con-C ( $0.13 \pm 0.01$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ). Aunado a esto el grupo Zol-C mostró una reducción significativa ( $0.78 \pm 0.02$  segundos) al compararse con el grupo SI-C ( $1.24 \pm 0.02$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ), al analizar la conducta durante los siete días de experimentación (Figura 7B).

#### **7.8.1.2.2 Análisis día a día.**

Al realizar el análisis día a día, el grupo Zol-C mostró un aumento significativo en el tiempo que los animales presentaron la conducta de freezing ( $2.24 \pm 0.03$  segundos) cuando fue comparado contra el grupo Con-C ( $0.92 \pm 0.03$  segundos), sin embargo este incremento solo se presentó durante los tres primeros días (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ), a partir del día cuatro no existieron diferencias significativas entre ambos grupos (ANOVA de medidas repetidas  $p > 0.05$ ) (Figura 9B).

#### **7.8.1.3 Conducta de exploración.**

##### **7.8.1.3.1 Promedio de la conducta durante 7 días.**

El grupo Zol-C mostró un incremento significativo ( $36.33 \pm 3.10$  segundos) en el promedio de tiempo de la conducta de exploración al compararse contra el grupo SI-C ( $50.81 \pm 2.18$  segundos), y también mostró una reducción significativa ( $36.23 \pm 3.87$  segundos) al compararse contra el grupo Con-C ( $123.37 \pm 2.20$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 7C).

##### **7.8.1.3.2 Análisis día a día.**

El grupo Zol-C mostró una reducción significativa ( $253.62 \pm 4.53$  segundos) de la conducta de exploración al compararse contra el grupo Con-C ( $863.63 \pm 3.52$  segundos), al igual que un incremento significativo ( $254.33 \pm 4.91$  segundos) al compararse contra el grupo SI-C ( $355.67 \pm 3.21$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 9C).

#### **7.8.1.4 Conducta de aseo facial y corporal.**

No existieron diferencias significativas entre ninguno de los grupos al analizar estas conductas, ni en el promedio de tiempo durante los siete días de experimentación ni en el análisis día a día (Figuras 7D, 7E, 9D, 9E).

##### **7.8.1.5 Aseo facial ipsilateral.**

El grupo Zol-C mostró una disminución significativa ( $31.04 \pm 6.57$  segundos) en el tiempo en que los animales realizaron esta conducta al ser comparado contra el

grupo SI-C ( $74.80 \pm 4.50$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ). El grupo Zol-C también mostró un incremento significativo ( $27.73 \pm 3.45$  segundos) al compararse contra el grupo Con-C ( $16.03 \pm 2.06$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 11).

#### **7.8.1.6 Conducta nociceptiva.**

Las ratas tratadas con zolmitriptan mostraron una disminución significativa (62.65%) de la conducta nociceptiva al compararse contra el grupo SI-C de manera significativa (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 12).

### **7.8.2 Ketorolaco- resultados conductuales.**

No hubo diferencias significativas al comparar las ratas tratadas con ketorolaco en ninguna de las conductas analizadas (ANOVA de medidas repetidas  $p > 0.05$ ).

#### **7.8.2.1 Aseo facial ipsilateral.**

El grupo Ket-C mostró una disminución significativa ( $24.44 \pm 3.57$  segundos) en el tiempo que los animales realizaron esta conducta al compararse contra el grupo SI-C ( $74.80 \pm 4.50$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p > 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ), y también un incremento significativo ( $34.37 \pm 4.54$  segundos) al compararse contra el grupo Con-C ( $16.03 \pm 2.06$  segundos) (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 11).

#### **7.8.2.2 Conducta nociceptiva.**

Los animales tratados con ketorolaco mostraron una reducción significativa de la conducta nociceptiva (63.01%) al compararse contra el grupo SI-C (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 12).

### 7.8.3 Acetaminophen – resultados conductuales.

No hubo diferencias significativas al comparar las ratas tratadas con acetaminophen en ninguna de las conductas analizadas (ANOVA de medidas repetidas  $p > 0.05$ ).

#### 7.8.3.1 Aseo facial ipsilateral.

El grupo Acet-C ( $71.56 \pm 5.48$  segundos) no mostró ninguna diferencia al ser comparado contra el grupo SI-B (ANOVA de medidas repetidas  $p > 0.05$ ) (Figura 11).

#### 7.8.3.2 Conducta nociceptiva.

Al analizar los animales tratados con acetaminofen, hubo una disminución de la conducta nociceptiva (36.53%) al compararse contra el grupo SI-C (ANOVA de medidas repetidas  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ) (Figura 12).

## Aseo facial ipsilateral



Figura 10.- Se muestran imágenes de los registros videograbados en modo *nightshot* donde se ejemplifica la conducta de aseo facial ipsilateral.



### Promedio de tiempo de aseo facial ipsilateral posterior a la infusión de SI

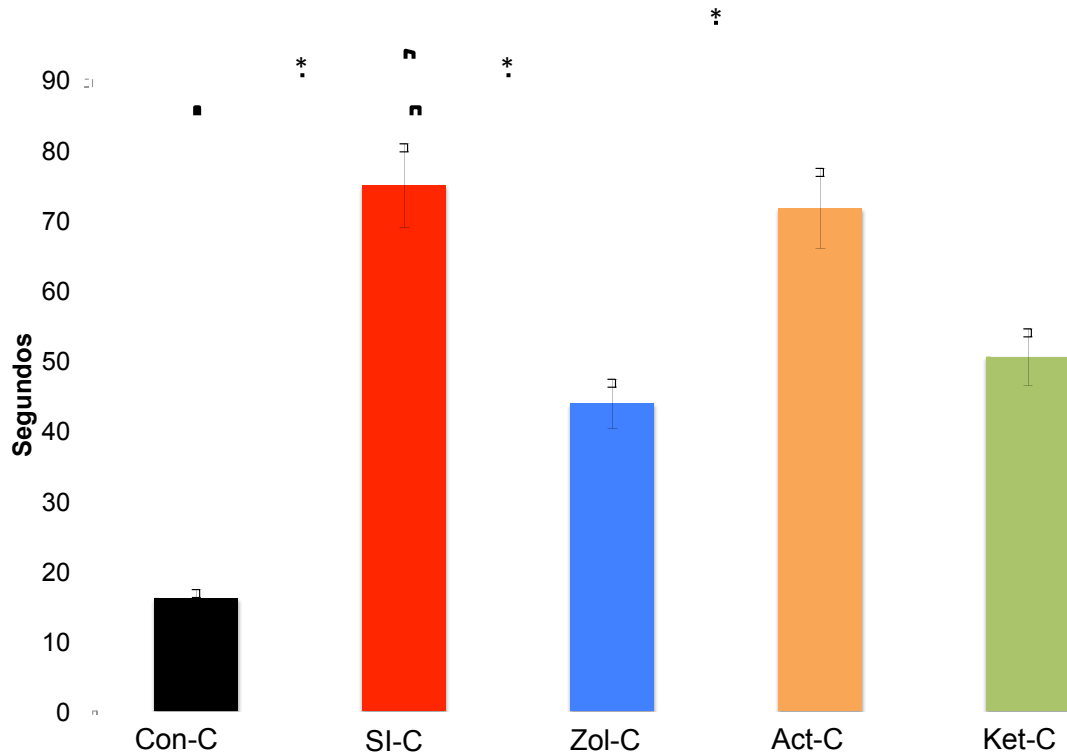


Figura 11.- La figura muestra el promedio del tiempo en que cada grupo realizó la conducta de aseo facial ipsilateral posterior a la infusión meníngea. Esta conducta novedosa caracterizada por un aseo facial intenso con la pata posterior y siempre ipsilateral al lugar de la implantación de la cánula. Como se muestra en la figura el grupo Si-C mostró esta conducta por un periodo de tiempo significativamente mayor que el grupo Con-C (\*). El tratamiento basado en zolmitriptan y ketorolaco reduce este efecto de manera significativa (\*). Y el acetaminophen fue el menos efectivo de todas las drogas probadas (\*). (\* ANOVA  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ).

