

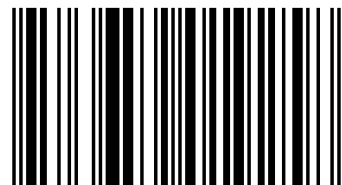
## Neurotoxico capsaicina sobre las respuestas térmicas nociceptivas

En 1850, fue recomendado el uso del extracto alcohólico de los pimientos picantes "chiles" para aliviar el dolor instantáneo de los dientes y fue reconocido por primera vez el potencial terapéutico de la capsaicina. Recientemente se ha documentado que la capsaicina (Cap) activa selectivamente neuronas sensoriales que transmiten información de estímulos nocivos hacia el sistema nervioso central. Estas son las fibras C amielínicas y neuronas sensoriales primarias A $\delta$  mielínicas. En modelos animales se ha observado que farmacológicamente induce degeneración irreversible de estas neuronas sensoriales. Esta propiedad puede explicar su eficacia en el tratamiento de algunas condiciones de dolor en el humano, por ejemplo dolor cefálico, distrofia del reflejo simpático, pos-dolor mastectomía, neuralgia pos-herpética y neuropatía diabética. En este trabajo documentamos el efecto de la capsaicina sobre las respuestas térmicas nociceptivas durante el desarrollo y la participación de los posibles sistemas nerviosos centrales, dado que durante esta etapa, los sistemas inhibitorios intraespinales en la médula espinal y supraespinales están desarrollándose.



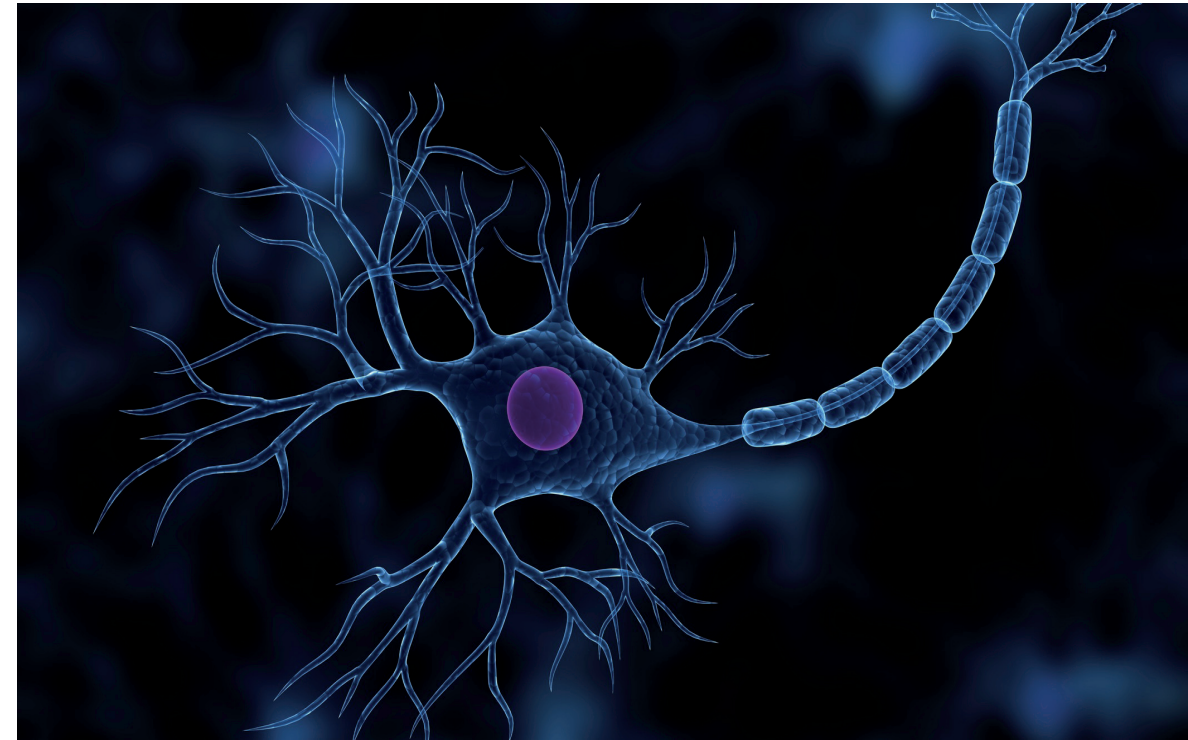
**Vianey del Rocio Torres Pelayo**

Egresada de la Facultad de Biología de la Universidad Veracruzana. Realizo trabajos de investigación en el laboratorio de Biología del Desarrollo, Neuroanatomía y en el Departamento de Biología de la Conducta del Instituto de Neuroetología de la U.V. México. Participo como ponente en diferentes congresos, cursos y talleres.



978-3-659-01925-8

editorial académica española



Vianey del Rocio Torres Pelayo · Apolo A. Carrasco García · Miguel A. Camacho Pernas

## Neurotoxico capsaicina sobre las respuestas térmicas nociceptivas

Efecto del neurotoxico capsaicina sobre las respuestas térmicas nociceptivas durante el desarrollo neonatal

**Vianey del Rocio Torres Pelayo  
Apolo A. Carrasco García  
Miguel A. Camacho Pernas**

**Neurotoxico capsaicina sobre las respuestas térmicas  
nociceptivas**



**Vianey del Rocio Torres Pelayo  
Apolo A. Carrasco García  
Miguel A. Camacho Pernas**

# **Neurotoxico capsaicina sobre las respuestas térmicas nociceptivas**

**Efecto del neurotoxico capsaicina sobre las  
respuestas térmicas nociceptivas durante el  
desarrollo neonatal**

**Editorial Académica Española**

## **Impresión**

Información bibliográfica publicada por Deutsche Nationalbibliothek: La Deutsche Nationalbibliothek enumera esa publicación en Deutsche Nationalbibliografie; datos bibliográficos detallados están disponibles en internet en <http://dnb.d-nb.de>.

Los demás nombres de marcas y nombres de productos mencionados en este libro están sujetos a la marca registrada o la protección de patentes y son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de sus respectivos propietarios. El uso de nombres de marcas, nombre de producto, nombres comunes, nombre comerciales, descripciones de productos, etc. incluso sin una marca particular en estas publicaciones, de ninguna manera debe interpretarse en el sentido de que estos nombres pueden ser considerados ilimitados en materias de marcas y legislación de protección de marcas y, por lo tanto, ser utilizadas por cualquier persona.

Imagen de portada: [www.ingimage.com](http://www.ingimage.com)

Editor: Editorial Académica Española es una marca de  
LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG  
Heinrich-Böcking-Str. 6-8, 66121 Saarbrücken, Alemania  
Teléfono +49 681 3720-310, Fax +49 681 3720-3109  
Correo Electronico: [info@eae-publishing.com](mailto:info@eae-publishing.com)

Publicado en Alemania

Schaltungsdienst Lange o.H.G., Berlin, Books on Demand GmbH, Norderstedt,  
Reha GmbH, Saarbrücken, Amazon Distribution GmbH, Leipzig  
**ISBN: 978-3-659-01925-8**

## **Imprint (only for USA, GB)**

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek: The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at <http://dnb.d-nb.de>.

Any brand names and product names mentioned in this book are subject to trademark, brand or patent protection and are trademarks or registered trademarks of their respective holders. The use of brand names, product names, common names, trade names, product descriptions etc. even without a particular marking in this works is in no way to be construed to mean that such names may be regarded as unrestricted in respect of trademark and brand protection legislation and could thus be used by anyone.

Cover image: [www.ingimage.com](http://www.ingimage.com)

Publisher: Editorial Académica Española is an imprint of the publishing house  
LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG  
Heinrich-Böcking-Str. 6-8, 66121 Saarbrücken, Germany  
Phone +49 681 3720-310, Fax +49 681 3720-3109  
Email: [info@eae-publishing.com](mailto:info@eae-publishing.com)

Printed in the U.S.A.

Printed in the U.K. by (see last page)

**ISBN: 978-3-659-01925-8**

Copyright © 2012 by the author and LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG  
and licensors

All rights reserved. Saarbrücken 2012

**EFFECTO DEL NEUROTOXICO CAPSAICINA SOBRE LAS RESPUESTAS  
TÉRMICAS NOCICEPTIVAS DURANTE EL DESARROLLO POSTNATAL**

## Índice

	Pág.
1. RESUMEN.....	3
2. INTRODUCCIÓN.....	5
3. ANTECEDENTES.....	10
3.1. Nociceptores en ratas neonatas.....	10
3.2. Proyección de las fibras “C” y “Aδ” en el asta dorsal de la médula espinal.....	11
3.3. Desarrollo de la actividad eléctrica postsináptica de las fibras nerviosas “Aδ” y “C” en la médula espinal de la rata neonata.....	12
3.4. Factor de crecimiento neuronal relacionado con el desarrollo de las fibras “C” y “Aδ”.....	13
3.5. Desarrollo de los sistemas inhibitorios descendentes.....	15
3.6. Nocicepción.....	17
3.7. Estudios nociceptivos a nivel conductual.....	20
3.8. Capsaicina.....	26
3.9. Receptores de la Cap.....	32
3.10. Participación del factor de crecimiento neural sobre las fibras nerviosas primarias dañadas por la cap.....	35
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	38
5. HIPÓTESIS.....	38
6. OBJETIVO GENERAL.....	39
6.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	39
7. MATERIAL Y MÉTODO.....	40
8. RESULTADOS.....	44
9. DISCUSIÓN.....	54
10. CONCLUSIÓN.....	60
11. MODELO TEÓRICO.....	61
12. REFERENCIAS.....	63
I. ANEXO.....	77
II. ANEXO.....	81
III. ANEXO.....	83

## 1. RESUMEN

---

El estudio de la nocicepción en años recientes ha producido un enorme progreso en esclarecer los circuitos neuroanatómicos y sus mecanismos, tanto fisiológicos como farmacológicos. Estudios en la rata por lo general aplican estímulos nocivos en las patas y/o la cola; y se mide el tiempo de reacción. Esta reacción puede medirse a través de varios parámetros, entre ellos se encuentra la latencia al retiro de la cola (LRC), el cual se define como el tiempo que requiere el animal para retirar la cola ante un estímulo térmico nociceptivo. Durante el desarrollo, se ha reportado que la respuesta al estímulo térmico nociceptivo depende de la zona de estimulación, la edad y son capaces de discriminar diferentes intensidades, sugiriendo que estas respuestas, están mediadas por las fibras aferentes “C” y “A $\delta$ ”, encargadas de llevar la información térmica nociceptiva. A través de la administración de la Cap, se ha observado que existen fibras sensoriales sensibles a este neurotóxico y su efecto es selectiva, la cual destruye un 20 a 30% de fibras “A $\delta$ ” y un 80% de fibras “C”. Tomando en cuenta la alteración dada por la Cap y las diferencias encontradas, nos preguntamos ¿Cómo este neurotóxico Cap puede alterar las repuestas térmicas nociceptivas durante el desarrollo neonatal? En el presente trabajo, se administró Cap en ratas neonatas, se estimulo a 35 y 50°C y, se midió la LRC ventral durante el desarrollo de la rata de la cepa *Wistar*. Se dividieron en tres grupos: Cap (50mg/kg Cap; día P2), control (sol. vehículo) e intacto. A su vez cada grupo estuvo dividido en dos subgrupo: A) Para la aplicación del estímulo térmico de 35°C; y subgrupo B) para la aplicación del estímulo a 50°C. Cada uno de los subgrupos estuvo integrado por 3 camadas (n=24, 12 machos y 12 hembras). Todos ellos se estimularon en la zona media y distal de la región ventral de la cola con el analgesiómetro Tail-Flick. Las pruebas se realizaron cada tercer día, a partir del día 7 al 31 de edad. Resultados: No se encontró diferencias entre la LRC del grupo Intacto y control. No hubo diferencias en la LRC en relación al sexo y ni a la zona de estimulación. La LRC se incremento en relación a la edad, y esta, se decrementa al estimular a 50°C y se incrementa al estimular a 35°C. Con respecto a los grupos Cap, no se encontraron



diferencias significativas en relación al sexo y ni al comparar la zona media con la zona distal de la cola. La LRC se incremento en relación a la edad. La LRC se incrementa al estimular a 35°C, y se decrementa al estimular a 50°C. Al comparar el grupo control contra el grupo Cap las diferencias se observaron a partir del día P7. Conclusiones: La LRC de la región ventral de la cola no está relacionada con el sexo. La LRC es homogénea en toda la región ventral de la cola; es dependiente de la edad y del estímulo aplicado. Los animales neonatos son capaces de discriminar las dos temperaturas de 35 y 50°C. Las fibras sensibles a Cap no participan en los mecanismos centrales del desarrollo de la LRC ni en el sexo. En la región ventral de la cola, existe una misma distribución de fibras sensoriales térmicas sensibles a la Cap. Las fibras sensibles a Cap participan en la transmisión de la información térmica nociceptiva de 35 y 50C; y disminuyendo la LRC. La acción de la Cap sobre las fibras se manifiesta en el día P7.

## 2. INTRODUCCIÓN

---

Evolutivamente los organismos han desarrollado mecanismos para reaccionar ante su medio ambiente e iniciar la respuesta para enfrentarlos o eludirlos; así por ejemplo, las estrategias de defensa ante un estímulo nocivo, están presentes en toda la escala filogenética, desde los organismos unicelulares hasta los mamíferos, y las respuestas que se presentan ante este estímulo, como la evitación y escape, son los antecedentes evolutivos de la nocicepción (León-Olea, 2002).

En los organismos vertebrados esta respuesta de evitación se da como un reflejo segmentar estereotipado resultado de la contracción de un músculo flexor (agonista) y la relajación del músculo extensor (antagonista) (Ganong, 1986). Para que esto se de, todos los organismos deben contar con un sistema que les informe sobre la presencia (o ausencia) de un estímulo. Por ejemplo, en invertebrados simples presentan un sistema primitivo para discriminar la intensidad –alta o baja- de un estímulo, y una vez que ha sido detectado, se activan los mecanismos motores para producir movimiento de la parte del cuerpo en contacto con el estímulo ofensivo y alejarse de él. Mientras que, en los vertebrados (por ejemplo, primates superiores) este sistema de detección y respuesta es más complejo, ya que además de desencadenar las mismas respuestas que en los invertebrados, se activan otros mecanismos como es el caso de la conducta de escape o agresión; así, todos estos estímulos pueden ser percibidos como no placenteros, incómodos, angustiosos o intolerables (León-Olea, 2002).

Toda esta cascada de eventos producidos por el estímulo nociceptivo, antes descritos, están bajo control del sistema nervioso (SN), tanto en su parte aferente, como en su integración y en su parte eferente. Así, en la parte aferente, el estímulo nociceptivo activa receptores sensoriales especializados denominados nociceptores (palabra que proviene del Latín nocere, que significa dañar) son terminaciones libres, cuya función es transducir el estímulo nocivo (ya sea mecánico, químico y/o térmico) en forma de impulsos nerviosos. En base a la variedad de estímulos que perciben, los nociceptores se han clasificado en tres grupos: los que responden a estímulos mecánicos, térmicos y

los que responden a varios tipos de estímulos denominados polimodales (Kandel, 2001).

Los nociceptores mecánicos de la piel que se estimulan por presión intensa, superior a los 250 g/cm<sup>2</sup> (por ejemplo, un pellizco); son terminaciones de fibras mielínicas A $\delta$ , con diámetro de 1-6  $\mu$ m y con velocidad de conducción de 4/30 m/s.

Los nociceptores térmicos que se estimulan por temperaturas extremas de frío o calor (por encima de 40°C o por debajo de 5°C), son terminaciones de fibras mielínicas “A $\delta$ ” con diámetro de 1-6  $\mu$ m y con velocidad de conducción de 4/30 m/s.

Los nociceptores polimodales se activan indistintamente por estímulos nociceptivos mecánicos (presión intensa), térmicos (temperaturas extremas) y químicos (substancias que se liberan en la piel cuando se produce una lesión, como potasio, ácidos o mediadores de la inflamación como la bradikina), son terminaciones de fibras amielínicas “C” con diámetro de 0.2–1.5  $\mu$ m y velocidad de conducción de 0,5/2 m/s (Kandel, 2001). La tabla 1 muestra las principales características de las fibras sensoriales primarias.

## **2.1. Transmisión nociceptiva**

Los estímulos nociceptivos que llegan de los nociceptores, son transformados en señales eléctricas y son transmitidos de la periferia hacia el asta dorsal de la médula espinal por fibras mielínicas “A $\delta$ ” y amielínicas “C”. En el asta dorsal esta información es integrada y sigue dos vías: una hacia la periferia, por medio de motoneuronas para activar los músculos correspondientes y desencadenar un reflejo (esto corresponde a la parte eferente del SN), y la otra vía que va hacia el cerebro para integrar una respuesta más compleja. Está última parte, es llevada a través de tres haces ascendentes colaterales de la médula espinal y son: el espinotalámico, el espinorreticular y el espinomensefálico. Todos estos mecanismos, desde la activación de los nociceptores y los procesos fisiológicos de transducción, transmisión, modulación y percepción (Osterweis y cols, 1987; Wood y Heath, 2000); son llamados nocicepción, término usado para describir los efectos neuroconductuales

dado por un estímulo nociceptivo, asociado a un daño tisular real o potencial (Dinerstein y Brundi, 1998) definición que ha sido válida para todos los organismos.

Tabla 1. Grupos de fibras aferentes primarias y el tipo de receptores activos que se presentan en la sensibilidad somática de la rata (Modificado de Gardner et. al., 2001).

GRUPO DE FIBRA	TIPO DE RECEPTOR	MODALIDAD	DIÁMETRO DE LA FIBRA (µm)	VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN (m/s)	MIELINIZACIÓN
A $\alpha$	Mecanoreceptores musculares y esqueléticos: Huso muscular primario. Organo tendinoso de Golgi.	Propiocepción de las extremidades: Longitud y velocidad muscular. Contracción muscular.	12-20	72-120	Alta
A $\beta$	Mecanoreceptores musculares y esqueléticos: Huso muscular secundario. Mecanoreceptores de la cápsula articular.	Propiocepción de la extremidades: Estiramiento muscular. Ángulo articular.	6-12	36-72	Mediana
A $\delta$	Mecanoreceptores musculares y esqueléticos: Terminaciones libres sensibles al estiramiento. Mecanoreceptores cutáneos y subcutáneos: Pelo hacia abajo. Receptores Térmicos: Receptores del frío. Nociceptores: Nociceptores de calor intenso. Mecánico. Termomecánicos.	Propiocepción de las extremidades: Estiramiento o fuerzas excesivas. Tacto: Presión mecánica de bajo umbral. Temperatura: Enfriamiento de la piel (25°C). Nocicepción: Temperaturas muy calientes (>45°C). Dolor agudo y punzante. Dolor quemante.	1-6	4-36	Pequeña
C	Receptores térmicos: Receptores de calor. Nociceptores: Nociceptores de frío intenso. Termomecánico. Polimodales.	Temperatura: Calentamiento de la piel (41°C) Nocicepción: Temperaturas muy frías (<5°C) Dolor de congelación. Dolor quemante lento.	0.2-1.5	0.4-2.0	Amielínica
A $\alpha$ y A $\beta$	Mecanoreceptores cutáneos y subcutáneos: Corpúsculo de Meissner. Receptor de disco de Merkel. Corpúsculo de Paccini. Terminación de Ruffini. Tilotrónico de pelo, protector del pelo.	Tacto: Presión mecánica de bajo umbral. Presión, estructura. Vibración. Distensión de la piel. Presión mecánica de bajo umbral.			

Los estudios de la nocicepción se han enfocado más al estudio en animales, debido a las implicaciones éticas al trabajar con humanos. Sin embargo, los estudios y técnicas utilizadas tanto en el humano como en animales se basan en respuestas reflejas. Con estas técnicas se mide el tiempo que transcurre desde que se da el estímulo hasta que se presenta la respuesta, a este tiempo se le ha denominado latencia. Así, cuando se utiliza el analgesiómetro Tail-Flick que hace incidir un haz calórico sobre la cola de los animales y se mide el tiempo de reacción ante el estímulo calórico, se le ha denominado Latencia al Retiro de la Cola o LRC (Ness y cols, 1987), el cuál es una forma de evaluar las respuestas reflejas provocadas por un estímulo nocivo.

En los estudios de nocicepción en rata adulta y utilizando el parámetro de la LRC, se ha reportado que ésta se modifica por diversos factores, tales como: las fases del ciclo estral, hora de registro, sitio de estimulación y región a estimular (dorsal/ventral). Durante el desarrollo, se ha reportado que hay diferencias entre la zona media y distal de la región dorsal de la cola (Fajardo, 2002; Guerrero, 2005); mientras que al estimular las mismas zonas (media/distal), pero ahora en la región ventral, no se encontraron diferencias (Torres, 2004). Así mismo, se observó que la LRC es más corta en la región ventral (Torres, 2004) que en la dorsal (Fajardo, 2002; Guerrero, 2005). En lo que coinciden estos autores, es que independientemente del estímulo y la zona de estimulación la LRC se incrementa con la edad (Falcon, 1996; Fajardo, 2002; Torres, 2004; Guerrero, 2005). Así mismo, se ha reportado que la información térmica nociceptiva de 30, 40, 45°C es llevada por las fibras “C” y la información térmica de 50°C es llevada por las fibras “A $\delta$ ” (Cain y cols, 2001, Fajardo, 2002; Torres, 2004; Guerrero 2005); mismas fibras que han sido consideradas como fibras sensibles al neurotóxico Capsaicina (Cap), ya que se destruyen un 20% de las fibras mielínicas “A $\delta$ ” y un 80% de fibras amielínicas “C” (Buck y Burks, 1986). Estudios en ratas tratadas neonatalmente con Cap y al estimular a 40°C en la región dorsal de la cola con el analgesiómetro Tail-Flick, han reportado que la LRC solo se incrementa en la zona media y no en la distal comparando con el grupo control (Guerrero, 2005). En el presente trabajo nos preguntamos si estas diferencias observadas en la región dorsal de la cola durante el desarrollo, ocurrirán también cuando se estimule la región ventral

de la cola, teniendo en cuenta las diferencias encontradas en relación a las dos regiones. Para ello, analizamos la participación de las fibras sensibles a Cap en las repuestas de la LRC ante estímulos de 35 y 50°C aplicados en la región ventral de la cola durante el desarrollo de la rata.

