

CLÍNICA DEL DOLOR HOSPITAL DOCENTE CLÍNICO QUIRÚRGICO

10 DE OCTUBRE

CENTRO DE QUÍMICA FARMACÉUTICA

**ACTIVIDAD ANTIHIPERALGÉSICA DE LA ELECTROACUPUNTURA Y SU
COMBINACIÓN CON FÁRMACOS INHIBIDORES DE LA SENSIBILIZACIÓN
CENTRAL**

TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO CIENTÍFICO

DE DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS

Autor: Dra. Beatriz Garrido Suárez

Tutores: Dr.Cs. Dra. Fe Bosch Valdés

DrC. Gabino Garrido Garrido

Asesor: DrC. René Delgado Hernández

CIUDAD DE LA HABANA

AÑO 2007

SÍNTESIS

La teoría de la sensibilización central intenta explicar la fisiopatología del dolor neuropático. La electroacupuntura (EA) podría insertarse en su tratamiento. El objetivo del presente estudio fue determinar la actividad antihiperalgésica de la EA a baja frecuencia y su combinación con fármacos inhibidores de la vía glutamato-N metil-D-aspartato (NMDA)-óxido nítrico (NO) en el dolor patológico. Para lo que se estudiaron las puntuaciones diarias medias de dolor (PDMD) y otras alteraciones del procesamiento nociceptivo en pacientes portadores de neuralgia post-herpética (NPH) forma nociceptor irritable tratados con EA a 10 Hz y la combinación EA-ketamina. Así como, la conducta y las concentraciones de los productos de oxidación del NO en un modelo de neuroinflamación inducida por carragenina en ratas concientes y no restringidas, pre-tratadas con EA a 10 Hz y las combinaciones EA-antagonista NMDA y EA-inhibidor de la óxido nítrico sintasa (NOS), para caracterizar su efecto antihiperalgésico térmico en estas condiciones. La EA y la combinación EA-ketamina, mostraron efectos antihiperalgésico, antialodínico mecánico y térmico en la NPH. La forma combinada fue superior a la EA. En el modelo animal se demostró la actividad antihiperalgésica térmica del pre-tratamiento con EA, que fue facilitada por el antagonista de los receptores NMDA. El pre-tratamiento agudo con EA elevó significativamente las concentraciones plasmáticas de nitritos. El inhibidor de la NOS previno el efecto antihiperalgésico de la EA y redujo significativamente las concentraciones de nitritos plasmáticos. El efecto antihiperalgésico del proceder en estas condiciones, pudiera estar mediado al menos en parte, a través de la vía L-arginina-NOS-NO-GMPc.

INDICE

	Pag
INTRODUCCIÓN	1
Hipótesis.....	7
Objetivos.....	8
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
1.1. Dolor. Principios Básicos. Nuevo concepto de Dolor Patológico Mecanismos.....	9
1.1.1. Modulación periférica y sensibilización.....	11
1.1.2. Modulación medular. Plasticidad de los circuitos espinales.....	16
1.1.2.1. Sensibilización central.....	16
1.1.3. Desinhibición o Desequilibrio Inhibición – Excitación.....	23
1.1.4. Reorganización Estructural.....	24
1.2. Neuroinflamación y sensibilización central.....	25
1.3 La Neuralgia Postherpética (NPH). Un problema de salud y un modelo de dolor neuropático indispensable.....	27
1.4. Sobre la neuromodulación electroacupuntural.....	30
2. MATERIALES Y MÉTODO	33
2.1. Estudio Clínico.....	33
2.1.1. Técnica de electroacupuntura (EA).....	34
2.1.2. Diseño del estudio.....	34
2.2. Estudio Preclínico.....	36
2.2.1. Método de aplicación electroacupuntural en ratas.....	36
2.2.2. Evaluación del efecto antihiperalgésico de la electroacupuntura en un modelo de neuroinflamación inducido por carragenina (CA) en ratas. Efecto de la preadministración de un antagonista del receptor N-metil-D-aspartato y un inhibidor de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS).....	37
2.2.2.1. Animales y tratamientos.....	37
2.2.2.2. Modelo del edema de la pata inducido por carragenina.....	38
2.2.2.3. Modelo de dolor nociceptivo con estímulo térmico asociado al de hiperalgesia. Prueba del plato caliente.....	41
2.2.2.4. Preparación de los homogenatos de la pata dañada y cerebro.....	41
2.2.2.5. Determinación de nitratos y nitritos en el sobrenadante de los homogenatos de pata y cerebro y en suero de ratas (Indicador de las concentraciones de óxido nítrico (NO)).....	42
2.3. Análisis Estadístico.....	43
3. RESULTADOS	44
3.1. Resultados Clínicos.....	44
3.1.1. Efecto sobre la variación de la puntuación diaria media de dolor de la de la EA a 10 Hz y la combinación EA-ketamina en pacientes con NPH forma nociceptor irritable.....	44
3.1.2. Efecto de la EA a 10 Hz y la combinación EA-ketamina sobre el área y la intensidad de la alodinia mecánica dinámica en pacientes con NPH forma nociceptor irritable.....	46
3.1.3. Efecto de la EA a 10 Hz y la combinación EA-ketamina sobre la intensidad de la alodinia térmica y la frecuencia del dolor paroxístico al día en pacientes con NPH forma nociceptor irritable.....	47
3.2. Resultados Preclínicos.....	48
3.2.1. Efecto antihiperalgésico de la EA profiláctica a 10 Hz en un modelo <i>in vivo</i> de dolor inducido por CA.....	48
3.2.2. Efecto antihiperalgésico de la EA profiláctica a 10 Hz asociada a un antagonista de los receptores NMDA (ketamina) en un modelo <i>in vivo</i> de dolor inducido por CA.....	49
3.2.3. Efecto antihiperalgésico de la EA profiláctica a 10 Hz asociada a un inhibidor no selectivo de la enzima NOS (L-NAME) a bajas y altas dosis en un modelo <i>in vivo</i> de dolor inducido por CA.....	50
3.2.4. Efecto de la EA y sus combinaciones con ketamina y L-NAME sobre	52

las concentraciones plasmáticas de los productos de oxidación del NO	
4. DISCUSIÓN	54
4.1. Estudios Clínicos.....	54
4.2. Estudios Preclínicos.....	68
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	92
5.1. CONCLUSIONES.....	92
5.2. RECOMENDACIONES.....	94
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
ANEXOS	

INTRODUCCIÓN

El dolor, desde el punto de vista fisiopatológico, puede subdividirse en tres categorías: dolor fisiológico, dolor inflamatorio y dolor neuropático ¹⁻³. El dolor fisiológico es una sensación protectora que alerta de la presencia en el ambiente interno o externo de estímulos nocivos y genera reflejos coordinados y respuestas conductuales que intentan aminorar el daño tisular ^{1,2}. En cambio, tras un proceso inflamatorio o un daño nervioso, se suceden una serie de alteraciones en el sistema somatosensorial que amplifican las respuestas, de tal manera que el dolor puede ser provocado por estímulos inocuos o de baja intensidad ⁴⁻⁶. Este tipo de dolor, denominado clínico o patológico, es expresión de la plasticidad del sistema nervioso, capacidad que poseen las neuronas de cambiar su función, perfil bioquímico o su estructura ⁵⁻⁷. El incremento del dolor en respuesta a la estimulación mecánica o térmica durante la inflamación, depende del aumento de la sensibilidad de los nociceptores aferentes primarios en el sitio dañado y del incremento de la excitabilidad de las neuronas del cuerno dorsal espinal, fenómenos conocidos como sensibilización periférica y central, respectivamente ^{1,2,6,7}. El gas radical libre óxido nítrico (NO, por sus siglas en inglés) ha sido postulado protagónico en ambos procesos, como los receptores de glutamato, en especial el N-metil-D-aspartato (NMDA) ^{1,2,7}. Por otra parte, las citocinas neuroactivas, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α , por sus siglas en inglés), liberadas por las células inflamatorias y las glías, modifican el fenotipo de la neurona bipolar primaria y pueden alterar su acción central en la médula espinal, el resultado final es la amplificación de las respuestas a los impulsos aferentes ^{8,10}.

El dolor neuropático, es un trastorno sensorial desencadenado por alteraciones estructurales o funcionales del tejido nervioso y constituye un estado doloroso crónico ^{1,2}. La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) lo define como el dolor iniciado o causado por una lesión primaria en el sistema nervioso ⁶. Si el daño se produce en la parte periférica del sistema nervioso, específicamente en fibras aferentes primarias, recibe el nombre de dolor neuropático periférico ^{1,2,6}. Si por el contrario, este se genera por daño a la médula espinal, tallo cerebral o alguna región tálamo-cortical, se denomina "dolor central" y es mucho menos frecuente ^{1,6}.

Este es altamente complejo en su expresión clínica, la intensidad varía desde leve, con un grado benigno, hasta extremadamente severo e incapacitante y puede arrastrar al paciente a tendencias suicidas ¹¹. La discapacidad que el dolor neuropático puede generar, es importante y se ha descrito la llamada tríada del dolor (dolor, trastornos de la esfera emocional del tipo ansiedad - depresión y alteraciones del sueño) ^{2,11}. El dolor neuropático es entonces un problema de salud, por el impacto que supone en el consumo de recursos sanitarios y el agravio para la productividad laboral de los individuos afectados que todavía son activos. Según datos del Grupo de Dolor Neuropático de la IASP, se estima que su prevalencia puntual oscila entre 5-7,5 % en la población adulta europea y ocasiona hasta 25 % de las causas de consulta en las clínicas del dolor, cifras que pueden estar subestimadas pues muchos pacientes con dolor crónico no acuden a los centros hospitalarios ^{11,14}. Ejemplos de este tipo de dolor son la neuralgia post-herpética (NPH), el síndrome doloroso regional complejo, el dolor asociado a lesiones medulares, la neuralgia del trigémino, la polineuropatía diabética y en el curso del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) ^{11,12}. Asimismo, los pacientes con cáncer pueden desarrollar dolor neuropático por diversos mecanismos, como la afección directa de los nervios por invasión tumoral, asociado a los síndromes paraneoplásicos o a la terapéutica ¹³.

En especial, la NPH por sus características, se distingue como uno de los dolores neuropáticos más invalidantes y resistentes a las diferentes acciones facultativas ^{3,4}. Esta entidad es particularmente adecuada para la investigación, por su similitud con los modelos animales, en los que se produce un daño bien definido del nervio en una población neuronal específica ¹⁵. Se acepta que la NPH, constituye un buen modelo experimental para evaluar la efectividad de los fármacos frente al dolor patológico de tipo neuropático ³. Es por ello que la Agencia Europea del Medicamento (EMEA, por sus siglas en inglés) la considera, junto a la neuropatía diabética, un modelo obligatorio para estos fines ¹⁶.

Pero los progresos en el tratamiento del dolor neuropático solamente son válidos, si este se orienta más que a la etiología, a los mecanismos de producción de los síntomas, para lo que se requiere una mejor

comprensión de su fisiopatología y herramientas diagnósticas seguras que permitan descubrir los mecanismos que contribuyen al síndrome ^{1,2,13,14}. En ocasiones, un solo mecanismo puede ser responsable de muchos síntomas diferentes y a la inversa, el mismo síntoma en dos pacientes puede ser producido por mecanismos diferentes. De ahí que, en base a la etiología, resulta imposible predecir el mecanismo responsable y diseñar la estrategia óptima para el tratamiento¹⁴. Por otra parte, los fármacos de uso habitual en el tratamiento del dolor, como los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y los opiodes, no son efectivos para su control, aunque un porcentaje de los pacientes se benefician con el uso de opiodes y algunos ensayos clínicos con oxicodona, han quebrado el mito de su resistencia a ellos ^{17,18}.

En los últimos años, han surgido dos grandes corrientes de pensamientos que intentan explicar los mecanismos fisiopatológicos del dolor neuropático. Estas se resumen en la Teoría de la Sensibilización Central y la Teoría de la Generación Ectópica de Impulsos ^{6,13,19}. La primera es la más aceptada y existe un cúmulo de información sobre los mecanismos celulares responsables, que abren múltiples posibilidades de intervención terapéutica, al menos en el campo teórico, para modularla ²⁰⁻²². De esta, surge el interés por el desarrollo de los fármacos neuromoduladores y se inicia una época de activa investigación por parte de la industria farmacéutica, en la búsqueda de compuestos más eficaces dirigidos a estos blancos moleculares ¹⁷. De hecho, el mecanismo de acción de la gabapentina y su sucesor la pregabalina, se centra en la modulación de la liberación de neurotransmisores excitatorios desde las terminaciones centrales nociceptivas al cuerno dorsal espinal, aunque también son capaces de silenciar la generación ectópica de impulsos en los axones periféricos dañados ¹⁶. A pesar de los intentos en el desarrollo de fármacos con actividad sobre el cuerno dorsal espinal hiperexcitable, como los antagonistas de los receptores para glutamato, muchos de los resultados clínicos no son los esperados. Precisamente, para enfrentar esta realidad, los estudiosos del dolor y las organizaciones dedicadas a promover su investigación y terapéutica, en especial la IASP y la Sociedad Española del Dolor (SED), muestran especial interés en el acercamiento de los científicos básicos y los clínicos; pues existe una divergencia entre el desarrollo creciente de la investigación básica y su aplicación clínica ^{5,6}.

Sobre la base de estas tendencias terapéuticas, es que se inserta en el tratamiento del dolor neuropático, la neuromodulación electroacupuntural como técnica reguladora de la bioquímica del cuerno dorsal espinal ²³. Este proceder pudiera ser capaz de antagonizar y prevenir el establecimiento de los cambios del procesamiento nociceptivo, en correspondencia con la experiencia clínica favorable en pacientes con dolor neuropático, a pesar de la antigua creencia de que el estímulo acupuntural no era conducido en un sistema nervioso no íntegro ²⁴. Esta tendencia presumía que los pacientes con polineuropatía no tendrían una respuesta favorable al proceder y los excluía de su posibilidad terapéutica. Estudios recientes en el campo de la electroacupuntura experimental, diseñados en modelos de dolor en circunstancias inflamatorias o de lesión neural, lograron promover un cambio dinámico en los elementos que soportaban científicamente la acupuntura y sus técnicas afines en el mismo sentido que avanza el conocimiento de la biología molecular del dolor ²⁵⁻²⁸. En la actualidad, se reconocen los efectos de la electroacupuntura (EA) sobre los receptores de aminoácidos excitatorios en interacción con el sistema opioide, este último muy bien documentado en estudios previos ^{29,30}. También, se considera la influencia que pudiera ejercer sobre el mecanismo de sensibilización central y la plasticidad neuronal, la actividad sobre la vía L-arginina-NO-guanosina monofosfato cíclico (L-arginina-NO-GMPc), los efectos antiinflamatorios no opioide-dependientes ejercidos a través del control de la liberación de citocinas y neuropéptidos, entre otros ^{27,28}. Todas estas evidencias, sugieren la participación de esta técnica en la regulación de múltiples sistemas biológicos subyacentes en el dolor neuropático. Además, ellas vislumbran la posibilidad de una analgesia balanceada, por medio de la técnica neuromoduladora asociada a fármacos con actividad probada sobre este tipo de dolor, como los antidepresivos tricíclicos, los fármacos antiepilépticos y los antagonistas NMDA ^{17,31}. Los mecanismos sinérgicos y(o) aditivos pudieran lograr mayor efectividad con disminución de los efectos indeseables; pues en muchas ocasiones el fracaso terapéutico se debe a interrupciones en la administración de los fármacos por la repercusión sobre la actividad cognitiva, el aparato cardiovascular, la función hepática, entre otras ¹⁷.

A pesar de la difusión en Cuba y el mundo de la acupuntura y sus técnicas afines, practicada por muchos con efectividad, aún es controversial su mecanismo de acción, considerado por los más

escépticos, de tipo placebo o matizado por cierto misticismo oriental, el que sólo debe relacionarse a elementos histórico-culturales y no a la ciencia ³²⁻³⁴. Por otra parte, a partir de la década del 1970 y más aún en la del 1990, los conocimientos sobre el dolor fisiológico y el patológico han dado un salto importante en la esfera neurofarmacológica ²⁰⁻²². De ahí, que vincular la investigación de las bases neurobiológicas de la acupuntura a estos eventos, es importante para avalar científicamente su integración a la medicina académica en nuestro país y una novedad de este estudio. Cada día, esta técnica se utiliza más extensamente como un proceder de la medicina del siglo XXI, con resultados satisfactorios e inocuidad, pero se hacen necesarios estudios controlados que demuestren su efectividad e investigaciones que expliquen sus heterogéneas acciones, para que pueda ser aceptada por la comunidad científica e incorporada al arsenal terapéutico del dolor neuropático ³⁵⁻³⁷.

El modelo más válido de una enfermedad es la propia enfermedad; o sea, ninguna simulación experimental podrá ser idéntica a la realidad, por más que se reproduzcan las circunstancias que concurren en una determinada situación clínica. Pero, hasta el momento, no existen demasiadas alternativas al estudio de la fisiopatología de las lesiones experimentales en animales, para intentar discernir lo que sucede en las afecciones que sufren los pacientes y el dolor neuropático no escapa a ello. Además, los conflictos éticos de la experimentación en modelos humanos de dolor; así como el carácter invasivo de las determinaciones bioquímicas, son elementos que justifican la utilización de los modelos animales en estos estudios ³⁸. Incluso, la NPH, no cuenta aún con un modelo apropiado que pueda simular la reactivación del virus varicela zoster y la lesión nerviosa resultante ^{38,39}. Bennett y Xie en 1988, describieron un nuevo modelo de dolor neuropático mediante las ligaduras laxas del nervio ciático de la rata, conocido como daño por constricción crónica (CCI, por sus siglas en inglés) ³⁸. La finalidad de este modelo era evitar la axonotomía que se practicaba en modelos anteriores, pues en humanos, la lesión parcial del nervio periférico es la que conduce a los fenómenos de hiperalgesia y alodinia ²⁰⁻²². Existen múltiples modelos de dolor neuropático experimental, este puede ser inducido por lesiones mecánicas, físicas, por alteración metabólica, por neurotoxicidad y por neuroinflamación ³⁸. En la última década, han cobrado interés las posibles interacciones neuroinmunes, que podrían contribuir al dolor neuropático, por lo que se han desarrollado modelos que reproducen situaciones de

inflamación o en los que se administran directamente algunos mediadores de esta ⁸. El adyuvante completo de Freund o la carragenina, inyectados en la vecindad del nervio ciático o sus ramas, la administración endoneural del TNF α y el factor de crecimiento nervioso son los más utilizados ³⁸⁻⁴⁰. La carragenina intraplantar induce inflamación e hiperalgesia térmica y mecánica de forma tiempo dependiente ⁴¹⁻⁴³. Se suceden una serie de complejas reacciones que involucran a múltiples mediadores de células inmunes, una característica inflamación neurogénica y el incremento significativo de las concentraciones de aminoácidos excitatorios, arginina y NO en cuerno dorsal espinal, que traducen su estado de hiperexcitabilidad ⁴²⁻⁴⁴. Además, se describe la existencia de descargas ectópicas y mecanosensibilidad alterada en axones mielinizados no lesionados ⁴⁴⁻⁴⁶, como resultado de la inflamación perineural inducida por la carragenina y en la misma proporción que en los modelos de CCI ⁴⁷⁻⁵⁰. De ahí, que su administración ipl. en vecindad al nervio safeno, sea una alternativa de modelo neuroinflamatorio ⁴⁴.