## Reducción de la conducta nociceptiva posterior a la infusión de SI

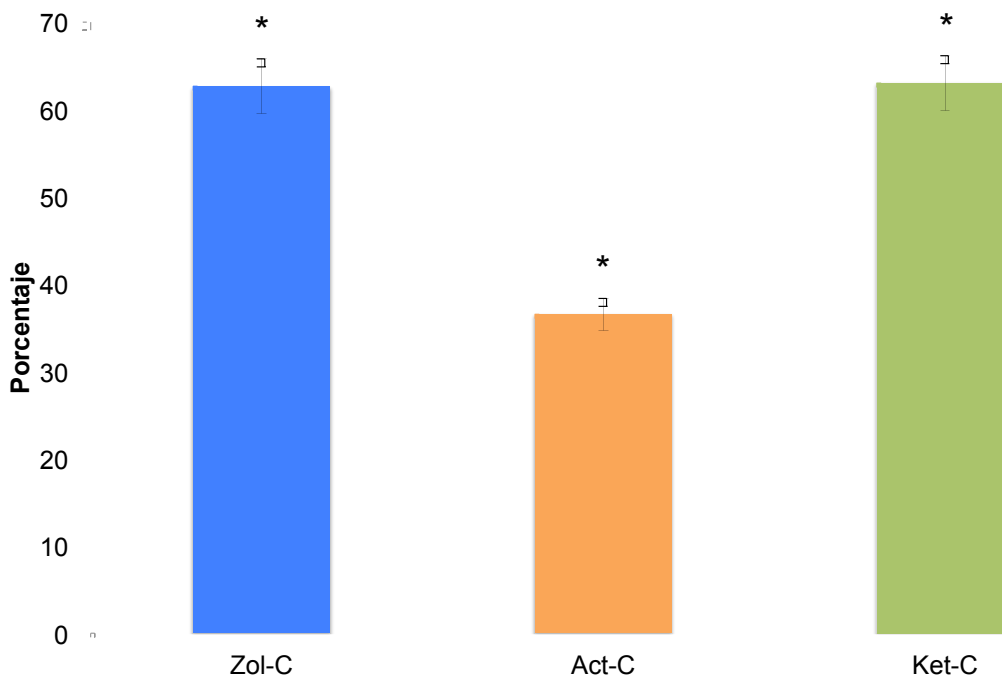


Figura 12.- La figura muestra el porcentaje de reducción de la conducta nociceptiva (freezing más conducta de reposo) posterior a la infusión meníngea en cada una de las drogas probadas. Tanto el zolmitriptan como el ketorolaco y el acetaminophen disminuyen de manera significativa la conducta nociceptiva (\*) (ANOVA  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ).

### 7.9 Resultados EEG.

Con la finalidad de evaluar la actividad cortical de los animales de manera global, primero realizamos un análisis por las bandas anteriormente descritas (delta: 0-4 Hz, theta: 4.5-8 Hz, alfa: 8.5-13 Hz, beta: 13.5-30 Hz, y gamma: 30.5-50 Hz).

Después de analizar los registros, dos resultados fueron evidentes: primero, el grupo Zol-E mostró un incremento en la densidad del poder espectral en todas las cortezas, así como en todas las bandas, cuando fue comparado contra el grupo SI-E y el grupo Con-E (ANOVA  $p < 0.05$ ).

Segundo, el grupo SI-E mostró un incremento de la densidad del poder espectral en la banda delta a lo largo de toda la corteza; este resultado fue significativo al compararlo contra el grupo Con-E (ANOVA  $p < 0.5$ ), aunado a esto, este fenómeno cortical tenía su origen en el lóbulo occipital y se propagaba hacia áreas parietales y frontales (Figura 13).

Además de los resultados previamente descritos, se analizó la actividad de ondas lentas (AOL) durante el tiempo que los animales realizaban la conducta de reposo. Se comparó el tiempo que los animales realizaban la conducta de reposo, contra el tiempo que los animales realizaban la conducta de reposo y tenían presencia de AOL en los registros del EEG. Cuando se comparó la conducta de reposo contra la AOL, se observó que el grupo SI-E fue el único que no presentó AOL durante el tiempo que los animales realizaban la conducta de reposo en el periodo post-infusión. Esto fue significativo en comparación con el grupo Zol-E y Con-E (ANOVA  $p < 0.05$ ) (Figura 14B). De hecho, la AOL también estaba disminuida de manera significativa antes de la infusión en el grupo SI-E. (ANOVA  $p < 0.5$ ) (Figura 14A).

## Espectrogramas de la actividad delta (0-4 Hz)

### Grupo SI-E

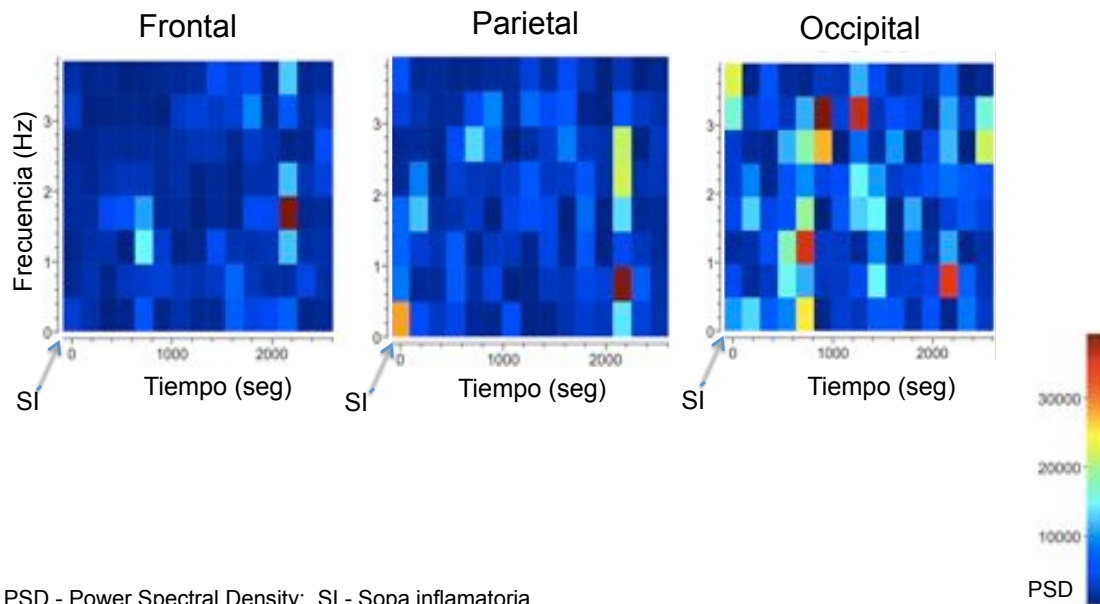
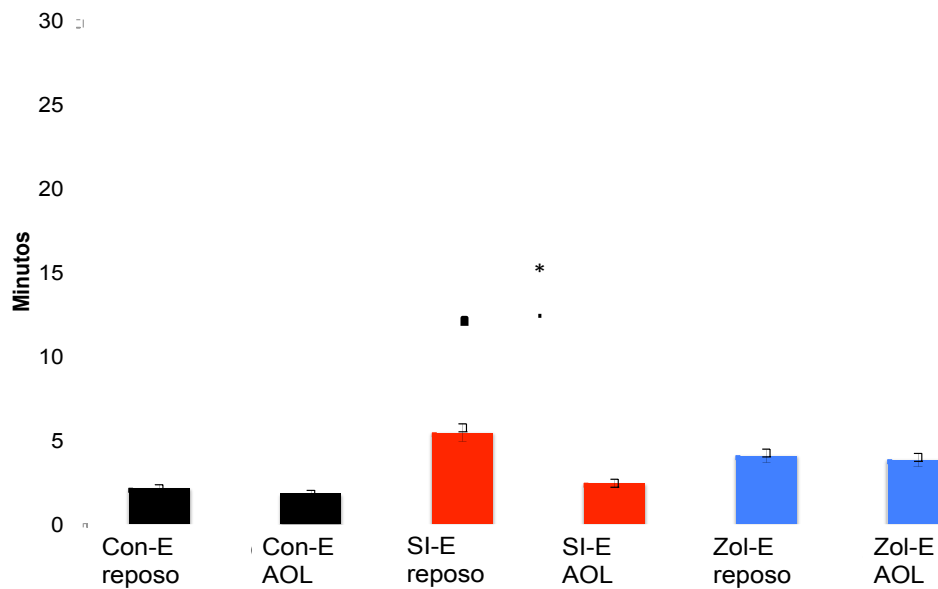