### **3. ANTECEDENTES**

---

#### **3.1. Nociceptores en ratas neonatas**

##### **3.1.1. Fibras Nerviosas Aferentes en la Piel**

La fecha exacta en la cuál las fibras “A $\delta$ ” y “C” inervan la piel no se ha reportado, lo que se sabe hasta el momento es que estas aún no tienen una inervación especializada hacia los órganos blancos (Fitzgerald, 1995). Así, las fibras nerviosas de la piel, alcanzan principalmente la superficie epidérmica y se desplazan subsecuentemente conforme engruesa la epidermis. Las fibras “A” de diámetro grande forman un plexo nervioso cutáneo, mientras que la formación dada por las fibras “C” le sigue brevemente después.

Durante los primeros 14 días de vida postnatal, se ha postulado que se desarrollan morfológicamente distintos órganos terminales (Fitzgerald, 2005; Fitzgerald y Barabara, citado por Scout, 1992). Así, Fitzgerald y Barabara, (citado por Scout, 1992) postularon que durante los primeros 14 días después del nacimiento, las fibras “A” (no especifican que tipo) pueden desarrollarse en dos tipos y presentar diferentes propiedades; las de adaptación lenta (los discos de Ruffini y de Merkel) y las de adaptación rápida (las aferencias de los folículos del pelo, corpúsculo de Meissner). Mientras que las fibras “C”, propusieron, que están de forma primitiva, es decir, no hay mielinización y no hay inervación, debido a que estas fibras son las últimas en desarrollarse. Además, con estudios realizados con marcadores, solo reportan que la inervación de las terminaciones nerviosas libres de fibras “C” amielínicas y las fibras “A $\delta$ ” mielínicas en la piel, muestran diferentes patrones de desarrollo durante el crecimiento del animal (Kruger y cols, 1989; Fitzgerald, 1995).

### 3.2. Proyección de las fibras “C” y “A $\delta$ ” en el asta dorsal de la médula espinal.

Las proyecciones de las fibras “A” de diámetro grande en la médula espinal, son los primeros en llegar en el asta dorsal en el día embrionario 15 (E15), mientras que las fibras “C” llegan al asta dorsal superficial hasta el día embrionario 19 (E19; Fitzgerald, 1993; Narsinghani y Anand, 2000). Al nacimiento, las proyecciones de ambas fibras (“A” diámetro grande y “C”) presentan una organización somatotópica determinada dentro de la médula espinal, sin embargo, estas aún no tienen una verdadera organización laminar, como se observa en el adulto (Mirnics y Koerber, 1997; Fitzgerald, 1995); esto es debido, ya que durante las primeras tres semanas postnatales las terminaciones nervosas de fibras “A $\beta$ ” y “C” presentan una reorganización dentro de la médula espinal. Así, las fibras “A $\beta$ ” que ocupaban junto con las fibras “C” las mismas láminas I y II de la sustancia gelatinosa durante las tres primeras semanas (Fitzgerald y cols, 1994; Fitzgerald y Jennings, 1999); para el día P22, las terminaciones nerviosas de las fibras “A $\beta$ ” se establecieron en las láminas III-V (Fitzgerald y cols, 1994). Sugiriendo que esta posible reorganización de fibras sobre sus respectivas láminas, puede ser fundamental para la maduración de las conexiones sinápticas de las terminaciones nerviosas de las fibras “C” en la sustancia gelatinosa (Fitzgerald y cols, 1994). Esta observación, esta apoyada por lo reportado por estudios de microscopía electrónica, en los cuales es raro ver una sinapsis normal entre las terminaciones nerviosas de las fibras “C” y las células de la sustancia gelatinosa antes del día P5 (Pignatelli y cols, 1989; Fitzgerald, 1993). Previos estudios, donde aplican estímulos eléctricos en la piel de la pata y registran in vivo en la médula espinal de ratas neonatas, han encontrado que la activación de las terminaciones nerviosas de las fibras “C” se presenta hasta la segunda semana de vida postnatal, mientras que las fibras “A” de bajo umbral, rápidamente forman conexiones sinápticas después de su crecimiento dentro de la médula espinal, provocando una rápida respuesta pre y postsináptica que puede ser registrada tanto en el asta dorsal como en la raíz ventral. Por lo tanto, esto muestra que la maduración de las conexiones sinápticas centrales de las fibras “C” ocurre dentro de las dos primeras semanas (Fitzgerald, 1991; Fitzgerald,



1995). Esto también es apoyado por el estudio de Park y cols, (1999) ya que haciendo registros intracelulares en las neuronas de la sustancia gelatinosa (SG) de las láminas I, II y III de la médula espinal en neonatos (P21-P23); encontraron que las primeras terminaciones nerviosas predominantes en hacer contacto con las neuronas de la SG, y ser las que más se activan son las fibras “A $\beta$ ” y las menos fueron las fibras “A $\delta$ ”. En el caso de las fibras “C”, fueron muy escasos. Con estos resultados, estos autores asumen que las respuestas sinápticas en ratas inmaduras son mediadas por las fibras “A $\beta$ ” ya que son las primeras en hacer contacto con las neuronas de la SG y poco después éstas son reemplazadas por las fibras “A $\delta$ ” (Park y cols, 1999).

Estas observaciones son consistentes con lo observado por Fitzgerald y cols, (1994) ya que encontraron una mancha densa de terminaciones nerviosas aferentes de fibras “A $\beta$ ” con las neuronas de la SG hasta el día P21; después el área de llegada de estas fibras se restringió a la lámina III a V. Con estos cambios laminares o reorganización de las terminaciones nerviosas de las fibras aferentes “A $\beta$ ”, que ocurren durante el desarrollo temprano ha sido considerado, como un auxiliar para transmitir la información nociceptiva, y en parte como una fibra que puede compensar el desarrollo de las fibras “C” dentro de la SG, y que estas puedan establecer así una sinapsis funcional con las neuronas de la SG hasta la segunda semana postnatal como lo establece Park y cols, (1999), y como se comentó anteriormente por otros autores. Mientras tanto, las fibras “A $\beta$ ” su umbral y velocidad de conducción se decrecienta conforme crece el animal y las fibras “A $\delta$ ” su umbral y velocidad de conducción se incrementan; y se forman las conexiones sinápticas normalmente como en el animal adulto (Park y cols, 1999).

### **3.3. Desarrollo de la actividad eléctrica postsináptica de las fibras nerviosas “A $\delta$ ” y “C” en la médula espinal de la rata neonata.**

Jennins y Fitzgerald, (1998) haciendo registros extracelulares in vivo en las láminas superficiales I y II; en la lámina profunda III-V de la región lumbar 4 y 5 del asta

dorsal (L4-L5, lugar donde llegan las terminaciones nerviosas) y estimulando eléctricamente la piel a una intensidad de  $100\mu\text{A} - 3.5 \text{ mA}$  y  $50-200 \mu\text{s}$ , suficiente para provocar una actividad eléctrica en las fibras “A” en las ratas neonatas, mostraron que las latencias de repuestas de las fibras “A” decremantan progresivamente con la edad. Así, en el día P3 la latencia de respuesta fue de  $33.1 \pm 2.78 \text{ ms}$ , en el día P6 es de  $19.1 \pm 1.32 \text{ ms}$ , en el día P10 cambio a  $13.5 \pm 0.8 \text{ ms}$  y para el día P21 fue de  $7.3 \pm 0.3 \text{ ms}$ . En el caso de las fibras “C”, en el día P3 y P6 las células no respondieron a la estimulación; pero al registrarlas en el día P10 y P21 mostraron un pico de actividad, donde en el día P10 (35%) tuvo una latencia de  $97.65 \pm 4.44 \text{ ms}$  y en el día P21 (32%) fue de  $107.0 \pm 10.12 \text{ ms}$ . Esta actividad eléctrica en la primera semana postnatal refleja el por que las respuestas de las fibras “C” se muestran hasta la segunda semana postnatal. Estos autores sugieren que toda la actividad que se presenta durante la primera semana postnatal, es el resultado de la activación de las fibras “A”. Estos autores discuten que en animales neonatos, las latencias largas son debido a que la velocidad de conducción de las fibras es lenta. Con estos resultados demostraron que la actividad postsináptica provocada en las células del asta dorsal de la médula espinal de las aferencias cutáneas, cambian durante el período postnatal (Jennins y Fitzgerald, 1998). Para Webster (citado por Jennins y Fitzgerald, 1998), esto podría estar influenciado por la ausencia de la mielina en las fibras, que se presentan al nacimiento; pero al llegar el día P3 este aparece y crece rápidamente a las dos semanas; y entre los días P5 y P20 las fibras largas doblan su diámetro.

### **3.4. Factor de crecimiento neuronal relacionado con el desarrollo de las fibras “C” y “A $\delta$ ”.**

Durante el desarrollo de las fibras nerviosas primarias sensoriales, el factor de crecimiento neural (NGF, por sus siglas en ingles) juega un papel importante durante las dos primeras semanas de vida postnatal; el cuál permite a los axones extenderse a

partir del ganglio espinal y continuar innervando específicamente, gran parte de las regiones epidérmicas de la superficie del cuerpo en el organismo (Hari y cols, 2004). Lewin y cols, (1992) encontraron, en la rata, que en el día P2 los nociceptores dependen del NGF para su sobrevivencia y para mantener el fenotipo de las fibras mielínicas “A $\delta$ ” (determina el tipo de sensibilización: si van a percibir estímulos mecánicos, térmicos o ambos) durante el período crítico postnatal que abarca entre los días P4 al P11 (período donde ocurre cambios anatómicos de la innervación de la piel, que va desde la innervación epidérmica hasta la innervación dérmica primaria). Así, al eliminar el NGF entre el día P0 al P14, redujo los mecanorreceptores de alto umbral (fibras “A $\delta$ ”) y disminuyó un 20% de las neuronas sensoriales nociceptivas del ganglio de la raíz dorsal (DRG); siendo estos reemplazados por los receptores de bajo umbral conocidos como receptores D del pelo, los cuales son raros de observar. Por lo tanto, estos autores sugirieron que las fibras “A $\delta$ ” mecanorreceptoras de alto umbral sufre un cambio fenotípico y concluyeron que la presencia del NGF en la piel es necesario para promover el desarrollo fenotípico de los nociceptores “A $\delta$ ” cutáneos (Lewin y cols, 1992; Ritter y cols, 1991).

Otro estudio de Lewin y Mendell (1994), mostraron que la disponibilidad del NGF durante las primeras dos semanas de vida postnatal es importante (P2-P14), ya que también determina la sensibilidad de los nociceptores de fibras “C”. En el caso de las neuronas sensoriales del DRG Mendell y Arvanian, (2002) también reportaron que el RNAm del NGF que es expresado en la médula espinal, es requerido para el desarrollo de la mayoría de las neuronas sensoriales nociceptivas del DRG y para la supervivencia de las proyecciones sensoriales durante el desarrollo del animal.

Además, se ha reportado que los niveles del NGF presentes en la piel (Narsinghani y Anand, 2000), así como la expresión del RNAm del NGF en la médula espinal (Nakamura y Barbara, 2001) durante el desarrollo postnatal, no son iguales; es decir, cambian conforme avanza el desarrollo. En el caso de los niveles del NGF de la piel, fue observado que en la primera semana postnatal, que abarca desde el día 0 al 7 postnatal (P0 al P7), es más o menos estable, pero se incrementa progresivamente a

partir del día P7 al P21 y antes de llegar al estado adulto (P35-P40), los niveles decrecientan (Constantinou y cols, 1994; Narsinghani y Anand, 2000). Este aumento de las concentraciones del NGF que se da entre la segunda y tercera semana postnatal, puede representar un cambio en la regulación y mantenimiento de las neuronas sensoriales cutáneas (dependiente del NGF) (Fitzgerald, 1995). Mientras que en la etapa adulta probablemente este factor puede ser más importante para modular las neuronas, que mantener la supervivencia (Mendell y cols, 2001; Linsay, 1988 en Winter y Campbell, 1995).

### **3.5. Desarrollo de los sistemas inhibitorios descendentes.**

Las vías inhibitorias que modulan los estímulos nocivos, se desarrollan desde la etapa embrionaria del animal. En esta etapa se ha descrito que hay crecimiento de las fibras descendentes que derivan de la sustancia gris periacueductal, núcleo reticular pontino, locus coeruleus, y de otras estructuras del tallo cerebral hacia la médula espinal. Sin embargo, su crecimiento y la extensión colateral dentro del asta dorsal de la médula espinal llega a observarse hasta después del nacimiento y llega ser funcional hasta el día P10 en la rata (Fitzgerald, 1985; Fitzgerald y Koltzenburg, 1986; Narsinghani y Anand, 2000; Serrano-Atero y cols, 2002). Gilbert y Stelzner, (citado por Boucher y cols, 1998) mencionaron que los axones descendientes que se derivan del funiculus dorsolateral, su entrada y la formación de sinapsis en la médula espinal se da hasta el día P15. Así mismo, Boucher y cols (1998) observaron que en la rata neonata, las vías inhibitorias de los estímulos nocivos difusos comienzan a madurar a partir del día P12, y alcanzan su madurez hasta el día P21.

Autores como Fitzgerald, (1995); Bregman, (citado por Fitzgerald, 1995); Hughes y Barr, (1988) mencionan que la maduración tardía de esta inhibición descendente puede ser, en parte, a una deficiencia de neurotransmisores (serótina, noradrenalina, dopamina y norepinefrina) en las terminaciones nerviosas de las vías inhibitorias, o la carencia de sus receptores específicos en la medula espinal; o también, puede ser el retraso de la maduración de las interneuronas, ya que se ha observado que su

crecimiento axonal y maduración dendrítica empieza en el período postnatal y es completa hasta el día P20 (Fitzgerald, 1993) (Fig. 1).

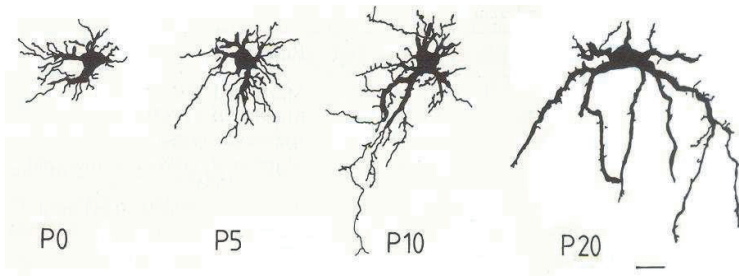


Fig. 1 Desarrollo de las interneuronas en la sustancia gelatinosa de la médula espinal en la rata. Escala: 20 $\mu$ m. Tomado de Fitzgerald, 1993.

Otro mecanismo importante que puede estar involucrado en la maduración tardía de la inhibición descendente, puede ser el cambio de la función de los neurotransmisores inhibitorios durante el desarrollo de la médula espinal; tal como GABA y glicina, se sabe que ambos transmisores son inhibitorios en el animal adulto, pero en etapas tempranas del desarrollo podrían ser en la mayoría neurotransmisores excitatorios, y esto como resultado, pueda contribuir en la maduración tardía de los mecanismos inhibitorios en la médula espinal (Narsinghani y Anand, 2000).

Esta carencia de la inhibición descendente puede explicar, también, el por que cuando se aplican estímulos en la sustancia gris periacueductal, que producen analgesia, no es efectiva antes del día P21 de la rata (Van Praag y Frenk, 1991; Fitzgerald, 1995). Fitzgerald, (1995) sugirió que todos estos datos pueden llegar a explicar el porque de las respuestas exageradas que se observan en los reflejos después de una estimulación cutánea en la primera semana postnatal de la rata.

## **3.6. NOCICEPCIÓN**

### **3.6.1. Estudios nociceptivos en animales**

El estudio de la nocicepción, en años recientes ha producido un enorme progreso en esclarecer los circuitos neuroanatómicos y sus mecanismos, tanto fisiológicos como farmacológicos (Trillo y cols, 2001). Estudios en la rata por lo general aplican estímulos nocivos en las patas y/o la cola; y se mide el tiempo de reacción. Cuando se estimula la cola, la respuesta que se observa se le denomina latencia al retiro de la cola ó LRC. Dannema y cols, (1994) mencionan que esta respuesta es dependiente de cuatro variables: 1) la activación de los receptores cutáneos, 2) la conducción aferente al asta dorsal, 3) la Integración en médula espinal y 4) la activación de los músculos de la cola (mediante sus respectivas motoneuronas). Aunque ninguna se ha determinado completamente; algunos de los trabajos sobre estas cuatros variables son descritos a continuación:

### **3.6.2. Activación de las fibras nerviosas “A $\delta$ ” y “C” cutáneas por estimulación térmica**

En los mamíferos, se han reportado varias clases de nociceptores para los diferentes estímulos térmicos aplicados en la piel; y estos, a su vez, tienen diferente distribución dependiendo de la zona del cuerpo que se estudie (Campbell y Meyer, 1983). Koltzenburg y cols, (1997) menciona que las fibras aferentes primarias podrían estar agrupadas en distintos subpoblaciones funcionales en base a las propiedades de sus campos receptivos, y además, esta propiedad funcional podría estar relacionada con las características neuroquímicas, biofisiológicas y anatómicas. Estas características fueron observadas en los nociceptores polimodales, de la piel con pelo y glabra (piel sin pelo) en primates. Por ejemplo, Campbell y Meyer, (1983) mostraron que los nociceptores de fibras “C” que inervan la piel con pelo se activan a 53°C, mientras que aquellos de la piel glabra no se activaron a esta intensidad. Sin embargo, hay otros trabajos que han encontrado que estos tipos de fibras “C” pueden tener diferentes

propiedades y responder a otros rangos de temperaturas (29 a 50°C) (Spray, 1986; Green, 2004). A su vez, se ha encontrado que las fibras “A $\delta$ ” presentes en la piel con pelo y glabra, son clasificados en dos tipos que a continuación son descritos:

### **3.6.3. Nociceptores asociados a las fibras “A $\delta$ ” de tipo I y II**

Meyer y Campbell, (1981) reportaron que en monos, los nociceptores “A $\delta$ ” de tipo I tienen umbrales altos a 53°C y son encontrados tanto en la piel con pelo como glabra; y los de tipo II que tienen umbrales menores a 46°C y solo fueron encontradas en la piel con pelo. Así mismo, Treede y cols (1995), encontraron que en el mono, las fibras “A $\delta$ ” de tipo I son sensibles a temperaturas de 53°C y en este caso solo fueron encontrados en la piel glabra; mientras que la de tipo II fueron sensibles a las temperaturas de 46°C y fueron encontrados en la piel con pelos. Nagy y Rang, (1999); y Ringkamp y cols, (2001), reportan que las del tipo I son también sensibles al frío nocivo con un umbral de 10°C, y a su vez responden al calor nocivo con un umbral aproximado de 53°C; las fibras del tipo II presentan un umbral aproximado de 46°C (piel con pelo). A diferencia de lo reportado por Meyer y Campbell, (1981); y Treede y cols, (1995); se encontró en otro estudio, que las fibras “A $\delta$ ” de tipo II en piel glabra del ratón, responden a temperaturas de 39, 41, 45 y 47°C; mientras que las fibras de tipo I continuaron respondiendo a 53°C (Cain y cols, 2001), como ya se había reportado, por otros autores. En resumen, estos trabajos de Treede y cols, (1995) en mono y Cain y cols, (2001) en ratón, mostraron que los umbrales de respuesta de las fibras “A $\delta$ ” de tipo II, en el mono es de 46°C, mientras que en el ratón es más variado (39, 41, 45 y 47°C), en cambio los receptores tipo I continuaron respondiendo a 53°C en ambas especies. Estas diferencias encontradas en los receptores tipo II, podría deberse a que se estimularon diferentes áreas de piel, el mono fue analizado en la pata anterior y en el ratón en la pata posterior.

En la rata, también se ha reportado que los umbrales de respuestas de los nociceptores “A $\delta$ ” varían dependiendo de la intensidad del estímulo, aunque en estos trabajos los nociceptores “A $\delta$ ” no fueron clasificados, como tipo I y II. Así, se ha reportado que

los nociceptores de fibras “A $\delta$ ”, solo se activan cuando la temperatura alcanza niveles altos, como de 50°C (kenins, 1982; Lynn y Carpenter 1982; Szolcsanyi y cols, 1988; Steen y cols, 1992), otros indican que es de 50 y 52°C (Leem y cols, 1993); aunque también se ha reportado que algunas fibras “A $\delta$ ” se activan a partir de los 47°C (Yeomans y Proudfit, 1996; Leem y cols, 1993), sin embargo, hay otros autores que reportan temperaturas más altas, alrededor de los 55 °C (Fleischer y cols, 1983).

#### **3.6.4. Nociceptores asociados a las fibras “C”**

En cuento a los nociceptores asociados a fibras “C”, Fleischer y cols, (1983) encontraron, en la rata adulta, que las fibras amielínicas “C” son sensibles a estímulos de 30°C, mientras que en el mono, otros encontraron que las fibras “C” responden a temperaturas de 40°C (Croze y cols, 1976), y a 41°C y ambos fueron localizados en la piel con pelo y en la piel glabra. Mientras que otros reportan que estos se activan a los 37°C y 44 a 46°C (Treede y cols, 1990; Treede y cols, 1995). Cain y cols, (2001) reportan que las fibras “C” (ratón) tienen la capacidad de codificar la intensidad del estímulo a 40°C y tienen a incrementar el número de impulsos con el aumento de la intensidad del estímulo térmico, pero no más allá de los 47°C. No obstante, encontraron que, de todos los nociceptores de fibras “C” registrados, algunos fueron sensibles a estímulos de 35°C. Por tanto, mencionan que los nociceptores de fibras “C” tienen la capacidad de codificar la intensidad del estímulo entre un rango que no va más allá de los 47°C (Cain y cols, 2001). Mientras que en el mono las fibras “C” que inervan la piel glabra como en la piel con pelo llegan a responder a estímulos de 45°C (Campbell y Meyer, 1983).