Sería interesante y novedoso, relacionar el efecto antihiperalgésico térmico de la EA ^{25,26} con las posibles variaciones en las concentraciones de NO, molécula que está involucrada en el proceso de sensibilización central en el modelo y en la NPH ^{15,43}, pues su participación en los procesos de dolor-hiperalgesia y en la mecánica de la EA no está del todo esclarecida ⁵¹⁻⁵⁴. De esta forma, relacionar los efectos clínicos del proceder sobre las alteraciones del procesamiento nociceptivo en la NPH por nociceptores irritables ⁵⁵; con los resultados preclínicos conductuales y bioquímicos, que permitirían explorar la actividad del proceder sobre la vía L-arginina-NO-GMPc en estas condiciones. Sobre la base de las premisas antes señaladas se trazó la siguiente hipótesis de trabajo:

“La EA a baja frecuencia y su asociación al inhibidor de los receptores NMDA, (ketamina), poseen efecto antihiperalgésico en la NPH forma nociceptor irritable, que está mediado por su actividad sobre la vía L-arginina-NO-GMPc”

Para negar o verificar la hipótesis anterior se trazaron los objetivos siguientes:

OBJETIVOS GENERALES

1. Determinar la actividad antihiperalgésica de la EA a baja frecuencia y de su combinación con fármacos inhibidores de la vía glutamato-NMDA-NO en el dolor patológico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el efecto de la EA a baja frecuencia y de su combinación con ketamina sobre la variación de la puntuación diaria media de dolor y otras alteraciones del procesamiento nociceptivo en pacientes portadores de NPH forma nociceptor irritable.
2. Determinar el efecto de la EA a baja frecuencia aplicada con el animal conciente y no restringido y de sus combinaciones con ketamina y L-NAME sobre la hiperalgnesia térmica en las condiciones neuroinflamatorias inducidas por la carragenina en ratas.
3. Caracterizar el posible efecto modulador de la EA a baja frecuencia sobre las concentraciones periféricas, plasmáticas y cerebrales de NO en el modelo de dolor patológico inducido por carragenina en ratas.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Dolor. Principios Básicos. Nuevo concepto de Dolor Patológico. Mecanismos.

El dolor es una vivencia sensorial y afectiva desagradable asociada a lesión tisular real o potencial, que se describe en términos de dicha lesión ^{1,2,21}; así lo definió la IASP en el año 1979; una sensación compleja percibida de manera única por el individuo. Esta definición dinámica está abierta a los cambios plásticos centrales y a los fenómenos de sensibilidad alterada en los circuitos neuronales espinales, que permiten explicar la existencia de dolor aún en ausencia de enfermedad y que son consecuencias de la reacción de las vías nociceptivas, capaces de desarrollar nuevas propiedades en ciertas circunstancias ⁵⁶. En este contexto, surge el concepto de Dolor Patológico, referido a aquel que se establece tras un proceso inflamatorio o el daño nervioso ^{1,2,21}. Estos fenómenos determinan alteraciones en el sistema somatosensorial y causan amplificación de las respuestas e incremento de la sensibilidad a los estímulos periféricos, de tal manera que el dolor puede ser desencadenado por estímulos inocuos o de baja intensidad ²⁰⁻²². Los cambios son mediados por múltiples mecanismos moleculares expresados fisiopatológicamente en el proceso de sensibilización periférica, que involucra a los receptores periféricos en el sitio dañado y el de sensibilización central o hiperexcitabilidad de las neuronas del cuerno dorsal espinal ⁵⁷⁻⁵⁹. Se piensa que los mecanismos periféricos sean preponderantes en las fases tempranas después de un daño tisular y que estas entradas sean las responsables de generar los cambios centrales ²⁰⁻²². Las manifestaciones clínicas de estos procesos son los fenómenos de hiperalgesia y alodinia ^{22,60,61}.

El término hiperalgesia se refiere a un desplazamiento hacia la izquierda en la curva que relaciona la intensidad del estímulo con la sensación dolorosa percibida e incluye a la alodinia cuando el estímulo es de baja intensidad o inocuo ²¹. Hardy y colaboradores definieron la hiperalgesia como un estado de incremento de la sensación dolorosa tanto para los estímulos

dolorosos ordinarios como para los inocuos²⁰. La IASP en 1982 adoptó una nueva taxonomía que distinguía ambos términos y aceptó el concepto hiperalgesia para definir el incremento del dolor producido por estímulos normalmente dolorosos²⁰. Mientras que reconoció a la alodinia como el dolor desencadenado por estímulos inocuos²⁰⁻²¹. Se han descrito dos tipos de hiperalgesia; la primaria que involucra el área de lesión, la cual se explica por los mecanismos periféricos y la secundaria que representa la extensión del dolor más allá del sitio dañado e incluso a áreas distantes y responde a los mecanismos centrales⁶². La primaria, se caracteriza por el incremento de la sensibilidad a los estímulos térmicos y mecánicos, mientras la hiperalgesia secundaria involucra solo el incremento de la sensibilidad a los estímulos mecánicos⁶²⁻⁶⁵. La hiperalgesia térmica puede ser al calor o al frío, en ambas la contribución central está bien establecida, pero los mecanismos periféricos están mejor determinados para la hiperalgesia al calor en humanos^{1,2}. La alodinia mecánica puede considerarse dinámica cuando es provocada por el roce y estática a la inducida por la presión⁵⁷. Se han involucrado en su producción a las fibras A β de umbral bajo en un sistema nervioso central alterado o la reducción del umbral de las terminaciones nerviosas nociceptivas en la periferia^{1,48,57}. En sentido general, se acepta hoy que la hiperalgesia primaria resulta de la combinación de sensibilización de receptores periféricos e hiperexcitabilidad central y que la hiperalgesia secundaria resulta de una alteración en el procesamiento central de las aferencias²⁰⁻²². (Fig.I)

El dolor en los síndromes de dolor neuropático periféricos se manifiesta como dolor independiente del estímulo (espontáneo) y dolor dependiente de este (provocado); este último se caracteriza por la hiperalgesia y la alodinia^{2,57}. El primero puede ser persistente quemante o paroxístico y se considera consecuencia de la actividad espontánea en las fibras C (canales de Na⁺) y por la consiguiente sensibilización central que genera^{20,57}. En un grupo de pacientes, este dolor espontáneo puede depender de la actividad del sistema nervioso simpático. Además, coadyuva a la hiperexcitabilidad, la

reducción del control inhibitorio a nivel del cuerno dorsal espinal, inducida por la lesión neural periférica (desinhibición)⁵⁷.

En condiciones normales cuando se produce daño tisular, entre el sitio activo afectado y la percepción del mismo por el individuo, se suceden una serie de complejos eventos electroquímicos que en su conjunto se denomina nocicepción^{56,66}. Ella, se considera una modalidad sensorial y está constituida por cuatro procesos neurofisiológicos⁶⁶. (Fig.II) La transducción, se refiere al proceso por el cual los estímulos nocivos se transforman en actividad eléctrica (impulsos nerviosos). La transmisión, no es más que la propagación de los impulsos nerviosos a través del sistema sensorial. Esta información puede ser facilitada o inhibida a diferentes niveles de su transmisión a través de diversas influencias neurales, proceso que se ha definido como modulación. Esta puede ser: periférica, medular y supramedular. Finalmente la percepción, mediante la cual los procesos anteriores interactúan con la psicología del individuo, para crear la experiencia emocional subjetiva que se percibe como dolor^{56,66}. En condiciones de inflamación o daño neural, las alteraciones del procesamiento nociceptivo pueden conducir a una situación de dolor persistente, el cual, una vez establecido, es difícil de revertir y la mejor forma de abordar su tratamiento es mediante la prevención^{64,65}. (Tabla I)

1.1.1. Modulación periférica y sensibilización

En los tejidos periféricos se encuentran sustancias activadoras e inhibitoras de los nociceptores, estos poseen un gran número de receptores en sus membranas para interactuar con ellas^{20,21,67}. Del balance entre estas sustancias depende el paso inicial de información nociceptiva al sistema nervioso central^{1,2,57}. Algunas sustancias pueden sensibilizar a los nociceptores, es decir, pueden alterar de manera orquestada las propiedades funcionales intrínsecas de sus membranas, al determinar cambios en las moléculas receptoras o en los canales de Na⁺^{21,67}. Además, inducen cambios transcripcionales en el soma de la neurona primaria, que incrementa la expresión de receptores vainilloides (VR1 o TRPV1), y canales de Na⁺ SNS/SNS2 (específicos de neuronas sensoriales), los cuales son transportados

retrógradamente a las terminales ^{21,67}. También, en estas condiciones, aumenta la expresión de sustancia P (SP) y factores neurotróficos como el factor de crecimiento nervioso y el factor neurotrófico derivado del cerebro, los que modulan los cambios periféricos y también son transportados anterógradamente al cuerno dorsal espinal ^{21,62-64}. El resultado final es un aumento del bombardeo de la aferencia dolorosa. El sistema nociceptivo periférico es sumamente maleable y la plasticidad de la función del nociceptor puede ser el fenómeno que precede y mantiene la plasticidad del sistema nervioso central ^{20,21,67}.

La traducción neurofisiológica de este fenómeno es la reducción del umbral de excitabilidad de estas fibras, el aumento de sus respuestas a los estímulos supraumbrales y el incremento de los campos receptivos ^{1,2}. Además, en estudios recientes se describe la participación de una nueva clase de nociceptores, llamados silentes, que constituyen una fuente extra de entradas nociceptivas (40 % de las fibras C y 30 % de las A δ) ⁶⁶. Los mediadores de la respuesta inflamatoria y los neuropéptidos liberados por la actividad antidrómica de las fibras C, que producen la inflamación neurogénica, son los amplificadores de este proceso ⁶⁵⁻⁶⁸. Dentro de ellos; ión potasio (K⁺), ión hidrógeno (H⁺), adenosín trifosfato (ATP), bradicinina (BK), SP, prostaglandinas (PGs), leucotrienos (LTs), interleucinas (IL-1 β , IL-8), TNF α , serotonina (5-HT), histamina, noradrenalina (NA), NO y péptido relacionado al gen de la calcitonina (PRGC), entre otros ⁶⁸⁻⁷¹. El efecto neto sobre la sensibilidad del nociceptor depende del balance en la concentración de estos mediadores, que pueden provocar sobre-regulación (*up regulation*) o sub-regulación (*down regulation*) de sus receptores ⁶⁶⁻⁷¹. En la periferia, también se encuentran péptidos opioides y citocinas anti-inflamatorias como la IL-10, que antagonizan la sensibilización ⁷²⁻⁷³. Se ha establecido que la regulación funcional de los nociceptores depende del balance entre las concentraciones de adenosina monofosfato cíclico (AMPC) y guanosina monofosfato cíclico (GMPc), respectivos segundos mensajeros del sistema

nervioso simpático y parasimpático, así como de muchos de estos mediadores. El estado de analgesia se restablece con su equilibrio ⁷⁵⁻⁷⁷.

El NO, como mediador de los AINE, desempeña un papel analgésico, a nivel periférico, al aumentar los niveles de GMPc, (vía L-arginina-NO-GMPc), con tendencia al equilibrio ^{72,75}. Esta molécula puede tener acciones paradójicas que dependen de su fuente, la existencia de una familia de genes para las isoformas de óxido nítrico sintasas involucradas, el estado *redox* de las células y su microambiente, su concentración, la posibilidad de difundir y actuar sobre diferentes subpoblaciones neuronales en las que mediante el uso de una misma señal de transducción puede desencadenar efectos opuestos, etcétera ⁷⁸⁻⁸⁰. Durante la inflamación, este radical se libera desde las células endoteliales y(o) terminaciones nerviosas; provoca vasodilatación, altera la permeabilidad vascular y estimula a la ciclooxigenasa-2 (COX-2), a través de IL1 β ⁷⁵. Este es generado por mediadores inflamatorios (SP, BK, 5-HT) y puede aumentar la liberación de PRGC, SP, desde los nervios para autoperpetuar el proceso ^{21,75}. La vía del NO-GMPc, evidentemente, tiene un papel tanto positivo como negativo en la regulación del dolor y la hiperalgesia ^{20,75,80}.

La inflamación dentro del nervio o del ganglio, puede introducir nuevos mensajes químicos que alterarían la función neuronal ⁸¹⁻⁸⁴. Por su importancia en la respuesta neuroinmune, se dedica atención especial al TNF α , que es la principal citocina iniciadora de la cascada de activación de otras citocinas y de factores de crecimiento en la respuesta inflamatoria ^{20,67}. La hiperalgesia experimental depende del receptor TNF α -R1 y se ha descrito su *up regulation* en modelos de CCI ^{21,67}. La aplicación intracráneo de TNF α en ratas normales, produce descargas ectópicas en aferentes primarias A β y C. Esto sugiere la formación de un canal iónico permeable que es incorporado a la membrana ⁴⁴. El TNF α , como parte del microambiente inflamatorio, desempeña un importante papel en el desarrollo de descargas ectópicas y la mecanosensibilidad en el dolor neuropático observado en las neuritis, que pueden ser resultado de la inflamación epineural sola, sin daño franco axonal ^{44,46}. Esta citocina se

considera el mediador principal en la mortalidad inducida por lipopolisacáridos (LPS)^{85,86}. Los monocitos y macrófagos son sus principales fuentes, aunque también se ha publicado su producción por linfocitos, neutrófilos, microglías, queratinocitos, células Kupffer, mastocitos, sinoviocitos, células de Schwann de nervios periféricos lesionados y condrocitos^{86,87}. Las acciones del TNF α están mediadas, al menos, por dos tipos de receptores TNF α -R1 (p55) y TNF α -R2 (p75), los cuales se encuentran situados en la membrana citoplasmática de las células blanco⁸⁸. Con la unión TNF α -receptor comienza el aumento de la permeabilidad de la membrana de dichas células blanco, lo cual continúa con un influjo del calcio extracelular, la activación de la fosfolipasa A₂ (PLA₂) y por tanto, el aumento intracelular de ácido araquidónico y posteriormente de PGE₂^{86,87}.

El TNF α induce la síntesis de IL-1, IL-6, IL-8 y de la SP^{21,67}. También, estimula la síntesis de adenosina, factor de crecimiento nervioso y PRGC^{21,88}. Además, conjuntamente con el interferón γ (IFN γ), amplifica la producción de aniones superóxido por los neutrófilos y la biosíntesis de NO^{86,90}. Se ha comprobado que el TNF α posee acción autocrina, por lo que promueve un aumento de su síntesis en las propias células que lo producen (efecto llevado a cabo por retroalimentación positiva)⁸⁷. Otro de los resultados obtenidos en torno a esta citocina es que ella produce activación e inducción de diversos sistemas enzimáticos de gran importancia en el proceso inflamatorio; así como modulación en la transcripción de genes correspondientes a otras citocinas, como la IL-2, IL-6 y el IFN γ ⁸⁹⁻⁹². Por ello, la toxicidad provocada por el TNF α puede ser atribuida, en parte, a la acción directa de este sobre los tejidos y, además, a la acción de otros mediadores, entre los cuales se destaca el radical NO⁹¹.

Se ha comprobado que el aumento que produce el TNF α sobre la expresión de muchos genes para diversas proteínas y mediadores inflamatorios, está relacionado con la estimulación que produce sobre el factor de transcripción nuclear κ B (NF- κ B)^{91,92}. Este factor constituye un importante promotor en la activación, a nivel transcripcional, de los mecanismos de traducción de señales, que amplifican la acción proinflamatoria del TNF α ^{92,93}. La síntesis del TNF α puede ser regulada a nivel transcripcional por los metabolitos de la vía del ácido araquidónico (los productos de la acción de la COX, PGE₂ fundamentalmente, y la lipooxigenasa, leucotrienos) y el incremento en la acumulación de nucleótidos

cíclicos (AMPc y GMPc), por activación de las vías enzimáticas relacionadas con su generación (adenilato ciclasa y guanilato ciclasa, respectivamente) ^{67,70}. Esta citocina tiene un papel muy importante en la hiperalgesia inflamatoria y neuropática, experimentalmente en la inducida por carragenina y en modelos de dolor neuropático ^{20,21,67}. Su interacción con los receptores de membrana no solo conduce a la activación del NFκB vía sus cinasas inductoras, sino también a la del factor activador de proteína 1 (AP-1), vía JNK y p38 MAPK ⁹⁴. Evidencias acumuladas demuestran su participación en la plasticidad sináptica. El TNFα endógeno puede incrementar la transmisión sináptica a través del incremento de la expresión del receptor de superficie ácido2-amino-3hidroxi-5metil-4isoxazol-propiónico (AMPA), mientras que el exógeno a niveles patológicos en el hipocampo, inhibe la potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés) en los procesos de memorización y aprendizaje vía NFκB ⁹⁴. Sin embargo, la aplicación espinal de TNFα produce LTP de fibras C a nivel del cuerno dorsal espinal en modelos de daño neuropático, donde se encuentran sobre-expresados esta citocina y su receptor TNFα-R1 en neuronas y glías ^{67,94}. La LTP fue prevenida por inhibidores de NFκB, p 38 MAPK y JNK, no sucedió así en ratas sanas ⁹⁴.

1.1.2. Modulación medular. Plasticidad de los circuitos espinales.

1.1.2.1. Sensibilización central

En el cuerno dorsal espinal convergen señales sensoriales nociceptivas somáticas, viscerales y no nociceptivas; su neuroquímica es muy compleja y existen múltiples sustancias de origen proteico, vinculadas a la eficacia de la transmisión sináptica a este nivel: la SP transportada en su mayoría de las bipolares primarias, angiotensina, neurotensina, somatostatina (SOM), péptidos similares a la colecistocinina, como el CCK 8, polipéptido aviario pancreático (APP), factor liberador de tirotrópina (TRH), polipéptido intestinal vasoactivo (PIV), encefalina leucina y encefalina metionina, dinorfina, 5-HT, NA y neurotransmisores derivados de aminoácidos como el ácido gamma amino butírico

(GABA) de naturaleza inhibitoria y la glicina^{20,21,42,56}. Particularmente, los niveles de GABA y glicina son reducidos tras el daño nervioso e incrementados en presencia de inflamación, los receptores GABA_A y GABA_B son claves en el control de los estados dolorosos agudos, neuropáticos e inflamatorios²⁰. Otros aminoácidos, en este caso excitatorios como el aspartato y el glutamato, también se encuentran a este nivel^{95,96}. Ellos favorecen, por mediación de sus receptores inotrópicos AMPA y kainato (KA), a la mayor parte de la transmisión sináptica rápida excitatoria del sistema nervioso central^{97,98}. Por otra parte, los receptores para glutamato, del tipo NMDA y los metabotrópicos (mGluRs), en conjunto con los receptores para neurocininas, (NK1 para SP), producen respuestas más prolongadas^{20,99-103}. Estas desempeñan un papel clave en el inicio y mantenimiento de los cambios en la transmisión sináptica y pueden alterar, prolongar e incrementar la actividad en los circuitos nociceptivos espinales^{20,21}.

Considerados neurotransmisores atípicos, también algunas moléculas de señalización, regulan el estado electroquímico celular adyacente: NO, monóxido de carbono (CO), Zn²⁺ y la D-serina; ésta última, sintetizada por las glías y asociada al glutamato, activa el receptor NMDA ligada al sitio de glicina¹⁰⁴.

El sistema monoaminérgico originado en el tallo encefálico modula la transmisión espinal del dolor y los estados patológicos pueden alterar su control²⁰. Los adrenorreceptores α_2 , no así los α_1 y los β , son importantes en las vías inhibitorias; aún hay gran confusión sobre los efectos relativos de los múltiples receptores serotoninérgicos^{20,105,106}. Las evidencias clínicas indican que el receptor 5-HT con mayor actividad inhibitoria es el 5-HT_{1B/D}, blanco de los triptanes en el tratamiento de la migraña¹⁰⁷. En cambio el 5-HT₃ muestra acciones pronociceptivas en la fibromialgia y en otros dolores neuropáticos^{20,108}. Esto explicaría la mayor efectividad de la amitriptilina que inhibe la recaptación de ambos neurotransmisores, con respecto a los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRIs)²⁰.