Figura 13.- Los espectrogramas muestran la actividad delta posterior a la infusión de sopa inflamatoria (grupo SI-E) en la corteza occipital, parietal y frontal. El grupo SI-E mostró un incremento del PSD en la banda delta en todas las cortezas al compararse con el grupo Con-E (ANOVA  $p < 0.05$ ). Este incremento parece originarse en el lóbulo occipital y desplazarse hacia áreas corticales frontales.

# Análisis de la conducta día a día posterior a la infusión meníngea.

## A Comparación entre el tiempo de la conducta de reposo y la presencia de AOL en el EEG previo a la infusión de SI



## B Comparación entre el tiempo de la conducta de reposo y la presencia de AOL en el EEG posterior a la infusión de SI

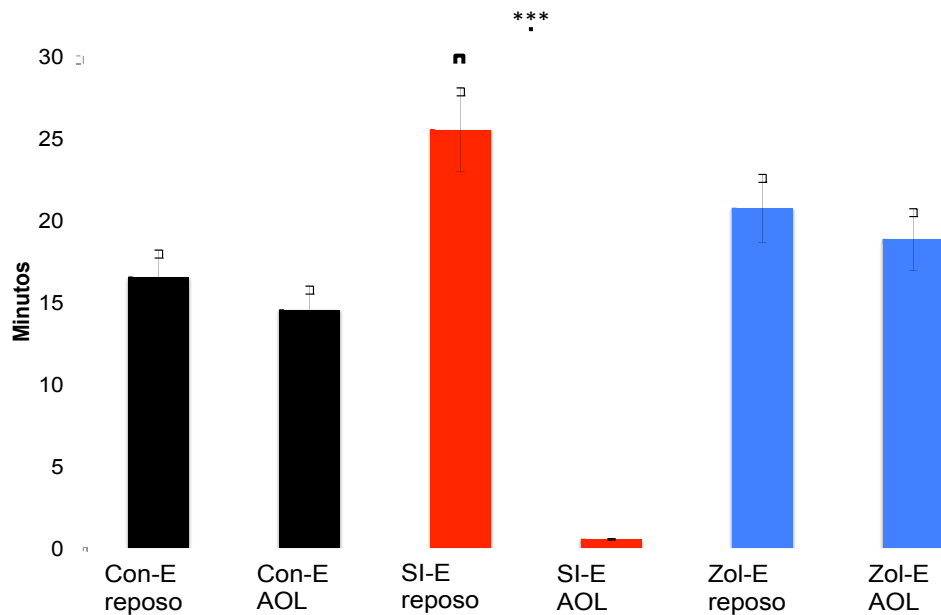


Figura 14.- (AOL.- Actividad de Ondas Lentas). La figura muestra una comparación entre el tiempo que los animales realizaron la conducta de reposo y la presencia de AOL durante este tiempo. (A) previo a la infusión de la sopa inflamatoria, el grupo SI-E presenta una disminución en la presencia de AOL de manera significativa (\*). Sin embargo posterior a la infusión de la sopa inflamatoria, el grupo SI-E fue el único que no tuvo AOL durante la conducta de reposo (\*). El grupo Con-E y el grupo Zol-E no mostraron diferencias significativas (ANOVA  $p < 0.05$ ; post Hoc Tukey  $p < 0.05$ ).

### **7.10 Resultados histológicos.**

Al observar el tejido meníngeo bajo un microscopio de luz, este fue dañado por el proceso quirúrgico en 4 de 58 animales. Estos animales no fueron considerados para análisis futuros. El resto de los animales no presentaron daño evidente en el tejido meníngeo.

## 8. Discusión.

El uso de modelos animales para el estudio del dolor, mediante animales íntegros involucra ciertas características que deben cumplirse para que el modelo sea propuesto como una herramienta útil para la investigación. Primero el modelo animal utilizado debe presentar un fenómeno razonablemente equiparable al que se presenta en el humano. Segundo, el modelo debe estar provisto de los mecanismos intrínsecos para el entendimiento del fenómeno nociceptivo que se pretende estudiar. Tercero, el modelo debe ser altamente replicable y cuarto, el modelo debe llevarse a cabo dentro de las normas y criterios éticos para la experimentación con dolor (126, 127).

Basados en lo anterior, el modelo desarrollado para la presente investigación, pretende incluir diversas características clínicas que los pacientes exhiben durante los ataques de migraña, así como ciertas características dentro de su fisiopatología y de la respuesta al tratamiento basado en triptanos y AINES. Para lograr este objetivo, se desarrolló un modelo que fue analizado con tres diferentes metodologías: conductual, farmacológica y electrofisiológica.

En busca de la obtención de un fenómeno nociceptivo equiparable a la migraña, decidimos utilizar la sopa inflamatoria, la cual se ha descrito ampliamente (43, 78, 79, 80, 81), activa las vías de nocicepción meníngea de manera similar a lo que se observa en los pacientes migrañosos. Los resultados conductuales obtenidos por la infusión de la sopa inflamatoria fueron el incremento espontáneo de las conductas relacionadas con la nocicepción como el reposo y el freezing, mientras que disminuía la conducta de exploración. De manera general los animales que tuvieron el estímulo nociceptivo, presentaron una disminución de la actividad motriz, estas observaciones se pueden correlacionar con la disminución de la actividad física de rutina en los pacientes, así como la disminución del movimiento en general debido al dolor provocado por la migraña (1, 11, 25, 30).

En el mismo contexto, logramos la identificación de una conducta no descrita anteriormente, a la que llamamos aseo facial ipsilateral. Esta conducta espontánea esta caracterizada por un aseo facial, realizado con las patas posteriores del animal y siempre ipsilateral al sitio de implantación de la cánula. Los animales que fueron estimulados con la sopa inflamatoria presentaron un incremento de esta conducta, de manera significativa al ser comparados con los animales controles. Es importante mencionar que esta conducta se presentaba de manera espontánea y que puede ser correlacionada con la característica de lateralidad del dolor en los pacientes con migraña. Mas aún, se ha descrito que los pacientes tienden a tocar con mucha más frecuencia su región facial, principalmente, áreas ipsilaterales al lugar del inicio del dolor (25).

Al hablar de la respuesta farmacológica de nuestro modelo, es importante resaltar que uno de los factores más importantes con respecto a la efectividad del tratamiento anti-migrañoso, es la administración de los medicamentos antes de que se instaure el fenómeno de sensibilización central del sistema trigeminal. Esto ha sido descrito por Burstein et al (91), quien menciona que el fenómeno de sensibilización central sucede entre los 45 y 60 minutos posteriores a la activación del sistema trigeminal periférico. Tomando en cuenta lo anterior, y con la finalidad de mimetizar lo que se observa en los pacientes, los animales fueron tratados previo a la infusión de la sopa inflamatoria y a la instauración de la sensibilización central. Los medicamentos usados en este modelo fueron los triptanos y los AINES. Los triptanos son uno de los medicamentos más usados por los médicos para tratar la migraña en forma aguda y es el tratamiento más aceptado en la actualidad (117), mientras que los AINES son los fármacos más utilizados por los pacientes de manera empírica (117), por lo que tratamos a los animales con zolmitriptan, ketorolaco y acetaminofen.