Yeomans y Proudfit, (1996), en ratas encontraron que la aplicación de los estímulos térmicos de baja intensidad de 35, 43, 45.5°C, ó de 43 a 46°C en la piel, activa a los nociceptores de las fibras “C”, mientras que los estímulos térmicos de alta intensidad a 47°C, activan a los nociceptores asociados a las fibras “A $\delta$ ”. Dado a que los umbrales de respuestas de los nociceptores de tipo II de las fibras “A $\delta$ ” son



significativamente más altos que los de las fibras “C”, Treede y cols, (1995) sugieren que existen dos diferentes mecanismos de transducción del estímulo térmico dado por las vías aferentes nociceptivas. El primero, es que la energía calórica rápidamente se transduce en potencial de acción y su pico de descarga aparece poco después del comienzo del estímulo. El segundo, es que la transducción del calor es distintamente bajo, y el pico de descarga ocurre cerca y al final del estímulo. Entonces, la sensibilización mediada químicamente puede estar implicada por el segundo mecanismo de transducción.

### **3.7. ESTUDIOS NOCICEPTIVOS A NIVEL CONDUCTUAL**

Los trabajos antes mencionados, nos describen como a nivel periférico las fibras nerviosas amielínicas “C” y mielínicas “A $\delta$ ” transmiten diferentes intensidades de estímulos térmicos; y al parecer estas tienen una distribución diferente en algunas partes del cuerpo. Sin embargo, hay otras técnicas que nos permite medir el tiempo de reacción de manera integral, es decir, desde que se aplica el estímulo (nivel sensorial) hasta que se provoca una respuesta (nivel motor). Estas técnicas varían dependiendo de los estímulos nociceptivos utilizadas, que van desde los químicos (inyección de irritantes), los eléctricos (toques eléctricos), los mecánicos (presión) y los térmicos (plato caliente, inmersión en agua caliente, el analgesiómetro “Tail-Flick”, etc.). No obstante, todos ellos se basan en respuestas reflejas y miden el tiempo desde que se da el estímulo hasta cuando se presenta la respuesta, a este tiempo se le ha denominado latencia. Así, cuando se utiliza el analgesiómetro Tail-Flick que mide el tiempo de reacción de la retirada de la cola, se le denomina Latencia al Retiro de la Cola o LRC (Ness y cols, 1987); esto, es una forma de evaluar las repuestas reflejas provocadas por un estímulo nocivo térmico (Chapman y cols, 1985).

Estudios donde han utilizado el parámetro, de la LRC, han dado a conocer algunos factores que modifica la latencia de retiro en la rata adulta. Por ejemplo, durante el ciclo estral la LRC son más bajos en el estro y metaestro, en comparación con el diestro y poestro; en relación al sitio de estimulación la LRC entre la media y distal de

la región dorsal de la cola no hay diferencias (Cruz, 1995); en cuanto a la región estimulada, las repuestas de la región dorsal se da en todas las direcciones, mientras que en la región ventral de la cola las respuestas solo se da en el sentido contrario al estímulo (Cleland y Bauer, 2002).

### **3.7.1. Estudios nociceptivos en neonatos**

En la actualidad la información disponible sobre el desarrollo de la LRC mediante la aplicación de estímulos térmicos nociceptivos son escasos y controversiales; ya que algunos trabajos reportan que conforme avanza el desarrollo postnatal se observan decrementos en la LRC ante estímulos térmicos nociceptivos. Por ejemplo, los estudios de Bâ y Seri (1993), mencionan que la LRC va en decremento conforme avanza la edad, esto lo observan a partir del P10 que presenta una LRC de 4.3 seg., y es donde se registra el pico más alto de la respuesta, a partir de este día, va en decremento hasta el día 25, de ahí se estabiliza hasta el día 45, con una LRC de 2.8 seg. Sugiriendo, que la maduración de los mecanismos neuro-químicos que transmiten la información nociceptiva, por ejemplo la sustancia P incrementa con relación a la edad; y puede entonces explicar, el decremento gradual de los umbrales nociceptivos que fue observado durante el desarrollo de la rata neonata. En contraste Fajardo, (2002) reportó que la LRC se incrementa conforme avanza la edad de los animales. Además, este autor encontró que la LRC a 40°C presenta diferencias en relación al sexo a partir del día P13 y hasta P19; y a partir de este día y hasta final de las pruebas (P30) se mantuvieron constantes. Sin embargo, hay otros trabajos que no observaron diferencias de la LRC en relación al sexo (Torres, 2004; Guerrero, 2005). En lo que si coincidieron los autores, es que la LRC durante el desarrollo, se incrementa con la edad, siendo en los primeros días P7 al P11 más cortos en comparación con los días P17 al P31 (Torres, 2004; Guerrero, 2005), sugiriendo que estos cambios podrían estar asociados a la maduración de los centros superiores, como la maduración tardía de los procesos inhibitorios descendentes de los estímulos nocivos difusos.

El incremento de la LRC observadas por Torres, (2004); Fajardo, (2002); y Guerrero, (2005), también lo reporta Falcon y cols, (1996) donde muestran que la hipersensibilidad a la estimulación térmica nociva puede ser observada claramente en los días P3, P6, P9, P12, P15, P21 y P90. Dentro de estos días, los umbrales nociceptivos bajos, fueron encontrados entre los días 3 al 12 postnatal, en comparación con el día P90. Basándose en estos resultados, sugirieron que el incremento de los umbrales con respecto a la edad, son debidos, a cambios en las propiedades locales de la médula espinal; y el incremento en la LRC al estímulo nocivo en el neonato, que se observa a partir del día P15, está implicado con la maduración de estructuras tanto espinales como supraespinales.

### **3.7.2. Zona de estimulación**

Con relación a la zona de estimulación, Fajardo, (2002) reportó que la zona distal presento LRC más cortas que la zona media (estimulando ya sea a 40, 45 y 50°C); sugiriendo que la zona distal probablemente presenta diferencias periféricas y/o centrales en la transmisión o integración de la información térmica nociceptiva (Fajardo, 2002). Este autor le atribuye a que ambas zonas presentan una distribución heterogénea de nociceptores, el cuál provoca diferencias en las respuestas al Tail-Flick, y/o bien, que las diferencias de la LRC entre ambas zonas, pudiera deberse, también, al grosor de la piel de zona media y distal. La piel de la zona distal sea más delgada que la zona media, lo que podría ocasionar que la LRC se acorte (Fajardo, 2002). Aunque en su trabajo no se realizó histología de la cola para comprobar estas afirmaciones. No obstante, Muciño y cols, (2001) realizaron un análisis del grosor y longitud de la cola de la zona media y distal, durante los días P7 y P21; y encontraron un incremento paulatino del diámetro de la cola durante los días estudiados; siendo la zona media la que presento un mayor crecimiento con respecto a la zona distal. Con esto, sugirió que el incremento en la LRC durante el desarrollo puede deberse al incremento del diámetro y/o grosor de la cola del animal.

Torres, (2004) reportó que independientemente de la intensidad del estímulo (30, 45 y 50°C) no hay diferencias significativas entre la zona media y distal de la región ventral de la cola, es decir, la LRC en ambas zonas son iguales, sugiriendo que la región ventral presenta un desarrollo uniforme de las fibras nerviosas aferentes durante el desarrollo y una distribución homogénea de nociceptores (Torres, 2004); así mismo Cain y cols, (2001) reportaron que, en la región plantar hay una distribución similar de fibras “C” y “A $\delta$ ”.

### **3.7.3. Intensidad del estímulo nocivo**

Además de las diferencias de la LRC relacionadas con la edad y zona de estimulación, se ha reportado que las ratas neonatas son capaces de diferenciar varias intensidades de estímulos térmicos. Así, Fajardo (2002) analizó la discriminación a tres diferentes temperaturas (50, 45, y 40°C) durante el desarrollo de la rata (P7 al P15) en la zona media y distal de la cola de la región dorsal. En los resultados encontró que la LRC es más corta al estimular a 50°C en comparación con la de 45°C y 40°C; y con respecto a estas dos últimas temperaturas, la LRC es más corta a 45°C que a 40°C, concluyendo que la zona media es capaz de responder de forma diferencial ante las diferentes intensidades del estímulo utilizado (Fig. 2).

Sin embargo, encontró que la zona distal, la LRC es igual para las temperaturas de 45 y 50°C, pero diferentes cuando ambas se compararon contra 40°C, concluyendo que esta región solo es capaz de reconocer dos intensidades térmicas (40 y 50°C), debido al traslape que se observa a 45°C con el de 50°C (Fig. 3).

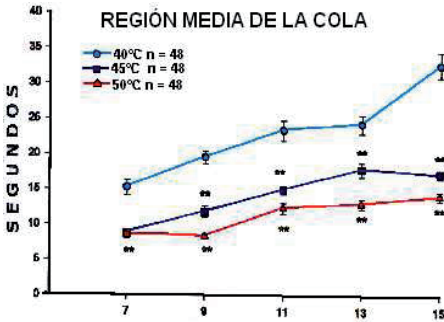


Fig. 2 LRC de la región media de la cola provocada a tres intensidades, el grupo de 50 y 45°C la LRC son más corta que la LRC de 40°C (Tomado de Fajardo, 2002).

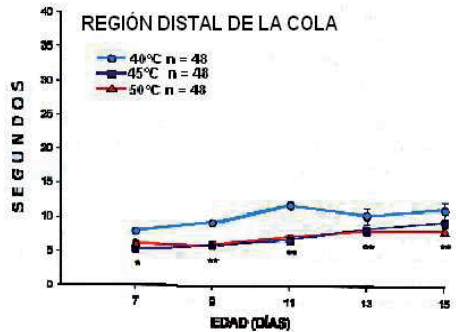


Fig. 3 LRC de la región distal de la cola provocada a tres intensidades, el grupo de 50 y 45°C las LRC son iguales que la LRC de 40°C (Tomado de Fajardo, 2002).

Este autor discute que las diferencias de discriminación puede ser debido a la distribución de los spot's (distribución de los nociceptores de fibras "Aδ" y "C" en la superficie cutánea), ya que probablemente estén más densos en la zona distal (menor diámetro) que la zona media (mayor diámetro). Por lo tanto, al existir mayor densidad de nociceptores en la zona distal de la cola, existe un traslape de campos sensoriales de los receptores, provocando que la activación de estos sea poco selectiva y por ende la LRC de 45 y 50°C sea similar y sea imposible detectar el cambio de la temperatura, pero de igual manera que sus aseveraciones con relación al grosor de la piel de la cola son solo especulaciones ya que en su trabajo no realizó estudios histológicos de la piel de la cola.

Estas diferencias de discriminación entre las temperaturas reportadas para la región dorsal, también ha sido reportada para la región ventral. Torres, (2004) observo que al aplicar un estímulo de 30°C en la zona media y distal de la cola de la región ventral, la LRC son más largas en comparación con la de 45 y 50°C. Al comparar estas dos últimas temperaturas, este autor observó que la LRC es más corta cuando se aplica el estímulo de 50°C que a 45°C (Fig. 4 y 5, Torres, 2004).

**LRC EN LA ZONA MEDIA  
A DOS DIFERENTES TEMPERATURAS**

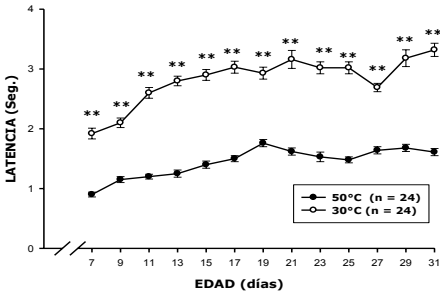


Fig. 4 Muestra las diferencias significativas de los registros de la LRC de la zona media, provocada a 50°C contra 30°C, ( $F_{(1,12)} = 29.92$ ,  $P < 0.05$ ) (Tomado de Torres, 2004).

**LRC EN LA ZONA DISTAL  
A DOS DIFERENTES TEMPERATURAS**

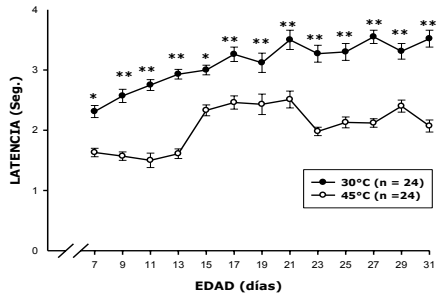


Fig. 5 Muestra las diferencias significativas de los registros de la LRC de la zona distal, provocada a 30°C y 45°C ( $F_{(1,12)} = 17.96$ ,  $P < 0.05$ ) (Tomado de Torres, 2004).

**3.7.4. Alteración de las fibras nerviosas primarias “Aδ” y “C” por la utilización del neurotóxico capsaicina**

En general, Fajardo, (2002); Guerrero, (2005) y Torres, (2004), postularon que la información térmica de 30 a 45°C hasta 46°C son mediadas por las fibras “C”, mientras que la información térmica de 47°C, 50 a 55°C son mediadas por las fibras “Aδ”. No obstante, unas de las herramientas que se han utilizado para observar la distribución y funcionalidad de estas fibras, aparte de los marcadores y de los estudios electrofisiológicos; se ha utilizado el neurotóxico Capsaicina (Cap) inyectado a los dos días de edad a una dosis de 50mg/kg de peso, con el fin de estudiar la nocicepción y las propiedades funcionales de algunas subpoblaciones de fibras aferentes primarias en los mamíferos (Werth, y cols, 1996 citado por Dedov y Roufogalis, 2000); sin embargo, se ha descubierto que la Cap destruye una cierta subpoblación de estas fibras “C” y “Aδ”. Los efectos neurofarmacológicos y fisiológicos de este neurotóxico se describen a continuación:

### 3.8. CAPSAICINA

La capsaicina (Cap) (8-metil-N-vanilil-6-nonenamida, Fig. 6), que deriva de la palabra griega “Kapto” y significa “picar”, es la sustancia pungente del chile (toxina neural de naturaleza alcaloide); que se localiza principalmente en las paredes del chile y en menor cantidad en las semillas y matriz “las venas” del chile (Salazar-Olovo y Ortega, 2004). Se ha reportado que la administración de Cap en edades tempranas del animal, tiene una acción neuroatómica selectiva sobre las fibras “C” y “A $\delta$ ”, y farmacológicamente induce degeneración irreversible de estas neuronas sensoriales (Jancsó y cols, 1977: citado por Camacho, 1995). El cuál los efectos neurotoxico de la Cap se ha clasificado en cuatro (Szolcsányi, 1993): agudos, intermedios, a largo plazo y neurotoxico (Winter y cols, 1995).

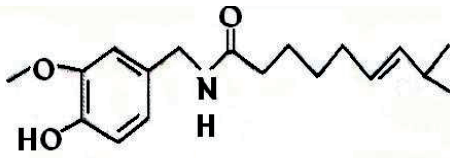


Fig. 6 Capsaicina (8-metil-N-vanilil-6-nonenamida).

El primer evento; es la excitación de las terminales nerviosas libres periféricas; el cual es caracterizado por la despolarización de las fibras aferentes primarias asociadas a las fibras “C” y “A $\delta$ ”, el cuál incrementa la permeabilidad de la membrana, particularmente los iones calcio (Ca $^{2+}$ ) y sodio (Na $^{+}$ ) (Winter y cols, 1995). Esta estimulación de Ca $^{2+}$  que entra en la membrana plasmática de las neuronas sensoriales, ha sido relacionada con muchos de los efectos tóxicos y fisiológicos de la Cap, incluyendo la desensibilización de las neuronas y la transmisión térmica (Dedov y Roufogalis, 2000). El segundo efecto aparece como una fase de desensibilización, bloqueando la actividad de la neurona sensorial que ha sido atribuido al tratamiento crónico en aquellas neuronas peptidérgicas que responden menos a estímulos nociceptivos (Pellicer y cols, 2001); teniendo, más tarde, una recuperación parcial de

la despolarización. Sin embargo, la velocidad y extensión del fenómeno de desensibilización al parecer puede ser debido por varios factores: la dosis de Cap utilizada, la edad del animal, el tiempo de exposición, la ruta de administración, los intervalos de la administración repetida y las concentraciones de  $Ca^{++}$  extracelular (Pellicer y cols, 2001). El tercer efecto, es el deterioro neurotóxico a largo plazo, debido a la pérdida de excitabilidad de los receptores sensoriales, a la inhibición del transporte axonal, y a la disminución en el contenido de neuropeptidos (Szolcsányi, 1993). El cuerpo celular se preserva con mitocondrias hinchadas (acumulación de  $Ca^{2+}$  que decreta su función mitocondrial), mientras que el proceso axonal puede degenerarse (Sasamura y Kuraishi, 1999). El cuarto paso es la destrucción celular irreversible, debido a la acumulación de calcio intracelular y a la cariólisis (Nagy y cols, 1982 citado por Camacho, 1995; Tominaga y Julius, 2000). Finalmente, los efectos neurotóxicos producido por la administración perinatal, (dosis de 50 a 125 mg/kg) produce la pérdida de un alto porcentaje de fibras y muerte de neuronas que sintetizan SP (Pellicer y cols, 2001; Winter y cols, 1995), el cual llega a extenderse en la vida adulta temprana (alrededor de los 30 días) (Scadding, (1980).

### **3.8.1. EFECTOS NEUROTÓXICOS DE LA CAP**

Estudios en ratón y rata, han encontrado que el efecto neurotóxico (degeneración) producido por la administración de Cap tanto en las fibras “A $\delta$ ” como amielínicas “C”, puede variar por diferentes factores; como se comentó en párrafos anteriores, incluyendo al tipo de especie (Wood y Docherty, 1997; Pellicer y cols, 2001). Así, está el trabajo de Nagy y cols, (1983) donde encontraron que el efecto de la Cap, en la rata, depende de la dosis aplicada. Al administrar una dosis de 75 mg/kg a las 48 hrs de vida postnatal de la rata, las fibras amielínicas y mielínicas se degeneran un 94% y un 40%, respectivamente; al administrar una dosis de 50mg/kg estas se degeneraron un 25%; sin embargo al administrar 12.5 o 20 mg/kg las fibras mielínicas no fueron afectadas. Con respecto a las fibras amielínicas, solo con una dosis de 5 a 10mg/kg se



redujo un 25%. Estos autores, sugirieron que la Cap es más selectiva en aquellas fibras mielínicas y amielínicas que miden entre un rango de 0 a 3 $\mu$ m de diámetro y no en aquellas que miden más de 3 $\mu$ m de diámetro (Nagy y cols, 1983; Hiura y Sakamoto, citado por Hiura, 2000). Así mismo, Hiura, (2000) reportó que las fibras “A $\delta$ ” que miden entre 2 a 3 $\mu$ m de diámetro, principalmente, se reducen de un 20 a 30% cuando los animales se les aplica 50mg/kg.

Sin embargo, otros estudios reportan que la reducción de las fibras amielínicas va desde un 50% hasta 95%, mientras que las fibras mielínicas va desde un 12% a 20, 30 y hasta un 40% (Scadding, 1980; Nagy y cols, 1983; Buck y Burks, 1986; Hiura y Sakamoto, 1987; Hiura y cols, citado por Hiura 2000; Werth y cols: citado por Dedov y Roufogalis, 2000; Dux y cols, 1999; Hiura y cols, 1999). De hecho, han reportado que las fibras amielínicas de los nervios musculares del grupo III y IV (que contienen neurokininas) son selectivas y eliminadas por la Cap (Chad y cols, 1983; Pettorossi y cols, 1999).

### **3.8.2. Cambios morfológicos de las neuronas y fibras nerviosas primarias por el efecto de la Cap**

A nivel central, se ha observado que la Cap provoca cambios morfológicos sobre las neuronas pequeñas de tipo B del DRG lumbar después de 5 hrs del tratamiento. Estas neuronas presentan acumulación de neurofilamentos, fisuras del citoplasma y fragmentación celular. Finalizando con núcleos desorganizados y neuronas degeneradas. Después de 2 a 3 días del tratamiento, varias neuronas degeneradas sobrevivieron. También, aparecieron neuronas de tipo A (de somas grandes y claros, que se encuentran relacionadas con las fibras “A $\alpha$ ” y “A $\beta$ ” asociadas a mecanoreceptores y propioceptores; y a las fibras “A $\delta$ ”) dispersas en la sustancia de Nissl, formando un anillo al rededor de las células, ruptura citoplasmática, y el inicio de la citólisis periférica; algunas de estas células mostraron una severa degeneración, principalmente muerte celular. Al llegar al día P10, las neuronas de tipo A empezaron a degenerarse, más tarde que las neuronas de tipo B (de somas pequeños y oscuros,

asociadas a las fibras "C" y "A $\delta$ ") (Hiura y Ishizuka, 1989; Hiura, 2000). Estos autores concluyeron que la Cap induce cambios cromatolítico en células de tipo B y en ciertas células de tipo A; pero su acción puede ser indirecta y directa. La acción directa se debe a que induce una rápida degeneración en las neuronas pequeñas (tipo B), mientras que su acción indirecta induce una degeneración lenta en las neuronas grandes (tipo A), causando cambios cromatolíticos (Hiura, 2000).