Las fibras C son responsables de la generación de potenciales lentos que causan despolarización acumulativa en las neuronas espinales; el bombardeo de la SP y las taquicininas sobre los receptores

neurocinina 1 y 2 (NK1 y NK2) y del glutamato sobre los receptores AMPA, aumentan la excitabilidad de estas células y la concentración intracelular del Ca^{2+} ^{20,57,67}. Entonces, por rechazo electrostático es expulsado el ión Mg^{2+} que en condiciones de reposo mantiene bloqueado el canal del receptor NMDA e impide la acción del glutamato (bloqueo voltaje-dependiente), en estas condiciones la corriente de entrada de Na^+ y Ca^{2+} es elevada ^{1,2,20}. El Ca^{2+} intracelular activa una cascada de segundos mensajeros como la proteína cinasa C (PKC), que fosforila a múltiples proteínas; entre ellas al propio receptor, por lo que se reduce más el bloqueo de Mg^{2+} y aumenta la sensibilidad al glutamato^{1,2}. Garthwaite y colaboradores demostraron la participación del sistema de la NOS, por formación de un complejo Ca^{2+} -calmodulina, el que unido a la NOS, dispara la oxidación de L-arginina a citrulina y se libera NO ^{20,62,72}. Es muy probable que la activación de la guanilato ciclasa inducida por el NO, con incremento consiguiente del GMPc en la médula espinal o el cerebro, sean responsables del efecto hiperalgésico como complemento al efecto glutamato-vía receptor NMDA ⁷². Tres ligandos específicos de importancia para el GMPc serían la proteína cinasa dependiente de GMPc, a la que activa, las fosfodiesterasas y los canales iónicos regulados directamente por este ¹⁰⁹. En los últimos años se han acumulado evidencias sobre el importante papel del NO en la sensibilización central ^{20,67,80}. Estudios inmunohistoquímicos demostraron la presencia de la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS, por sus siglas en inglés) en las dendritas y axones de las neuronas de las láminas I y II del asta dorsal y en el canal central (lámina X) a nivel torácico y cervical ^{72,109}. La administración de antagonistas NMDA inhibe la hiperalgesia producida por la inyección intraplantar de formalina en la rata, así como los cambios electrofisiológicos que se producen en la médula espinal ¹¹⁰⁻¹¹³. También, los inhibidores de la NOS como el metiléster L-N⁶ nitroarginina (L-NAME) y más específicamente, un inhibidor selectivo de la guanilato ciclasa aplicado en un modelo de hiperalgesia por carragenina en ratas ^{43,51,114}. Al parecer, la vía postsináptica receptor NMDA-NO-GMPc está comprometida en el proceso; aunque es de señalar que los efectos *in vitro* del NO, en ocasiones, no se correlacionan con los *in vivo* y existen estudios en los que donores de NO como el nitroprusiato de sodio, muestran actividad antinociceptiva en modelos de hiperalgesia mecánica inducida por PGE_2 y en el modelo de la carragenina, por lo que su papel aún es controvertido ^{72,80,109}.

La forma de respuesta a los estímulos subsiguientes se manifiesta con: a) expansión de los campos receptivos de las neuronas del cuerno dorsal espinal, b) aumento de las respuestas a estímulos supraumbrales, c) caída de los umbrales de activación de estas células, las cuales pueden ser activadas por estímulos no dolorosos y d) modificación del patrón temporal o sea estímulos breves evocarían actividad sostenida. Los cambios se describen en neuronas de amplio rango dinámico (NARD), nociceptivas específicas y en las motoras que median respuestas de retirada ^{20,21,57}.

Si el estímulo periférico continúa por un tiempo, lo que sucede de manera habitual en el daño neural, se inician una serie de modificaciones de comienzo lento, pero larga duración o potenciación a largo plazo (LTP) ¹¹⁵. En este proceso, la molécula pivote es el receptor NMDA como se trató anteriormente y se caracteriza por la hiperexcitabilidad de las neuronas que se proyectan al cerebro o que intervienen en circuitos locales. De manera que la organización entre los circuitos medulares cambia, pierde especificidad y somatotopía y gana en capacidad de respuesta y sensibilidad ⁶⁷.

Se ha comprobado que la estimulación de las fibras C, además de su efecto directo estimulante (Fase I de la respuesta bifásica a la formalina), induce un estado de facilitación central (Fase II), en el cual, las NARD del cuerno dorsal espinal muestran una descarga exagerada para determinado nivel de impulsos de las fibras C. Este fenómeno se denomina *wind up*; o sea, la estimulación periférica repetitiva provoca un progresivo aumento en la respuesta y una descarga continua de las neuronas del cuerno dorsal espinal ²⁰. Algunos autores lo describen como “un proceso de cebado de las neuronas que posteriormente se encienden ^{64,65}.” Este fenómeno, estudiado en modelos animales y en humanos, se correlaciona clínicamente con la sumación temporal del segundo dolor y corresponde a una facilitación homosináptica, que es la manifestación de la remoción, por despolarización sináptica sucesiva

del bloqueo de los receptores NMDA⁶⁵. Los antagonistas de este receptor, de los receptores de NK y la morfina eliminan o reducen este fenómeno^{20,111-113}. Pero los procesos sinápticos que lo generan son rápidamente reversibles, la LTP dura más que el *wind up* y puede ser producida por cargas de impulsos de fibras C. Ambos procesos incrementan la capacidad de respuesta de las neuronas del cuerno dorsal espinal y son la base para el desarrollo de la sensibilización central^{20,57,65}. Esta es más compleja y requiere la participación de otros neurotransmisores, receptores y cascadas de señalización intracelulares, así como de entradas provenientes de varias neuronas; es decir, ella constituye un proceso de facilitación heterosináptica^{20,21}.

El glutamato es el neurotransmisor excitador más importante en el sistema nervioso central e interactúa con varios tipos de receptores⁹⁵⁻⁹⁷. Dentro del grupo de los ionotrópicos (iGluRs) o asociados a un canal iónico, se encuentran los receptores AMPA y los de KA, que se vinculan al Na⁺ y al K⁺ y son fundamentalmente de localización postsináptica^{97,98}. Al interactuar con sus agonistas inducen potenciales excitatorios rápidos que establecen el nivel basal de nocicepción y transmiten fielmente la duración e intensidad del estímulo^{21,97}. El NMDA es otro de ellos, pero se vincula al Na⁺, K⁺ y Ca²⁺ por lo que puede inducir respuestas más prolongadas⁹⁹⁻¹⁰².

El otro gran grupo es el de los metabotrópicos (mGluRs) o asociados a segundos mensajeros. Ellos inducen respuestas más prolongadas y son fundamentalmente presinápticos²⁰. Existen tres grupos de subtipos: Grupo I mGluR1 y R5, Grupo II mGluR2 y R3, Grupo III mGluR4, 6, 7, 8. El mGluR1 se encuentra asociado a la proteína G, que se acopla positivamente a la fosfolipasa C de la membrana y produce hidrólisis de fosfoinosítoles con aumento de la síntesis de inositol 1,4,5 trifosfato (IP3) y 1,2 diacilglicerol (DAG)¹⁰³. El primero se comporta como un receptor endoplásmico que aumenta el Ca²⁺ intracelular y el segundo activa la PKC

e induce cascadas que aumentan el AMPc ²¹. Los de los grupos II y III están acoplados negativamente a la adenil ciclasa a través de la proteína G, reducen la síntesis de AMPc y disminuyen el movimiento iónico por canales dependientes de Ca²⁺. Estos se han estudiado en modelos de esquizofrenia ^{95,96}.

El receptor NMDA está constituido por una proteína de 938 aminoácidos dispuesta en cinco cadenas transmembranales que constituyen sus subunidades: NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D ^{95,99}. Presenta una porción extracelular grande que forma un canal catiónico de alta conductancia, poco selectivo, por donde ingresan el Na⁺, K⁺ y el Ca²⁺, este último activa una cascada de segundos mensajeros que son dependientes del mismo. El receptor posee cinco sitios moduladores, su canal solo funciona en presencia de glicina, por lo que existe un sitio activo para su unión al receptor ^{21,94}. Tiene sitios de unión para sustancias coagonistas como la espermina y la espermedina, el sitio de unión al ión Mg²⁺ que bloquea el canal de forma dependiente del voltaje ^{95,98,99}. Un sitio de unión alostérico para fármacos bloqueadores del canal como la diazocipina, fenciclidina, ketamina y un sitio extracelular para el Zn²⁺, que bloquea la conductancia de manera independiente del voltaje ^{94,95}. Este receptor, también posee localización presináptica y está ampliamente distribuido en las terminaciones nerviosas del hipocampo, donde permite el influjo lento de Ca²⁺ y la liberación de glutamato que desencadena potenciales sinápticos de larga duración involucrados en la memorización, aprendizaje, muerte neuronal, etc ^{94,99,115}.

Existe una interacción entre los receptores para SP y el NMDA, que facilita la liberación del Mg²⁺ a través de la despolarización directa que causa la interacción y por su asociación a la proteína G, que también desencadena la síntesis de IP3 y DAG con el subsecuente aumento intracelular de Ca²⁺ ²¹. (Fig.III)

Los mecanismos moleculares que subyacen en la sensibilización central e hiperalgesia no están del todo aclarados, pero las evidencias indican que el Ca^{2+} intracelular, los sistemas de segundos mensajeros y las proteínas cinasas son protagonistas²⁰⁻²². (Fig. III y IV)

Los neurotransmisores de las neuronas nociceptivas primarias determinan aumento del Ca^{2+} intracelular, también la activación de los receptores NMDA, AMPA/KA, metabotrópicos y NK1¹¹⁶⁻¹¹⁸. La presencia de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje en las neuronas espinales también dan soporte a esta asociación²⁰. En modelos de nocicepción aguda, como la prueba del plato caliente, la administración de Ca^{2+} y sus quelantes o de antagonistas de canales de Ca^{2+} no modifican significativamente la latencia de retirada de la pata (PWL, por sus siglas en inglés) de los animales²¹. Contrariamente, en modelos de dolor persistente como la prueba de la formalina, estos agentes afectan la respuesta comportamental nociceptiva^{20,21}. Además, se conoce que la hiperalgesia es sensible al bloqueo de canales de calcio-dependientes de voltaje (N, L y P/Q)^{20,119}. Específicamente los tipos N y P están involucrados en los estados dolorosos neuropáticos e inflamatorios y se conoce que el daño nervioso induce *up regulation* de la subunidad $\alpha_2\delta$ de estos canales en correlación con la alodinia y al efecto antialodínico que muestra la pregabalina, inhibidor de esta subunidad, en estos estados¹¹⁹.

Se ha propuesto que el NO puede actuar como un transmisor retrógrado y que en conjunto con las PGs, participan en el procesamiento nociceptivo espinal^{21,72}. Asimismo, se ha demostrado la elevación de las concentraciones de PGD₂, PGE, PGF_{2a}, de la COX-2 y del ácido araquidónico en el sistema nervioso central¹²⁰. También, existen evidencias en animales y humanos en las que se confirman los efectos antihiperalgésicos centrales de los AINE durante la inflamación o el daño nervioso¹²¹⁻¹²³. En estas condiciones, el bombardeo nociceptivo periférico incrementa la liberación de glutamato en cuerno dorsal espinal, el cual interactúa con los receptores NMDA postsinápticos, lo que induce entrada de Ca^{2+} , este subsecuentemente determina aumento de NO y PGE₂ por activación enzimática de NOS y PLA₂¹²⁰. El NO producido por la nNOS y la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS, por sus siglas en inglés), difunde fácilmente por las membranas celulares y viaja a neuronas vecinas, glías y a la terminal nerviosa presináptica, donde puede activar sistemas de segundos mensajeros, con el

consiguiente aumento del GMPc que activaría a las proteínas cinasas dependientes de GMPc (PKG) y estas favorecerían la liberación de glutamato ¹⁰⁹. Por otra parte, la PGE₂ puede activar a la adenil ciclasa vía receptor EP₂ y aumentar los niveles de AMPc, el que activaría a sus proteínas cinasas dependientes, como la PKA, la cual induce mayor liberación de glutamato; de esta forma los procesos postsinápticos retroalimentan a los presinápticos y exageran la señal excitatoria en el cuerno dorsal espinal ¹²⁰. El efecto del NO sobre la liberación de glutamato depende de las concentraciones de NO; cuando estas son bajas, hay un decremento de la liberación de glutamato, pese a los niveles elevados de GMPc ¹⁰⁹. Pero cuando el NO incrementa las concentraciones de GMPc el efecto inhibitorio sobre la liberación de glutamato es revertido, esto sugiere que el GMPc presenta efectos bifásicos ¹²⁴.

La PKC, es considerada el punto de convergencia de la activación de muchos de los receptores presentes en el cuerno dorsal espinal; como los receptores NK1, mGlu y EP, acoplados a proteínas G, también los receptores acoplados a tirosina cinasa como el Trk B, para factor de crecimiento nervioso ^{20-22,125}. Además, se conoce que la PKC fosforila a los receptores NMDA, lo cual induce la remoción parcial del Mg²⁺ que no solo aumenta su actividad, sino que como consecuencia incrementa la entrada de Ca²⁺ a la célula y activa a la propia enzima ^{1,2,21}. La vía de las proteínas cinasas, activadas por mitógenos/cinasas reguladas por señales extracelulares (MAPK/ERK), también puede ser controlada por segundos mensajeros como el AMPc, la PKA, el Ca²⁺ y el DAG, a través de pequeñas proteínas G denominadas Ras y Rap 1 ²¹. Sus procesos de fosforilación se incrementan en condiciones nociceptivas y su inhibición puede suprimir la Fase II de la prueba de formalina ²¹. Las MAPK regulan la expresión genética mediante la fosforilación y activación de algunos factores de transcripción como el *c-Myc*, *Elk1*, *c-fos* y *c-jun*, los cuales controlan la transcripción de otros genes y pueden determinar cambios en los receptores para GABA, NK1, TrkB y en sustancias neurotransmisoras (dinorfina, encefalinas, GABA), así como en la inducción de COX-2 en las neuronas de las astas dorsales ¹²⁶⁻¹²⁹.

Además de los dos mecanismos referidos, existen otros que participan en la génesis del dolor patológico; dentro de ellos: el Desequilibrio Excitación-Inhibición o Desinhibición y la Reorganización Estructural ^{1-3,6,57}. (Fig.V, VI,VII)

1.1.3. Desinhibición o Desequilibrio Inhibición-Excitación

El daño del nervio periférico puede causar desinhibición al reducir los receptores GABA-glicina sobre las terminales centrales axotomizadas, con lo que se reduce la inhibición presináptica ^{1,2,20}. También, se reducen estos receptores en las interneuronas inhibitorias y se produce la muerte celular excitotóxica de éstas, mediada por el receptor NMDA en el momento de la descarga lesional ^{1,2,57}. Las aferencias A β , normalmente ineficaces para desencadenar dolor, pueden hacerlo en estas condiciones. La descarga lesional libera glutamato y la persistencia del daño activa genes c-fos, involucrados en la regulación de la transcripción del gen de dinorfina ^{1,2}. La liberación local de dinorfina potenciaría la actividad de los aminoácidos excitatorios a nivel de los receptores NMDA, a su vez facilitados por la SP y el PRGC, que conduce a la hiperexcitabilidad del cuerno dorsal espinal y a la expansión de los campos receptivos ^{21,22,129}. Se ha descrito la *down regulation* de receptores opiodes en estas neuronas, asociada a la sobre-expresión de CCK en las neuronas sensoriales dañadas ^{2,3,56,130}. Además, se observa una densa proliferación glial en la lámina II, que rodea a las neuronas irregularmente en las áreas que anteceden a las terminaciones aferentes primarias, que sugieren su participación en este proceso ¹³¹.

1.1.4. Reorganización Estructural

El daño del nervio periférico determina cambios atróficos y cambios regenerativos en las neuronas sensitivas primarias, que a su vez provocan cambios reorganizativos en sus conexiones centrales ^{2,3,21}. En el caso de los atróficos, se observa la privación de los factores de crecimiento como el factor de crecimiento nervioso, que puede conducir a la muerte neuronal, a la disminución de proteínas citoesqueléticas y a la sub-expresión de los neuropéptidos neuromoduladores excitatorios como la SP y el PRGC ^{1,2,6,57}. A su vez, se observa sobre-expresión de neuropéptidos inhibitorios como tirosina, galanina, CCK, neuropéptido Y (NY), péptido vasoactivo intestinal (PIV) ^{20-22,45}. Estos cambios, pueden explicar algunas características del dolor neuropático como la resistencia a la terapéutica opiode, por sobre-expresión de CCK, reconocido como un inhibidor endógeno de estos péptidos. En complemento, a la disminución de la expresión de los receptores μ opioides en la periferia y sobre las

neuronas del cuerno dorsal espinal¹³⁰. También, la vasodilatación y la inflamación neurogénica en respuesta al daño neural⁴⁵⁻⁴⁷.

Los cambios regenerativos, se caracterizan por la re-expresión de proteínas asociadas al factor de crecimiento nervioso que participan en la regeneración de los axones seccionados^{1,2,57}. Estas moléculas son transportadas por los axones sanos hacia el cuerno dorsal espinal, donde se acumulan en las láminas superficiales^{57,61}. La combinación de los sitios sinápticos vacantes (por los cambios atróficos) y la maquinaria molecular necesaria para el crecimiento neuronal; lleva al brote de ramas del axón terminal desde su sitio normal de terminación hacia nuevas zonas. Las terminales axotomizadas parcialmente de tipo A β , que terminan normalmente en la lámina III, generan brotes desde esta a la lámina II donde hacen sinapsis, este es sitio de fibras C nociceptivas^{1,2,57}. Se ha descrito la expresión de *c-fos* en la zona superficial del cuerno dorsal espinal por estimulación de fibras A β ^{2,20}. Esta reorganización central de las fibras A β , podría ser el soporte anatómico de la alodinia mecánica⁶¹. La lesión nerviosa también determina brotes de fibras simpáticas perivasculares no lesionadas alrededor de neuronas sensitivas axotomizadas en el ganglio de la raíz dorsal, que podría ser el substrato anatómico del dolor simpáticamente mantenido (DSM)⁵⁷. También se ha documentado la expresión de receptores α adrenérgicos en las fibras lesionadas y en las indemnes tras el daño neural^{2,57,62}.

1.2. Neuroinflamación y sensibilización central

En la actualidad, la neuroinflamación ocupa una posición privilegiada dentro del fenómeno de hiperexcitabilidad del cuerno dorsal espinal¹³¹. Los astrocitos y microglías son activados en respuesta a la inflamación subcutánea asociada a hiperalgesia^{131,132}. Estas células están implicadas en la cascada de eventos neuronales espinales, responsables de crear y mantener el dolor que sigue al daño neural periférico y a la inflamación. De donde surge el concepto de “Sinapsis Tetrapartita”, que incluye al astrocito, la microglia y las terminaciones pre y postsinápticas neuronales, como unidad funcional crítica en la generación de estos fenómenos¹³². Son varios los mecanismos por los cuales las glías contribuyen a la hiperexcitabilidad central: a) el incremento de la expresión de inmunomoléculas, su

reclutamiento hacia el sitio del daño y la expresión del receptor *Toll-like 4* (TLR-4, por sus siglas en inglés), se implican en la iniciación de la hiperexcitabilidad en la microglia^{131,132}; b) el aumento de la expresión de antígenos de superficie como el CR3/CD11b, que son considerados marcadores de daño y estrés del SNC¹³²; c) la liberación de mediadores inflamatorios (IL-1 β , IL-6, TNF α , IFN γ) y(o) citotóxicos como proteasas, especies reactivas de O₂ y NO^{133,134}, d) la participación de las glías en la regulación de la homeostasis iónica extracelular (iones Ca²⁺ y K⁺); específicamente, los astrocitos que son los encargados de la amortiguación del K⁺ en el sistema nervioso central, de ahí su responsabilidad crítica en el control de la excitabilidad neuronal¹³⁵⁻¹³⁷. e) La movilización de Ca²⁺ mediada por el grupo astrocítico I mGIRs, involucrada en la LTP y favorecedora la plasticidad sináptica. Además, la salida del Ca²⁺ de los almacenes internos en los astrocitos regula la liberación de los neurotransmisores^{132,137}. f) El detrimento de la regulación astrocítica sobre los niveles extracelulares de glutamato, que en condiciones normales se logra mediante su aclaramiento por los transportadores de alta afinidad (GLT-1 y el GLAST). Se ha descrito la reducción de los niveles del transportador GLT-1, este es responsable del 90% del aclaramiento del glutamato. El fenómeno puede ser mediado por el TNF α y la IL-1 β que se liberan en el propio astrocito¹³²⁻¹³⁴. Se produce una verdadera recaptación aberrante y(o) liberación del glutamato por el astrocito que puede contribuir a la desregulación sináptica^{138,139}. g) La expresión de bajos niveles del GLT-1 en los astrocitos, conduce a su mal funcionamiento como sensores metabólicos. Podrían así, no detectar el incremento de los requerimientos energéticos de las neuronas glutamatérgicas y tendrían mayor riesgo de daño excitotóxico¹³². h) La liberación astrocítica de glutamato de modo vesicular y no vesicular, en respuesta a varias señales (ATP, PGs) puede exacerbar la excitación^{131,132}. i) La síntesis y liberación de D-serina, un novedoso enantiómero de la L-serina, el cual actúa sobre el sitio de glicina del receptor NMDA con mayor afinidad que la propia glicina e incrementa la transmisión glutamatérgica. La serina racemasa, enzima necesaria para la conversión a D-serina se encuentra exclusivamente en las células gliales del cerebro¹³². j) El astrocito y la microglia contactan físicamente con la terminal sináptica, pueden así, estimular y(o) sensibilizar a las neuronas directamente¹³².