Los datos publicados por Tfelt-Hansen y Olesen (117) mencionan que el tratamiento basado en triptanos es eficaz solo en el 40% de los pacientes tratados, y que incluso en los pacientes que reportan alivio con este medicamento, los síntomas no desaparecen por completo. Los resultados obtenidos en nuestro modelo fueron muy similares. Los animales tratados con zolmitriptan presentaron una disminución significativa de la conducta nociceptiva espontánea sin que esta se extinguiera por completo (Figuras 7, 11 y 12). Sin embargo cuando las conductas se analizaron día a día, fue posible identificar que el zolmitriptan ganaba eficacia conforme los días transcurrían, generando una abolición completa de la conducta de freezing a partir del día cuatro de infusión de sopa inflamatoria.

La intervención farmacológica con AINES mostró que el ketorolaco generaba una reducción significativa de la conducta nociceptiva, así como del aseo facial ipsilateral, sin embargo este medicamento no logró extinguir ninguna conducta por completo. Por otro lado, el acetaminofen fue el menos efectivo de todas las drogas probadas en el modelo, sin embargo genera de igual manera una disminución significativa de la conducta nociceptiva. Los resultados obtenidos por la administración de triptanos y AINES son similares a los obtenidos en pacientes para el tratamiento agudo de los ataques de migraña (106, 103, 104, 108).

Por otra parte, los registros de la actividad cortical usando el EEG fueron realizados de primera intención con la finalidad de poder determinar si el aumento en la conducta de reposo era debido a la estimulación nociceptiva de las vías trigémino-vasculares o era simplemente el patrón de sueño normal que presentan los animales. Otra de las razones por las que buscamos de manera intencionada actividad de ondas lentas en la corteza (La actividad de ondas lentas es una de las

características electroencefalográficas del sueño), era debido a que los pacientes que presentan ataques de migraña tienden a disminuir su actividad física e intentan dormir, pero el dolor se los impide (155, 156). El modelo mostró un incremento de la conducta de reposo en el análisis conductual, sin embargo los animales que fueron infundidos con sopa inflamatoria, no presentaron actividad de ondas lentas durante esta conducta. Cabe mencionar que este efecto se presentó únicamente en animales que no recibieron ningún tratamiento.

De manera paralela al análisis de la actividad de ondas lentas, realizamos un análisis general de la actividad cortical durante la nocicepción meníngea. Los resultados mostraron que los animales estimulados con sopa inflamatoria y que no fueron tratados con ninguna droga, presentaron un incremento de la actividad delta, este fenómeno era propagado desde áreas corticales occipitales hacia áreas corticales parietales y frontales. Este incremento de la densidad de ondas delta en la corteza, así como el patrón de propagación a lo largo de la corteza cerebral, es muy similar al que se observa en la depresión cortical propagante en animales (27, 29, 30, 157). Sin embargo, resulta difícil creer que la sopa inflamatoria cause por sí misma, depresión cortical propagante, pero el fenómeno observado en los animales puede ser el resultado de la activación del sistema trigeminocervical, y las proyecciones corticales que provienen del tálamo previamente descritas para la nocicepción meníngea por Nosedá et al y para el dolor por Liang et al (158, 159). Es decir, probablemente el fenómeno observado sea el resultado de la actividad cortical posterior a la activación de vías tálamo-corticales que se relacionan con la nocicepción meníngea.

El modelo muestra que la estimulación nociceptiva repetida del sistema trigémino-vascular expone varias características tanto clínicas como farmacológicas y electrofisiológicas extrapolables a las observadas en los pacientes con migraña. Es importante mencionar que el modelo, es de los pocos modelos de nocicepción meníngea crónica que existen hasta el momento y el único hasta donde los autores conocen que analiza conductas espontáneas como resultado de la nocicepción.

Todo lo mencionado anteriormente nos permite proponer este modelo como una nueva técnica para el estudio de la migraña. Además el modelo puede contribuir a aumentar el conocimiento de la fisiopatología relacionada a la nocicepción meníngea y por consecuencia al desarrollo de nuevos tratamientos para la enfermedad.



## 9. Bibliografía.

- [1] Ferrari MD. Migraine. *The Lancet*. 1998, 351: 1043-1052.
- [2] Olesen J, Tfelt-Hansen P, Welch KMA. (2000) *The headaches*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- [3] Lashley KS. Patterns of cerebral integration indicated by the scotomas of migraine. *Arch Neurol Psychiat*. 1941; 46:331–9.
- [4] Leão AAP. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol*. 1944; 7:359–90.
- [5] Leão AAP, Morison RS. Propagation of spreading cortical depression. *J Neurophysiol*. 1945; 8:33–45.
- [6] Davis KD, Dostrovsky JO. Activation of trigeminal brain-stem nociceptive neurons by dural artery stimulation. *Pain*. 1986; 25:395-401.
- [7] Davis KD, Dostrovsky JO. Effect of trigeminal subnucleus caudalis cold block on the cerebrovascular-evoked responses of rostral trigeminal complex neurons. *Neurosci Lett*. 1988; 94:303–308.
- [8] Strassman AM, Mason P, Moskowitz MA, Maciewicz R. Response of brainstem trigeminal neurons to electrical stimulation of the dura. *Brain*. 1986; Res 379:242–50.
- [9] Moskowitz MA. Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine. *Neurology*. 1993; 43:S16-20.
- [10] Bolay H, Reuter U, Dunn K, et al. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat Medicine* 2002; 8:136-142.
- [11] Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine – Current Understanding and treatment. *N Engl J Med* Vol. 346, No. 4 January 24, 2002: 257-271.
- [12] Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol*. 1990; 28:183-7.

- [13] Sarchielli P, Alberti A, Codini M, Floridi A, Gallai V. Nitric oxide metabolites, prostaglandins and trigeminal vasoactive peptides in internal jugular vein blood during spontaneous migraine attacks. *Cephalalgia*. 2000; 20:907-18.
- [14] Goadsby PJ, Edvinsson L. The trigeminovascular system and migraine: studies characterizing cerebrovascular and neuropeptide changes seen in humans and cats. *Ann Neurol*. 1993; 33:48-56.
- [15] Tvedskov JF, Lipka K, Ashina M, Iversen HK, Schifter S, Olesen J. No increase of calcitonin gene-related peptide in jugular blood during migraine. *Ann Neurol*. 2005; 58:561-8.
- [16] Peroutka SJ. Neurogenic inflammation and migraine: implications for the therapeutics. *Mol Interv*. 2005; 5:304-11.
- [17] Rasmussen BK. Epidemiology of headache. *Cephalalgia*. 2001; 21:774-7.
- [18] Stewart WF, Lipton RB. International comparisons in migraine epidemiology. *Cephalalgia*. 1995; 15:449-50.
- [19] Pietrobon D, Striessnig J. Neurobiology of migraine. *Nat Rev Neurosci*. 2003, 45: 386-398.
- [20] Wessman M, Kallela M, Kaunisto MA, Marttila P, Sobel E, Hartiala J, Oswell G, Leal SM, Papp JC, Hamalainen E, Broas P, Joslyn G, Hovatta I, Hiekkalinna T, Kaprio J, Ott J, Cantor RM, Zwart JA, Ilmavirta M, Havanka H, Farkkila M, Peltonen L, Palotie A. A susceptibility locus for migraine with aura, on chromosome 4q24. *Am J Hum Genet*. 2002; 70:652-62.
- [21] Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM, Lamerdin JE, Mohrenweiser HW, Bulman DE, Ferrari M, Haan J, Lindhout D, van Ommen GJ, Hofker MH, Ferrari MD, Frants RR. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca<sup>2+</sup> channel gene CACNL1A4. *Cell*. 1996; 87:543-52.
- [22] Kelman L. The triggers or precipitants of the acute migraine attack. *Cephalalgia*. 2007; 27:394-402.