A nivel periférico, Hiura y Ishizuka (1989) han reportado en trabajos in vivo (ratón), que los cambios morfológicos en las fibras ocurren 5 días después del tratamiento con Cap; los axones mielinizados mostraron una destrucción y pérdida del axoplasma, que se incrementó gradualmente después del tratamiento. Los axones amielínicos mostraron una completa degeneración, incluyendo varios organelos axoplasmico desorganizados (Hiura y Ishizuka, 1989; Fig. 7). Sin embargo, Yu y Lin, (2002), encontraron que los cambios en las células epiteliales de la mucosa de la traquea y la degeneración de las terminaciones nerviosas libres por la administración de la Cap en la rata, se observaron hasta la segunda semana de vida postnatal. No obstante, hay que recordar, que en estos trabajos se utilizaron diferentes animales, y cabe la posibilidad de que la acción de Cap pueda variar, como ya lo han reportado (Wood y Docherty, 1997; Pellicer y cols, 2001); además en ambos trabajos solo realizaron el análisis morfológicos y no realizan la parte funcional, que es una de las partes importantes en los estudios de la nocicepción. Esto se resalta, ya que en otras estructuras que juegan un papel importante en la modulación de la transmisión nociceptiva periférica, espinal y supraespinal, y además de ser estos importantes para nuestro trabajo, se ven alterados por la Cap.

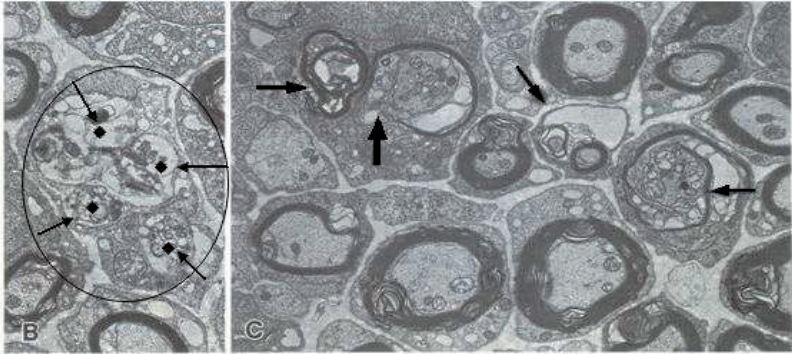


Fig. 7 Fotografía de un corte transversal de axones mielínicos y amielínicos de la raíz dorsal (región lumbar) 5 días después de la inyección de Cap. En B: muestra una completa degeneración de axones amielínicos (asteriscos) incluyendo varios organelos axoplásmicos desorganizados; x 9,400. En C: muestra interrupciones de las fibras mielínicas (flecha); x 9,400. (Tomado de Hiura y Ishizuka, 1989).

### 3.8.3. Efectos de la Cap sobre estructuras subraespirales

Estudios previos han reportado que la Cap actúa sobre diferentes áreas del cerebro involucradas en funciones autonómicas y sensoriales, incluyendo las funciones que modulan el dolor endógeno y la percepción del dolor (Svensson, citado por Szabo y cols, 2002); como es el caso de los sistemas bulboespirales, importantes en la modulación de la transmisión nociceptiva espinal, donde se ha reportado que la Cap afecta significativamente estas áreas. Así, esta el trabajo de Zhuo y Gebhart, (1994) donde hallaron que el tratamiento de Cap lleva a una reducción de las influencias inhibitorias y un incremento en las influencias facilitadoras que descienden del tallo cerebral caudal hacia los sitios de nocicepción de la médula espinal. Proponiendo que esta reducción de influencias inhibitorias, se debiera en parte a la reducción de entradas aferentes del asta dorsal de la médula espinal provocada por la Cap, y/o a la reducción de las influencias inhibitorias bulboespiral. Lo que no saben estos autores, es que si el aumento de la influencia descendiente sea el resultado de la destrucción y atenuación de las influencias inhibitorias descendientes por el tratamiento de Cap, o se deba a diferentes mecanismos. Lo que se sabe es que simultáneamente ambos son

activados, desde sitios supraespinales descendientes para modular la transmisión espinal nociceptiva. Con esto, Zhuo y Gebhart, (1994) concluyeron que la acción directa de la Cap sobre las neuronas centrales, reduce los controles inhibitorios, y posiblemente los sitios inhibidores disminuyeron y por tanto explicarían la emergencia significativa de un gran número de sitios facilitadores en la médula medial y rostral.

#### **3.8.4. Efectos de la Cap sobre sustancia P neurotransmisor nociceptivo presente en las fibras nerviosas primarias y su relación con el NGF**

La sustancia P (SP) ha sido identificada como un neurotransmisor principal asociada en la transmisión de la información nociceptiva en las fibras aferentes primarias de los mamíferos. Este neurotransmisor (péptido) se encuentra en los cuerpos celulares pequeños, en las fibras delgadas del ganglio de la raíz dorsal asociados a las fibras “C” y “A $\delta$ ”, y en las terminaciones nociceptivas centrales y periféricas. Se libera como neurotransmisor en las terminaciones aferentes primarias periféricas, en las neuronas de la médula espinal intrínseca y en las terminaciones axónicas del tallo cerebral que hacen contacto con las neuronas del asta dorsal (Narsinghani y Anand, 2000; Pellicer y cols, 2001). Este péptido puede ser localizado solo o con otros péptidos. Principalmente las fibras aferentes “C” (nociceptores) puede contener uno o más péptidos, incluyendo SP, péptido relacionado al gen calcitonina (CGRP), neuropeptido Y, somatostatina y galanina. Con la administración neonatal de Cap, se ha observado que no solo destruye la mayoría de los axones epidérmicos, si no que también afecta el contenido de SP o CGRP y de otros péptidos, tal como colecistoquinina (CCK), polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) y somatostanina presentes en el asta dorsal y fibras nerviosas epidérmicas (Jancsó y cols, 1981; Dux y cols, 1999). Por ejemplo, Kessler y Black, (1981), encontraron que la SP en el ganglio de la raíz dorsal se reduce un 50% y un 42% en el asta dorsal de la médula espinal, pero esto no se reduce en el asta ventral de la médula espinal (dosis de Cap 50mg/kg a 400mg/kg). Nagy y cols, (1983), encontraron una reducción del 55% de SP en el la

raíz dorsal lumbar 3 (L3), nervio ciático y en el ganglio trigeminal sensorial (Cap 5mg/kg hasta 25mg/kg).

Sin embargo, se ha encontrado que la Cap aparte de disminuir el contenido de la SP, también inhibe el transporte retrogrado axoplasmico del NGF (Millar y cols, 1981). No obstante, la administración del NGF en ratas tratadas con Cap, incrementa los niveles de SP tanto en las neuronas del DRG como en las neuronas del asta dorsal de la médula espinal, concluyendo que la disponibilidad del NGF impide completamente el decremento de la SP; el autor como Millar y cols, (1981) sugieren que las neuronas poseen receptores a NGF, y este, selectivamente puede regular la expresión y los niveles de los neurotransmisores tanto para la SP (Kessler y Black, 1981; Millar y cols, 1981) como la somatostatina y la síntesis del CGRP en algunas neuronas sensoriales (Kessler y Black, 1981; Schicho y Donnerer, 1999), además, restaura la función periférica de las neuronas aferentes primarias dañadas (Donnerer y cols, 1996).

### **3.9. RECEPTOR DE LA CAP**

Actualmente se conoce que la Cap actúa selectivamente sobre los receptores “vanilloide 1 (VR1)” que se localizan en la membrana de las terminaciones nerviosas sensoriales periféricas que inervan la subepidermis de la piel, siendo más abundante en la dermis (Gopinath y cols, 2005; Ständer y cols, 2004). A nivel central, este, es localizado en la lámina I y II de las regiones superficiales del asta dorsal, lugar donde se proyectan las terminaciones nerviosas de las fibras amielínicas “C” que transmiten la información térmica nociceptiva (Morgan y cols, 1981; Caterina y cols, 1997; Caterina y cols, 1998; Caterina y Julius, 1999; Tominaga y Julius, 2000). Así mismo, ha sido localizado en las neuronas del hipotálamo, tal como: Locus ceruleus (LC), hipotálamo basal medial (MBH) y el área preoptica del hipotálamo del cerebro; y en otras áreas que juegan un papel importante en la nocicepción y en la termorregulación (Svensson, 1987 citado por Szabo y cols, 2002). En los estudios de termorregulación, por ejemplo, han reportado que la inyección intrahipotalámica y sistémica de Cap

produce hipotermia y una dosis grande induce cambios ultraestructurales en las mitocondrias tanto de las neuronas del DRG como en las neuronas hipotálamicas (Hori, 1991; Osaka y cols, 2000 citados por Szabo y cols, 2002). Por otro lado, se ha reportado que la expresión del VR1, puede ser encontrado junto con nociceptores que expresan diferentes clases de neurotransmisores (SP, Leptina IB4), ó neuronas peptidérgicas que expresan receptores a neurotrofinas (trkA, p75) y aquellas que no son peptidérgicas (isolelectina B4, P2X3) (Szallasi y Blumberg, 1999). De este modo, han sugerido que neuroquímicamente y funcionalmente hay diferentes tipos de nociceptores sensibles a la Cap (Tominaga y cols, 1998; Tominaga y Julius, 2000; Caterina y Julius, 2001). Así mismo, se ha encontrado que la expresión del VR1 no solo es expresado en neuronas del tamaño mediano y pequeño, si que también es expresado en las neuronas que están asociadas a las fibras “A $\delta$ ”, aunque es menos predominante (Caterina y Julius, 1999; Guo y cols, 2001). Además, se ha encontrado que el numero de fibras positivas al VR1 ya es observado en el neonato (P10), pero los patrones de distribución es diferente en comparación al animal adulto (Guo y cols, 2001).

### **3.9.1 Activación del VR1 por estímulos térmicos y otros factores.**

Se ha descrito que el VR1 aparte de ser activado por la Cap, también responde a estímulos térmicos mayores a 43°C (Caterina y cols, 1999; Tominaga y Julius, 2000) y a pH bajos en el medio extracelular (<pH 6.0, eleva la concentración de protones) sugiriendo que los protones pueden ser los activadores endógenos de estos canales. Sin embargo, se ha observado que la reducción drástica del pH 7.6 normal, a pH 6.3 ó <pH 6.0 baja los umbrales de activación del canal, el cuál a una temperatura de 35°C ó 22°C (temperatura del cuarto) puede activar y generar corriente (Tominaga y Julios, 2000; Caterina y Julios, 2001). El etanol baja el umbral de activación del VR1 a 42°C y 34°C (Trevisani y cols, 2002). Sin embargo, hay incertidumbre con respecto a estas interpretaciones dado a que algunos investigadores han encontrado una buena correlación entre la sensibilidad térmica y la Capsicina en neuronas cultivadas, y otros

no lo han encontrado. Una simple explicación de estas diferencias, es que probablemente hay mecanismos múltiples que detecten los estímulos nocivos in vivo, y solo en algunos casos esta involucrado el VR1 (Caterina y Julius, 1999).

Autores como McGaraughty y cols, (2003); Tominaga y Julius, (2000), han sugerido que el VR1 media el dolor producido por la acción de Cap; y que este tiene un rol significativo en la transmisión de las señales nociceptivas; el cual ha sido postulado como un integrador molecular debido a su activación heterogénea y/o como un modulador del calor, protones, y de otras sustancias endógenas liberadas durante una lesión tisular (McGaraughty y cols, 2003; Tominaga y Julius, 2000). Con esto Caterina y Julius, (1999) discute que el VR1 es marcado como un candidato para transducir los estímulos térmicos y químicos nocivos en las poblaciones de neuronas sensoriales de diámetro pequeño asociados a las fibras “C”; neuronas medianas asociados a las fibras “A $\delta$ ” de tipo II (sensibles a Cap; Ringkamp y cols, 2001); mientras que las neuronas grandes de alto umbral que miden alrededor de los  $25.6 \pm 0.2 \mu\text{m}$  son los insensibles a la Cap, el cuál se ha postulado que debe existir un transductor de calor diferente al receptor de la Cap en estos tipos de neuronas de umbral alto (Caterina y cols, 1999; Nagy y Rang, 1999; Ringkamp y cols, 2001). Este otro tipo de receptor molecular que responde a estímulos térmicos de alto umbral (50-52°C) es llamado como proteína 1 semejante al receptor vanilloid (VRL, receptor homólogo del VR1). Este receptor VRL1 a diferencia del VR1, no es activado por vanilloides, protones o por estímulos térmicos moderados (>43-45°C), pero si es activado por estímulos térmicos altos (Caterina y cols 1999; Tominaga y Julius, 2000; Patapoutian y cols, 2003). Sin embargo, se ha encontrado en los estudios in vitro, que al aplicar un segundo o tercer estímulo de 40°C puede activar cualquiera de los dos receptores. Con todo esto, han considerado que la sensibilidad térmica de los nociceptores difiere no solo en la activación de sus umbrales, si no que también depende de los patrones de tamaño y mielinización (Caterina y cols, 1999).

Dentro de la médula espinal el marcaje del VRL1 es observado en el tracto Lissauer’s y en el hasta dorsal, pero el marcaje fue más denso la zona marginal de la lámina I, y en el bordo de la lámina II y III (punto de llegada de las fibras “A $\delta$ ” que transmiten

información térmica y dolorosa). Estos resultados histológicos, junto con los datos de las respuestas térmicas, indican que la expresión de VRL-1 del grupo de neuronas “A $\delta$ ”, puede ser la razón fundamental de que sean nociceptores “A $\delta$ ” de tipo I de umbrales térmicos altos. La expresión de VR1 en los nociceptores “C”, sean los de umbrales térmicos moderados (Caterina y cols, 1999; Tominaga y Julius, 2000).

### **3.10. PARTICIPACIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO NEURAL SOBRE LAS FIBRAS NERVIOSAS PRIMARIAS DAÑADAS POR LA CAP.**

Se ha reportado que el NGF promueve la regeneración de las fibras sensoriales primarias dañadas (Verge y cols, 1995; Lee y cols, 1998; Schicho y cols, 1999), incluyendo el crecimiento colateral de las fibras sensoriales nociceptivas de diámetro pequeño, después de una denervación (Diamond y cols, 1987). Así mismo, se ha observado que el tratamiento del rhNGF (factor de crecimiento neuronal recombinante humano) regenera fibras sensoriales periféricas dañadas por el tratamiento de Cap, el cuál restaura la inervación de las fibras nerviosas libres en la epidermis y en los vasos sanguíneos; incluyendo las terminaciones nerviosas que se proyectan en la lámina I y II del lumbar espinal (Schicho y cols, 1999). Estos autores concluyeron que en una semana el rhNGF puede localmente promover la inervación dentro de la médula espinal y piel, sugiriendo que esta regeneración también puede estar acompañada por la elevada producción del RNAm del CGRP (Fig. 8).



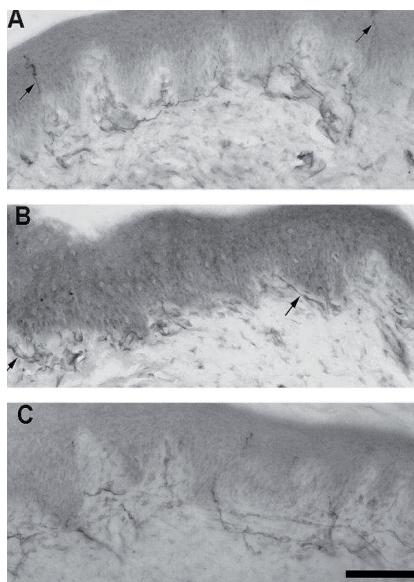


Fig. 8 Fotografías de la piel plantar de la rata, muestra la distribución de las fibras CGRP-IR (barra = 100  $\mu$ m). (A) Ratas Controles: La flecha indica las fibras intraepidérmicas que surge a partir de los plexos subepidérmico. (B) Ratas tratadas con Capsaicina: La flecha indica los restos de fibras de los plexos subepidérmico; que aún son visibles, y la epidermis es prácticamente desprovisto de fibras. (C) Ratas tratadas con Cap y NGF: Las fibras son otras vez visibles dentro de la epidermis y en empalme de la dermis-epidermis; (Tomado de Schicho y cols, 1999).

### 3.10.1. ESTUDIOS NOCICEPTIVOS EN ANIMALES TRATADOS CON CAP

Szolcsányi, (1993) reporto que la administración de Cap a las 48 horas de vida postnatal de la rata, provoca alteraciones irreversibles en las fibras amielínicas del sistema nervioso central (SNC) y del sistema nerviosos periférico (SNP), provocando una reducción en la percepción de los estímulos nocivos. De hecho, esto fue observado en ratas adultas tratadas con Cap (36mg/kg), al estimular a  $54.5 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$  en la pata, los umbrales de respuesta se incrementaron Nagy y Van Der Kooy, (1983) y Kim y cols, (1995), también observaron que en ratas adultas tratadas neonatalmente con Cap y sumergiendo la cola en agua caliente a  $48^{\circ}\text{C}$ , la latencia de retiro de la cola

se incrementó al compararlos con los animales controles. Sin embargo, observaron que entre estos animales hubo algunos que presentaron latencias de 25.6-30seg y otros de 9.5-17seg; y por lo tanto, sugirieron que no todas los nervios que inervan a la cola son degenerados por la Cap; y el incremento de la latencia en ambos casos se debe a la degeneración de las fibras “A $\delta$ ” y “C” provocado por la Cap.

En otro estudio, por Hiura y cols, (1999) demostraron que en ratones tratados con cap en el día P5 y P10, la latencia se incremento, a ser estimularlos a 55°C con la técnica de Hot-Plate durante la etapa postnatal y adulta, pero no se incremento cuando estos son tratados con Cap en el día P2 y P5. En otra prueba que realizaron estos mismos autores, encontraron que al aplicar el cojinete de la pata a 50°C con el haz calórico infrarrojo, los animales tratados con Cap en el día P5, P10 y P15, la latencia se incrementó; y los animales tratados en el día P2 la latencia no se incremento. Con estos resultados, estos autores concluyeron que los dos tipos de pruebas, mostraron un retraso o hipoalgesia aparente en el incremento de las latencias de retiro en los animales tratados con Cap en los días P10 y P15; sugiriendo, que además de la perdida de las fibras “C”, ya hay un completo desarrollo de los sistemas inhibitorios intraespinales en la médula espinal y supraespinales que provoca el incremento en las latencias de repuesta (Hiura y cols, 1999).

### **3.10.2. ESTUDIOS NOCICEPTIVOS EN RATAS NEONATAS TRATADAS CON CAPSAICINA**

La mayoría de los estos estudios sobre la nocicepción en ratas tratadas con Capsicina, se ha investigado más en ratas adultas que en ratas neonatas. Así, Guerrero (2005) encontró que durante el desarrollo, los animales tratados con Cap y estimulando la zona media y distal de la región dorsal de la cola a 40°C, la latencia de retiro de la cola (LRC) se incremento a partir del día 17 en la zona media pero no en la zona distal, comparado con los animales controles. Concluyendo que la distribución de fibras sensibles a la Cap varía dependiendo de la zona de la cola estimulada, y al parecer hay más fibras sensibles a Cap en la zona media que en la zona distal.

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

---

El estudio de las respuestas nociceptivas en ratas neonatas es poco estudiado; y los reportados hasta el momento han descrito que la depende de la zona y región de estimulación (dorsal y ventral). A pesar de las diferencias encontradas en ambas regiones, la LRC se incrementa en relación al desarrollo y los animales son capaces de discriminar los diferentes estímulos térmicos; proponiendo que esta información esta modulada por las fibras sensoriales térmicas “C” que se activan a estímulos de 30 a 45°C y las fibras sensoriales aferentes “A $\delta$ ” que se activan a estímulos de 50°C. Teniendo en cuenta que ambos tipos de fibras son degenerados la Cap, y altera la LRC de la zona media de la región dorsal de la cola al estimular a 40°C, se plantea la siguiente hipótesis:

#### **5. HIPÓTESIS**

La región ventral, considerada como homogénea debido a la distribución de los nociceptores, será alterada por el efecto del neurotóxico Capsaicina sobre las fibras sensibles a éste, y por lo tanto incrementara la respuesta de la LRC ante los estímulos térmicos nociceptivos en la zona media y distal de la región ventral de la cola durante el desarrollo.

## **6. OBJETIVO GENERAL**

---

---

- Determinar el efecto del neurotóxico capsaicina sobre las fibras sensoriales térmicas nociceptivas en la rata de la cepa Wistar durante el desarrollo neonatal.

### **6.1 OBJETIVOS PARTICULARES**

---

---

- Analizar las repuestas térmicas nociceptivas de 35 y 50°C en la región ventral de la cola.
- Comparar el desarrollo de la LRC en ratas intactas y tratadas neonatalmente con Cap, al estimular las fibras “C” (35°C) en la zona media y distal de la región ventral de la cola.
- Comparar el desarrollo de la LRC en ratas intactas y tratadas neonatalmente con Cap, al estimular las fibras “A $\delta$ ” (50°C) en la zona media y distal de la región ventral de la cola.

## **7. MATERIAL Y MÉTODO**

---

En el presente estudio se utilizaron ratas de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) provenientes de la colonia del Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz. Los cuales, se mantuvieron en cuartos con temperatura controlada de  $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , con ciclo de luz-oscuridad invertida de 12:12 (luz se prende a las 20:00 hrs) y en cajas de acrílico transparente, con una cama de aserrín de 5 cm, con libre acceso a la comida (Nutrítubos Harlan) y al agua purificada.

### **7.1 OBTENCIÓN DE CAMADAS**

Las camadas se obtuvieron por cruza de 18 ratas hembras nulíparas de dos meses de edad y 9 machos expertos. Durante las cruza, los machos fueron colocados en una caja de monta de 60cm de diámetro, con un período de 5 minutos para habituarse (antes de colocar a la hembra). Transcurrido este tiempo, se colocó una hembra y se observó si presentaba receptividad. Después de esta observación, dos hembras receptivas fueron colocadas con un macho en una caja de acrílico (44 x 34 x 20cm) durante 24 horas para la cruce. Transcurrido este tiempo, los machos fueron separados de las hembras y regresados a la colonia. Mientras que las hembras se colocaron individualmente en cajas de maternidad (35 x 27 x 17cm), hasta el día del parto.