El factor neurotrófico derivado del cerebro pudiera ser la molécula de señalización pronociceptiva cardinal entre microglías y neuronas ¹⁴⁰. Otra alternativa reconocida recientemente para la activación glial por el daño periférico, es la interacción de la fractalcina con su receptor CXCR1, quimiocina del sistema nervioso central que se encuentra sobre-expresada en las microglías espinales ¹⁴¹.

1.3. La Neuralgia Post-herpética. Un problema de salud y un modelo indispensable de dolor neuropático.

El herpes zoster (HZ), es el resultado de la reactivación del virus Varicela Zoster (VVZ), un miembro de la subfamilia alfa de los herpes virus ^{3,4,142}. Al producirse la replicación viral y su movilización antidrómica a lo largo del nervio sensitivo hacia la piel, se origina una erupción vesículo-papular circunscrita a una o más metámeras y unilateral. Se localiza con preponderancia en los dermatomas torácicos y trigeminal. La evolución es espontánea hacia la formación de costras y la cicatrización ¹⁴². Los nervios periféricos afectados muestran desmielinización, degeneración Walleriana, fibrosis e infiltración celular ^{3,15}. A nivel del ganglio de la raíz dorsal, la inflamación y la hemorragia conducen a su necrosis, incluso también a la del cuerno dorsal espinal, las leptomeninges adyacentes, tálamo y la corteza sensorial ^{3,4,15}.

La transición del HZ a neuralgia postherpética (NPH), se produce, cuando el dolor en el área afectada por el HZ persiste durante más de 3 meses después de la formación de costras en las lesiones cutáneas ^{3,4}. El forum internacional para el tratamiento del herpes ha introducido el nuevo término de “Dolor asociado a Zoster” (DAZ), que considera unidos el HZ y la NPH en un parámetro de evolución, que mide los días de dolor asociado al HZ. Este comienza, con la aparición de la erupción y finaliza cuando el dolor desaparece por completo o alcanza un nivel mínimo predefinido ^{3,4}. La NPH es la complicación más frecuente, se estima que esta podría presentarse en 10 % de la población general que desarrolla el HZ, seguida por las complicaciones oculares (1,9 %) y el déficit motor (1 %) ^{3,142}. La IASP define a la NPH, como el cuadro doloroso que permanece tras desaparecer las vesículas del episodio agudo del HZ, pasadas 8-12 semanas ^{3,4,143}. Los hallazgos más sobresalientes son dolor quemante, deficiencia sensorial, alodinia e inestabilidad autonómica y se relaciona directamente con la

edad del paciente ^{142,143}. Esta complicación ha sido observada en 50 % de los pacientes mayores de 60 años y en 75 % de los mayores de 70 años. En la población de más de 80 años alcanza 80 %. Este hecho se ha explicado, por la declinación gradual de los anticuerpos generados en la primoinfección y la reducción significativa en esta etapa de las sinapsis axo-axónicas, que participan en la inhibición segmentaria de la transmisión nociceptiva ¹⁴³. En Cuba, la esperanza de vida se ha incrementado y las personas de la tercera edad son una población de riesgo cada vez más numerosa, de ahí que la NPH pueda constituir un problema de salud. También, la diabetes mellitus y la forma clínica de localización oftálmica parecen estar relacionadas a esta complicación ¹⁴³. Bruxelle y colaboradores, demostraron que la severidad de la erupción inicial del HZ era independiente de la NPH y de las deficiencias neurológicas; en cambio, al parecer, existía una correlación con la severidad del dolor inicial ^{3,4,143}. Además, se reconoce la predisposición genética para desarrollar NPH, algunos estudios describen su correlación con los genes de histocompatibilidad humana y una alta frecuencia de los alelos A33 y B44 ¹⁴⁴. El hallazgo apoya la idea de que en estos pacientes subyacen sistemas inmunológicos con mayor sensibilidad para desarrollar la NPH.

Según estudios recientes, los pacientes que desarrollan NPH se agrupan en tres subtipos: El grupo nociceptor irritable (con intenso dolor, pérdida sensorial mínima o nula y alodinia), grupo deaferentado no alodínico (con pérdida sensorial marcada sin alodinia) y el deaferentado alodínico (con pérdida sensorial y alodinia) ^{3,15}. Esta heterogeneidad clínica, determinada por la heterogeneidad de mecanismos fisiopatológicos involucrados, que además, pueden coexistir en un mismo paciente, origina que la respuesta al tratamiento también muestre una significativa falta de homogeneidad ^{3,31}. Hay autores que, basados en la variabilidad de patrones fisiopatológicos que subyacen en este cuadro clínico, plantean que la NPH podría sistematizarse como varias patologías. También puede desarrollarse un tipo de NPH en el curso de la evolución de otra ¹⁵.

En general se acepta, que en el grupo “nociceptor irritable” se presenta una mínima deaferentación. El daño parcial de los nervios periféricos produce sensibilización y actividad espontánea de las aferentes primarias. Las descargas procedentes de éstas, sensibilizan a las neuronas de transmisión del sistema

nervioso central. De ahí que, la infiltración con anestésico local de la zona primaria, al bloquear la conducción de los nociceptores, reduzca el área de hiperalgesia secundaria que requiere de continuas descargas periféricas para su mantenimiento ^{15,55}. Además, la sensibilidad adrenérgica en las fibras dañadas e indemnes y en el ganglio de la raíz dorsal, como parte del proceso de regeneración, contribuye a la hiperalgesia en esta forma clínica ⁵⁵. Se ha descrito, que en ausencia de daño neural la inflamación crónica y/o la permanencia de la expresión del VVZ, podría producir un tipo de NPH nociceptor irritable, por sensibilización y actividad anormal en el sistema de la aferente primaria ¹⁵. Algunos investigadores demostraron la presencia de infiltrados inflamatorios en el ganglio de la raíz dorsal y el nervio periférico después de 1 a 2 años del HZ e incluso con un bajo nivel de virus ^{3,15}.

La minoría, 15 % de estos pacientes, constituyen el grupo deaferentado sin alodinia ¹⁵. Ellos, presentan una profunda pérdida de todas las modalidades sensoriales. La infiltración con anestésico local no ofrece mejoría, pues los receptores periféricos están desconectados de sus centros. Se desconoce el mecanismo del dolor en estos pacientes, este podría ser expresión de la hiperexcitabilidad central inducida por la deaferentación y del desequilibrio inhibición/excitación debido a la pérdida predominante de fibras Aβ inhibitorias o de interneuronas inhibitorias del sistema nervioso central ^{15,57}. Un tercer grupo incluye a los pacientes con deaferentación y alodinia. El dolor se presenta a causa de la reorganización central ^{2,3,57}. Los pacientes presentan una significativa deficiencia térmica, pero también alodinia importante ^{2,3,15}. Otra explicación podría ser, que las fibras aferentes primarias con escasa conexión a la piel, podrían estar aún conectadas con su objetivo central, similar al neuroma ^{1,15}. Los nociceptores C que adquieren actividad espontánea, podrían generar sensibilización central. También, podrían existir islas de nociceptores conservados en una región deaferentada ¹⁵.

1.4. Sobre la neuromodulación acupuntural

La actividad del sistema opioide es un fenómeno bien documentado durante la acupuntura, sus efectos son atenuados por la administración sistémica y la microinyección intracerebroventricular (i.c.v.) de antagonistas de receptores opiodes ¹⁴⁵⁻¹⁴⁹. También, se describió el incremento de péptidos opiodes en el líquido cerebroespinal de humanos tras su

aplicación y la localización adyacente de neuronas con reactividad a proteína Fos y neuronas betaendorfínicas positivas en el lóbulo anterior de la hipófisis en ratas sanas. Estos hallazgos, sugieren la activación del sistema opioide por la acupuntura ²⁸. Pero otros sistemas biológicos están involucrados en sus mecanismos de acción y en los de su versión moderna, la EA, en especial en sus efectos prolongados ^{28,150,151}. Después de la integración de los resultados de estudios realizados por múltiples investigadores sobre el NO, que culminó con el reconocimiento de la neurotransmisión nitrinérgica y que constituyó un nuevo paradigma para las neurociencias; no se ha cesado en la búsqueda de las funciones de esta molécula, de los mecanismos de transducción que utiliza como señal biológica y sus implicaciones fisiológicas ^{109,152}. La neuromodulación acupuntural, como técnica manipuladora del sistema nervioso central desde la periferia, no pudo ser excluida y en el año 2003 se diseñó un experimento en la Universidad de California con el fin de detectar las concentraciones de NO en los acupuntos de los diferentes meridianos clásicos descritos en la literatura oriental ¹⁵³. Se obtuvo así, la primera evidencia de la existencia de concentraciones elevadas de NO y de la expresión significativa de la nNOS en los acupuntos de la piel, en correspondencia con su baja resistencia eléctrica¹⁵³. Posteriormente, los mismos autores detectaron que la L-arginina administrada por vía endovenosa en ratas, incrementaba las corrientes en el acupunto de manera dependiente de la dosis. Este efecto era inhibido por la administración de L-NAME, un inhibidor no selectivo de la NOS y por guanetidina, un bloqueador noradrenérgico, lo que sugirió que el NO sintetizado a partir de la L-arginina mediaba la transmisión noradrenérgica en la piel y modificaba la conductividad eléctrica del punto acupuntural ¹⁵⁴. Otros estudios en ratas Wistar, describieron que bajo régimen electroacupuntural, el incremento de NO era el mecanismo primario que aumentaba la microcirculación en la articulación de la rodilla y el efecto era bloqueado en presencia de L-NAME ¹⁵⁵. Se demostró que la EA en el punto E36 (estómago 36) induce expresión de la nNOS en los núcleos gracilis y del tracto solitario con

incremento subsecuente en la producción NO, el cual contribuye a la regulación de la función cardiovascular y al efecto hipotensor de la EA ¹⁵⁵⁻¹⁵⁸. Sin embargo, en modelos de diabetes inducida con estreptozotocina en ratas, la EA disminuye la expresión de la NOS en la sustancia gris periacueductal (SGP), importante estructura suprasegmentaria antinociceptiva¹⁵⁹. Además, se ha demostrado que este proceder puede antagonizar la elevación de las tasas de NO en el núcleo estriado tras la oclusión de la arteria cerebral, la isquemia y la reperfusión ¹⁵⁹. Por otra parte, en modelos de hemorragia cerebral inducida en ratas con colagenasa y heparina, la EA disminuyó las concentraciones de NO y endotelina en el núcleo caudado, en cambio en ratas normales las aumentó ¹⁶⁰. El efecto anticonvulsivante de esta técnica, en un modelo de convulsiones inducidas con penicilina en ratas, se asoció al descenso de las tasas de nNOS y NO en hipocampo ²⁷. Este hallazgo, no sólo podría explicar el efecto anticonvulsivante de la EA, sino también uno de sus mecanismos centrales de analgesia y pudiera, incluso, mediar en la prevención de la sensibilización central y la neuroplasticidad en el dolor crónico. Cuando se practicó la isquemia aguda del miocardio inducida por ligadura de la arteria coronaria; la EA aplicada en el punto PC6 (pericardio 6) mejoró todos los parámetros cardiovasculares. Estos efectos fueron revertidos por la microinyección de L-NAME en la médula rostral ventrobasal ¹⁶¹. Por otra parte, en un modelo de demencia vascular en ratas, donde las concentraciones de NO se elevan por daño neuronal excitotóxico, la EA disminuyó el contenido de NO y aumentó la actividad de la superóxido dismutasa (SOD). Además de este efecto modulador sobre el aclaramiento de radicales libres, la EA mejoró las habilidades y la memoria de los animales¹⁶². Los resultados hasta el momento, no aclaran los efectos centrales y periféricos de esta técnica sobre el NO en condiciones de dolor patológico, en el que se encuentra sustancialmente elevado ^{43,72,134}. La variabilidad de estos expresa la multiplicidad biológica de la molécula, que desempeña un papel tanto positivo como negativo en la regulación del dolor y la hiperalgesia, no del todo

esclarecida ^{67,80}. No obstante, sugieren el efecto regulador de la EA sobre los sistemas biológicos, según las condiciones fisiológicas o patológicas del medio. Ella pudiera producir analgesia, a través de la vía L-arginina-NO-GMPc y(o) deprimir la vía glutamato-NMDA-NOS e impedir el estado hiperalgésico ^{72,76,80}.

Otros experimentos detectaron concentraciones de glutamato reducidas tras el estímulo acupuntural en médula espinal e hipocampo y se ha estudiado la actividad de la EA sobre los receptores glutamatérgicos mediante asociaciones con antagonistas selectivos ^{25,164}. Además del refuerzo de las conexiones sinápticas, ante el estímulo de alta frecuencia o LTP, también se ha descrito la disminución prolongada en la fuerza de las conexiones ante el estímulo de baja frecuencia o depresión a largo plazo (LTD) en el hipocampo, la neocorteza y la amígdala¹¹⁵. Para la inducción de ambas formas es requerida la activación de los receptores glutamatérgicos. Estudios recientes en ratas demuestran que los receptores inotrópicos para glutamato están involucrados en la analgesia electroacupuntural de baja frecuencia (2 Hz) por medio del mecanismo de LTD a nivel del cuerno posterior ¹⁶⁴. De hecho, se han propuesto dos enfoques diferentes en la relación EA-antagonistas de receptores de aminoácidos excitatorios. Un efecto sinérgico EA-antagonistas de los receptores NMDA, demostrado en modelos de hiperalgesia inducida por carragenina, que se opone a la hiperexcitabilidad espinal y otro efecto inhibitor de la analgesia electroacupuntural a 2 Hz combinada con los antagonistas de los receptores NMDA y AMPA/KA en ratas normales ^{5,164}. Estos hallazgos sugieren mecanismos diferentes de interacción de la EA con los receptores de glutamato en condiciones de salud y enfermedad.

En cuanto a la expresión de proteína Fos se confirmó una correlación paramétrica con los estudios funcionales, pues ambas, bajas y altas frecuencias de estimulación (10 y 100 Hz), suprimen significativamente su expresión en la mitad medial de las láminas I-II del cuerno

dorsal espinal, a donde llegan las aferentes primarias nociceptivas desde sus terminaciones en la pata trasera¹⁵¹. Además, producen incremento de la expresión de esta proteína en láminas más profundas como la III-IV donde terminan las fibras gruesas mielinizadas A α y A β ^{150,151}. Esta evidencia inmunohistoquímica, confirma que la EA selectivamente inhibe y activa subpoblaciones neuronales en el cuerno dorsal espinal y sugiere que su efecto antihiperalgésico dependería de la activación preponderante de las fibras gruesas mielinizadas sobre las finas no mielinizadas. Entonces, la activación de las neuronas espinales que transmiten la señal acupuntural al cerebro, subsiguientemente activarían el sistema inhibitorio endógeno, el cual inhibe la hiperalgesia y la expresión de proteína Fos en la parte medial de las láminas I-II del cordón espinal ¹⁵¹.

Recientemente, se documentó el efecto estabilizador de la EA sobre la actividad glial ^{165,166}. En un modelo de monoartritis, la EA mostró efectos sinérgicos antihiperalgésico térmico y antialodínico mecánico, asociado a un inhibidor del metabolismo glial ¹⁶⁵. Los efectos conductuales fueron corroborados en el mismo modelo, pero mediante la asociación de la EA con dosis subefectivas de minociclina, un inhibidor de la activación glial ¹⁶⁶. Además, este resultado se complementó con la inhibición de las concentraciones de ARNm espinal de IL-1 β , IL-6 y TNF α , después de la aplicación repetida de la EA durante 5 días ¹⁶⁶. Los efectos estabilizadores podrían ser directos a través de la interacción de los opiodes con sus receptores, los cuales se expresan en las glías e inducen cambios, demostrados *in vitro*, en su morfología y proliferación ¹⁶⁵. Pero, también indirectos, como consecuencia de la inhibición presináptica dependiente de la activación de los receptores opiodes inducida por la EA, que provoca la disminución de los neuropéptidos y aminoácidos excitatorios liberados a nivel del cuerno dorsal espinal. La glia también expresa receptores NMDA, AMPA/KA, NK-1, para el PRGC y ATP ^{131,132}. Entonces, la combinación EA-minociclina puede bloquear sinérgicamente la activación de microglías y subsecuentemente de astrocitos espinales y reducir la liberación

de citocinas proinflamatorias y otros mediadores alógenos espinales. De esta manera, pudiera interrumpir el circuito excitatorio neurona-glia-neurona.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Estudio clínico

Participaron en este estudio aleatorizado 68 pacientes ambulatorios de la clínica del dolor del HDCQ 10 de Octubre, entre enero del año 2000 y junio del año 2006. El protocolo fue aprobado por el Comité Científico y de Ética de Investigación de la institución y los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito. El diseño del estudio se realizó de acuerdo a las Directrices de las Buenas Prácticas Clínicas y la Declaración de Helsinki en lo relativo al consentimiento informado de los pacientes. Los criterios de inclusión consideraron a pacientes de ambos sexos y de edad adulta, que presentaran NPH forma nociceptor irritable de no más de seis meses de evolución. Las puntuaciones diarias medias del dolor de estos, debían ser de 4 puntos o superiores, en una escala de Likert de 11 puntos la semana anterior al inicio del tratamiento ¹⁶⁷. Los criterios de exclusión fueron el uso de marcapaso, la sepsis en la piel u otras contraindicaciones para el proceder. La hipertensión arterial no controlada, enfermedades psiquiátricas, antecedente de episodio cerebrovascular, epilepsia, angina inestable, infarto del miocardio reciente, hipertiroidismo u antecedente de hipersensibilidad a la ketamina en los pacientes que fueran a recibirla y el consumo de esteroides u opiodes en el momento de la captación.

2.1.1. Técnica de Electroacupuntura: Previa desinfección mecánica con agua y jabón, asepsia y antisepsia de la piel con alcohol, se colocaron las agujas de calibre #32 y 1 pulgada de longitud, en los puntos correspondientes a las metámeras afectadas. Se seleccionaron los

puntos de los meridianos según los criterios topográficos y se localizaron con el detector eléctrico de señal acústica ¹⁶⁸. Se utilizó un Electroestimulador tipo Gran Muralla KWD-808 II, específicamente la onda 1 (continua analgésica, duración de los pulsos de 0,5 ms) a una frecuencia de estímulo de 10 Hz. Se elevó lentamente la intensidad de la corriente hasta desencadenar la sensación de parestesia, según el umbral específico para cada paciente y sin provocar dolor. Los valores medios fueron de 2-3 mA. El tratamiento se aplicó durante 20 minutos. Se realizaron 15 sesiones.