- [23] Wöber C, Holzhammer J, Zeitlhofer J, Wessely P, Wober-Bingol C. Trigger factors of migraine and tension-type headache: experience and knowledge of the patients. *J Headache Pain*. 2006; 7:188-95.
- [24] Scher AI, Bigal ME, Lipton RB. Comorbidity of migraine. *Curr Opin Neurol*. 2005; 18:305- 10.
- [25] Headache Classification Committee of the International Headache Society. The international classification of headache disorders (second edition). *Cephalalgia*. 2004; 24:1-160.
- [26] Buzzi MG, Bonamini M, Moskowitz MA. Neurogenic model of migraine. *Cephalalgia* 1995;15:277-80.
- [27] Lauritzen M. Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory. *Brain*. 1994; 117:199-210.
- [28] DaSilva AF, Becerra L, Makris N, Strassman AM, Gonzalez RG, Geatrakis N, Borsook D. Somatotopic activation in the human trigeminal pain pathway. *J Neurosci*. 2002; 22:8183–9.
- [29] Hayrunnisa Bolay, Uwe Reuter, Andrew K. Dunn, et al., Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nature Medicine*. 2002, 9:136-142.
- [30] Akerman S, Hollan PR, Goadsby PJ, Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine. *Nature Reviews Neuroscience*. October 2011. Volume 12: 570-584.
- [31] Somjen GG. Aristides Leão's discovery of cortical spreading depression. *J Neurophysiol*. 2005; 94:2-4.
- [32] Milner PM. Note on the possible correspondence between the scotomas of migraine and spreading depression of Leao. *Electroenceph Clin Neurophysiol*. 1958; 10:705.
- [33] Olesen J, Tfelt-Hansen P, Henriksen L, Larsen B. The common migraine attack may not be initiated by cerebral ischaemia. *Lancet*. 1981; 2:438-40.

- [34] Bures J. Spreading depression: basic mechanisms and possible role in the pathophysiology of migraine. In: Olesen J, Schmidt RF (eds), *Pathophysiological Mechanisms of Migraine*, VCH, Weinheim. 1993; 161–76.
- [35] McLachlan RS, Girvin JP. Spreading depression of Leao in rodent and human cortex. *Brain Res.* 1994; 666:133-6.
- [36] Mayevsky A, Doron A, Manor T, Meilin S, Zarchin N, Ouaknine GE. Cortical spreading depression recorded from the human brain using a multiparametric monitoring system. *Brain Res.* 1996; 740:268-74.
- [37] Fabricius M, Fuhr S, Bhatia R, Boutelle M, Hashemi P, Strong AJ, Lauritzen M. Cortical spreading depression and peri-infarct depolarization in acutely injured human cerebral cortex. *Brain.* 2006; 129:778-90.
- [38] Strong AJ, Fabricius M, Boutelle MG, Hibbins SJ, Hopwood SE, Jones R, Parkin MC, Lauritzen M. Spreading and synchronous depressions of cortical activity in acutely injured human brain. *Stroke.* 2002; 33:2738-43.
- [39] Piper RD, Lambert GA. Inhalational anesthetics inhibit spreading depression: relevance to migraine. *Cephalalgia.* 1996; 16:87-92.
- [40] Hadjikhani N, Sanchez Del Rio M, Wu O, Schwartz D, Bakker D, Fischl B, Kwong KK, Cutrer FM, Rosen BR, Tootell RB, Sorensen AG, Moskowitz MA. Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; 98:4687-92.
- [41] Takano T, Tian GF, Peng W, Lou N, Lovatt D, Hansen AJ, Kasischke KA, Nedergaard M. Cortical spreading depression causes and coincides with tissue hypoxia. *Nat Neurosci.* 2007; 10:754-62.
- [42] Somjen GG. Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression- like depolarization. *Physiol Rev.* 2001; 81:1065-96.
- [43] Strassman AM, Raymond SA, Burstein R. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches. *Nature.* 1996; 384:560–4.
- [44] Wei EP, Moskowitz MA, Boccalini P, Kontos HA. Calcitonin gene-related peptide mediates nitroglycerin and sodium nitroprusside-induced vasodilation in feline cerebral arterioles. *Circ Res.* 1992; 70(6):1313-9.

- [45] Cao Y, Aurora SK, Nagesh V, Patel SC, Welch KM. Functional MRI-BOLD of brainstem structures during visually triggered migraine. *Neurology*. 2002; 59:72-8.
- [46] Géraud G, Denuelle M, Fabre N, Payoux P, Chollet F. Positron emission tomographic studies of migraine. *Rev Neurol (Paris)*. 2005; 161:666-70.
- [47] Sanchez del Rio M, Bakker D, Wu O, Agosti R, Mitsikostas DD, Ostergaard L, Wells WA, Rosen BR, Sorensen G, Moskowitz MA, Cutrer FM. Perfusion weighted imaging during migraine: spontaneous visual aura and headache. *Cephalalgia*. 1999; 19:701-7.
- [48] Woods RP, Iacobini M, Mazziota JC. Brief report : Bilateral spreading cerebral hypoperfusion during spontaneous migraine headache. *N Engl J Med*. 1994; 331:1689-92.
- [49] Chronicle EP, Mulleners WM. Visual system dysfunction in migraine: a review of clinical and psychophysical findings. *Cephalalgia*. 1996; 16:525-35.
- [50] Drummond PD. Motion sickness and migraine: optokinetic stimulation increases scalp tenderness, pain sensitivity in the fingers and photophobia. *Cephalalgia*. 2002; 22:117-24.
- [51] Battelli L, Black KR, Wray SH. Transcranial magnetic stimulation of visual area V5 in migraine. *Neurology*. 2002; 58:1066-9.
- [52] Brighina F, Piazza A, Daniele O, Fierro B. Modulation of visual cortical excitability in migraine with aura: effects of 1 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res*. 2002; 145:177-81.
- [53] Giffin NJ, Kaube H. The electrophysiology of migraine. *Curr Opin Neurol*. 2002; 15:303-9.
- [54] Young WB, Oshinsky ML, Shechter AL, Gebeline-Myers C, Bradley KC, Wassermann EM. Consecutive transcranial magnetic stimulation: phosphene thresholds in migraineurs and controls. *Headache*. 2004; 44:131-5.

- [55] Gu Q. Neuromodulatory transmitter systems in the cortex and their role in cortical plasticity. *Neuroscience*. 2002; 111:815-35.
- [56] Jones EG. Neurotransmitters in the cerebral cortex. *J Neurosurg*. 1986; 65:135-53.
- [57] Bergerot A, Storer RJ, Goadsby PJ. Dopamine inhibits trigeminovascular transmission in the rat. *Ann Neurol*. 2007; 61:251-62.
- [58] Peroutka SJ. Dopamine and migraine. *Neurology*. 1997; 49:650-6.
- [59] Gartside SE, Hajos-Korcsok E, Bagdy E, Harsing LG Jr, Sharp T, Hajos M. Neurochemical and electrophysiological studies on the functional significance of burst firing in serotonergic neurons. *Neuroscience*. 2000; 98:295-300.
- [60] Supornsilpchai W, Sanguanrangsirikul S, Maneesri S, Srikiatkachorn A. Serotonin depletion, cortical spreading depression, and trigeminal nociception. *Headache*. 2006; 46:34-9.
- [61] Harrington MG. Cerebrospinal fluid biomarkers in primary headache disorders. *Headache*. 2006; 46:1075-87.
- [62] Ferrari MD, Odink J, Bos KD, Malessy MJ, Bruyn GW. Neuroexcitatory plasma amino acids are elevated in migraine. *Neurology*. 1990; 40:1582-6.
- [63] Peres MF, Zukerman E, Senne Soares CA, Alonso EO, Santos BF, Faulhaber MH. Cerebrospinal fluid glutamate levels in chronic migraine. *Cephalalgia*. 2004; 24:735-9.
- [64] Knight Y, Goadsby PJ. The periaqueductal grey matter modulates trigeminovascular input: a role in migraine?. *Neuroscience*. 2001; 106:793-800.
- [65] Knight YE. Brainstem modulation of caudal trigeminal nucleus : a model for understanding migraine biology and future drug targets. *Headache Currents*. 2005; 2:108-18.
- [66] Raskin NH, Hosobuchi Y, Lamb S. Headache may arise from perturbation of brain. *Headache*. 1987; 27:416-20.