El día de parto, fue señalado como día cero de vida postnatal (P0) de las crías. Durante las primeras 24 horas de vida postnatal de las crías que provinieron de diferentes camadas fueron mezcladas aleatoriamente. Esta distribución tuvo como finalidad reducir diferencias prenatales genéticas y/o biológicas entre las camadas. Posteriormente se identificó el sexo y se colocaron 8 crías a cada madre (4 hembras y 4 machos). Las camadas, con sus respectivas madres, fueron alojadas en el cuarto de registro donde se realizaron las pruebas de Tail Flick. En el P21 todas las crías fueron separadas de las madres (destete) y colocadas de acuerdo a su sexo ( $n=8$ ) en cajas medianas; las madres se regresaron a la colonia.

## **7.2 FORMACIÓN DE GRUPOS**

Se formaron tres grupos de la siguiente manera: intacto, control y Cap. A su vez cada uno de ellos estuvo dividido en dos subgrupos: A) designado para la aplicación del estímulo térmico de 35°C y B) designado para la aplicación del estímulo térmico de 50°C. Cada uno de los subgrupos estuvo conformado por 3 camadas (n=24, 12 hembras y 12 machos).

## **7.3 TRATAMIENTO**

### **GRUPO CAP**

#### **Preparación de la capsicina**

Para la preparación de la solución Cap (Laboratorios Sigma, lote: 10H7015) se preparó una solución vehículo, que contenía 80% de solución salina al 0.9 % (ABBO-Liter), 10% de etanol (Baker), 10% de Tween 80 (Sigma) y 20 mg de Capsaicina. Estas sustancias fueron adicionadas en ese orden en un vaso de precipitado de 40 ml, inmediatamente se mezcló por medio de un agitador magnético (aproximadamente 45 seg.) hasta obtener una solución hialina.

#### **Administración de la capsicina**

La administración de la capsicina se realizó el segundo día de vida postnatal por vía subcutánea en la región dorsal superior, con una dosis de 50mg/kg de Cap contenida en un volumen de 0.01 ml; para la aplicación de la solución se utilizó una microjeringa Hamilton de 50µl.

## **GRUPO CONTROL**

### **Preparación de la solución vehículo**

Se disolvieron 10ml de una solución que contenía 80% de solución salina al 0.9% (ABBO-Liter), 10% de etanol (Baker) y 10% de Tween 80 (Sigma). Estas sustancias se vertieron (en el orden antes descrito) en un vaso de precipitado de 40 ml., y se mezcló con un agitador magnético (aproximadamente 45 seg.) hasta obtener una solución hialina. La administración de la solución vehículo se hizo con el mismo procedimiento que fue utilizado para la administración de la solución Cap.

## **GRUPO INTACTO**

Los animales intactos no fueron inyectados, sólo se separaron de su madre el tiempo que duro la inyección de una camada experimental y/o control (aproximadamente 30 minutos).

### **7.4 PRUEBAS CON EL ANALGESIOMÉTRO TAIL-FLICK**

Las pruebas se realizaron cada tercer día, a partir de P7 a P31. En el día de prueba, las crías de cada grupo pasaron aleatoriamente para la estimulación de la zona media y distal de la cola; durante este período se utilizó luz roja de baja intensidad.

Las crías se colocaron e inmovilizaron por medio de un paño, y se ejerció una leve presión que solo los inmovilizara sin causarle mayor daño; permitiendo de esta manera, que la región ventral de la cola del animal quedara expuesta al analgesiómetro denominado Tail-Flick (Life Science “tail flick” Meter II TC) para la aplicación del estímulo térmico nocivo. El estímulo térmico nociceptivo y cronómetro del Tail-Flick fueron activados simultáneamente por un interruptor manual, mismos que se desactivaron automáticamente por la ejecución del movimiento de la cola

(reflejo nociceptivo). El tiempo que tardo para presentarse la respuesta, al estímulo térmico nocivo, se le llama latencia al retiro de la cola (LRC).

El estímulo térmico que incidió sobre la superficie ventral de la cola de la rata (35 y 50 °C dependiendo del grupo) tuvo un tiempo límite para observar la respuesta de 40 segundos como máximo; en caso de que el animal no presentara la respuesta, este fue retirado de la fuente térmica con el fin de no producir un daño tisular y colocado aparte para que al final de haber pasado toda la camada, pasara por segunda vez a la estimulación.

En el día de registro se tomaron los datos de temperatura, humedad del cuarto, edad y peso por sexo, la temperatura utilizada para la aplicación del estímulo en la zona media y distal; y el tiempo (en segundos) de reacción de la cola ante el estímulo térmico utilizado (LRC).

## **7.5 PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LA CAP**

En el día 33 postnatal del grupo control y Cap se les realizó la prueba de efectividad a la Cap. El análisis consistió en efectuar una prueba de irritación de la córnea por la administración de una gota de Cap (0.01%), el cuál tuvo 30 segundos para cuantificar el frotamiento del ojo de ambos grupos. Este tratamiento se calificó inefectivo si los animales se frotaban el ojo al momento que se les aplicaba la solución con Cap, a una frecuencia mínima de 10 veces en un minuto.

## **7.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Las respuestas de la LRC fueron agrupadas por sexos, zona de estimulación y temperatura del estímulo. Las medias y los errores estándares se obtuvieron con el paquete estadístico GB STAT 6.0 (Dynamic Microsystems) y se graficaron con el paquete SIGMA PLOT 2001 para Windows (Jandel Scientific).

La significancia de los grupos, se analizaron con la prueba de varianza (ANOVA) para muestras repetidas de dos factores (tratamiento y edad), fijadas a una  $p < 0.05$ ;



para determinar el efecto específico de cada factor, se utilizó la prueba de Post-Hoc de Tukey, de igual manera para los datos obtenidos de temperatura y edad. Para el análisis estadístico de la prueba de efectividad a la Cap se utilizó la prueba T de student.

## **8. RESULTADOS**

---

### **8.1 COMPARACIÓN DE LA LRC ENTRE EL GRUPO INTACTO Y CONTROL**

Para descartar la variable efecto de la inyección y de la solución vehículo del grupo control en relación a la LRC, se hizo una comparación contra el grupo intacto. Los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas entre el grupo intacto y control ( $F_{(1,12)}=10.60528$ ;  $P<0,0021$ ). Tomando en cuenta esto, se decidió comparar solo el grupo control con el grupo Cap.

### **8.2 LRC EN RELACIÓN AL SEXO**

Así mismo, para descartar la influencia del sexo en la LRC se hizo una comparación entre machos y hembras tanto del grupo control y Cap. En el análisis estadístico, no se encontró diferencias significativas en relación al sexo, durante las edades P7 al P31, (Figuras en Anexo I) de todos los grupos. Los datos estadísticos correspondientes de cada comparación fueron ordenados en la tabla 2 (Anexo I).

Dado que no existen diferencias en la LRC entre machos y hembras, se decidió unir los datos de los machos y de las hembras. Por lo cual, solo se compararan los grupos control vs Cap.

### 8.3 PESO CORPORAL

Al analizar el peso corporal entre el grupo control y Cap, se observó un incremento uniforme. Lo que nos indica, que no hay diferencias significativas ( $F(1,12)=3.08709$ ,  $p<0.0822$ ) entre los pesos de cada grupo; por lo tanto, se puede descartar una posible alteración por desnutrición (Fig. 9).

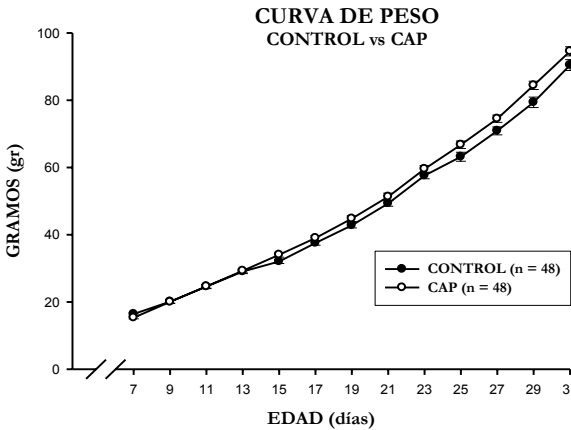


Fig. 9 Muestra el incremento uniforme del peso entre el grupo control y Cap.

### 8.4 PRUEBA DE EFECTIVIDAD A LA CAP

Al analizar la prueba de efectividad a la Cap del grupo control y Cap, encontramos que el número de frotaciones de los grupos Cap se redujo significativamente en comparación con los grupos controles ( $t$ -Value: 19, 510941,  $df$ : 95,695158;  $P<0.0001$ ). Estos resultados nos indica que el tratamiento fue efectivo (Fig. 10).

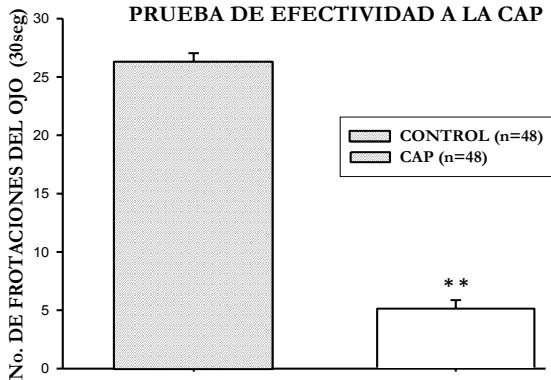


Fig. 10 Se observa diferencias significativas en la frecuencia del frotamiento del ojo en los grupos controles vs Cap (t-Value: 19, 510941, df: 95,695158;  $P < 0.0001^{**}$ ).

## 8.5 COMPARACIÓN DE LA LRC ENTRE LA ZONA DE ESTIMULACIÓN

### Grupos Estimulados a 35°C en la Zona Media y Distal

Al analizar la LRC de la zona media contra la zona distal, estimulados a 35°C, observamos que no existen diferencias significativas ( $F_{(1,12)} = 1.84613$ ;  $p < 0.05$ ) entre ambas zonas del grupo control durante los días de pruebas (P7-P31; Figuras en Anexo II). De igual manera se observó al comparar la LRC entre la zona media contra la zona distal del grupo Cap ( $F_{(1,12)} = 1.18725$ ;  $P < 0.05$ ) durante los días P7 al P31 (Anexo II). Con estos resultados, observamos que independientemente de la zona de estimulación la LRC es similar.

### Grupos Estimulados a 50°C en la Zona Media y Distal

Al analizar la LRC de la zona media contra la distal, estimulados a 50°C, no se encontraron diferencias significativas en el grupo control ( $F_{(1,12)} = 0.08259$ ;  $P < 0.05$ , Anexo II). De igual manera se observó al comparar la zona media contra la zona distal del grupo Cap ( $F_{(1,12)} = 0.08056$ ;  $P < 0.05$ ; Anexo II); durante los días P7 al P31. Estos

resultados, nos muestra que independientemente de la zona donde se aplique el estímulo, la LRC es similar.

Dado que no se encontraron diferencias en la LRC en relación a la zona de estimulación, se decidió unir los datos de la zona media y distal del grupo control y del grupo Cap.

## **8.6 COMPARACIÓN DE LA LRC EN RELACIÓN A LA EDAD**

### **Desarrollo de la LRC del grupo control y grupo Cap a 35°C**

Para analizar la LRC en relación a la edad, los datos fueron agrupados en días en tercios para su análisis:

El primer tercio representa los primeros tres días de estimulación (P7-P11), el segundo tercio corresponde a los tres días intermedios de estimulación (P17-P21) y el tercer tercio corresponde a los tres últimos días de estimulación (P27-P31).

Este tipo de análisis se realizó con el fin de dejar en claro que es el primer tercio donde se observan las latencias más cortas en todas las pruebas, como se muestra continuación:

Durante el desarrollo, se encontró que al estimular a 35°C, la LRC del grupo control y Cap se incremento en relación a la edad. La LRC del primer tercio de ambos grupos, son más cortas comparada con el segundo y el tercer tercio (Fig. 11 y 12). Hay diferencias significativas en el primer tercio con respecto al segundo y tercer tercio del grupo control ( $F_{(1,2)}= 225.134$ ;  $P<0.0001$ ; Fig. 11), de igual manera fue observado para el grupo Cap ( $F_{(1,2)}= 124.871$ ;  $P<0.0001$ ; Fig. 12). Al comparar el segundo tercio con el tercer tercio, no se encontró diferencias significativas, en ambos grupos.

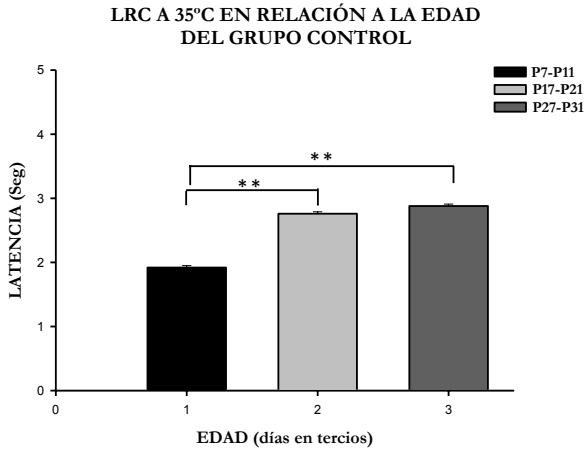


Fig. 11 Diferencias de la LRC durante el desarrollo del grupo Control, observándose LRC más cortas en el primer tercio en comparación con el segundo y tercer tercio ( $F_{(1,2)} = 225.134$ ;  $P < 0.0001^{**}$ ).

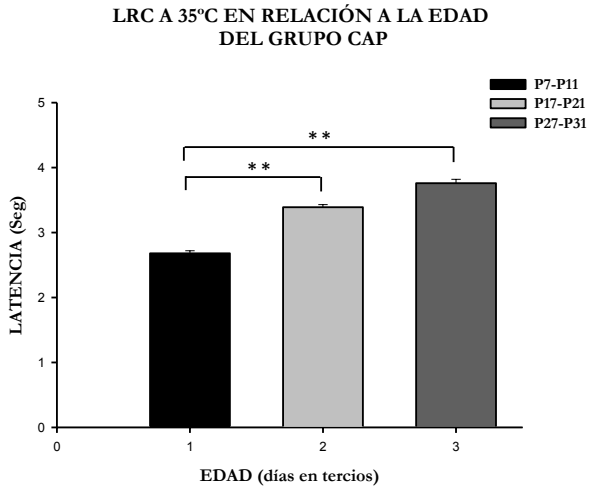


Fig. 12 Diferencias de la LRC durante el desarrollo del grupo Cap, observándose LRC más cortas en el primer tercio en comparación con el segundo y tercer tercio ( $F_{(1,2)} = 124.871$ ;  $P < 0.0001^{**}$ ).

## Desarrollo de la LRC del grupo control y grupo Cap a 50°C

Al igual que en el análisis anterior, se encontró que la LRC se incremento en relación a la edad, al estimular a 50°C; siendo más corta en el primer tercio, que el segundo y el tercer tercio. Existen diferencias significativas al comparar el primer tercio con el segundo y tercer tercio en el grupo control ( $F_{(1,2)}= 120.435$ ;  $P<0.0001$ ; Fig. 13), así como para el grupo Cap ( $F_{(1,2)}= 142.954$ ;  $P<0.0001$ ; (Fig. 14). Pero al comparar la LRC del segundo tercio con el tercero, no se observaron diferencias significativas (Fig. 13 y 14).

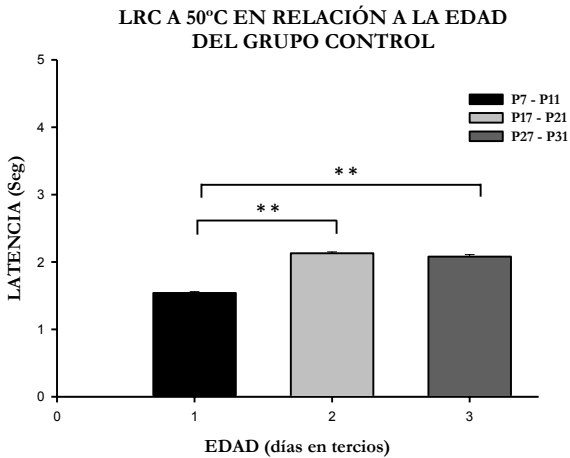


Fig. 13 Diferencias de la LRC durante el desarrollo del grupo Control, observándose LRC más cortas en el primer tercio en comparación con el segundo y tercer tercio ( $F_{(1,2)}= 120.435$ ;  $P<0.0001^{**}$ ).

### LRC A 50°C EN RELACIÓN A LA EDAD DEL GRUPO CAP

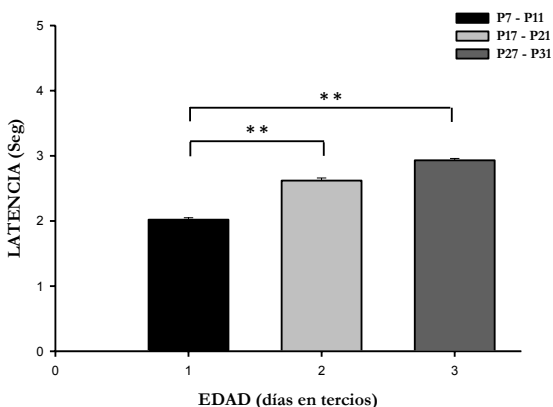


Fig. 14 Diferencias de la LRC durante el desarrollo del grupo Cap, observándose LRC más cortas en el primer tercio en comparación con el segundo y tercer tercio ( $F_{(1,2)}= 142.954$ ;  $P<0.0001^{**}$ ).

Estos resultados nos muestran que en los primeros días de estimulación (P7-P11), los animales son más responsivos a la presencia de estímulos térmicos de 35 y 50°C, presentando latencias más cortas, y al ir creciendo los animales, las latencias se van incrementando hasta que se presenta un plato.

### 8.7 COMPARACIÓN DE LA LRC A DISTINTAS TEMPERATURAS

En relación a la temperatura, se observó que en el grupo control la LRC se incrementa a 35°C en comparación a la temperatura de 50°C ( $F_{(1,12)}= 425.125$ ,  $P<0.0001^{**}$ ). De igual manera, esto fue observado al comparar las dos temperaturas del grupo Cap ( $F_{(1,12)}= 156.145$ ,  $P<0.0001^{**}$ ) donde se observa una LRC mayor a 35°C y menor a 50°C. Las diferencias significativas se observó desde el día que se inicia la prueba (P7) hasta que se concluyó (P31), (Fig. 15 y 16).

Con estos resultados, se observa que las ratas desde edades tempranas son capaces de discriminar las dos diferentes temperaturas.

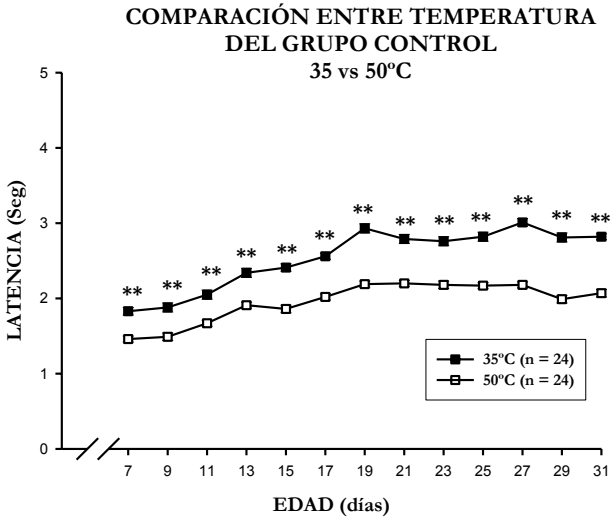


Fig. 15. La LRC a 35°C es mayor con respecto a 50°C en el grupo control ( $F_{(1,12)} = 425.125, P < 0.0001^{**}$ ).

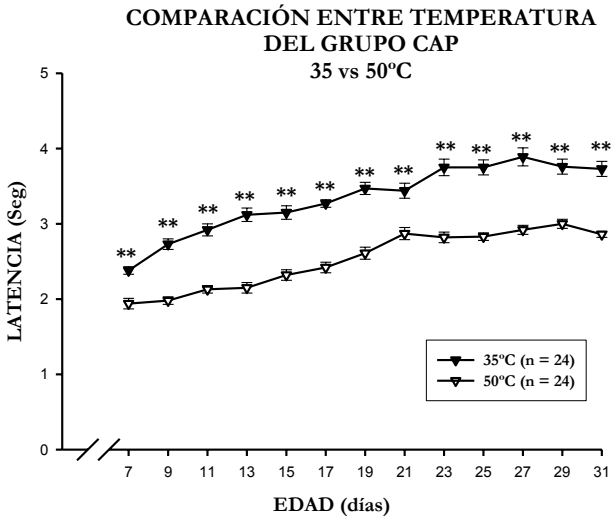


Fig. 16. La LRC a 35°C es mayor con respecto a 50°C en el grupo Cap; ( $F_{(1,12)} = 156.145, P < 0.0001^{**}$ ).



## 8.8 COMPARACIÓN DE LA LRC ENTRE EL GRUPO CONTROL Y CAP

### Grupo Control vs Cap a 35°C

Al comparar la LRC entre el grupo control y Cap, estimulados a 35°C, se observó que la LRC se incrementa en los animales tratados con Cap en comparación con los controles, dichas diferencias se observan desde el inicio de pruebas (P7) ( $F(1,12)=152.304$ ,  $p<0.05$ ) hasta que finalizan las pruebas (P31) (Fig. 17). Con estos resultados observamos que la Cap incrementa la LRC a partir del día P7.

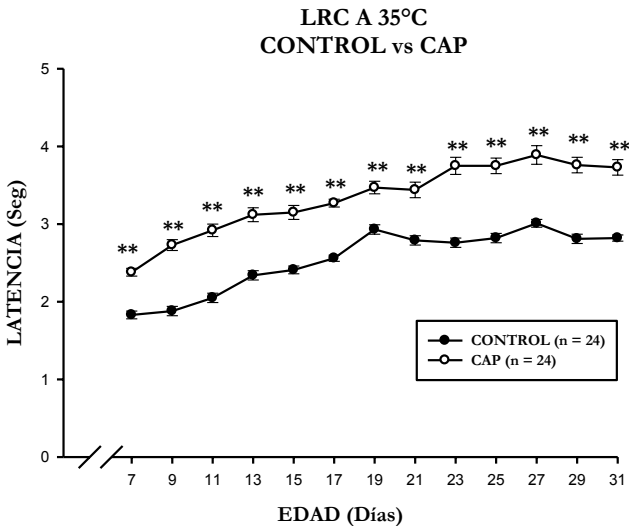


Fig. 17, La LRC se incrementa en los grupos Cap a partir del día P7 en comparación del grupo control, estimulados a 35°C ( $F_{(1,12)}=152.304$ ,  $P<0.0001^{**}$ ).