2.1.2. Diseño del Estudio

Se aplicó una asignación aleatoria secuencial de los pacientes a los grupos, mediante una lista de asignación aleatoria generada por ordenador en bloques de tres (grupo EA, EA-ketamina y un grupo ketamina). Los pacientes acudieron inicialmente a una consulta de clasificación, donde se recogieron los antecedentes, se realizaron el interrogatorio y examen físico, datos que se registraron en la historia clínica ambulatoria. Se examinó la extensión del área de alodinia mecánica dinámica, mediante la aplicación de una mota de algodón en segmentos de la piel afectada, que previamente se había dividido y dibujado con un plumón en un enrejado a intervalos de 2 cm ¹⁶⁹. La mota de algodón se aplicó suavemente a 2-3 cm/seg y secuencialmente desde la zona periférica sana hacia la más irritada y se le preguntó al paciente si la sensación era normal o displacentera hasta delimitar la zona afectada en cm² ¹⁶⁹. La medición se efectuó en dos momentos diferentes y el valor de esta se promedió. Además, se determinó la intensidad de la sensación desagradable en dos puntos de esta área, se le dio un valor por el paciente según una escala numérica de 0-10, ambos valores también fueron promediados. De manera similar se procedió para la intensidad de la sensación desagradable al calor provocada por la iluminación de una bombilla incandescente de 60 watts durante 20 segundos a 15 cm de la piel, como estímulo calórico normal. Se utilizó una escala de Likert de 11 puntos en la que 0 era la ausencia de dolor y 10 el dolor peor posible. Esta escala

numérica se apoyó con una visual análoga (EVA) para facilitar la autoevaluación del dolor por el paciente ¹⁶⁷. Los pacientes realizaron por sí mismos una valoración diaria del dolor de las 24 h previas al levantarse en la mañana. Se consideró el cambio de la puntuación diaria media del dolor (PDMD) entre la semana basal y la semana final (tres meses de iniciado el tratamiento), la variable principal del estudio ¹⁶⁷. La puntuación inicial consistió en la media de los registros del diario de dolor de los últimos siete días previos a la asignación aleatoria. La puntuación final fue la media de los registros del diario de dolor de los últimos siete días antes de la consulta a los tres meses o los siete días previos a suspender el tratamiento, en el caso de los pacientes que no completaron el estudio (suspensiones a los quince días o al mes de haber iniciado el tratamiento). Se evaluaron los pacientes al concluir las sesiones de tratamiento, en la consulta al mes, dos meses y tres meses. Para todos los grupos se recogió como dato adjunto en la planilla de diario de dolor, la necesidad de asociar otro fármaco y su dosis/día, como una variable de control. Se utilizó, de no existir contraindicación, el clorhidrato de ketamina (50 mg/ml frasco de 10 mL) proveniente de Laboratorios Liorad (Cuba) a dosis de 0,25 a 0,5 mg/kg (dosis analgésicas bajas) por vía intramuscular, días alternos dos veces por semana en el grupo EA-ketamina y en el grupo ketamina ¹⁷⁰. La dosis analgésica recomendada por esta vía es de 1-5 mg/kg, pero estas menores (valores medios de 0,44 mg/kg) no producen pérdida de conciencia ¹¹³. De esta forma, las reacciones psíquicas a la ketamina son predominantemente placenteras y los fenómenos de agitación son virtualmente nulos ¹¹³. De ahí, su utilidad en condiciones ambulatorias. Se interrogó y realizó el examen físico correspondiente en las consultas para la búsqueda de complicaciones.

2.2. Estudio preclínico

2.2.1. Método de aplicación electroacupuntural en ratas.

La EA se condujo según el método aplicado por Lao y colaboradores ^{150,151}. Se seleccionó el punto equivalente a VB30 (vesícula biliar 30) en humanos, según la teoría de los meridianos de la medicina tradicional china ¹⁷¹. En el hombre se describe localizado en la unión del tercio lateral y medial, tras dividir en tres partes iguales la distancia entre el trocánter mayor y el hiato sacro, por encima del nervio ciático ¹⁷¹. Las referencias anatómicas equivalentes fueron utilizadas para localizar el punto en las patas traseras de la rata ^{150,151}. Esta localización se corroboró mediante el detector del electroestimulador que emite una señal acústica ante un punto de baja impedancia eléctrica. Los animales fueron gentilmente entrenados por 30 minutos/día durante 3 días y habituados al tratamiento con EA antes del experimento ¹⁵¹. Previo asepsia y antisepsia de la piel con alcohol, se colocaron las agujas de calibre #32 y 0,5 pulgadas de longitud, bilateralmente en los puntos VB30, con electrodos soldados en sus extremos distales, estabilizados con cinta adhesiva ^{150,151}. Los cables se fijaron en el dorso para evitar que fueran mordidos por el animal; esta instrumentación demoró unos 20 segundos y fue poco estresante para él ^{172,173}. Posteriormente, se colocó cada rata en una caja transparente plástica invertida de 5x8x11cm, no restringida, anestesiada ni sedada ^{150,151}. La frecuencia de estimulación se fijó a 10 Hz y se procedió a aumentar lentamente la intensidad del estímulo a niveles soportables por el animal conciente dañado hasta 3 mA, valor suficiente para producir contracción rítmica muscular de las patas traseras ^{150,151}. Para estos fines, se trabajó con un Electroestimulador Tipo Gran Muralla KWD-808 II y se seleccionó la onda 1 (continua analgésica, duración de los pulsos de 0,5 ms) durante 20 minutos previo al daño, para evaluar los efectos profilácticos del proceder sobre la hiperalgesia inducida por carragenina en la pata trasera derecha. (Fotos 1, 2, 3, 4)

2.2.2. Evaluación del efecto antihiperalgésico de la electroacupuntura en un modelo de neuroinflamación inducido por carragenina. Efecto de la preadministración de un

antagonista del receptor N-metil-D-aspartato y un inhibidor no selectivo de la enzima óxido nítrico sintasa.

2.2.2.1. Animales y Tratamientos.

En los experimentos se utilizaron ratas jóvenes Sprague Dawley (SD) (machos, 250-300 g) procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB, Habana, Cuba), adaptadas durante siete días a las condiciones del laboratorio¹⁷⁴. Los animales se mantuvieron bajo un ciclo alterno de luz y oscuridad cada 12 h, la temperatura estuvo controlada entre 25-27°C y una dieta EMO 1001 establecida para los animales de laboratorio. Después del período de adaptación, los animales se distribuyeron en los diferentes grupos de acuerdo a sus pesos corporales. El agua y los alimentos se mantuvieron a libre demanda^{25-28,150,151}. Todos los procedimientos fueron realizados según los criterios aprobados por los comités internacionales para el cuidado de los animales de laboratorio y de acuerdo con las regulaciones nacionales establecidas para la experimentación animal^{175,176}.

Las dosis utilizadas fueron escogidas de experimentos anteriores en modelos de dolor patológico. La ketamina se utilizó a 1mg/kg por vía ip. Según estudios de otros autores, a esta baja dosis la ketamina no presenta efectos antialodínicos; por tanto se consideró una dosis subantialodínica, que tampoco desencadenaba signos neurológicos en el animal¹⁷⁷. De ahí su utilidad para asociar a la EA con la finalidad de evaluar sus posibles efectos sinérgicos y(o) aditivos. En el caso del L-NAME se administró a una dosis baja de 3 mg/kg y a una dosis alta de 30 mg/kg por vía ip.⁵¹. Según los autores, en este rango mostró actividad antialodínica y profiláctica, de manera dependiente de la dosis en un modelo de dolor neuropático⁵¹. También se utilizó la L-arginina a 30 mg/kg por vía ip. con la finalidad de prevenir la actividad del L-NAME a 3 mg/kg (el sustrato en dosis 10 veces superior al inhibidor de la enzima)⁵¹. La actividad de las tres isoformas de NOS es dependiente de la disponibilidad del sustrato¹⁰⁹. Este efecto está descrito desde los 34,8 mg/kg para 13,5 mg/kg de L-NAME por esta vía⁵¹. Ambos fármacos fueron administrados inmediatamente antes de iniciar el tratamiento con EA, es decir 20 minutos antes de inducir la inflamación^{51,178}. (Foto 5)

2.2.2.2. Modelo de edema de la pata inducido por carragenina

El modelo de inflamación y dolor por carragenina puede ser considerado temporalmente como agudo, pero pasados minutos a horas, se produce hiperalgesia térmica, mecánica y química ostensible con la administración de 100 μ l y 200 μ l ⁵⁰. Este se ha utilizado para estudiar la frecuencia de los disparos de las neuronas involucradas en el procesamiento nociceptivo en tálamo, corteza prefrontal y somatosensorial, por lo que puede ser utilizado para estudiar el dolor persistente o patológico ⁴⁸⁻⁵⁰.

Vinagar y colaboradores en 1987 describieron la fase prefangocítica (0-1h) que conduce a la fase fangocítica en este modelo ⁴¹. Otra delimitación curso-dependiente de la inflamación considera una fase inicial, de 1-2 h con predominio de la liberación de serotonina, histamina, metabolitos del ácido araquidónico en incremento y de 2 h en adelante la fase tardía, con respuesta fangocítica plena ⁴¹⁻⁴⁴.

La hiperalgesia térmica de curso tiempo dependiente en este modelo, fue dividida según Sammons y otros autores en la fase temprana (2-6 h) y la fase tardía (alrededor de 24 h) ^{45,50}.

En este modelo se observa una respuesta inflamatoria prolongada en la pata por más de 4 h.

La formación del edema se considera un evento bifásico, constituido por una fase relativamente rápida temprana (0-2 h), seguida de una más sostenida que es la tardía, la cual se mide a partir de las 2,5 h ^{41,45}.

La inflamación y la hiperalgesia fueron inducidas en este ensayo por inyección intraplantar de 0,1 mL de una suspensión al 1 % de carragenina (Sigma, St. Louis, MO, USA) en disolución salina 0,9 %, en

la pata trasera derecha de ratas SD machos, según describieron Hargreaves y colaboradores en 1988 ⁴¹⁻

^{45.} (Foto 6)

Los animales fueron divididos en once grupos:

Grupo	N	Tratamiento
Grupo control carragenina	(n=7)	Vehículo por vía ip y carragenina ipl.
Grupo EA + carragenina	(n=10)	Vehículo (SS) vía ip. y estímulos de 10 Hz y 3 mA por 20 minutos, bilateralmente en el acupunto VB30, previo a la inyección de carragenina 1% por vía ipl. en la pata trasera derecha.
Grupo ketamina + EA + carragenina	(n=7)	Previo a la EA, ketamina a 1mg/kg (dosis subanestésica) por vía ip. Posteriormente la carragenina ipl.
Grupo ketamina + carragenina	(n=7)	Ketamina a 1 mg/kg ip. previo a la carragenina
Grupo L-NAME a baja dosis + EA + carragenina	(n=7)	Previo a la EA, L-NAME 3 mg/kg por vía ip. Posteriormente la carragenina
Grupo L-NAME a baja dosis + carragenina	(n=7)	L-NAME 3 mg/kg por vía ip. previo al daño con carragenina
Grupo L-NAME a alta dosis + EA + carragenina	(n=7)	Previo a la EA, el L-NAME 30 mg/kg por vía ip. Posteriormente la carragenina
Grupo L-NAME a alta dosis + carragenina	(n=7)	L-NAME a 30 mg/kg por vía ip. previo a la carragenina
Grupo EA simulada no invasiva + carragenina (control del efecto placebo de la EA)	(n=4)	Colocación, no inserción, sin manipulación de las agujas en la misma zona de los acupuntos VB30 bilateralmente ^{150,151} .
Grupo L-arginina + L-NAME 3mg/kg + EA+carragenina	(n=5)	L-arginina por vía ip. 30 mg/kg 10 minutos previos al L-NAME y a la EA.
Grupo control para los valores basales de NO.	(n=3)	-----

Los fármacos fueron administrados inmediatamente antes de iniciar la EA, que se aplicó por 20 minutos o 20 minutos previos a la administración de la carragenina, en los animales no estimulados.

De manera que los niveles sistémicos de los fármacos fueran uniformes en todos los animales en el

momento del daño. Se midió la latencia de retirada de la pata (PWL), ante una radiación de calor, como evidencia de hiperalgesia térmica ¹⁷⁹. Se determinaron los valores basales antes de iniciar el experimento, a 1, 2, 3 y 4 h post-inyección de la carragenina. Posteriormente, los animales fueron anestesiados bajo atmósfera de éter para la toma de muestras. Se procedió a la incisión por planos anatómicos de la cavidad abdominal para exponer la aorta abdominal y tomar 3-5 mL de sangre e inmediatamente se realizó la craneotomía y la extracción del encéfalo, por último las patas edematosas fueron cortadas al nivel del tobillo para la determinación de nitritos/nitratos en el exudado inflamatorio ¹⁷⁸⁻¹⁸⁰. Los animales fueron sacrificados bajo anestesia general profunda por hipovolemia aguda que condujo a la parada cardiorrespiratoria.

2.2.2.3. Modelo de Dolor Nociceptivo con estímulo térmico asociado al de hiperalgesia. Prueba del plato caliente.

La prueba del plato caliente; según el método descrito por Eddy y Leimbach ¹⁷⁸ en 1953 con algunas modificaciones, se asoció a este modelo de dolor patológico. La finalidad de esta asociación, fue la detección de las alteraciones del umbral nociceptivo que se producen en las zonas afectadas y que se traducen clínicamente en hiperalgesia o alodinia térmica en dependencia del tipo de estímulo, sea nocivo o inocuo ³⁸. Se midió la PWL en segundos, ante una radiación de calor en el plato caliente LE 7406 LSI Letica, España a temperatura constante de $52^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Se consideró como respuesta de hiperalgesia térmica la retirada y sacudida de la pata o el salto del animal, con una sola medición. La exposición fue interrumpida a los 30 segundos para prevenir el daño tisular ¹⁷⁸. (Foto 7)

2.2.2.4. Preparación de los homogenatos de la pata dañada y el cerebro.

Los cerebros extraídos y las patas edematosas que fueron separadas a nivel del hueso calcáneo, se conservaron en nitrógeno líquido ¹²⁶. Posteriormente, se almacenaron a -20°C hasta su uso; momento en el cual se tomó una muestra representativa de ambos hemisferios de cada animal en el caso del cerebro y las patas edematosas fueron disecadas para separar las partes blandas del hueso. Los tejidos fueron triturados y macerados en un mortero ¹²⁶. Se utilizó un vaso homogenizador y 1 g del macerado fue homogenizado en 0,5 mL de diluyente Standard, constituido por una disolución de KCl (0,1

mol/L) e histidina (5 mol/L)⁶⁰. El homogenato fue centrifugado a 15300 *rpm*, a 4°C, por 30 minutos. El sobrenadante del homogenato de tejidos fue utilizado para la determinación de los productos de oxidación del NO⁶⁰.

2.2.2.5 Determinación de nitritos y nitratos en el sobrenadante de los homogenatos de pata y cerebro y en suero de ratas. (Indicador de los valores de óxido nítrico)

El NO que se forma a partir de la reacción de la NOS experimenta una rápida oxidación a nitritos (NO₂⁻) y nitratos (NO₃⁻). Estas especies iónicas aparecen en sangre de forma estable y su cuantificación constituye una vía indirecta para determinar la formación de NO^{180,181}. Una determinación efectiva de los productos oxidados del NO se logra a partir de la reducción enzimática de los nitratos a nitritos en las muestras ensayadas. Esto permitió realizar la determinación uniforme de ambos productos al cuantificar los nitritos resultantes mediante la reacción de Griess¹⁸¹. Las muestras de suero y los sobrenadantes se desproteinizaron antes de su utilización, se mezclaron 159 µL de la muestra y 30 µL de ZnSO₄ 30 %. Posteriormente, los nitratos fueron transformados en nitritos con el empleo de un preparado celular de *Escherichia coli* (cepa 25922) que tenía la enzima nitrato reductasa previamente inducida. En una placa de 96 pozos se depositaron 30 µL de suero desproteinizado, 15 µL de la suspensión bacteriana y 15 µL de la disolución tampón de reacción (2,5 mL de HEPES 100 mM + 2,5 mL de formiato de amonio 300 mM en 10 mL de agua destilada). Seguidamente, las muestras se incubaron a 37°C durante 90 min. Posteriormente, se añadieron 60 µL de reactivo de Griess (naftiletilendiamina 0,1 %, sulfanilamida 1 % en ácido fosfórico 2,5 %). Después de 10 min de incubación a temperatura ambiente, se realizó la medición de la absorbancia a una longitud de onda de 550 nm en un lector de microplacas (PR-521SUMA, Cuba). La concentración de nitritos en cada muestra fue determinada a partir de una curva patrón de nitrito de sodio que mostró linealidad en el rango de concentraciones entre 3 y 500 µM¹⁸⁰. Se procedió de manera similar con el sobrenadante de los homogenatos de la pata y el cerebro.

2.3. Análisis Estadístico

Para el procesamiento de los datos clínicos fue utilizado el paquete estadístico StatXact-4.01 sobre Windows XP. Para la evaluación de la evolución de los pacientes, los grupos fueron clasificados según el factor tratamiento recibido para la NPH. Se consideraron las medias (variables cuantitativas continuas) elaboradas a partir de los valores categóricos para área de alodinia, intensidad de la alodinia, frecuencia de paroxismos/día y EVA. En cada caso, se realizó la estadística descriptiva de las variables mediante el cálculo de las medias, desviación estándar y el error estándar de la media (e.e.m). Para evaluar la diferencia entre las medias de cada variable en 5 consultas fue utilizada la prueba no paramétrica de Friedman seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn's o el análisis de varianza de una vía y la de Bonferroni's *a posteriori* según el tamaño de la muestra por grupos. Se consideraron valores del estadígrafo significativos de $p < 0,05$. Los resultados fueron presentados como medias \pm e.e.m o porcentaje de cambio \pm e.e.m. El porcentaje de cambio de la antihiperalgia fue calculado mediante la fórmula $(\text{EVAs del grupo experimental} - \text{EVAs del grupo control}) / (\text{EVAs del grupo control}) \times 100$.

En los estudios preclínicos, para todos los datos obtenidos se verificó inicialmente el cumplimiento de homogeneidad de varianza mediante la prueba de Berttelet y se analizó la normalidad de las variables estudiadas. De acuerdo a estos resultados, para comparar las medias de los datos en cada experimento, se aplicó el método t-de student (t-test) para cada grupo con respecto al control a la hora 1, 2, 3 y 4. Cuando se observaron diferencias intragrupos se aplicó la prueba de Student-Newman-Keuls *a posteriori*. Todos los análisis fueron realizados mediante el paquete estadístico Statistics sobre Windows (Realise 4.0, Statsof, Inc. 1993). Valores probabilísticos (p) inferiores a 0,05 fueron considerados estadísticamente significativos. Los resultados fueron presentados como medias \pm e.e.m. o porcentaje de cambio \pm e.e.m. El porcentaje de cambio de la antihiperalgia fue calculado mediante la fórmula $(\text{PWLs del grupo experimental} - \text{PWLs del grupo control}) / (\text{PWLs del grupo control}) \times 100$. Para todos los casos el efecto de la combinación de la EA y el fármaco fue comparado con la suma del efecto producido por la droga y la EA solas, con el fin de determinar si el efecto era sinérgico o

aditivo. El efecto sinérgico fue definido como aquel que presentó la combinación cuando su valor fue significativamente mayor que la suma de los efectos de los tratamientos individuales, mientras que el efecto aditivo fue considerado cuando la suma de los tratamientos individuales fuera igual al valor del efecto de la combinación ¹⁸².

3. RESULTADOS

3.1 Resultados clínicos

3.1.1 Efecto sobre la variación de la puntuación diaria media de dolor de la electroacupuntura a 10 Hz y de la combinación electroacupuntura-ketamina en pacientes portadores de neuralgia post-herpética forma nociceptor irritable.