- [67] Afridi SK, Giffin NJ, Kaube H, Friston KJ, Ward NS, Frackowiak RS, Goadsby PJ. A positron emission tomographic study in spontaneous migraine. *Arch Neurol*. 2005a; 62:1270-5.
- [68] Bahra A, Matharu MS, Buchel C, Frackowiak RS, Goadsby PJ. Brainstem activation specific to migraine headache. *Lancet*. 2001; 357:1016-7.
- [69] Denuelle M, Fabre N, Payoux P, Chollet F, Geraud G. Brainstem and hypothalamic activation in spontaneous migraine attacks: a PET study. *Cephalalgia*. 2004; 24:728, PA.23.
- [70] Weiller C, May A, Limmroth V, Juptner M, Kaube H, Schayck RV et al.. Brain stem activation in spontaneous human migraine attacks. *Nat Med*. 1995; 1:658-60.
- [71] Afridi SK, Matharu MS, Lee L, Kaube H, Friston KJ, Frackowiak RS, Goadsby PJ. A PET study exploring the laterality of brainstem activation in migraine using glyceryl trinitrate. *Brain*. 2005b; 128:932-9.
- [72] Matharu MS, Cohen AS, Frackowiak RS, Goadsby PJ. Posterior hypothalamic activation in paroxysmal hemicrania. *Ann Neurol*. 2006; 59:535-45.
- [73] May A, Bahra A, Buchel C, Frackowiak RS, Goadsby PJ. Hypothalamic activation in cluster headache attacks. *Lancet*. 1998a; 352:275-8.
- [74] May A, Goadsby PJ. The trigeminovascular system in humans: pathophysiologic implications for primary headache syndromes of the neural influences on the cerebral circulation. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1999; 19:115-27.
- [75] Welch KM, Nagesh V, Aurora SK, Gelman N. Periaqueductal gray matter dysfunction in migraine: cause or the burden of illness? *Headache*. 2001; 41:629-37.
- [76] Zambreanu L, Wise RG, Brooks JC, Iannetti GD, Tracey I. A role for the brainstem in central sensitisation in humans. Evidence from functional magnetic resonance imaging. *Pain*. 2005; 114:397-407.

- [77] Williamson DJ, Hargreaves RJ. Neurogenic inflammation in the context of migraine. *Microsc Res Tech.* 2001; 53:167-78.
- [78] McDonald DM, Thurston G, Baluk P. Endothelial gaps as sites for plasma leakage in inflammation. *Microcirculation.* 1999; 6:7-22.
- [79] Meyer RA, Ringkamp M, Campbell JN, Raja SN. (2006) Peripheral mechanisms of cutaneous nociception. In: McMahon SB, Koltzenburg M (eds), *Wall and Melzack's Textbook of pain* (5th ed), Churchill Livingstone, Elsevier, pp 3-34.
- [80] Levy D, Burstein R, Kainz V, Jakubowski M, Strassman AM. Mast cell degranulation activates a pain pathway underlying migraine headache. *Pain,* 2007; Jul;130(1-2):166-76.
- [81] Markowitz S, Saito K, Moskowitz MA. Neurogenically mediated leakage of plasma protein occurs from blood vessels in dura mater but not brain. *J Neurosci* 1987; 7: 4129-4136
- [82] Markowitz S, Saito K, Moskowitz MA. Neurogenically mediated plasma extravasation in dura mater: effect of ergot alkaloids. A possible mechanism of action in vascular headache. *Cephalalgia.* 1988; 8:83-91.
- [83] Buzzi MG, Moskowitz MA. The antimigraine drug, sumatriptan (GR43175), selectively blocks neurogenic plasma extravasation from blood vessels in dura mater. *Br J Pharmacol.* 1990; 99:202-6.
- [84] Polley JS, Gaskin PJ, Perren MJ, Connor HE, Ward P, Beattie DT. The activity of GR205171, a potent non-peptide tachykinin NK1 receptor antagonist, in the trigeminovascular system. *Regul Pept.* 1997; 68:23-9.
- [85] Diener HC. RPR100893, a substance-P antagonist, is not effective in the treatment of migraine attacks. *Cephalalgia.* 2003; 23:183-5.
- [86] Goldstein DJ, Wang O, Saper JR, Stoltz R, Silberstein SD, Mathew NT. Ineffectiveness of neurokinin-1 antagonist in acute migraine: a crossover study. *Cephalalgia.* 1997; 17:785-90.
- [87] Franco-Cereceda A. Calcitonin gene-related peptide and human epicardial coronary arteries: presence, release and vasodilator effects. *Br J Pharmacol.* 1991; 102:506-10.



- [88] Geppetti P, Del Bianco E, Cecconi R, Tramontana M, Romani A, Theodorsson E. Capsaicin releases calcitonin gene-related peptide from the human iris and ciliary body in vitro. *Regul Pept.* 1992; 41:83-92.
- [89] Durham PL, Russo AF. Regulation of calcitonin gene-related peptide secretion by a serotonergic antimigraine drug. *J Neurosci.* 1999; 19:3423-9.
- [90] Tfelt-Hansen P, De Vries P, Saxena PR. Triptans in migraine: a comparative review of pharmacology, pharmacokinetics and efficacy. *Drugs.* 2000; 60:1259-87.
- [91] Levy D, Jakubowski M, Burstein R. Disruption of communication between peripheral and central trigeminovascular neurons mediates the antimigraine action of 5HT 1B/1D receptor agonists. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101:4274-9.
- [92] May A, Shephard SL, Knorr M, Effert R, Wessing A, Hargreaves RJ, Goadsby PJ, Diener HC. Retinal plasma extravasation in animals but not in humans: implications for the pathophysiology of migraine. *Brain.* 1998c; 121:1231-7.
- [93] Papagallos M, Szabo Z, Esposito G. Imaging neurogenic inflammation in patients with migraine headaches. *Neurology.* 1999; 52:A274–A275.
- [94] Blau JN, Dexter SL. The site of pain origin during migraine attacks. *Cephalalgia.* 1981; 1:143-7.
- [95] Burstein R, Yamamura H, Malick A, Strassman AM. Chemical stimulation of the intracranial dura induces enhanced responses to facial stimulation in brain stem trigeminal neurons. *J Neurophysiol.* 1998; 79:964-82.
- [96] Borsook D, Burstein R, Moulton E, Becerra L. Functional imaging of the trigeminal system: applications to migraine pathophysiology. *Headache.* 2006; 46:S32-8.
- [97] Burstein R, Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Ransil BJ, Bajwa ZH. An association between migraine and cutaneous allodynia. *Ann Neurol.* 2000b; 47:614-24.