### Grupo control vs Cap a 50°C

Con respecto al grupo control y Cap estimulados a 50°C, se observó que la LRC se incrementa en los grupos Cap desde que se inician las pruebas (P7) y se mantiene así hasta que se finalizan las pruebas ( $F(1,12)=380.72$ ,  $p<0.0001$ ). Al igual que en el

grupo anterior (35°C), observamos que en este grupo estimulado a 50°C, la Cap también incrementa la LRC desde el día P7 (Fig. 18).

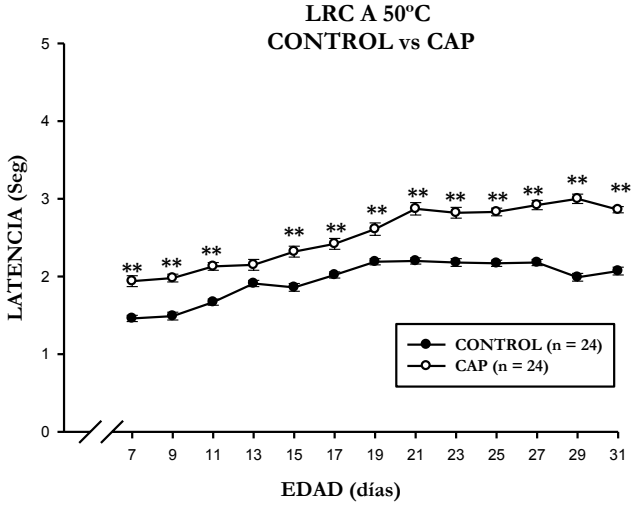


Fig. 18, La LRC se incrementa en los grupos Cap, en comparación del grupo control, estimulados a 50°C ( $F_{(1,12)} = 380.72, P < 0.0001^{**}$ ).

## **9. DISCUSIÓN**

---

### **9.1 LRC EN ANIMALES INTACTOS**

#### **LRC en Relación al Sexo**

En este estudio encontramos que la LRC, al menos hasta el día P31, no está influenciada por el sexo; esto se debe a que la cascada hormonal gonadal aún no está funcionando completamente. Esto es posible ya que se ha reportado que ésta es funcional hasta después del día P35-P45 de vida de la rata; periodo que ha sido marcada como la entrada de la pubertad (Ojeda y Henry, 1994; Morales y cols, 2001); después de este periodo, han reportado que la LRC en ratas hembras se modifica durante las diversas fases del ciclo estral (Cruz, 1995).

#### **LRC en Relación a la Zona de Estimulación**

En este estudio encontramos que al comparar la LRC entre la zona media y distal de la región ventral de la cola, no existen diferencias significativas, independientemente del estímulo aplicado (35 y 50°C). Estos resultados coinciden con lo reportado para la LRC en ratas adultas, donde no hay diferencias entre la zona media y distal de la región dorsal de la cola (Cruz, 1995). Trabajos sobre la LRC durante el desarrollo han encontrado diferencias entre la zona media y distal cuando estimulan la región dorsal a temperaturas que van desde los 40°C hasta 50°C (Fajardo, 2002; Guerrero, 2005); estas discrepancias pueden deberse a cuestiones metodológicas, ya que se ha descrito que cuando se estimula la región dorsal es importante la distancia entre la superficie de la cola y la fuente de calor ya que esta diferencia puede alterar la latencia de respuesta (Valenzuela-Ortega, 2005) cosa que no ocurre al estimular la región ventral. La única diferencia reportada en el animal adulto, entre la región dorsal y ventral, es en cuanto a la dirección hacia donde se mueve la cola, al estimular térmicamente la

región dorsal, el reflejo de retiro se da en todas las direcciones; mientras que en la región ventral, siempre es en dirección contraria a la zona de estimulación (Cleland y Bauer, 2002). Así, la cola normalmente esta sobre el suelo, y por lo tanto, el movimiento de la cola hacia la parte ventral es imposible. Teniendo en cuenta que la cola juega un papel importante en la termorregulación, como fuente de pérdida de calor por radiación (Gordon, 1990) y sirve como un sensor de térmico (como la parte plantar de las patas) por estar la mayor parte del tiempo en contacto con la superficie por donde se traslada (Cleland y Bauer, 2002) presentaría una distribución homogénea de receptores, tanto “A $\delta$ ” como “C”; como se ha reportado para la pata del ratón, donde se reporta que la población de nociceptores de fibras “C” y “A $\delta$ ” es similar entre la superficie plantar, la punta del pie y las almohadillas de la pata (Cain y cols, 2001). Todo esto, nos permite afirmar que independientemente del estímulo térmico nociceptivo que se le aplique en la región ventral de la cola, ésta responde de la misma manera.

### **LRC Durante el Desarrollo**

En relación al desarrollo, la LRC se incrementa con la edad e independientemente del estímulo aplicado (35 y 50°C). Así, la LRC son más cortas en los días P7 al P11, con respecto a los días P17 al P31. Sugerimos que el incremento que se observa en la primera semana y segunda y media, se debe, en parte, a la maduración de los circuitos espinales que ocurren entre la segunda y tercera semana postnatal. Entre ellos esta, la maduración de los sistemas inhibitorios descendientes de los estímulos nocivos difusos, que empieza a partir de P12 y considerándolo maduro hasta P21, como en el animal adulto (Hughes y Barr, 1988; Boucher y cols, 1998; Gilbert y Stelzner, citado por Boucher y cols, 1998). Esta maduración modificaría la integración de información nociceptiva de la LRC, como lo sugirieron los trabajos de Falcon y cols, (1996); Fajardo y cols, (2002); Hassmannová y Rokyta, (2002); Torres, (2004) y de Guerrero, (2005) que reportan que las respuestas nociceptivas son más cortas en los primeros días de estimulación y esta se incrementan paulatinamente conforme avanza el

desarrollo del animal; siendo atribuidos a los cambios espinales locales (mayor número de interneuronas) y supraespinales que son los responsables de modificar la integración de la información nociceptiva. Además, a nivel periférico, hay la reducción de los campos sensoriales de las neuronas aferentes del DRG con relación al crecimiento del animal (Fitzgerald y Jennings, 1999).

Todo esto nos indicaría, que entre las edades P12 y P22 el sistema nociceptivo (periférico y central) tiene su maduración y es donde se observa el incremento de la LRC hasta la llegada al plato o asintota; y se estaría modulando la integración de la información nociceptiva de la LRC, como en el animal adulto.

### **LRC en Relación a la Intensidad del Estímulo**

En este estudio, se observó que la LRC se decrementa al incrementar la intensidad del estímulo, así al estimular a 50°C la LRC es más corta y al estimular a 35°C la LRC es más larga, proponiendo que las ratas neonatas son capaces de discriminar los dos tipos de estímulos térmicos nociceptivos desde edades tempranas (P7); sugiriendo que la información térmica es llevada tanto por las fibras “C” (35°C) como las fibras “A $\delta$ ” (50°C); ya que para esta edad las fibras “A $\delta$ ” maduran y establecen contacto sináptico con las neuronas de la sustancia gelatinosa en transcurso de P1; mientras que las fibras “C” se observan que en el día P5 ya hacen sinapsis en el hasta dorsal (Pignatelli y cols, 1989 citado por Fitzgerald, 1993), aunque con estudios electrofisiológicos, se ha reportado que son funcionales hasta la segunda semana de vida postnatal, día P7 (Park y cols, 1999). Siendo consistentes con los estudios de nocicepción en ratas adultas (Cruz, 1995); y con los estudios sobre el desarrollo y nocicepción, donde también observan esta discriminación de intensidades y sugieren que la información térmica nociceptiva es llevada por fibras “C” y “A $\delta$ ” (Fajardo, 2002; Torres, 2004; y Guerrero, 2005). Así, los estímulos a 35°C activarían a un tipo de nociceptores asociadas a las fibras “C”, las cuales llevan la información a una velocidad lenta (0,5/2 m/s, Kandel, 2001). Esto concuerda con lo reportado sobre los rangos de temperatura de los nociceptores asociados a las fibras “C” en la rata, que llegan a

activarse alrededor de los 35-43 a 45.5°C (Yeomans y Proudfit, 1996). Otros reportan que se activan desde  $32 \pm 2^\circ\text{C}$ , 36, 37 y 47°C (Leem y cols, 1993). En el ratón, los rangos son de 35 hasta 37°C, de 41 y 47°C (Cain y cols, 2001); algunas que inervan la piel con pelo su umbral se extiende hasta los  $37 \pm 1.4^\circ\text{C}$  (Koltzenburg y cols, 1997). En el mono, es entre los 37°C, 44 a 46°C (Treede y cols, 1990). Con estos rangos de temperaturas, nos damos cuenta que existen diferentes nociceptores asociados a las fibras “C” que responden a diferentes intensidades de estímulos térmicos; entre ellos estarían los nociceptores que estarían transmitiendo información de 35°C que ocupamos en este trabajo.

En cuanto al estímulo de 50°C, estarían mediados por los nociceptores asociados a las fibras A“ $\delta$ ”, las cuales llevan información a una velocidad intermedia (4/30 m/s, Kandel, 2001). Como se describe en los trabajos de Yeomans y Proudfit (1996) en rata, donde reportan que las fibras “A $\delta$ ” median los estímulos térmicos de alta intensidad que abarca desde 47 hasta 52° C. Leem y cols, (1993) estudios en rata, reporta que éstas fibras se activan a un rango de temperatura de 47°C, 50 y 52°C; Szolcsanyi y cols, (1988) también reportan que son activados a 50°C; mientras que Cain, (2001) reporta a 53°C. Otros como Fleischer y cols, (1983) reportaron que las fibras “A $\delta$ ” pueden activarse a una temperatura máxima de 55 °C. Sin embargo, hay aquellos que clasifican las fibras “A $\delta$ ” de tipo II que responden entre los 40-42°C y las fibras “A $\delta$ ” de tipo I que responden entre los 51°C (Baumann y cols, 1991). Con todo esto, podemos decir, que las fibras “A $\delta$ ” son los encargados de llevar la transmisión térmica nociceptiva de 50°C y las fibras “C” las encargadas de llevar la transmisión térmica nociceptiva de 35°C.

## **9.2 LRC EN RELACIÓN A LAS FIBRAS SENSIBLES A CAP:**

### **Fibras Sensibles a la Cap en Relación a la Zona de Estimulación**

Al comparar la LRC entre la zona media contra la distal del grupo Cap, no se encontró diferencias significativas desde el inicio de las pruebas. Con esto, la LRC entre la

zona media y distal del grupo Cap se sigue observando igual, es decir, no altera este patrón; por lo tanto en la zona media y distal de la región ventral de la cola debe existir una distribución homogénea de los nociceptores asociados a las fibras “C” y “A $\delta$ ” sensibles a la Cap. Sin embargo, esto no es consistente con el trabajo de Guerrero, (2005) ya que este autor encontró solo diferencias en la zona media y no en la zona distal, cuando estimulo a 40°C. Esto podría deberse a dos causas; primero es que a 40°C se activan tanto fibras “C” como “A $\delta$ ”, y como las fibras “A $\delta$ ” son las menos dañadas por la Cap, los que se activan, estarían enmascarando los efectos de la Cap; y segunda los problemas metodológicos al utilizar el Tail-Flick dorsal (como se describió en párrafos anteriores).

### **Fibras Sensibles a la Cap durante el desarrollo**

En este estudio encontramos que la LRC del grupo Cap, se incrementa durante el desarrollo, siendo más cortas en los días P7-P11 que los días P17 al P31. Con esto, observamos que la LRC ante la aplicación de estímulos nociceptivos se sigue dando, a pesar de la degeneración de las fibras “C” y “A $\delta$ ” sensibles a Cap, donde han reportado que empieza a declinarse después del día P5 (previo a la inyección), pero es más acentuada en el día P15 hasta el día P30 y se mantiene así en el día P60 (Hiura, (2000). A pesar de esta degeneración, las fibras no sensibles a la Cap son suficientes para transmitir la información térmica nociceptiva con forme avanza el desarrollo del animal. Aunque no podemos descartar, que los efectos de la Cap a nivel central, podrían influir en la LRC, ya que se ha reportado que las terminaciones nerviosas centrales son también degeneradas por la Cap; sin embargo esto solo se ha reportado para la rata adulta (Ritter y Dinh, 1988). Así, al ser nada más la parte aferente afectada, los demás procesos intrínsecos del desarrollo, no se ven afectadas por la Cap y por lo tanto no interfieren en el desarrollo de la respuesta nociceptiva.

## **Fibras Sensibles a la Cap en Relación a la Transmisión Térmica Nociceptiva de las fibras “C” y “A $\delta$ ”**

En este estudio, observamos que al estimular a 35 y 50°C la LRC se incrementa en los animales tratados con Cap a partir del día P7 y se mantiene así hasta el P31. Esto nos indica que 5 días después de la aplicación de la Cap, ya esta actuando sobre las fibras “C” y “A $\delta$ ”; al parecer, estas fibras sensibles a Cap presentan un desarreglo morfológico en su terminal nerviosa y axoplasma, el cuál podría reflejar que la entrada de información que es transmitida por ambas fibras (“C” y “A $\delta$ ”) no sea lo suficiente para mantener la LRC iguales al del grupo control durante los primeros días postnatales, y de este modo LRC se lentifique y observemos ese incremento en la LRC desde el día P7. Esto puede ser posible dado a la reducción de la entrada de información dada por la destrucción de las fibras por la Cap estaría retardando la respuesta tal como se observa en los resultados de (Alberts y Brunges, 1978) donde observan que la lesión nasal altera la entrada de información sensorial y modifica la conducta del agrupamiento, durante la etapa postnatal temprana. La neuropatía periférica, el cuál provoca que la propagación del impulso nervioso sea más lenta o se bloquee en las áreas donde se pierde la mielina, o bien, la degeneración axonal que causa insuficiencia en la transmisión nerviosa dando como resultado alteraciones sensitivas, disminución de la capacidad de percepción sensitiva primaria táctil (Hipoestesia), disminución o pérdida de los reflejos de estiramiento muscular (Ramiro y cols, 2002).



## **10. CONCLUSIÓN**

---

### **EN ANIMALES INTACTOS**

- Durante el desarrollo de la LRC (P7-P31), no hay diferencias relacionadas al sexo.
- La LRC es homogénea en toda la región ventral.
- La LRC es dependiente de la edad del animal.
- La LRC es dependiente del estímulo aplicado.
- Los animales neonatos son capaces de reconocer entre dos estímulos térmicos nociceptivos de 35°C y 50°C, desde el día P7.

### **PARTICIPACIÓN DE LAS FIBRAS SENSIBLES A CAP EN LA LRC**

- No existe diferencias en la distribución de fibras sensibles a Cap dadas por el sexo.
- No hay diferencias en la distribución de fibras sensibles a Cap en la región ventral de la cola.
- Las fibras sensibles a Cap no participan en los mecanismos centrales del desarrollo de la LRC.
- Las fibras sensibles a Cap participan en la transmisión térmica nociceptiva de 35 y 50°C.
- La acción de la Cap sobre las fibras sensibles en la LRC se manifiesta a partir del día P7.

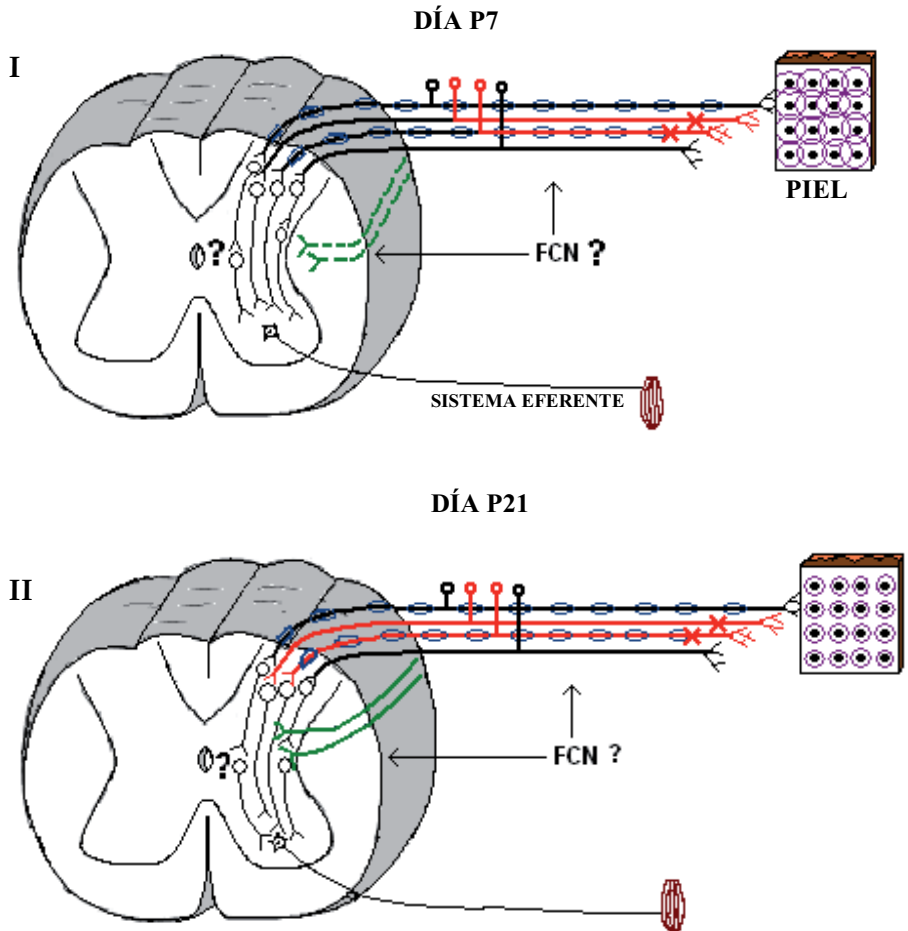
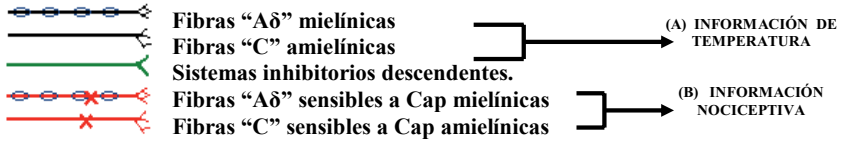
## 11. MODELO TEÓRICO

---

### EFFECTOS DE LA CAP Y PARTICIPACIÓN DE FIBRAS SENSIBLES A CAP EN LA LRC

Bajo circunstancias normales, la transmisión de los estímulos térmicos nociceptivos es transmitida a la médula espinal por las fibras “C” amielínicas y “A $\delta$ ” mielínicas. Lo que nosotros proponemos es que cualitativamente el estímulo esta compuesto de dos tipos de información:

A) Las térmicas llevadas por las fibras aferentes “C” amielínicas y “A $\delta$ ” mielínicas no sensibles a Cap. B) Las nociceptivas llevadas por las fibras “C” amielínicas y “A $\delta$ ” mielínicas sensibles a Cap. Al ser destruidas las fibras sensibles a Cap, solo dejaría a las fibras no sensibles a Cap, lo cuál sería suficiente para que se presenten las respuestas, sin embargo, estas fibras solo transmitirían información de temperatura y como resultado las latencias incrementen desde el día P7 hasta el día P31 (I). Lo que no sabemos es como estaría organizada la microcircuitaria en la médula espinal y como esta participando el factor de crecimiento neural (FCN) sobre las fibras aferentes sensibles y no a Cap (I y II). Aunado a esto, el incremento de la LRC del día P7 hasta P19 que observamos en nuestro resultados, se debe a la maduración de los sistemas inhibitorios descendentes de los estímulos nocivos difusos y a la reducción de los campos sensoriales (I y II). Al llegar al día P21 los sistemas inhibitorios descendentes (que ya están accionando sobre microcircuitaria de la médula espinal) ya estarían modulando la entrada de la información nociceptiva y por lo tanto LRC se mantiene constante (II). Finalmente, en estos mecanismos del desarrollo no participan las fibras sensibles a Cap.



## 12. REFERENCIAS

---

- Alberts J. R., y Brunjes P. C., (1978). Ontogeny of thermal and olfactory determinants of huddling in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*.92, (5): 879-906.
- BÂ, A., y Seri V. B., (1993). Functional development of central nervous system in the rat: ontogeny of nociceptive thresholds. *Physiology & Behavior*, 54 (2):403-405.
- Baumann, T. K., Simone, D. A., Shain, C. N., y LaMotte, R. H., (1991). Neurogenic hiperalgesia: the search for the primary cutaneous afferent fibres that contribute to capsaicin-induced pain and hiperalgesia. *Journal of Neurophysiology*, 66:212-227.
- Boucher, T., Jennings, E., y Fitzgerald, M., (1998). The onset of diffuse noxious inhibitory controls in postnatal rat pups: a C-Fos study. *Neuroscience Letters*, 257: 9-12.
- Bregman, B. S., (1987). Development of serotonin immunoreactivity in the rat spinal cord and its plasticity after neonatal spinal cord lesions. *Developmental Brain Research*, 34(2):245-263.
- Buck, S. H., y Burks T. F., (1986). The neuropharmacology of capsaicin: review of some recent observations. *Pharmacological Reviews*, 38 (3):179-208.
- Cain, M. D., Khasabov S. G., y Simone D. A., (2001). Response properties of mechanoreceptors and nociceptors in mouse glabrous skin: an in vivo study. *Journal of Neurophysiology*, 85:1561-1574.
- Camacho, P. M. A., (1995). Ejecución de conductas termorreguladoras, y la aparición y desarrollo de heridas cutáneas en animales adultos tratados neonatalmente con capsaicina. Tesis de Maestro en Neuroetología, U. V. Xalapa, Enríquez., Veracruz. Pp: 1-109.