Se estudiaron 68 pacientes con NPH a forma nociceptor irritable. En el grupo EA iniciaron el estudio 26 y finalizaron 19 pacientes. En el grupo EA-ketamina iniciaron 21 pacientes y todos los pacientes concluyeron el estudio. En el grupo ketamina iniciaron 21 y concluyeron 17 pacientes. Las interrupciones de estos 11 pacientes, se debieron a la falta de respuesta al tratamiento, por lo que se tomaron otras conductas terapéuticas y constituyeron 16,17 % de esta muestra. Es decir 7 pacientes no concluyeron el estudio en el grupo EA para 26,92 % de fallo terapéutico en este grupo y 4 pacientes en el grupo ketamina (19,04 %). En el grupo combinado la respuesta terapéutica fue 100 %. Todos los grupos iniciaron los tratamientos a partir de valores de PDMD similares (7,4 -7,9). Al finalizar las 15 sesiones de tratamiento solamente se observaron reducciones significativas de las PDMD en el grupo EA-ketamina ($p < 0,001$) con respecto a los valores iniciales. Evolutivamente, a los meses 1, mes 2 y mes 3 las reducciones en este grupo se hicieron muy significativas ($p < 0,001$). De manera similar, en los grupos EA y ketamina, los cambios de la PDMD se hicieron significativos a partir del mes segundo ($p < 0,01$) y tercero ($p < 0,001$) con respecto a los valores iniciales. Se observó que al final del tratamiento, el grupo EA-ketamina redujo significativamente, las PDMD con respecto al grupo EA. Esta diferencia entre grupos se observó de manera similar al mes de tratamiento ($p < 0,01$; Fig. 1A). El grupo EA-ketamina también mostró diferencias con el grupo ketamina al mes ($p < 0,05$). En 7 pacientes, 33,3 % de los pacientes del grupo ketamina, hubo necesidad de asociar anticonvulsivantes y opiodes débiles. En todos los pacientes del grupo EA fue necesario realizar una segunda tanda de tratamientos de 15 sesiones.

En la Fig. 1B se esquematiza el efecto sinérgico y(o) aditivo de la combinación EA-ketamina. Esta, mostró efecto sinérgico al finalizar el tratamiento con respecto al porcentaje de cambio negativo de la EVA.

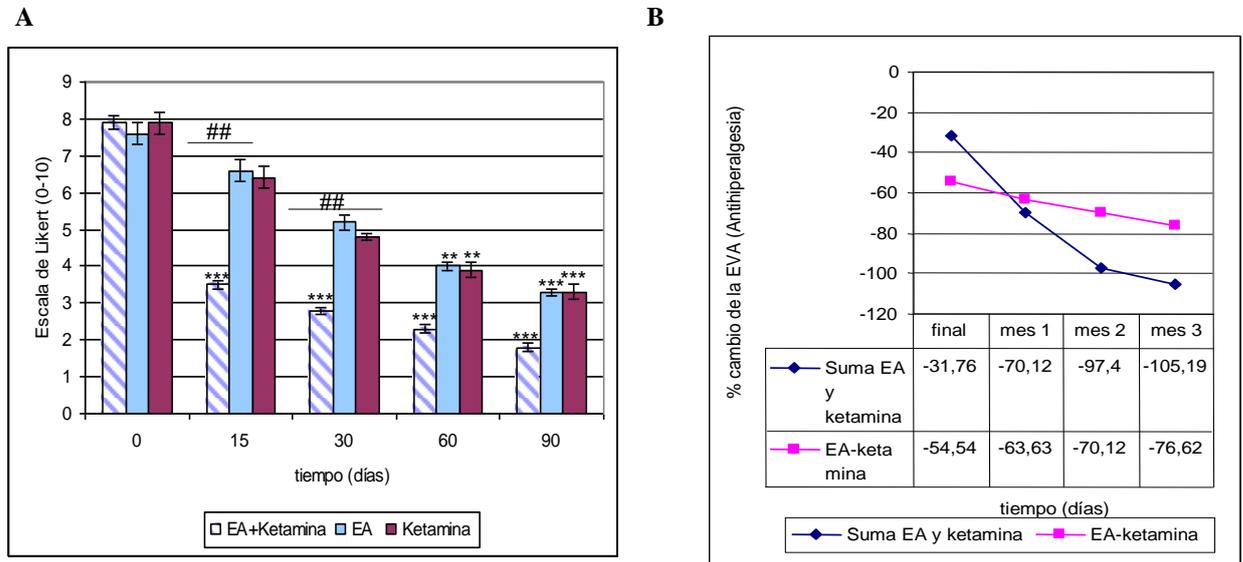


Figura 1. A. Intensidad del dolor en la Neuralgia Postherpética (NPH). Efecto del tratamiento en los diferentes grupos al concluir los 15 días y mensualmente hasta los 3 meses, según la Escala numérica de Likert. En la figura se expresan los valores de la media \pm e.e.m $**p < 0,01$ $***p < 0,001$ indica diferencias significativas con respecto a los valores iniciales. $## p < 0,05$ indica diferencias significativas entre grupos. **B.** Efecto sinérgico de la combinación EA-ketamina. La antihiperalgnesia es presentada como % de cambio según la fórmula (EVA media del grupo experimental – EVA media del grupo control) / (EVA media del grupo control) x 100. Se muestran comparativamente los valores de la suma de cada tratamiento individual y los de la combinación al final del tratamiento y mensualmente hasta los 3 meses. Escala análoga visual (EVA) en analogía a la numérica de Likert.

3.1.2. Efecto de la electroacupuntura a 10 Hz y la combinación EA-ketamina sobre el área y la intensidad de la alodinia mecánica dinámica en pacientes con neuralgia postherpética forma nociceptor irritable.

En el grupo de pacientes tratados con ketamina, sin asociar la EA, se observó la disminución del área de alodinia a los 3 meses de manera muy significativa ($p < 0,001$). El grupo que recibió EA sola también disminuyó el área de alodinia de manera significativa a los 3 meses ($p < 0,01$). El grupo EA-ketamina mostró reducción del área de alodinia desde el segundo mes de manera significativa ($p < 0,01$)

y a los 3 meses se redujo más significativamente ($p < 0,001$). No se observaron diferencias en los valores del área de alodinia entre grupos en los cuatro momentos de la evaluación. (Fig. 2 A). La reducción de la intensidad de la alodinia dinámica fue significativa a partir del mes solo para el grupo EA-ketamina ($p < 0,01$). Ya al mes segundo se hizo significativa para el grupo EA ($p < 0,01$) y para el combinado se redujo más ($p < 0,001$). El grupo ketamina logró una reducción de la intensidad de la alodinia significativa al mes 3 ($p < 0,001$). Se observaron diferencias significativas al mes del tratamiento entre el grupo EA-ketamina y el grupo EA ($p < 0,01$). Al final del estudio los 3 grupos mostraban valores de las PDMD por debajo de 4 en la escala de Likert, pero los mejores resultados se observaron en el grupo EA-ketamina. (Fig. 2 B)

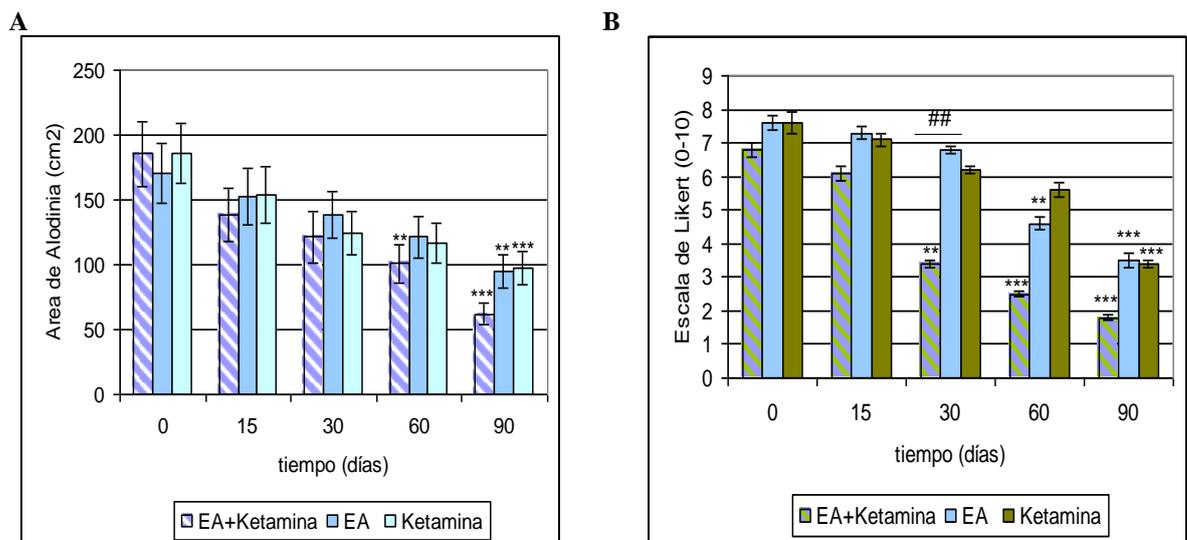


Figura 2. A. Evolución del área de alodinia dinámica (cm^2) en la NPH. **B.** Evolución de la intensidad de la alodinia dinámica mecánica en la NPH en los diferentes grupos tratados. En la figura se expresan los valores de la media \pm e.e.m $**p < 0,01$ $***p < 0,001$ indica diferencias significativas con respecto a los valores iniciales. $## p < 0,05$ indica diferencias significativas entre grupos.

3.1.3 Efecto de la electroacupuntura a 10Hz y la combinación EA-ketamina sobre la intensidad de la alodinia térmica y la frecuencia del dolor paroxístico al día en pacientes con neuralgia postherpética forma nociceptor irritable.

En los 3 grupos, se observó reducción de la intensidad de la alodinia térmica al calor, de manera significativa a los 2 meses. La mayor significación ($p < 0,001$) de este cambio se observó en el grupo EA- ketamina. Al mes 3 la reducción fue muy significativa en todos los grupos ($p < 0,001$). No hubo diferencias significativas entre grupos al momento de las evaluaciones. (Fig. 3 A) En cuanto a la frecuencia de dolor paroxístico al día, el grupo EA-ketamina mostró reducción de la frecuencia de paroxismos al día a partir del mes ($p < 0,01$), las reducciones a los meses 2 y 3 también fueron muy significativas con respecto a los valores iniciales ($p < 0,001$). Los otros grupos redujeron significativamente este parámetro a partir del mes 2. (Fig.3 B)

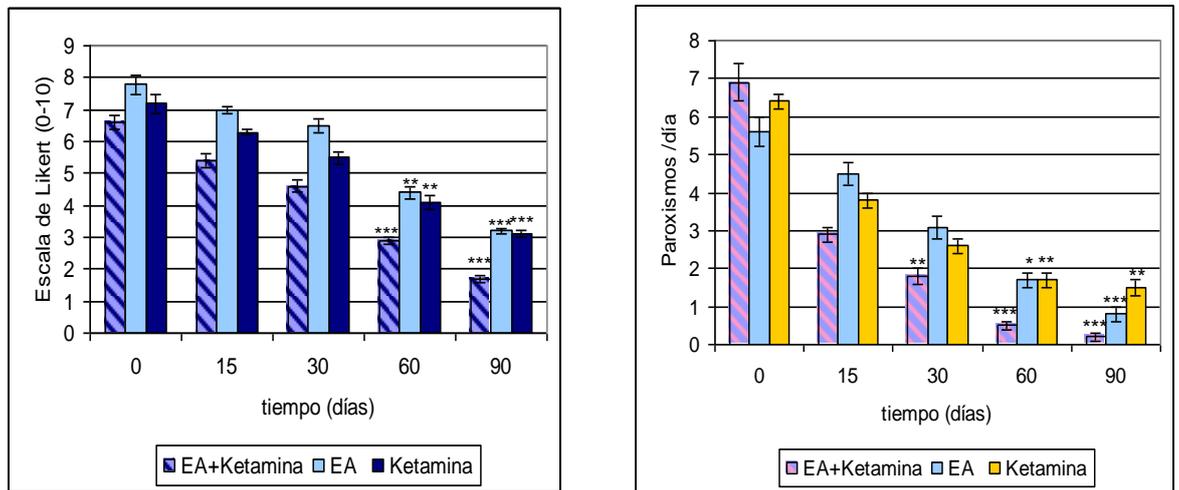


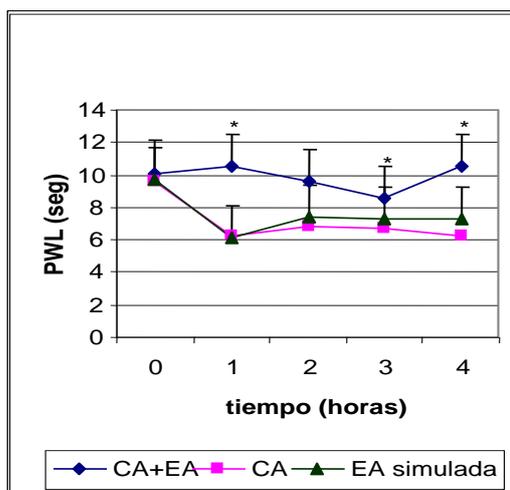
Figura 3. A. Evolución de la intensidad de la alodinia térmica en la NPH en los diferentes grupos tratados. **B.** Evolución del número de paroxismos al día referidos por los pacientes en los diferentes grupos estudiados. En la figura se expresan los valores de la media \pm e.e.m $**p < 0,01$ $***p < 0,001$ indica diferencias significativas con respecto a los valores iniciales. $## p < 0,05$ indica diferencias significativas entre grupos.

3.2. RESULTADOS PRECLÍNICOS

3.2.1. Efecto antihiperálgico de la electroacupuntura profiláctica a 10 Hz en un modelo *in vivo* de dolor inducido por carragenina.

El grupo para control del efecto placebo de la EA simulada no mostró efecto antihiperálgico significativo con respecto al grupo EA, ni al control. Se muestra en la Fig. 4 A, prácticamente superpuesto a la curva del grupo control con carragenina, por lo que se omite en lo adelante. La EA en este modelo mostró efecto antihiperálgico térmico significativo a las 1, 3 y 4 horas de establecida la inflamación, máximo a las 4h. (Fig.4 B)

A



B

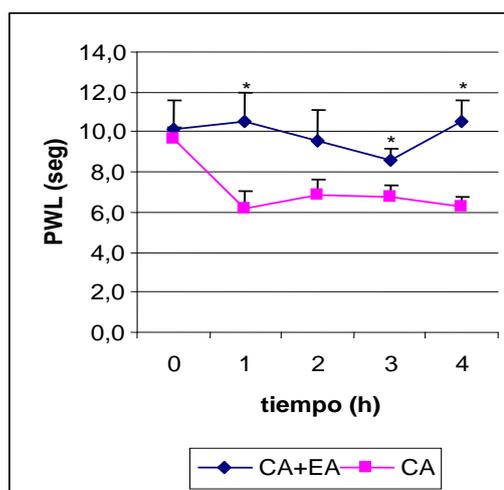


Figura 4. A. Efecto de la electroacupuntura (EA) de 10Hz y la EA simulada no invasiva sobre la hiperálgia térmica inducida por carragenina (CA) con respecto al grupo control no tratado. **B.** Efecto de la EA a 10 Hz, sobre la hiperálgia térmica inducida por CA en la pata trasera de la rata. En las figuras se expresan los valores de la media \pm e.e.m. * $p < 0,05$ indica diferencias significativas con respecto al grupo control con CA.

3.2.2. Efecto antihiperalgésico de la electroacupuntura profiláctica a 10 Hz asociada a un antagonista de los receptores N-metil-D-aspartato (ketamina) en un modelo *in vivo* de dolor inducido por carragenina.

En este segundo experimento, la ketamina administrada por vía ip. a dosis subanestésica, 20 minutos antes de inducir la inflamación por carragenina no mostró efecto antihiperalgésico significativo, este hallazgo corroboró la ausencia de actividad antialodínica a esta dosis en la rata. La ketamina administrada de manera similar previo al inicio del estímulo electroacupuntural de 20 minutos, mostró efecto antihiperalgésico muy significativo a partir de las 2 h, máximo a las 4 h. El efecto de la combinación de la EA con la ketamina fue comparado con la suma del efecto producido por el fármaco o la EA solas, para determinar efectos sinérgicos o aditivos, según la fórmula descrita. Se observa un efecto sinérgico a partir de las 2 h, máximo a las 3 h, en correspondencia con el pico hiperalgésico en este modelo. (Fig.5 A y B).

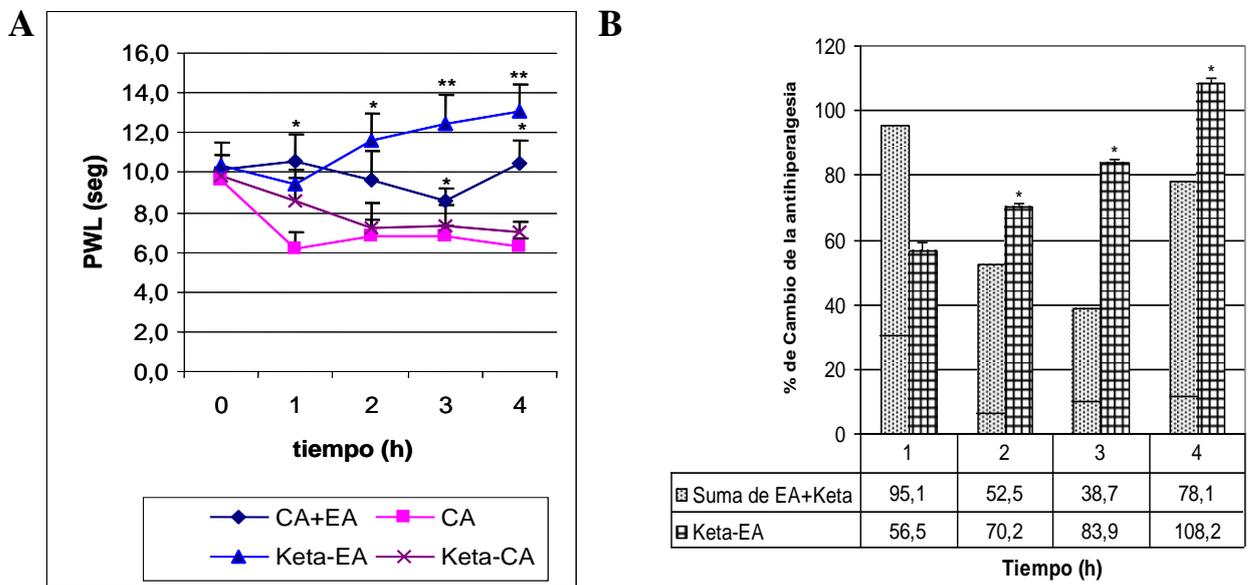


Figura 5. A. Efecto antihiperalgésico de la electroacupuntura (EA) a 10 Hz y la combinación EA+ ketamina a dosis subanestésica sobre la hiperalgia térmica inducida por carragenina (CA) en la pata trasera de la rata. Se expresan los valores de la media \pm e.e.m $*p < 0,05$ y $**p < 0,01$ indican diferencias significativas con respecto al grupo control con CA. La ketamina sola a esta dosis de 1 mg/Kg no tuvo efecto antihiperalgésico significativo con respecto al grupo control con CA. **B.** Efecto sinérgico de la EA y la ketamina. La antihiperalgia es presentada como % de cambio según la fórmula $(\text{PWLs del grupo experimental} - \text{PWLs del grupo control}) / (\text{PWLs del grupo control}) \times 100$. Se muestran comparativamente los valores de la suma de cada tratamiento individual y los de la combinación, por horas.

3.2.3. Efecto antihiperalgésico de la electroacupuntura profiláctica a 10 Hz asociada a un inhibidor no selectivo de la enzima óxido nítrico sintasa, el metilester L-N⁶ nitroarginina a bajas y a altas dosis en un modelo *in vivo* de dolor inducido por carragenina.