- [98] Burstein R, Cutrer MF, Yarnitsky D. The development of cutaneous allodynia during a migraine attack: clinical evidence for the sequential recruitment of spinal and supraspinal nociceptive neurons in migraine. *Brain*. 2000a; 123:1703-9.
- [99] Besson JM, Fardin V, Oliveras JL. Analgesia produced by stimulation of the periaqueductal gray matter: True antinociceptive effect versus stress effects. In: Depaulis A, Bandler R. (eds) : The midbrain periaqueductal gray matter. Functional, anatomical, and neurochemical organization. Series A:Life Sciences, New York: Plenum Press. 1991; 213:121-38.
- [100] Harris AJ. Cortical origin of pathological pain. *Lancet*. 1999; 354:1464-6.
- [101] Villanueva L, Fields H. (2004) Endogenous central mechanisms of pain modulation. In : The pain system in normal and pathological states : a primer for clinicians.
- [102] Burstein R. Deconstructing migraine headache into peripheral and central sensitization. *Pain*. 2001, 89: 107-110.
- [103] Dodick DW, Martin V. Triptans and CNS side-effects: pharmacokinetic and metabolic mechanisms. *Cephalalgia*. 2004, 24: 417-424.
- [104] Lipton RB, Bigal ME, Goadsby PJ. Double-blind clinical trials of oral triptans vs other classes of acute migraine medication - a review. *Cephalalgia*. 2004, 24: 321- 332.
- [105] Schoenen J. Clinical neurophysiology of headache. In: Mathew NT, ed. *Neurologic clinics*. Philadelphia: Saunders Company, 1997.
- [106] Burstein R., Collins B., Jakubowski M., Defeating Migraine Pain with Triptans: A race against the Development of Cutaneous Allodynia. *Ann Neurol*. 2004, 55: 19- 26.
- [107] Burstein R, Jakubowski M. Analgesic Triptan Action in an Animal Model of Intracranial Pain: A race against the Development of Central Sensitization. *Ann Neurol*. 2004, 55: 27-36.

- [108] Diener HC, Tfelt-Hansen P, Beukelaar F, Ferrari MD, et al. The efficacy and safety of sc Alniditan vs. sc Sumatriptan in the acute treatment of migraine: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Cephalalgia*. 2001, 21: 672-679.
- [109] Wolff HG. (1963) *Headache and other head pains*, 2nd ed. New York:Oxford University Press.
- [110] Lauritzen M, Olesen J. Regional cerebral blood flow during migraine attacks by Xenon-133 inhalation and emission tomography. *Brain*. 1984; 107:447-61.
- [111] Olesen J, Friberg L, Olsen TS, Iversen HK, Lassen NA, Andersen AR, Karle A. Timing and topography of cerebral blood flow, aura, and headache during migraine attacks. *Ann Neurol*. 1990; 28:791-8.
- [112] Limmroth V, May A, Auerbach P, Wosnitza G, Eppe T, Diener HC. Changes in cerebral blood flow velocity after treatment with sumatriptan or placebo and implications for the pathophysiology of migraine. *J Neurol Sci*. 1996; 138:60-5.
- [113] Kruuse C, Thomsen LL, Birk S, Olesen J. Migraine can be induced by sildenafil without changes in middle cerebral artery diameter. *Brain*. 2003; 126:241-7.
- [114] Fumal A, Schoenen J. Current migraine management—patient acceptability and future approaches. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2008;4:1043– 57.
- [115] Lance JW, Goasby PJ. *Mechanism and management of headache*. 6<sup>th</sup> edition. Boston: Butterworth Heinemann, 1998. 30. Olesen J, Tfelt-Hansen P, Welch KMA. *The headaches* 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- [116] Kopf A, Patel NB, *Guide to Pain Management in Low-Resource Settings*. International Association for the Study of Pain, 2010.
- [117] Tfelt-Hansen P, Olesen J. Taking the negative view of current migraine treatments: the unmet needs. *CNS Drugs* 2012. May 1; 26(5): 375-82.

- [118] Silberstein SD, Divalproex sodium in headache: literature review and clinical guidelines. *Headache* 1996; 36: 547-55. 34.
- [119] Silberstein SD, Rosenberg J. Multispecialty consensus on diagnosis and treatment of headache. *Neurol* 2000;54:1553. 35.
- [120] Connor HE, Feniuk W, Beattle DT, North PC, et al. Naratriptan: biological profile in animal models relevant to migraine. *Cephalalgia* 1997;17:145-52.
- [121] Geraud G, Keywood C, Senard JM. Migraine headache recurrence: relationship to clinical, pharmacological and pharmacokinetic properties of triptans. *Headache* 2003;43: 376-88.
- [122] Ottani A, Ferraris E, Giuliani D, Mioni C, et al. Effect of sumatriptan in different models of pain in rats. *Eur J Pharmacol* 2004;497:181-6.
- [123] Terence Fullerton, Denise Komorowski-Swiatek, Allan Forrest, Fran M Gengo. The pharmacodynamics of Sumatriptan in Nitroglycerin-Induced Headache. *J Clin Pharmacol* 1999;39: 17-29.
- [124] Goadsby P. Recent advances in the diagnosis and management of migraine. *BMJ* 2006;332:25–9.
- [125] Potter DL, Hart De, Calder CS, Storey JR. Ad double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel study to determine the efficacy of topiramate in the prophylactic treatment of migraine. *Neurology* 2000;54: Suppl 3:A15.
- [126] Zeltser, R. and Seltzer, Z.A., A practical guide for the use of animal models in the study of neuropathic pain. In: J. Boivie and P. Hansson (Eds.), *Touch, temperature, and pain in health and disease: Mechanisms and Management.*, Vol. 3, IASP Press, Seattle, 1994, pp. 295.
- [127] Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain.* 1983; 16:109 –10.
- [128] Drummond PD, Lance JW. Extracranial vascular changes and the source of pain in migraine headache. *Ann Neurol* 1983; 13:32-37.

- [129] Friberg L, Olesen J, Iversen HK, Sperling B. Migraine pain associated with middle cerebral artery dilatation: reversal by sumatriptan. *Lancet* 1991; 338:13-17.
- [130] Heyck H. Pathogenesis of migraine. *Res Clin Stud Headache* 1969; 2: 1-128
- [131] De Vries P, Villalon CM, Saxena PR. Pharmacological aspects of experimental headache models in relation to acute antimigraine therapy. *Eur J Pharmacol* 1999; 375:61-74.
- [132] Edvinsson L. Blockade of CGRP receptors in the intracranial vasculature: a new target in the treatment of headache. *Cephalalgia* 2004;24:611-22.
- [133] Totaro R, De Matteis G, Marini C, et al. Sumatriptan and cerebral blood flow velocity changes during migraine attacks. *Headache* 1997; 37:635-639.
- [134] Den Boer MO, Van Woerkens LJ, Somers JA, et al. On the preservation and regulation of vascular tone in arteriovenous anastomoses during anesthesia. *J Appl Physiol* 1993; 75:782-789.
- [135] Mitsikostas DD, Sanchez del Rio M, Waeber C, et al. 5-HT 1B/1D and 1F receptors inhibit capsaicin-induced c-fos immunoreactivity within mouse trigeminal nucleus caudalis. *Cephalalgia* 2002; 22:384-394.
- [136] Maassen VanDen Brink A, de Vries, et al. Craniovascular selectivity of eletriptan and sumatriptan in human isolated blood vessels. *Nerulogy* 2000; 55:1524-1530.
- [137] Kapoor K, Willems EW, Maassen VanDenBrink A, et al. Assessment of antimigraine potential of a novel alpha-adrenoreceptor agonist S19014: effects on porcine carotid and regional haemodynamics and human coronary artery. *Cephalalgia* 2004; 24: 425-438.
- [138] Kapoor K, Arulmani U, Heiligers JP, et al. Effects of the CGRP receptor antagonist BIBN4096BS on capsaicin-induced carotid hemodynamic changes in anaesthetised pigs. *Br J Pharmacol* 2003;140:329-338.