- Campbell, J. N., y Meyer, R. A., (1983). Sensitization of unmyelinated nociceptive afferents in monkey varies with skin type. *Journal of Neurophysiology*, 49 (1): 98–110. En: Gentle, M. J., Tilston, V., y McKeegan, D. E. F., (2001). Mechano-thermal nociceptores in the scaly skin of the chicken leg. *Neuroscience*, 106 (3):643-652.
- Caterina, M. J., y Julius, D., (1999). Sense and specificity: a molecular identity for nociceptors. *Current Opinion in Neurobiology*, 9:525-530.
- Caterina, M. J., y Julius, D., (2001). THE VANILLIOD RECEPTOR: a molecular gateway to the pain pathway. *Annual Reviews Neuroscience*, 24: 487-517.
- Caterina, M. J., Rosen, T. A., Tominaga, M., Brake, A. J., y Julius, D., (1999). A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Letters to Nature*, 398 (1):436-441.
- Caterina, M. J., Schumacher, M. A., Tominaga, M., Rosen, T. A., Levine, J. D., Julius, D., (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389 (23):816-824.
- Chad, D., Rasool, C., Bradley, W. G., Good, P., Reichlin, S., (1983). Unmyelinated axon subpopulations in the rat peripheral nervous system. *Neurology*, 33(7):848-852.
- Chapman, C. R., Casey, K. L., Dubner, R., Foley, K. M., Gracely R. H., Reading, A. E., (1985). Pain Measurement: an overview. *Pain*, 22:1-31.
- Constantinou, J., Reynolds, M. L., Woolf, C. J., Safieh-Garabedian, B., y Fitzgerald, M., (1994). Nerve growth factor levels in developing rat skin; upregulation following skin wounding. *Neuroreport*, 5 (17): 2281-2284.
- Cleland, C. L., y Bauer, R. E., (2002). Spatial transformations in the withdrawal response of the tail in intact and spinalized rats. *The Journal of Neuroscience*, 22(13):5265-5270.

- Croze, S., Duclaux, R., Kenshalo, D. R., (1976). The thermal sensitivity of the polymodal nociceptors in the monkey. *The Journal of Physiology*, 263 (3): 539-62.
- Cruz, G. Y., (1995). Estudio del umbral al dolor en la rata hembra. Tesis de Maestro en Neuroetología, Instituto de Neuroetología, U. V., Xalapa Enríquez, Veracruz.
- Danneman, P. J., Kiritsy-Roy, J. A., Morrow, T. J., y Casey, K. L., (1994). Central delay of the laser-activated rat tail-flick reflex. *Pain*, 58(1): 39-44.
- Dedov, V. N., y Roufoglalis, B.D., (2000). Mitochondrial calcium accumulation following activation of vanilloid (VR1) receptors by capsaicin in dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience*, 95(1):183-188.
- Diamond, J., Coughlin, M. D., MacIntyre, L., Holmes, M., y Visheau, B., (1987). Evidence that endogenous NGF is responsible for the collateral sprouting, but not the regeneration, of nociceptive axons in adult rats. *Proceeding of the National Academy of Science*; 84: 6596-6600.
- Dinerstein, A., y Brundi, M., (1998). El dolor en el recién nacido prematuro. *Review Hospital Maternal Infantil, Ramón Sardá*; 17: 97-192.
- Donnerer, J., Amann, R., Schuligoi, R., Skofitsch, G., (1996). Complete recovery by nerve growth factor of neuropeptide content and function in capsaicin-impaired sensory neurons. *Brain Research*, 741(1-2):103-108.
- Dux, M., (1998). Functional anatomy of cutaneous capsaicin-sensitive afferent nerves. *Annals of Albert Sent-Györgyi Medical University*, No. 8; Ph.D. Tesis., Department of Physiology, Szeged, Hungary. Pp.1-51.
- Dux, M., Sann, H., Schemann, M., y Jancsó, G. (1999). Changes in fibre populations of the rat hairy skin following selective chemodenervation by capsaicin. 296: 471-477.
- Fajardo, G. V., (2002). Efecto de la espinalización (T8-T9) sobre el desarrollo de la respuesta al Tail Flick en ratas de la cepa Wistar. Tesis de Maestro en

Neuroetología, del Instituto de Neuroetología, U. V., Xalapa Enríquez, Veracruz.  
Pp: 1-114.

- Falcon, M., Guendellman, D., Stolberg, A., Frenk, H., y Urca, G., (1996).  
Development of thermal nociception in rats. *Pain*, 67 (1): 203-208.
- Fitzgerald, M., (1985). The post-natal development of cutaneous afferent fibre input  
and receptive field organization in the rat dorsal horn. *Journal of Physiology*  
(London), 364:1-18.
- Fitzgerald, M., y Koltzenburg, M., (1986). The functional development of descending  
inhibitory pathways in the dorsolateral funiculus of the newborn rat spinal cord.  
*Brain Research*, 389: 261-270.
- Fitzgerald, M., (1991). A physiological study of the prenatal development of  
cutaneous sensory inputs to dorsal horn cells in the rat. *Journal of Physiology*  
(London), 432: 473-482.
- Fitzgerald, M., y Barbara, P. F., (1992). The physiological properties of developing  
sensory neurons. En: Scott, S. A., (1992) *Sensory neurons, Diversity,  
Development, and Plasticity*. Oxford, USA, Cap14: 287-306.
- Fitzgerald, M., (1993). Development of pain pathways and mechanisms; Chapter 2.  
En: Anand, K.J.S., y McGrath P J., (ed.). *Pain in Neonatos*; Elsevier Science  
Publishers, 5:19-33.
- Fitzgerald, M.; Butcher, T.; Shortland, P., (1994). Developmental changes in the  
laminar termination of A fibre cutaneous sensory afferents in the rat spinal cord  
dorsal horn. *The Journal of Comparative Neurology*, 348 (2):225-233.
- Fitzgerald, M., (1995). Developmental biology of inflammatory pain. *British Journal  
of Anaesthesia*, 75:177-185.
- Fitzgerald, M., y Jennings, E., (1999). The postnatal development of spinal sensory  
processing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 96: 7719-7722.

- Fitzgerald, M., (2005). The development of nociceptive circuits. *Nature Reviews/Neuroscience*. 6, 507-520.
- Fleischer, E., Handwerker, H. O., y Joukhandar, S., (1983). Unmyelinated nociceptive units in two skin areas of the rat. *Brain Research*, 267(1):81-92.
- Ganong, W. F., (1986), *Fisiología Médica*, Editorial: El Manual Moderno, México., pp. 88-93, 307-415.
- Gardner, E.; Martin, J.; Jessell, T. (2001). Los sentidos corporales. En: Kandel, E. R.; Schwartz, J. H. y Jessell, T. M. (Eds.). *Principios de neurociencias*. McGraw-Hill / Interamericana de España. Cuarta edición. Primera edición en español. Impreso en España, pp: 430-450.
- Gilbert, M., y Stelzner, D. J., (1979). The development of descending and dorsal root connections in the lumbosacral spinal cord of the postnatal rat. *Journal of comparative Neurology*, 184 (4):821-838.
- Gopinath, P., Wan, E., Holdcroft, A., Facer, P., Davis, J. B., Smith, G. D., Bountra, C., y Anand, P., (2005). Increased capsaicin receptor TRPV1 in skin nerve fibres and related vanilloid receptors TRPV3 and TRPV4 in keratinocytes in human breast pain. *BMC Women's Health*, 5 (2): 1-9.
- Gordon, C. J., (1989). Thermal biology of the laboratory rat. *Physiology & Behavior*, 47; 963-991.
- Green, B.G. (2004). Temperature perception and nociception. *Journal of Neurobiology*. 61:13-29.
- Guerrero, M. J. F., (2005). Desarrollo de la latencia al retiro de la cola ante estímulo nociceptivo térmico, en ratas tratadas neonatalmente con capsaicina. Tesis de Maestro en Neurootología, U. V. Xalapa, Enríquez, Veracruz. Pp: 1-67.
- Guo, A., Simona, D. A., Stone, L. S., Fairbanks, C. A., Wang, J., y Elde, R., (2001). Developmental shift of vanilloid receptor 1 (VR1) terminals into deeper regions



of the superficial dorsal horn: correlation with a shift from TrkA to Ret expression bay dorsal root ganglion neurons. *European Journal of Neuroscience*, 14: 293-304.

Hari A., Djohar, B., Skutella, T., y Montazeri, S., (2004). Neutrophins and extracellular matrix molecules modulate sensory axon outgrowth. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 22: 113-117.

Hassmannová, J., y Rokyta, R., (2002) the postnatal development of tail-flick latencies to acute and repeated stimulation in the rat. *Experimental Physiology*, 87.1, 63-67.

Hiura, A., y Sakamoto, Y., (1987). Effect of capsaicin on neurites of cultured dorsal root ganglia and isolated neurons of chick embryos. *Neuroscience Letter*, 73: 237-241.

Hiura, A., y Ishizuka H., (1989). Changes in features of degenerating primary sensory neurons with time after capsaicin treatment. *Acta Neuropathologica*, 78: 35-46.

Hiura, A., Nakagawa, H., Koshigae, Y., Yoshizako, A., Kubo, Y., y Ishizuka, H., (1999). Age-related changes in the response to thermal noxious heat and reduction of C-fibers by neonatal treatment with capsaicin. *Somatosensory & Motor Research*, 16(2):115-121.

Hiura, A., (2000). Neuroanatomical effects of capsaicin on the primary afferent neurons. *Arch. Histol. Cytol.*, 63 (3):199-215.

Hughes, H. E., y Barr G. A., (1988). Analgesic effects of intrathecally applied noradrenergic compounds in the developing rat: differences due to thermal vs mechanical nociception. *Developmental Brain Research*, 41:109-120.

Jancsón, G., (1981). Intracisternal capsaicin: selective degeneration of chemosensitive primery sensory afferents in the adult rat. *Neuroscience Letters*, 27: 41-45.

- Jennings, E., y Fitzgerald, M., (1998). Postnatal change in responses of rat dorsal horn cells to afferent stimulation: a fibre-induced sensitization. *Journal of Physiology*, 509.3: 859-868.
- Jiménez, I., (1998). La locomoción en los vertebrados. *Elementos*, 31:25-31.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., y Jessell, T. M., (2001). *Principios de Neurociencias*. Elsevier; London. Pp: 385-399.
- Kenins, P., (1982). Responses of single nerve fibres to capsaicin applied to the skin. *Neuroscience Letters*, 29: 83-88.
- Kessler, J. A., y Black I.B., (1981). Similarities in development of substance P and somatostatina in peripheral sensory neurons: Effects of capsaicin and nerve growth factor. *Neurobiology*, 78 (7): 4644-4647.
- Kim, Y. I., Na, H. S., Han, J. S., y Hong, S. K., (1995). Critical role of the capsaicin-sensitive nerve fibers in the development of the causalgic symptoms produced by transecting some but not all of the nerves innervating the rat tail. *Journal of Neuroscience*, 15 (6): 4133-4139.
- Koltzenburg, M., Stucky, C. L., y Lewin, G. R., (1997). Receptive properties of mouse sensory neurons innervating hairy skin. *Journal of Neurophysiology*, 78: 1841-1850.
- Kruger, L., Siverman, J., Mantyh, P., Sternini, C., y Brecha, N. C., (1989). Peripheral patterns of calcitonin gene-related peptide general somatic sensory innervation: cutaneous and deep terminations. *Journal of Comparative Neurology*, 280: 291-302.
- Lee, S. U., Shen, H., Tagliatalata, G., Cheng, M. J., y Chung, K., (1998). Expression of nerve growth factor in the dorsal root ganglion alter peripheral nerve injury. *Brain Research*, 796: 99-106.

- Leem, J. W., Willis, W. D., y Chung, J. M., (1993). Cutaneous sensory receptors in the rat foot. *Journal of Neurophysiology*, 69(5): 1684-1699.
- Leem, J. W., Willis, W. D., Weller, S. C., y Chung, J. M., (1993). Differential activation and classification of cutaneous afferents in the rat. *Journal of Neurophysiology*, 70 (6): 2411-2424.
- León-Olea, M., (2002). Evolución filogenético del dolor. *Ciencia y Cultura: ELEMENTOS*, México, D. F., 46 (9): 19-23.
- Lepicard, E. M., Renault, P., Pérez-Díaz, F., Joubert, C., Berthoz, A., y Chapouthier, G., (2000). Balance control and posture differences in the anxious BALB/cByJ mice compared to the non anxious C57BL/6J mice. *Behavioral Brain Research*, 117:185-195.
- Lewin, G. R., y Mendell, L. M., (1994). Regulation of cutaneous C-fiber heat nociceptors by nerve growth factor in the developing rat. *Journal of Neurophysiology*, 71 (3): 941-949.
- Lewin, G. R., Ritter, A.M., y Mendell, L. M., (1992). On the role of nerve growth factor in the development of myelinated nociceptores. *The Journal of Neuroscience*, 12(5): 1896-1905.
- Lindsay, R. M., (1988). Nerve growth factor (NGF, BDNF) enhance axonal regeneration but are not required for survival of adult sensory neurons. *The Journal of Neuroscience*, 8: 2394-2405.
- Lynn, B., y Carpenter, S. E., (1987). Primary afferent units from the hairy skin of the rat hindlimb. *Brain Research*, 238: 29-43.
- McGaraughty, S., Chu, K. L., Bitner, R. S., Martino, B., Kouhen, R. E., Han, P., Nikkel, L., Burgard, C. E., Faltynek, C. R., y Jervis M. F., (2003). Capsaicin infused into the PAG affects rat tail flick responses to noxious heat and alters neuronal firing in the RVM. *Journal of Neurophysiology*, 90: 2702-2710.

- Mendell, L. M., y Arvanian, L. V., (2002). Diversity of neurotrophin action in the postnatal spinal cord. *Brain Research Reviews*, 40: 230-239.
- Mendell, L. M., Munson, J. B., y Aranian, V. L., (2001). Neurotrophins and synaptic plasticity in the mammalian spinal cord. *Journal of Physiology*, 533.1: 91-97.
- Meyer R. A., y Campbell, J. N., (1981). Myelinated nociceptive afferents account for the hyperalgesia that follows a burn to the hand. *Science*, 213(4515):1527-1529.
- Miller, M. S., Buck S. H., Sipes, G. I., Yamamura, H. I. Burks, T. F., (1982). Regulation of substance P by nerve growth factor: disruption by capsaicin. *Brain Research*, 250 (1): 193-196.
- Mirnic, K., y Koerber, H. R., (1997). Properties of individual embryonic primary afferents and Their spinal projections in the rat. *Journal of Neurophysiology*, 78:1590-1600.
- Morales, O. A, Ferreira N. A., y Velásquez-Moctezuma, J., (2001). Diferenciación sexual del sistema nervioso central en mamíferos. En: Velásquez-Moctezuma editor. *Biología de la Reproducción II*. UAMI. México, pp. 1-26.
- Muciño, E., Fajardo, V., Camacho, M., y Carrillo, P., (2001). Ontogenia Postnatal de la Nocicepción Térmica; Cap. 7. En: Velázquez J. M., (2001). *Temas Selectos de Neurociencias II*, Edit. Casa Abierta al Campo UAM y PUIS. Primera Edición, México. pp:148 – 162.
- Nagy, J. I., Iversen, L. L., Goedert, M., Chapman, D., y Hunt, S. P., (1983). Dose-dependent effects of capsaicin on primary sensory neurons in the neonatal rat. *The Journal of Neuroscience*, 3 (2): 399-406.
- Nagy, J. I., y Van Der Kooy D., (1983). Effects of neonatal capsaicin treatment on nociceptive thresholds in the rat. *The Journal of neuroscience*, 3 (6): 1145-1150.
- Nagy, I., y Rang, H., (1999). Noxious heat activates all capsaicin-sensitive and also a sub-population of capsaicin-insensitive dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience*, 88 (4): 995-997.

- Nakamura, M., y Bregman B. S., (2001). Differences in neurotrophic factor gene expression profiles between neonate and adult rat spinal cord after injury. *Experimental Neurology*, 169: 407-415.
- Narsinghani, U., y Anand, K. J. S., (2000). Developmental neurobiology of pain in neonatal rats. *Review Laboratory Animal*, 29 (9): 27-39.
- Ness, T. S., Jones, S. L., y Gebhart, G. F., (1987). Contribution of the site of heating to variability in the latency of the rat "tail-flick" reflex. *Brain Research*; 426 (1): 169-172.
- Ojeda, S. R., y Henry, F. U., (1994). Puberty in the rat, chapter 40. En: Knobil, E, y Neill D. J., (1994). *The Physiology of Reproduction*, Vol. 2, second edition, Raven Press, New York. pp: 363-366.
- Otten, U., Lorez, H. P. y Businger, F., (1983). Nerve growth factor antagonizes the neurotoxic action of capsaicin on primary sensory neurones. *Nature*, 301 (10): 515-517.
- Osterweis, M., Kleinman, A., y Mechanic, D., (1987). *Pain and Disability: Clinical, Behavioral and Public Policy Perspectives*. National Academy Press, Washington, D. C. pp. 123-145.
- Park J. S., Nakatsuka T., Nagat K., Higashi H., y Yoshimura M., (1999). Reorganization of the primary afferent termination in the rat spinal dorsal horn during post-natal development. *Developmental Brain Research*, 113: 29-36.
- Patapoutian, A., Peier, A. M., Story, G. M., y Viswanath, V., (2003). ThermoTRP channels and beyond: Mechanisms of temperature sensation. *Nature Reviews*, 4: 529-539.
- Pellicer, F., Picazo, O., y León Olea, M., (2001). Effect of red peppers (*capsicum frutescens*) intake during gestation on thermosensitive response of rat. *Behavioural Brain Research*, 119:179-183.

- Pignatelli, D., Ribeiro-da-Silva, A., y Coimbra, A., (1989). Postnatal maturation of the rat spinal cord. An electron microscope study. *Brain Research*, 491: 33-44.
- Ramiro, M. H., Halabe, J.C., Lifshitz A. G., López, J. B., (2002) *El internista: Medicina interna para internista*. Segunda edición, McGraw-Hill. México, Sección XI, 794-797.
- Ringkamp, M., Peng, Y. B., Wu, G., Hartke, T. V., Campbell, J. N., y Meyer, R. A., (2001). Capsaicin responses in heat-sensitive and heat-insensitive A-fiber nociceptors. *The Journal of Neuroscience*, 21(12):4460-4468.
- Ritter, S., y Dinh, T.T., (1988). Capsaicin-induced neuronal degeneration: silver impregnation of cell bodies, axons and terminals in the central nervous system of the adult rat. *The Journal of Comparative neurology*, 271: 79-90.
- Ritter, A. M., Gary R. Lewin, Norbert E. Kremer & Lorne M. Mendell\* (1991). Requirement for nerve growth factor in the development of myelinated nociceptors in vivo. *Letters to Nature*, 11 (350): 500 – 502.
- Salazar-Olivo, L. A., y Silva-Ortega, O., (2004). Efectos farmacologicos de la capsaicina, el principio pungente del chile. *Biología Scripta*, 1 (1): 7-14.
- Sasamura, T. y Kuraishi, Y. (1999). Peripheral and central actions of capsaicin and VR1 receptor. *Japan Journal of Pharmacology*. 80: 275-280.
- Scadding, J. W., (1980). The permanent anatomical effects of neonatal capsaicin on somatosensory nerves. *Journal Anat.* 131(3): 471-82.
- Schicho, R., Schuligoi, R., Sirinathsinghji D. J. S., y Donnerer, J., (1999). Increased expression of GAP-43 in small sensory neurons after stimulation by NGF indicative of neuroregeneration in capsaicin-treated rats. *Regulatory Peptides*, 83: 87-95.
- Schicho, R., Skofitsch, G., y Donnerer, J., (1999). Regeneration effect of human recombinant NGF on Capsaicin-lesioned sensory neurons in the adult rat. *Brain Research*, 815: 60-69.

- Schicho, R., y Donnerer, J., (1999). Nerve growth factor stimulates synthesis of calcitonina gene-related peptide in dorsal root cells during sensory regeneration in capsaicin-treated rats. *Neuroscience Research*, 35: 183-187.
- Spray, D.C. (1986). Cutaneous temperature receptors. *Annual Reviews of Physiology*. 48: 625-638.
- Ständer, S., Moormann, C., Schumacher, M., Buddenkotte, J., Artuc, M., Shpacovitch, V., Brzoska, T., Lippert, U., Henz, B. M., Luger, T. A., Metze, D., Steinhoff, M., (2004). Expression of vanilloid receptor subtype 1 in cutaneous sensory nerve fibers, mast cells and epithelial cells of appendage structures. *Experimental Dermatology*, 13: 129–139.
- Steen, K. H., Reeh, P. W., Anton F., y Handwerker, O. H., (1992). Protons selectively induced lasting excitation and sensitization to mechanical stimulation of nociceptors in rat skin, in vitro. *The Journal of Neuroscience*, 12: 86-95.
- Svensson, T. H., (1987). Peripheral, autonomic regulation of locus coeruleus noradrenergic neurons in brain: putative implications for Psychiatry and Psychopharmacology. *Psychopharmacology*, 92: 1-7.
- Szabo, T., Biro, T., Gonzalez, A. F., Palkovits, M., y Blumberg, P. M., (2002). Pharmacological characterization of vanilloid receptor located in the brain. *Molecular Brain Research*, 98: 51–57.
- Szallasi, A. y Blumberg, P. (1999). Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharmacological reviews*. 51: 159-211.
- Szolcsanyi, J., Anton, F., Reeh, P. W., y Handwerker, O. H., (1988). Selective excitation by capsaicin of mechano-heat sensitive nociceptors in rat skin. *Brain Research*, 446: 262-268.
- Szolcsanyni, J., (1993). Actions of capsaicin on sensory receptors. En: Wood, J. (ed.), *Capsaicin in the study of pain*. Academic Press, London, pp.1-26.
- Tominaga, M., y Julius, D., (2000). Capsaicin receptor in the pain pathway. *Jpn. J. Pharmacology.*, 83: 20-24.