En el tercer experimento (Fig. 6) se suministró el L-NAME, un inhibidor no selectivo de la NOS, por vía ip. a bajas dosis (3 mg/kg), 20 minutos antes de la inducción de la inflamación con carragenina, que mostró un efecto antihiperalgésico térmico significativo moderado en este modelo, expresado en las variaciones de la PWL en segundos, a las 1, 3 y 4 horas. La combinación del L-NAME con la EA a 10 Hz, mostró un efecto antihiperalgésico mayor que el L-NAME a las 1, 3 y 4 horas, máximo a las 4 horas y se hizo significativo a las 2 horas, pero menor con respecto al observado con la asociación a ketamina en el experimento previo. (Fig. 6 A y B). En cambio el pretratamiento con L-NAME a 30 mg/kg, mostró una actividad antihiperalgésica potente y la combinación con la EA previno su efecto, la curva se observa superpuesta a la del grupo carragenina. (Fig. 6 C). Al preadministrar la L-arginina 10 minutos previos al L-NAME a 3 mg/kg y la EA no se previno el efecto antihiperalgésico, por el contrario se favoreció significativamente a las 2 y 4 horas. (Fig. 6 D)

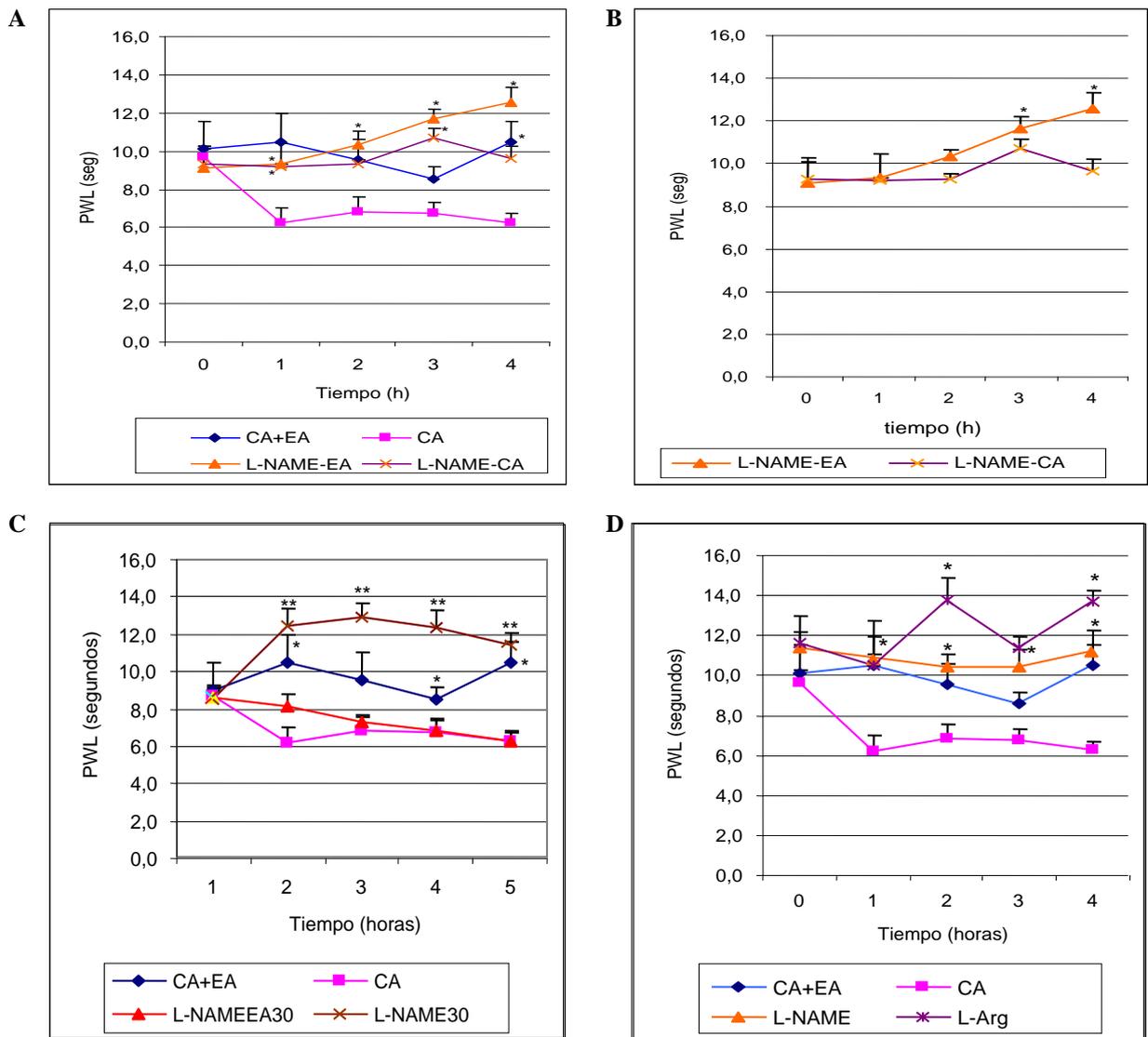


Figura 6. A. Efecto antihiperálgico de la electroacupuntura (EA), el L-NAME a 3 mg/kg y de su combinación sobre la hiperálgia térmica inducida por carragenina (CA) en la pata trasera de la rata. B. Se muestra el efecto de la combinación con respecto al del L-NAME a 3 mg/kg sobre la hiperálgia térmica. C. Efecto de la EA, el L-NAME a 30 mg/kg y su combinación sobre la hiperálgia térmica inducida por CA en la pata trasera de la rata. D. El efecto de la preadministración de L-arginina al L-NAME 3 mg/kg y la EA. Se expresan los valores de

la media \pm e.e.m $*p < 0,05$ y $**p < 0,01$ indican diferencias significativas con respecto a los grupos controles en cada caso

3.2.4. Efecto de la electroacupuntura y sus combinaciones con el antagonista del receptor NMDA y el inhibidor de la NOS sobre las concentraciones plasmáticas de los productos de oxidación del óxido nítrico.

Se observó un aumento significativo en las concentraciones plasmáticas de los productos de oxidación del NO, en el grupo tratado con EA y en el grupo EA+L-NAME a 3 mg/kg. La actividad inhibidora del L-NAME sobre la concentración de estos productos a la dosis de 3 mg/kg no fue significativa con respecto al grupo carragenina. En cambio, en el grupo pretratado con L-NAME a 30 mg/kg la actividad inhibidora fue muy significativa. El grupo EA+L-NAME a 30 mg/kg mostró una marcada reducción de las concentraciones de los productos de oxidación del NO, similares al control para valores basales, en correspondencia con el decremento de la actividad antihiperálgica de la EA. Fig. 7 A y B. Los grupos EA+ketamina y la ketamina no mostraron cambios significativos con respecto al grupo carragenina, sí con respecto a los valores basales nitritos. (Fig. 8 A). En la Fig 8 B, se observan las concentraciones de nitritos en los sobrenadantes de los homogenatos de cerebros y patas en todos los grupos, que no revelaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en relación al grupo control carragenina, las que solo se observaron en las muestras de plasma con la técnica utilizada en este estudio.

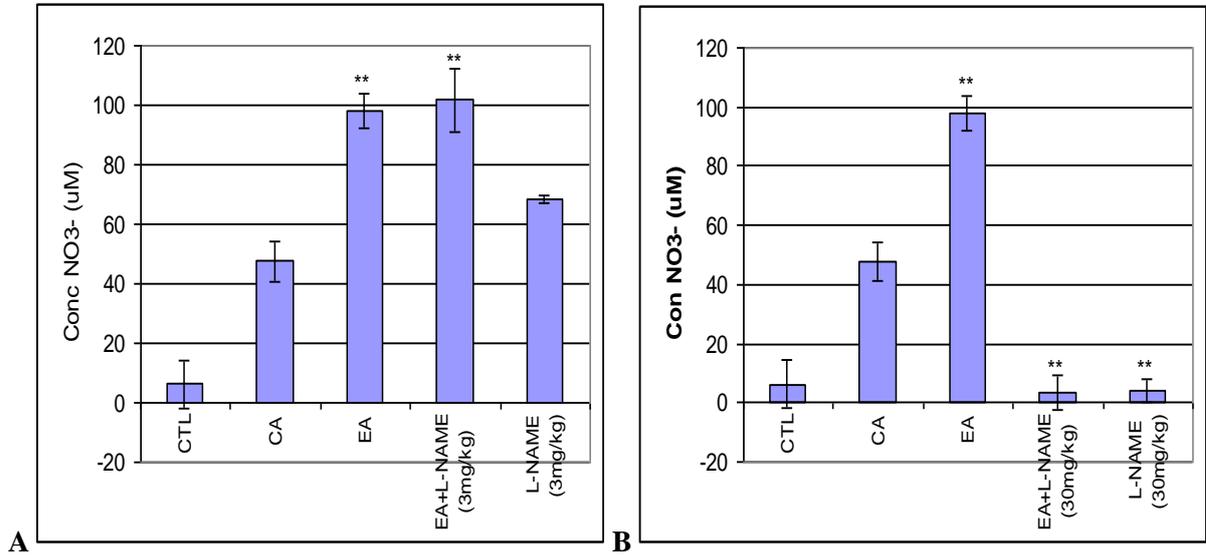


Figura 7. Concentraciones plasmáticas de los productos de oxidación del NO determinadas a las 4 horas postinyección de la carragenina (CA) intraplantar en la pata trasera de la rata en los diferentes grupos. **A.** El L-NAME se utilizó a 3 mg/kg **B.** El L-NAME a 30 mg/kg. Se expresan los valores de la media \pm e.e.m * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$ indican diferencias significativas con respecto al grupo control con CA.

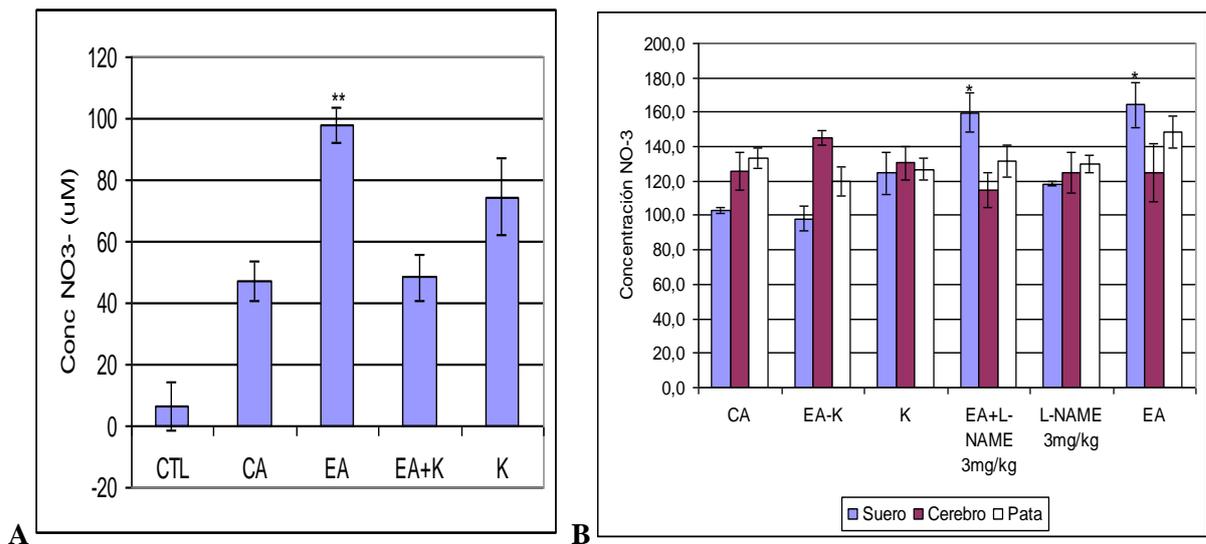


Figura 8. A. Concentraciones plasmáticas de los productos de oxidación del NO, determinadas a las 4 horas post-carragenina (CA). Efectos de la ketamina y su asociación a la electroacupuntura (EA). **B.** Concentraciones de productos de oxidación del NO en el sobrenadante de homogenatos de pata, cerebro y plasma de las ratas.

Solo se observaron cambios significativos en las concentraciones plasmáticas. Se expresan los valores de la media \pm e.e.m * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$ indican diferencias significativas con respecto al grupo control con CA.

5. DISCUSIÓN

5.1 Estudios Clínicos

Los resultados favorables sobre la reducción de las PDMD de la EA y la combinación EA-ketamina, en los pacientes con NPH forma nociceptor irritable, son una evidencia a favor de la utilización de esta técnica afín a la acupuntura en su tratamiento. Probablemente, la actividad analgésica esté relacionada a efectos sinérgicos y/o aditivos de beneficio para los pacientes que generalmente muestran resistencia a múltiples terapéuticas^{182,183}. Un grupo importante de ellos, son de la tercera edad, con alteraciones hepáticas y renales que dificultan el metabolismo y la excreción de las drogas^{31,142}. Otros poseen contraindicaciones absolutas o relativas para su uso. En la actualidad ha resurgido un interés por el dolor neuropático y un número importante de ensayos clínicos se han conducido en esta área, estos se focalizan hacia los estudios farmacológicos¹⁸⁴⁻¹⁸⁹. Un total de cinco ensayos controlados y a doble ciego evaluaron la eficacia de los antidepresivos tricíclicos en la NPH; tres fueron controlados con placebo y dos fueron estudios comparativos sin este¹⁹⁰⁻¹⁹⁴. Los estudios demostraron la eficacia de la amitriptilina, maprotilina y desipramina en el tratamiento de esta condición. Estos fármacos deben iniciarse a bajas dosis (10-25 mg en la noche por sus efectos sedantes) con incrementos semanales de 10-25 mg, la dosis efectiva media diaria oscila entre 25-150 mg y los efectos favorables no son visibles hasta 1-2 semanas de tratamiento sistemático¹⁹³. Además, deben ser utilizados con precaución en pacientes ancianos, cardiopatas, glaucomatosos o prostáticos^{184,194}. En especial la amitriptilina, que

es utilizada como tratamiento primario de la NPH, ha sido extensamente estudiada por más de 20 años¹⁹⁰⁻¹⁹⁴. Además de potenciar la inhibición en el cuerno dorsal espinal por sus efectos sobre la recaptación de aminas, se le atribuyen efectos inhibitorios sobre los canales de sodio, bloqueo de receptores NMDA y de receptores adrenérgicos en las fibras nociceptivas; sus múltiples blancos de acción explican la buena respuesta en esta entidad^{20,21,195}. Los antagonistas NMDA también se ensayan en el tratamiento del dolor neuropático, aunque los resultados no han sido tan alentadores. La memantina tiene una afinidad moderada por el receptor NMDA y ha mostrado efectividad en el control del dolor nocturno en la neuropatía diabética, pero en un estudio conducido en pacientes con NPH no mostró un efecto significativo en el alivio del dolor¹⁹⁶. En un ensayo controlado con placebo, el dextrometorfan, no tuvo buena respuesta, en comparación con otras condiciones neuropáticas¹⁶⁹. La ketamina como antagonista no competitivo de los receptores NMDA, utilizada por vía oral e intramuscular ha mostrado efectos beneficiosos en la NPH y en un estudio donde se utilizó a dosis de 0,15 mg por vía EV comparativamente con la morfina y la disolución salina, de 8 pacientes con una duración media del dolor de 3,8 años, 6 consideraron a la ketamina como el tratamiento más efectivo por su efecto antialodínico¹⁴³.

En el presente estudio, la combinación EA-ketamina permitió el tratamiento de ancianos, muchos con algunas de las contraindicaciones relativas para sus acciones simpaticomiméticas, sin que se observaran descompensaciones de sus enfermedades de base. Tampoco se presentaron trastornos psicomotores¹¹³. En congruencia con los resultados de este estudio, se acepta el efecto inhibitorio de la EA sobre la liberación espinal de aminoácidos excitatorios y SP, también, sobre la expresión de sus receptores, incluido el NMDA^{25,197-199}. Además de su actividad colinérgica antinociceptiva a través de receptores muscarínicos²⁰⁰. De esta forma, pudiera por mecanismos sinérgicos y(o) aditivos con la ketamina, potencializar la analgesia en estas condiciones. Otro mecanismo central reconocido de la EA, que podría haber favorecido estos resultados es su efecto depresor sobre la liberación del sistema nociceptina/orfanina (N/OFQ), que disminuiría la acción facilitadora de este sistema sobre el cuerno dorsal espinal^{201,202}.

Por otra parte, se demostró que los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRIs, por sus siglas en inglés), no poseen una efectividad similar a la de los antidepresivos tricíclicos en el tratamiento del dolor neuropático ²⁰³. Este dato, en conjunto con el hecho de que las aminas terciarias con actividad preponderante sobre la inhibición de NA, sean más efectivas que las secundarias, ha permitido teorizar que la modulación de las vías descendentes adrenérgicas es más importante que la de las serotoninérgicas en el efecto antineurálgico de estas drogas ^{20,204}. Está bien establecido, que la EA a 10 Hz activa al sistema modulador descendente supraespinal. De esta forma, la técnica promueve la liberación de opioides y 5-HT en la SGP, 5-HT en el núcleo dorsal del *rafe*, además de NA en el *locus coeruleus*, que activan las células *off* e inhiben las células *on* en la médula rostral ventromedial (RVM, por sus siglas en inglés) constituida por el núcleo del *rafe magno* (NRM) y la formación reticular ventrobulbar adyacente ²⁰⁵⁻²⁰⁹. Estas células poseen actividad tónica alternante y el efecto neto de este proceso es la inhibición nociceptiva en el cuerno dorsal espinal, a través de receptores 5-HT1A y 5-HT3, $\alpha 2$ adrenérgicos y μ opioides preponderantemente ²¹⁰.

La conducta terapéutica actual en el dolor neuropático, recomienda la combinación de dos o más drogas para mejorar los resultados, la monoterapia generalmente, alivia parcialmente el dolor ^{195,204}. El sinergismo entre fármacos u otras terapias, permite disminuir las dosis y los efectos indeseables de los fármacos ¹⁸². En realidad la existencia de varios tipos de dolor en estos pacientes, sugiere que múltiples mecanismos fisiopatológicos están involucrados con participación del sistema periférico y central, por lo que es razonable una estrategia con múltiples agentes, que posean mecanismos de acción complementarios para poder controlar los síntomas o un fármaco polimodal ^{15,20,21}. También, serían beneficiosos agentes con acción a nivel transcripcional con acciones primarias sobre varios sistemas biológicos ⁸⁶. De ahí que esta técnica, que modula la actividad de estos sistemas a nivel periférico, espinal y supraespinal reúna en sí misma estos requisitos. Algunos autores sugieren el valor de la acupuntura, la EA y la laserpuntura en el tratamiento del dolor neuropático, pero se hacen necesarias investigaciones sistematizadas para su afirmación ^{1,2}. Además, estudios en modelos animales de daño neural parcial, demuestran el efecto antihiperálgico y antialodínico de la electroacupuntura a baja frecuencia ^{177,211,212}. En un estudio de 16 pacientes con NPH de 3-4 meses de evolución, que fueron

tratados con amitriptilina a bajas dosis (75-120 mg/día) y Neuroestimulación Eléctrica Transcutánea (TENS, por sus siglas en inglés), la cual posee algunos mecanismos similares a la EA, 12 pacientes mejoraron su sintomatología. Los autores consideraron que esta terapia neuromoduladora debe incluirse entre las opciones terapéuticas iniciales de esta entidad ^{143,169}.