- [139] Gurzoy-Ozdemir Y, Qiu J, Matsuoka N, et al. Cortical spreading depression activates and upregulates MMP-9. *J Clin Invest* 2004; 113:1147-1455.
- [140] Buzzi MG, Carter WB, Shimizu T, et al. Dihydroergotamine and sumatriptan attenuate levels of CGRP in plasma in rat superior sagittal sinus during electrical stimulation of the trigeminal ganglion. *Neuropharmacology* 1991; 30:1193-1200.
- [141] Schuh-Hofer S, Tayefeh M, Reuter U, et al. Effects of parecoxib on plasma proteina extravasation and c-fos expression in the rat. *Headache* 2006; 46: 276-285.
- [142] Troltsch M, Kenekas T, Messlinger K. The calcitonin gene-related peptide receptor antagonist BIBN4096BS reduces neurogenic increases in dural blood flow. *Eur J Pharmacol* 2007; 562: 103-110.
- [143] Goadsby PJ, Hoskin KL. The distribution of trigeminovascular afferents in the nonhuman primate brain *Macaca nemestrina*: a c-fos immunocytochemical study. *J Anat* 1997; 190:367-375.
- [144] Kaube H, Keay KA, Hoskin KL, et al. Expression of c-Fos-like immunoreactivity in the caudal medulla and upper cervical spinal cord following stimulation of the superior sagittal sinus in the cat. *Brain Res* 1993; 629:95-102.
- [145] Nozaki K, Boccacini P, Moskowitz MA. Expression of c-fos-like immunoreactivity in brainstem after meningeal irritation by blood in the subarachnoid space. *Neuroscience* 1992; 49:669-680.
- [146] Mitsikostas DD, Sanchez del Rio M, Waeber C, et al. The NMDA receptor antagonist MK-801 reduces capsaicin-induced c-fos expression within rat trigeminal nucleus caudalis. *Pain* 1998; 76: 239-248.
- [147] Burstein R, et al. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches. *Nature* 1996; 384: 560-564.
- [148] Burstein R, Jakubowski M. Analgesic triptan action in an animal model of intracranial pain: a race against the development of central sensitization. *Ann Neurol* 2004; 55:27-36.

- [149] Oshinsky ML, Gomonchareonsiri S. Episodic Dural Stimulation in Awake rats: A Model for Recurrent Headache. *Headache*. 2007;47:1026-1036.
- [150] Stucky NL, Gregory E, Winter MK, Yong-Yue He, Hamilton ES, McCarson KE, Berman NEJ. Sex Differences in Behavior and Expression of CGRP-Related Genes in a Rodent Model of Chronic Migraine. *Headache* 2011;51:674-692.
- [151] Malick A, Jakubowski M, Elmquist JK, Saper CB, Burstein R. A neurohistochemical blueprint for pain- induced loss of appetite. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:9930–5.
- [152] Wieseler J, Ellis A, Sprunger D, Brown K, McFadden A, Mahoney J, Rezvani N, Maier S, Watkins L. A novel method for modeling facial allodynia associated with migraine in awake and freely moving rats. *J Neurosci Methods*. 2010 January 15; 185(2): 236.
- [153] Edelmayer RM, Vanderah TW, Majuta L, Zhang ET, Fioravanti B, De Felice M, Chichorro JG, Ossipov MH, King T, Lai J, Kori SH, Nelsen AC, Cannon KE, Heinricher MM, Porreca F. Medullary pain facilitating neurons mediate allodynia in headache-related pain. *Ann Neurol* 2009;65:184–93.
- [154] Vos BP, Strassman AM, Maciewicz RJ, Behavioral Evidence of Trigeminal Neurophatic Pain Following Chronic Constriction Injury to the Rat's Infraorbital Nerve. *J Neurosci*, May 1994; 74(5): 2708-2723.
- [155] Lovati C, D'Amico D, Rimondi E, Mariani C, Bertora P. Sleep and headache: a bidirectional relationship. *Expert Rev. Neurother*. 10(1), 105-117 (2010).
- [156] Lovati C, Zardoni M, D'Amico D, Pecis M, Giani L, Raimondi E, Bertora P, Legnani D, Bussone G, Mariani C. Possible relationships between headache- allodynia and nocturnal sleep breathing. *Neurol Sci* (2011) 32 (Suppl 1): S145- S148.
- [157] Rasmussen BK, Olesen J, Migraine with aura and migraine without aura: an epidemiological study. *Cephalalgia*, 1992. 12, 221–228.

- [158] Liang M, Mouraux A, Iannetti GD. Bypassing primary sensory cortices--a direct thalamocortical pathway for transmitting salient sensory information. *Cereb Cortex*. 2013 Jan;23(1):1-11. doi: 10.1093/cercor/bhr363. Epub 2012 Jan
- [159] Nosedà R, Jakubowski M, Kainz V, Borsook D, Burstein R. Cortical projections of functionally identified thalamic trigeminovascular neurons: implications for migraine headache and its associated symptoms. *J Neurosci*. 2011 Oct 5;31(40):14204-17. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3285-11.2011.
- [160] Kaur S, Junek A, Black MA, Semba K. Effects of ibotenate and 192IgG-saporin lesions of the nucleus basalis magnocellularis/substantia innominate on spontaneous sleep and wake states and on recovery sleep after sleep deprivation in rats. *J Neurosci*, 2008;28:491-504
- [161] May A, Kaube H, Buchel C, Eichten C, Rijntjes M, Juptner M, Weiller C, Diener HC. Experimental cranial pain elicited by capsaicin: a PET study. *Pain*. 1998b; 74:61-6.
- [162] Penfield W, McNaughton M. Dural headache and innervation of the dura mater. *Arch Neurol Psychiatry*. 1940; 44:43-75.
- [163] Ray BS, Wolff HG. Experimental studies on headache: Pain-sensitive structures of the head and their significance in headache. *Arch Surg*. 1940; 41: 813-56.
- [164] Strassman AM, Weissner W, Williams M, Ali S, Levy D. Axon diameters and intradural trajectories of the dural innervation in the rat. *J Comp Neurol*. 2004; 473:364-76.
- [165] Vyazovskiy VV, Cirelli C, Tononi G. Electrophysiological correlates of sleep homeostasis in freely behaving rats. *Brain Res*, 2011;193: 17-38.
- [166] Woolf CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science*. 2000; Jun 9;288(5472):1765-9.



## 10. Anexos.

1. A chronic animal model of migraine, induced by repeated meningeal nociception, characterized by behavioral and pharmacological approach. Melo-Carrillo A., Lopez-Avila A. Cephalalgia, May 10, 2013.
2. Migraña. Melo-Carrillo A. Lopez-Avila A. Revista Archivos de Neurociencias. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Vol. 17 No.1 enero-marzo 2012.
3. Depressive symptoms among Mexican medical students: high prevalence and the efecto of a gorup psychoeducation intervention. Melo-Carrillo A. Van Oudenhove L, Lopez-Avila A. Journal of Affective Disorders. 136 (2012) 1098-1103.
4. “El Dolor”. Melo-Carrillo A., Lopez-Avila A. Translation and Adaptation for: Páginas de la Society for Neuroscience, la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, el Instituto de Fisiología Celular y el proyecto Experimenta.
5. Estancia doctoral en el marco del proyecto ECOS-NORD Cooperación México-Francia. Proyecto: M10-S01. Estudio de los mecanismos neurobiológicos que originan la nocicepción cráneo-facial. Hospital Pitié Salpêtrière París, Francia. De Septiembre a Noviembre de 2011. Bajo la tutela del Dr. Luis Villanueva.
6. Estancia doctoral en el marco del proyecto ECOS-NORD Cooperación México-Francia. Proyecto: M10-S01. Estudio de los mecanismos neurobiológicos que originan la nocicepción cráneo-facial. Centre de Psychiatrie et Neurosciences París, Francia. De Agosto a Octubre de 2012. Bajo la tutela del Dr. Luis Villanueva.