- Tominaga, M., Caterina, M. J., Malmberg A. B., Rosen, T. A., Gilbert, H., Skinner, K., Raumann, B. E., Basbaum, A. I., y Julius, D., (1998). The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Nueron.*, 21: 531-543.
- Trevisani, M., Smart, D., Gunthorpe, M. J., Tognetto, M., Barbieri, M., Campi, B., Amadesi, S., Gray, J., Jerman, J. C., Brough, S. J., Owen, D., Smith, G. D., Randall, A. D., Harrison, S., Bianchi, A., Davis J. B., and Geppetti, P., (2002). Ethanol elicits and potentiates nociceptor responses via the vanilloid receptor-1. *Nature Neuroscience*, 5 (6): 546-551.
- Torres P. V. R., (2004). Análisis de la Latencia al Retiro de la Cola ante estímulos térmicos nociceptivos (30, 45, y 50°C) en la región ventral, durante el desarrollo de la rata de la cepa Wistar. Tesis de Licenciado en Biología, de la Universidad Veracruzana, Xalapa Enríquez, Veracruz. Pp: 1-53.
- Treede, R. D., Meyer, R. A., y Campbell, J. N., (1990). Comparison of Heat and mechanical receptive fields of cutaneous C-Fiber Nociceptors in monkey. *Journal of Neurophysiology*, 64 (5): 1502-1513.
- Treede, R. D., Meyer, R. A., Raja, S. N., y Campbell, J. N., (1995). Evidence for two different heat transduction mechanisms in nociceptive primary afferents innervating monkey skin. *J. Physiology*, Vol. 483, (3): 747-758. En: Treede R.D., Meyer, R. A., y Campbell, J. N., (1998). Myelinated mechanically insensitive afferents from monkey hairy skin: Heat-response properties. *Journal of Neurophysiology*, 80: 1082-1093.
- Trillo, R., César, M. D., Trillo, A. Ludwig, y Postigo, M., (2001). Dolor y Sistema Inmune. Artículos de Fondo. Boletín del DOLOR - ASPED. Julio / Diciembre 2001. Pp: 1-12.
- Valenzuela-Ortega, R. R., Carrasco, G. A. A., Cuevas, E. Camacho P. M. A., Carrillo, C. P., y Pacheco, C. P., (2005). Análisis de la LRC producida en la rata adulta por estímulos en áreas de distinto diámetro de la cola. Memoria del XLVIII congreso nacional de ciencias fisiológicas. Guadalajara, Jalisco, México. Clave C-227, pp: 62 y 175.
- Van Praag, H., y Frenk, H., (1991). The development of stimulation-produced analgesia (SPA) in the rat. *Development Brain Research*, 64: 71-76.



- Verge, V. M., Richardson, P. M., Wiesenfeld-Hallin, Z., y Hokfelt, T., (1995). Differential influence of nerve growth factor on neuropeptide expression in vivo: a novel role in peptide suppression in adult sensory neurons. *The Journal of Neuroscience*, 15(3Pt 1): 2081-2086.
- Werth, J. L., Usachev, Y. M., y Thayer, S. A., (1996). Modulation of calcium efflux from cultured rat dorsal root ganglion neurons. *Journal of Neuroscience*, 16:1008–1015. En: Dedov, V. N., y Roufoglalis, B.D., (2000). Mitochondrial calcium accumulation following activation of vanilloid (VR1) receptors by capsaicin in dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience*, 95(1):183-188.
- Winter, J., Bevan, S., y Campbell, E. A., (1995). Capsaicin and pain mechanisms. *British Journal of Anaesthesia*, 75:157-168.
- Wood, J. N., y Heath, M. J. S., (2000). Molecules that specify modality: Mechanisms of nociception. *The Journal of Pain*, 1(3): 19-25.
- Wood J. N., y Docherty, R., (1997). Chemical activators of sensory neurons. *Annual Reviews Physiology*, 59: 457–82.
- Yeomans, D. C., y Proudfit, H. K., (1996). Nociceptive responses to hg hand low rates of noxious cutaneous heating are mediated by different nociceptors in the rat: Electrophysiological evidence. *Pain*, 68 (1):141-50.
- Yu, S-M y Lin, K-H. (2002). Morphological alterations in the trachea of capsaicin pretreated rat during postnatal development. *Zoological Studies*. 41:13-22.
- Zhuo, M., y Gebhart, G. F., (1994). Effects of neonatal capsaicin treatment on descending modulation of spinal nociception from the rostral, medial medulla in the rat. *Brain Research*, 645: 164-178.

# I. ANEXO

## LRC en relación al sexo

En las figuras 19 a la 30 del grupo intacto, control y Cap; observamos que al estimular a 35 y 50°C, la LRC entre los machos y hembras, no hubo diferencias significativas en relación al sexo durante los días P7 al P31.

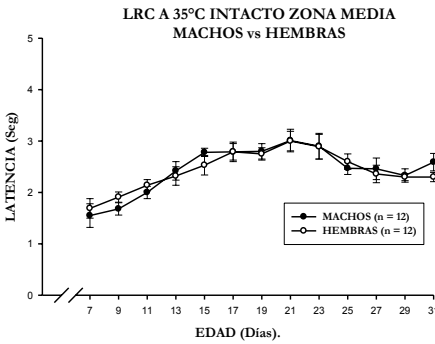


Fig. 19 Grupo Intacto. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona media a 35°C (F (1,12)= 0.03027, p<0.8635).

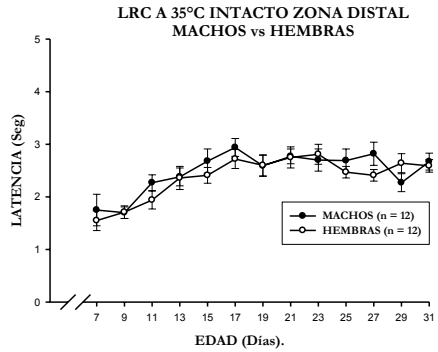


Fig. 20 Grupo Intacto. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona distal a 35°C (F (1,12)=2.11462, p<0.16).

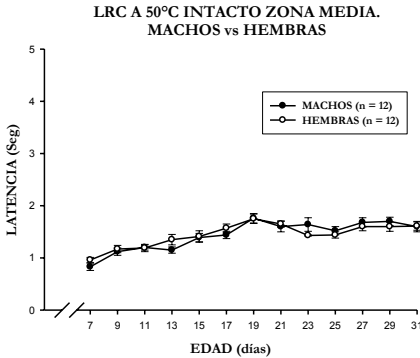


Fig. 21 Grupo Intacto. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona media a 50°C (F (1,12)= 0.03944, p<0.8444).

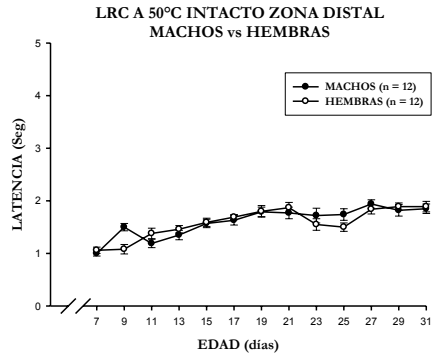


Fig. 22 Grupo Intacto. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona distal a 50°C (F (1,12)= 0.01257, p<0.9117).

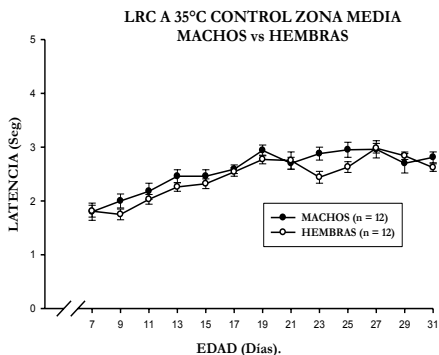


Fig. 23 Grupo Control. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona media a 35°C ( $F(1,12) = 2.97132$ ,  $n < 0.09888$ ).

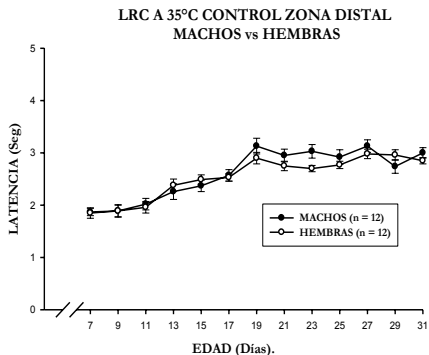


Fig. 24 Grupo Control. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona distal a 35°C ( $F(1,12) = 1.65918$ ,  $n < 0.2111$ ).

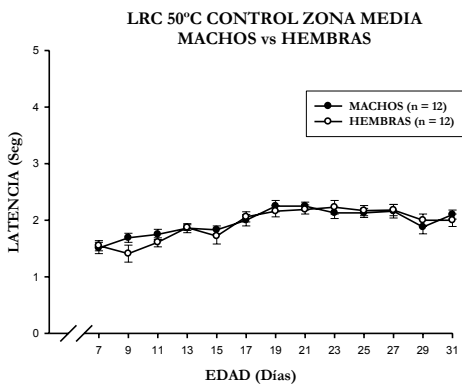


Fig. 25 Grupo Control. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona media a 50°C ( $F(1,12) = 0.047987$ ,  $n < 0.4957$ ).

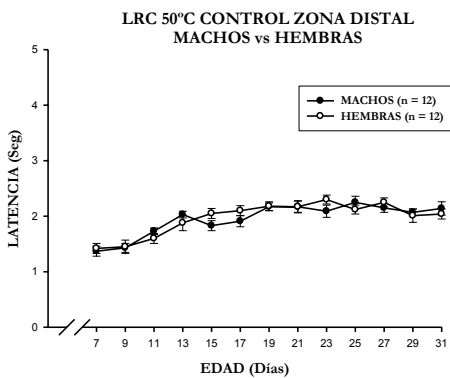


Fig. 26 Grupo Control. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona distal a 50°C ( $F(1,12) = 0.17279$ ,  $n < 0.6817$ ).

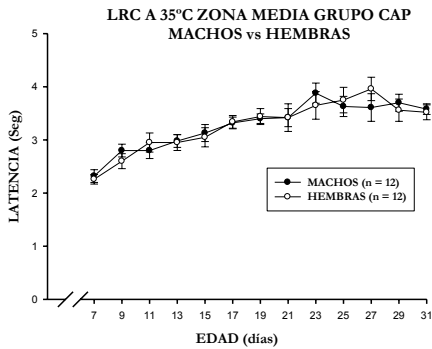


Fig. 27 Grupo Cap. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona media a 35°C (F (1,12)= 0.00405, p<0.9499).

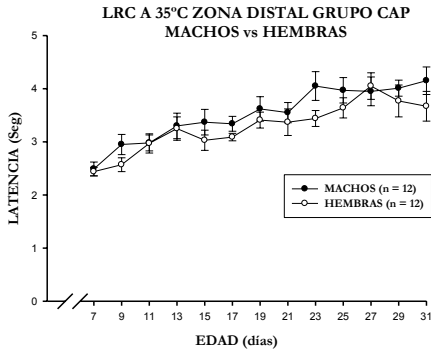


Fig. 28 Grupo Cap. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona distal a 35°C (F (1,12)= 1.46115, p<0.2396).

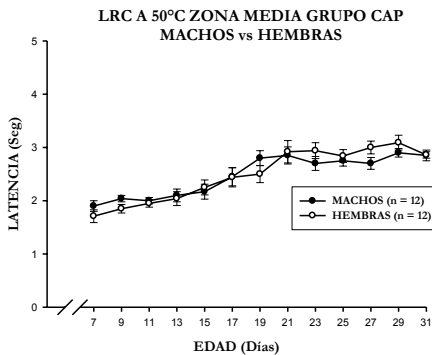


Fig. 29 Grupo Cap. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona media a 35°C (F (1,12)= 0.49909, p<0.4873).

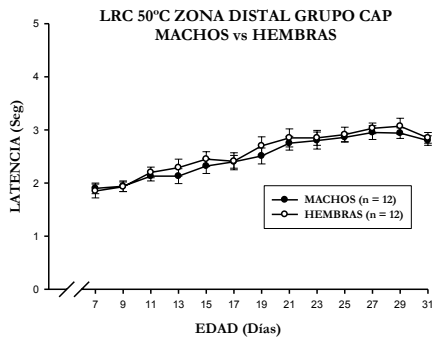


Fig. 30 Grupo Cap. No se observan diferencias entre la LRC de machos y hembras. Zona distal 35°C (F (1,12)= 1.01456, p<0.3248).

Tabla 2. Análisis estadísticos de la LRC entre machos y hembras estimulados a 50°C y 35°C en la zona media y distal de la cola.

GRUPO	TEMPERATURA	ZONA MEDIA Machos vs Hembras		ZONA DISTAL Machos vs Hembras	
		F-Radio	P	F-Radio	P
<b>INTACTO</b>	35°C	0.03027	0.8635	2.11462	0.16
	50°C	0.03944	0.8444	0.01257	0.9117
<b>CONTROL</b>	35°C	2.97132	0.0988	1.65918	0.2111
	50°C	0.47987	0.4957	0.17279	0.6817
<b>CAP</b>	35°C	0.00405	0.9499	1.46115	0.2396
	50°C	0.49909	0.4873	1.01456	0.3248

## II. ANEXO

### GRUPOS ESTIMULADOS A 35°C EN LA ZONA MEDIA Y DISTAL

En las figuras 31 a la 33, observamos que en todos los grupos (intacto, control y Cap) al estimular a 35°C no se encontraron diferencias significativas entre la zona media y distal.

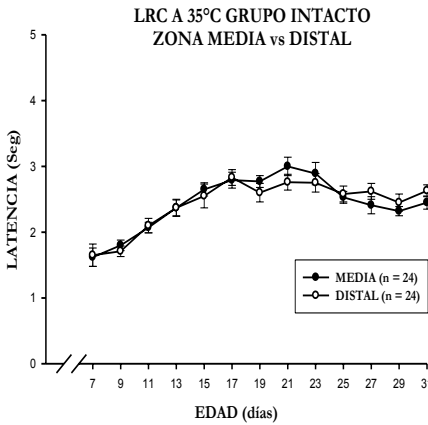


Fig. 31 Grupo Intacto. No hay diferencias entre la zona media y distal a 35°C ( $F(1,12)=0.0128$ ,  $p<0.05$ ).

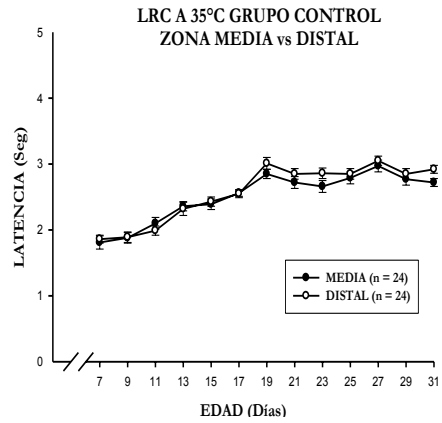


Fig. 32 Grupo Control. No hay diferencias entre la zona media y distal a 35°C ( $F(1,12)=1.84613$ ,  $p<0.05$ ).

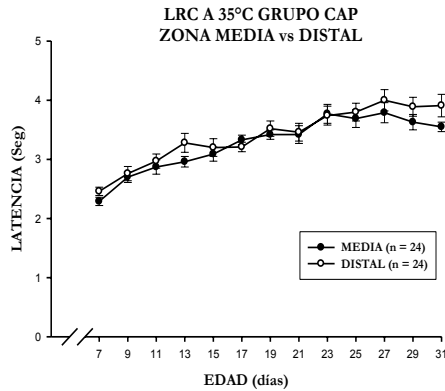


Fig. 33 Grupo Cap. No hay diferencias entre la zona media y distal a 35°C ( $F(1,12)=1.18725$ ,  $p<0.05$ ).

## GRUPOS ESTIMULADOS A 50°C EN LA ZONA MEDIA Y DISTAL

En las figuras 34 a la 36, observamos que en todos los grupos (intacto, control y Cap) al estimular a 50°C no se encontraron diferencias significativas entre la zona media y distal.

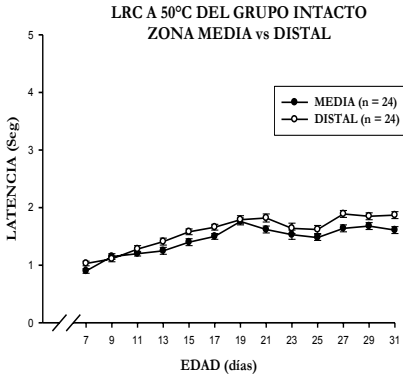


Fig. 34 Grupo Intacto. No hay diferencias entre la zona media y distal a 50°C ( $F(1,12) = 11.1711, p < 0.05$ ).

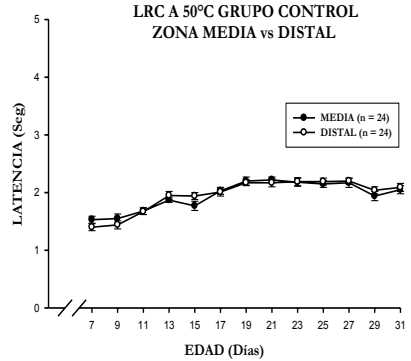


Fig. 35 Grupo Control. No hay diferencias entre la zona media y distal a 50°C ( $F(1,12) = 0.08259, p < 0.05$ ).

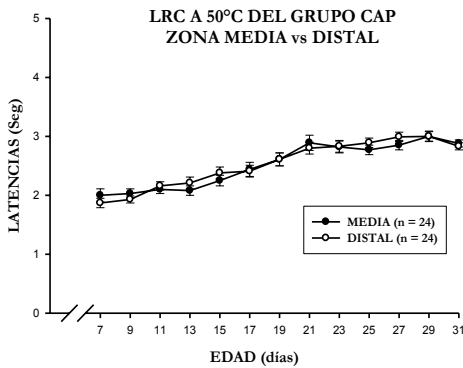


Fig. 36 Grupo Cap. No hay diferencias entre la zona media y distal a 50°C ( $F(1,12) = 0.8056, p < 0.05$ ).

### III. ANEXO

Las figuras 37 a la 40, se observo que al estimular a 35°C y 50°C la LRC se incrementa tanto en la zona media y distal de la cola, en aquellos animales tratados con Cap a partir del día P7 y se mantiene así hasta finalizar las pruebas (P31).

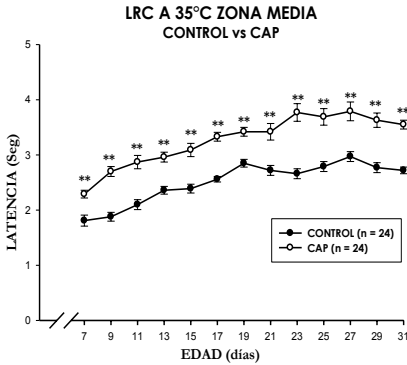


Fig. 37 La LRC de la zona media estimulados a 35°C, se incrementa en los animales con Cap.

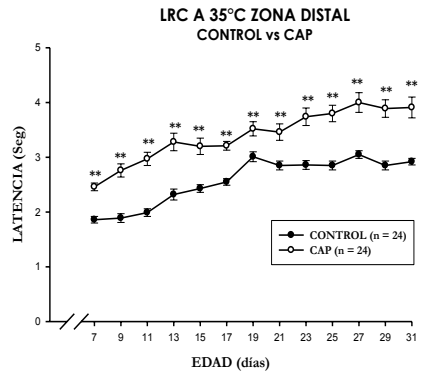


Fig. 38 La LRC de la zona distal estimulados a 35°C, se incrementa en los animales con Cap.

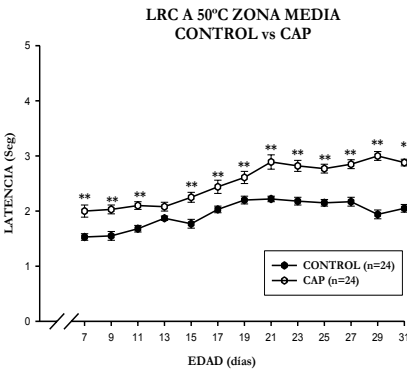


Fig. 39 La LRC de la zona media estimulados a 50°C, se incrementa en los animales con Cap.

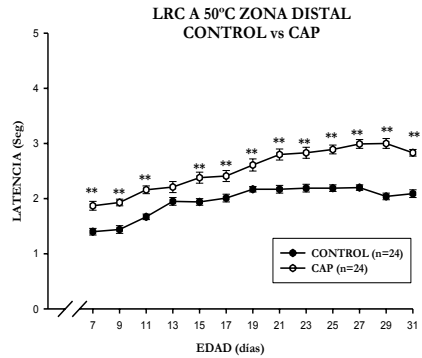


Fig. 40 La LRC de la zona distal estimulados a 50°C, se incrementa en los animales con Cap.







MoreBooks!  
publishing



# yes i want morebooks!

Buy your books fast and straightforward online - at one of world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at

**[www.get-morebooks.com](http://www.get-morebooks.com)**

---

¡Compre sus libros rápido y directo en internet, en una de las librerías en línea con mayor crecimiento en el mundo! Producción que protege el medio ambiente a través de las tecnologías de impresión bajo demanda.

Compre sus libros online en

**[www.morebooks.es](http://www.morebooks.es)**



VDM Verlagsservicegesellschaft mbH

Heinrich-Böcking-Str. 6-8  
D - 66121 Saarbrücken

Telefon: +49 681 3720 174  
Telefax: +49 681 3720 1749

info@vdm-vsg.de  
www.vdm-vsg.de