Aunque el grupo EA-ketamina mostró valores más bajos de las PDMD al final del estudio, la EA a 10 Hz, también fue una opción terapéutica en estos pacientes, para reducir los valores de las PDMD con respecto a los iniciales. No obstante, las suspensiones por no respuesta terapéutica fueron presentadas preferentemente en este grupo y la necesidad de asociar una segunda tanda de 10 sesiones al mes de la evolución. Este fenómeno favorece la idea, de que en los pacientes con NPH la combinación EA-ketamina sería más efectiva que la EA a 10 Hz, evidentemente por un reforzamiento de sus acciones sobre diversos blancos moleculares involucrados en su fisiopatología ¹⁷⁷. El mantenimiento de la analgesia hasta los 3 meses, se podría relacionar con los efectos a largo plazo descritos para estas técnicas ^{28,151}. Se ha documentado que la EA activa al sistema inhibitorio endógeno, al sistema opioide y al eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal más extensamente en modelos inflamatorios que en animales sanos, esto se ha relacionado con efectos más prolongados por días y meses de la EA ¹⁵¹. Varios autores, manifiestan discrepancias entre los resultados de estudios experimentales y los hallazgos clínicos en relación a la participación de los opiodes en la analgesia electroacupuntural. Al parecer, estos contribuyen al efecto transitorio de la EA, mientras que el alivio que ella causa en los dolores clínicos más complejos, sería de tipo no opioide-dependiente ²⁸. Además, se ha descrito el efecto preventivo de la EA, de ahí que su aplicación en el preoperatorio sea más común que en el postoperatorio con fines analgésicos y para el control de las náuseas o vómitos en estas condiciones ^{28,213}. En modelos animales de inflamación con carragenina, se ha publicado su efecto antiinflamatorio profiláctico no opioide dependiente, pues este no fue inhibido por naloxona. No así su efecto sobre la inflamación

establecida ²⁸. Además, en este mismo estudio disminuyó en igual magnitud, el número de neuronas inmunorreactivas para Fos (Fos-IR) en láminas superficiales del cuerno dorsal espinal, lo cual fue indicativo del efecto inhibitor sobre la actividad neuronal a este nivel ^{64,65}. La activación del receptor NMDA induce la expresión de *c-fos* en neuronas espinales, este gen de expresión temprana se ha utilizado como un marcador de la actividad de este receptor ⁶⁵. Entre los protooncogenes más estudiados se encuentran el *c-fos* y *c-jun* ²⁰⁻²². La proteína Fos, sintetizada a partir de la expresión del gen *c-fos*, es una nucleoproteína con funciones reguladoras sobre algunos de los genes de las neuronas denominados genes maestros o reguladores, esta permitiría la codificación génica de un modelo alterado con aumento en la capacidad de respuesta de las neuronas del cuerno dorsal espinal ^{20,64,65}. Las fibras C y A δ son las únicas que al ser estimuladas inducen la expresión de *c-fos* en la neuronas del cuerno posterior ^{1,2,64,65}. Por ejemplo, el *c-fos* está involucrado en el control transcripcional de los genes de dinorfina y encefalina; su expresión después de una estimulación nociva lleva al aumento de la síntesis de estas ^{62,65}. En especial, la presencia de proteína Fos está relacionada con la actividad de los receptores NMDA, protagónico en la sensibilización central y es considerada la huella bioquímica del dolor crónico ^{20,62}. La activación del receptor NMDA también constituye un estímulo para la translocación del NF κ B, el cual promueve la expresión de citocinas proinflamatorias, NOSi, COX-2 y pre-prodinorfina, que contribuyen al programa genético perpetuador del daño neural ⁹¹. Todos los pacientes estudiados tenían más de 3 meses con dolor, pero menos de 6, aunque se consideran dolores crónicos, no eran de larga evolución; quizá la EA aplicada en las primeras etapas de estos procesos, pudiera evitar la expresión de este modelo alterado de respuestas exageradas de las neuronas del cuerno dorsal espinal y así disminuir el proceso de memorización dolorosa. De hecho, otros autores han descrito en modelos de inflamación persistente con adyuvante completo de Freund, el efecto depresor de diferentes frecuencias (2, 15, 120 Hz) de estimulación electroacupuntural aplicada

cada 3 días durante 1 mes, sobre la expresión de diferentes receptores de glutamato en cuerno posterior ¹⁹⁸. Es de resaltar que la expresión del receptor NMDA, fue reducida en todas sus regiones y a todas las frecuencias de estímulo. La expresión del receptor metabotrópico mGlu-1, también fue prevenida en láminas superficiales y se inhibió la expresión de Fos, preferentemente a 2 Hz. De la misma manera se atenuó la expresión de PRGC en esta zona, pero a todas las frecuencias de estímulo ¹⁹⁸. Por otra parte, en un modelo de CCI, se ha descrito que la EA potencializa la función del sistema factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF), por sus siglas en inglés) y de su receptor GFR α -1 en el ganglio de la raíz dorsal y en el cuerno dorsal espinal ipsilateral ^{211,212}. Este factor muestra efecto analgésico en el dolor neuropático y en estas condiciones puede constituir un mecanismo de la analgesia electroacupuntual. Su efecto fue atenuado por un oligodeoxinucleótido específico contra GFR α -1²¹². Ha sido demostrado, que este factor protege contra múltiples cambios fenotípicos que ocurren en estas condiciones. De esta forma, previene la generación de brotes de fibras A β hacia la lámina II, bloquea las descargas ectópicas en las fibras gruesas mielinizadas, suprime la producción de neuropéptido Y inducida por el daño neural y promueve la liberación de somatostatina (SOM) desde las fibras primarias sensoriales ^{1,2,211,212}. Otro estudio, en un modelo CCI, demostró la expresión de SOM y de ARNm de pre-SOM bajo régimen electroacupuntual en un subgrupo de neuronas nociceptivas del ganglio de la raíz dorsal espinal que dirigen sus axones a la lámina II del cuerno dorsal espinal, la cual posee acciones antinociceptivas ²¹⁴. La expresión de SOM en el núcleo del *rafe magno* por la EA, también ha sido relacionada con sus acciones analgésicas ^{211,212,214}.

En el presente estudio, para homogenizar la muestra y en concordancia con la hipótesis de trabajo, se seleccionaron pacientes del grupo nociceptor irritable, los cuales tuvieron supresión del dolor prolongada al infiltrar la zona afectada con lidocaína 0,5 %. En algunos pacientes, la infiltración de una pequeña zona central, fue suficiente para eliminar la alodinia de grandes áreas de la piel

circundante, como describen otros autores ^{3,4,15}. Además de evaluar la variación de la PDMD, se exploró la evolución del área y la intensidad de alodinia mecánica dinámica, que es la forma de dolor provocado más frecuente descrita en este grupo. Esta alteración se observó en la totalidad de los pacientes estudiados. También se estudió la intensidad de la alodinia térmica, que de manera similar, se presentó en 100 % de los pacientes y la frecuencia de los paroxismos dolorosos al día, en 68,3 % de ellos.

Los posibles mecanismos de la EA responsables de estos resultados, pudieran correlacionarse con los efectos de algunas terapias ensayadas recientemente en la NPH forma nociceptor irritable. Los opiodes suprimen la respuesta central a los impulsos de los nociceptores y estos además, tienen receptores opiodes en sus terminales periféricas. Entonces, estas drogas deberían ser de elección cuando el dolor es mantenido por nociceptores disfuncionales ^{18-20,55}. La analgesia opioide inducida por la EA a 10 Hz, podría sinergizar favorablemente con la inducida por la ketamina. Aunque generalmente es aceptado, que los dolores neuropáticos no responden a los opiodes ^{1,2}, otros autores sugieren que aunque no son tan efectivos en estos estados como en el dolor nociceptivo, pueden ayudar cuando son aplicados con eficacia ¹⁶. La oxicodona 30 mg/día por 4 semanas, fue evaluada en la NPH y resultó en un alivio del dolor significativo con respecto al grupo placebo ²¹⁵. En otro estudio, fue comparado el efecto de la morfina y la metadona con el de los antidepresivos tricíclicos, ambas mostraron resultados superiores al reducir el dolor con respecto al placebo, mejores para la morfina ²¹⁶. De ahí, que estos pacientes también fueran buenos candidatos para el tratamiento con EA a 10 Hz. Por otra parte, dos ensayos clínicos demostraron la efectividad de la capsaicina en el tratamiento de la NPH. Después de 6 semanas de tratamiento, los pacientes tratados con capsaicina mostraron mejoría en el rango de 15-30 % de sus valores de la EVA comparados con 1-5 % de los tratados con crema placebo ¹⁸⁷⁻¹⁸⁹. Más de 80 % de los pacientes comunicaron escozor y en otro estudio el dolor insoportable tipo quemante determinó el abandono de 33 % de los pacientes ¹⁸⁹. En teoría, los pacientes con NPH tipo nociceptor irritable serían más propensos a suspender el tratamiento con capsaicina, pero también podrían ser los más beneficiados a largo plazo producto de la depleción de SP en las terminaciones nociceptivas ^{68,189}. Uno de los mecanismos antiinflamatorios de la acupuntura se ha comparado con las acciones de la

capsaicina ²¹⁷. Este proceder, también posee un efecto irritante pasajero, el cual se ha atribuido a la liberación de SP desde las aferentes nociceptivas C y su aplicación repetida resulta en una depleción de la liberación de este neuropéptido y del PRGC desde las neuronas. Este efecto es más pronunciado durante la inflamación ²¹⁷. En concordancia con este hallazgo, la acupuntura induce eventos periféricos que mejoran la función tisular y controlan el dolor local a través del reflejo axónico; mediante la liberación de neuropéptidos antidrómicamente (PRGC y SP), así como β endorfina local, esto explicaría el aumento de las molestias que pueden ocurrir al inicio del tratamiento ²¹⁷. El alivio del dolor es observado después de varios días de aplicación, al disminuir la liberación de estos neuropéptidos y lograr niveles efectivos de β endorfina por los mastocitos, que promueve la producción de IL-10, la cual es dependiente de la población de células-T *helper* 2 ²³⁴. Se ha demostrado que niveles altos de PRGC poseen efectos pro-inflamatorios, pero contrariamente a bajas concentraciones, sus efectos son antiinflamatorios ²¹⁷. La SP podría frenar por retroalimentación negativa, la liberación del PRGC desde las terminaciones nerviosas; por lo que se ha sugerido el valor prominente del PRGC en el efecto regulador de la acupuntura sobre la inflamación aguda, subaguda y crónica, relacionado con sus propiedades vasodilatadores ²¹⁷. La β endorfina contribuiría al efecto analgésico y al balance entre citocinas proinflamatorias, en especial el TNF α y antiinflamatorias como la IL-10 ²¹⁷. Estos eventos, pudieran contribuir al balance funcional de los nociceptores disfuncionales; el estímulo acupuntural los modularía al disminuir las concentraciones de AMPc, aumentadas en estados de dolor ^{75,76}. Se ha constatado disminución de la cantidad de AMPc al aumentar la analgesia acupuntural, así como que al suministrar L-dopa por vía EV aumenta la tasa de AMPc y se atenúan los efectos analgésicos de la acupuntura, mientras que con concentraciones elevadas de GMPc ocurre el efecto inverso ^{147,149}.

Un nuevo modelo animal para reproducir la NPH en ratas adultas inducido con resiniferotoxina, un agonista ultra-potente del receptor potencial transitorio vainilloide subtipo 1 (TRPV1, por sus siglas en inglés), muestra cambios paroxísticos prolongados en la sensibilidad mecánica y térmica similares a los observados en esta entidad ²¹⁸. Además, recientes hallazgos demuestran que la activación del receptor TRPV1 sobre la aferente primaria por la capsaicina promueve la liberación de SP, la cual

excita a interneuronas inhibitorias de láminas I, III y IV, que promueven la liberación de GABA y glicina hacia lámina II, de manera paralela a la vía para liberación de glutamato ²¹⁹. Esta acción inhibitoria persiste tras el bloqueo de los receptores para glutamato. La acción dual de la SP, pudiera explicar los pobres efectos analgésicos de los antagonistas NK-1 en el hombre. Su efectividad mejora de manera interesante, al combinarse con un antagonista NMDA ^{62,219}. Estos eventos, podrían argumentar la buena respuesta terapéutica de los pacientes con NPH frente a la EA. Ella, promovería la liberación inicial de SP que pudiera facilitar la acción inhibitoria gabaérgica en lámina II, asociada a la acción depresora sobre la liberación de glutamato descrita por algunos autores ²⁵. Este efecto se potencializaría en presencia de ketamina. La activación segmentaria de interneuronas gabaérgicas por la EA ha sido descrita preponderantemente a altas frecuencias de estímulo (100 Hz) ¹⁴⁶. En este estudio se trabajó con una frecuencia de 10 Hz, parámetro en el que se describe la liberación mayoritaria de β endorfina, encefalinas y endomorfina-1 a nivel supraespinal ^{145,146}.

En pacientes con NPH, se ha descrito el aumento de la concentración de interleucina 8 (IL-8) en el líquido cerebrospinal por encima de 20 $\mu\text{g/L}$, en correlación con la intensidad y duración de la neuralgia ²²⁰. Estudios imagenológicos con resonancia magnética nuclear (RMN) demostraron cambios estructurales en el sistema nervioso central de pacientes con NPH, pero no en pacientes que se recuperaron del HZ sin presentar neuralgia ²²⁰. En modelos animales y también en humanos, algunas investigaciones sugieren que los procesos neurodestructivos son mediados por la IL-8. Esta, ha sido aislada en conjunto con otras citocinas en el líquido cerebrospinal de pacientes con daño neural traumático y hemorragia subaracnoidea ²²⁰. Otros autores, plantean una correlación entre las concentraciones elevadas de esta IL y la mortalidad por trauma cerebral, además la inhibición de la actividad de IL-8 en modelos experimentales de accidente cerebral isquémico, redujo el área de infarto y el edema cerebral secundario. La IL-8 deriva de neuronas, glías y células endoteliales del cordón espinal, su aumento puede ser consecuencia de la respuesta inflamatoria, parte del proceso defensivo contra el daño neural viral ^{3,4}. Las citocinas anti-inflamatorias, como la IL-10, se encuentran elevadas en condiciones de daño agudo cerebral y pueden favorecer la recuperación cerebral en modelos animales ²²⁰. Además, la IL-8 se comporta como un promotor potencial del factor de crecimiento

nervioso. En cultivos de astrocitos facilita su producción y después del daño cerebral su concentración se ha correlacionado con la del factor de crecimiento nervioso en el líquido cerebroespinal. Ella, también promueve la supervivencia en cultivos de células de hipocampo ^{21,62}. El efecto modulador de la EA sobre el balance de citocinas pro y antiinflamatorias, pudiera tener participación en los efectos beneficiosos observados a largo plazo en la NPH.

En los pacientes estudiados, se observó la reducción gradual del área de alodinia dinámica. Este efecto se hizo ostensible a los 3 meses, pero fue más significativo en el grupo EA-ketamina y se estableció a partir de los 2 meses, más tempranamente en comparación con los otros grupos. La efectividad para reducir la intensidad de la alodinia dinámica se demostró a partir del mes para la combinación EA-ketamina, posteriormente para los grupos EA y ketamina. Existen evidencias experimentales, que apoyan la idea de que la alodinia táctil en humanos es provocada por la activación de las fibras mecanorreceptoras A β de bajo umbral y se implican en su generación los cambios periféricos y centrales de la excitabilidad y la conectividad neuronal ²²¹. El tamaño del área de alodinia o hiperalgesia ha sido usado extensivamente en modelos experimentales de dolor en humanos y animales, así como, en pacientes con dolor neuropático ²²². Se considera que este parámetro refleja el nivel de sensibilización central mantenido por los impulsos periféricos ¹⁶⁸. El aumento del área del campo receptivo de los nociceptores aferentes primarios, hacia la región adyacente a la lesión, es uno de los mecanismos de sensibilización periférica ²¹. Cuando se lesiona un nervio periférico, más de 50 % de las fibras C pueden desarrollar mecanosensibilidad, este fenómeno es responsable de la sensibilidad observada en el área que rodea a la lesión ^{2,221}. El bombardeo de los nociceptores disfuncionales favorece el establecimiento de la sensibilización central y los campos receptivos de las neuronas espinales pueden ampliarse incluso a áreas distantes. Las neuronas que funcionaban como mecanorreceptoras, pueden cambiar su fenotipo y funcionar como nociceptivas ^{2,48}. Además, la neurona bipolar primaria, en respuesta al daño neural aumenta su actividad neuroquímica, puede generar descargas aberrantes en el cuerno dorsal espinal y antidrómicamente contribuye a la inflamación neurogénica en los tejidos periféricos, de esta forma, sensibiliza más a los nociceptores de áreas lesionadas y adyacentes ^{21,168}. También, en modelos experimentales se han demostrado

acoplamiento presináptico anormal entre fibras aferentes A β y C, aunque estos aún son controversiales ¹⁶⁸. Para muchos autores, la mecanoalodinia dinámica resulta de una respuesta central exagerada al influjo de las fibras A β producto del desbalance inhibición-excitación, su crecimiento hacia la lámina II del cuerno dorsal espinal y sus cambios fenotípicos, que determinan la expresión de SP y PRGC ²⁰⁻²². Entonces, los estímulos de bajo umbral, pueden determinar la liberación de estos neuropépticos y favorecer la hiperexcitabilidad central. En este estudio se observó la reducción del área de mecanoalodinia, incluso en el grupo con EA sola, aunque la combinación EA-ketamina logró mejores resultados. Este hallazgo, constituye una evidencia en humanos de la actividad inhibidora de la EA sobre la sensibilización central. Los resultados obtenidos, pudieran relacionarse con la actividad sinérgica inicial mostrada a los 15 días, con el antagonista NMDA, que potencializa la inhibición opioide presináptica-postsináptica y monoaminérgica de la EA a 10 Hz, entre otros mecanismos que se le atribuyen a esta droga y a la propia EA ^{17,25,113,117}. Ella, a esta frecuencia, libera a nivel supraespinal preferentemente β endorfina, endomorfina-1 y encefalinas, la primera media la liberación en cuerno dorsal espinal de encefalina a través de su acción sobre receptores ϵ , los otros agonistas μ a través de sus efectos sobre este receptor median la liberación de NA y 5-HT espinal ^{205,223,224}. Los resultados evidencian que la EA sola puede ser una alternativa, pero ante las alteraciones severas del procesamiento nociceptivo, observadas en la NPH, la combinación EA-ketamina puede ser más favorable. El beneficio que causa la EA sobre los mecanismos periféricos, podría estar relacionado con sus efectos locales a través del reflejo axónico, similares a los de la capsaicina, para la que se ha descrito este efecto y a la liberación de β endorfina local ²¹⁷. Sobre los mecanismos centrales, su contribución radicaría, en la capacidad neuromoduladora de la liberación de aminoácidos excitatorios en el cuerno dorsal espinal y la potenciación de su inhibición por mecanismos opiodes y monoaminérgicos balanceados, como una alternativa para reducir las dosis de fármacos ^{25,207,209}.

Los estudios con modelos animales y en humanos sugieren que la ketamina posee efectos antialodínicos, de hecho ella es efectiva para reducir la alodinia, hiperalgesia e hiperpatía, más que como analgésico *per se* ²²⁵. La alodinia es causa importante de incomodidad para los pacientes con NPH ^{3,4,15}. La actividad de la EA sobre el sistema GDNF-GFR α -1 demostrada recientemente, pudiera

influir en estos resultados a largo plazo, mediante la inhibición de la regeneración de fibras A β que crecen hacia las láminas superficiales ^{211,212}. En correspondencia con esta idea se aceptan las cualidades neuroprotectoras de la EA. En modelos de isquemia-reperfusión, la EA revirtió la *up regulation* de la subunidad NR1 de los receptores NMDA y favoreció la del receptor TrK A para factor de crecimiento nervioso, que es un factor clave para la supervivencia neuronal ²²⁶. Por otra parte, algunos autores relacionan los efectos antihiperalgésicos mecánicos de la EA, con la reducción de la liberación cerebral de OFQ en modelos de dolor neuropático ^{201,202}. La nociceptina-orfanina tiene acciones duales sobre las vías nociceptivas no del todo esclarecidas ²²⁷. Esta, administrada por vía i.c.v. ha causado hiperalgesia en ratones, pero a nivel espinal predominantemente puede tener efecto inhibitorio, pues se ha publicado que por vía i.t. bloquea el *wind-up* en cuerno dorsal espinal e inhibe la actividad de neuronas del núcleo espinal trigeminal ante la aplicación de aminoácidos excitatorios ^{228,229}. También, este péptido ha mostrado efectos antinociceptivos en la prueba de retirada de la cola (TFT, por sus siglas en inglés) y en la prueba de la formalina ²²⁷. Se ha descrito que potencializa la analgesia inducida por morfina y EA, efecto que no fue revertido por naloxona, ya que sus acciones no son mediadas por los clásicos receptores opiodes ^{228,229}. Además, se ha documentado que el tratamiento alternante con alta y baja frecuencia de EA, reduce el ARNm de prepro-orfanina FQ en NRM y aumenta la inmunoreactividad de las neuronas para OFQ como medida de su retención; o sea, disminuye la expresión y liberación de este neuropéptido a nivel del NRM, donde posee una acción pronociceptiva ²⁰¹. El NRM se proyecta hacia las neuronas del cuerno dorsal espinal para modularlas, esta sustancia podría facilitar la excitabilidad de estas neuronas, así que el efecto central de la EA al deprimir la liberación de OFQ, podría disminuir su acción facilitadora a nivel medular ²⁰¹.

La reducción de la intensidad de la alodinia térmica al calor fue significativa en este estudio, más para el grupo EA-ketamina, aunque no hubo diferencias significativas entre grupos. Estudios previos en pacientes con NPH, demostraron una correlación positiva entre la intensidad del dolor espontáneo y la intensidad de la alodinia, a su vez, una correlación inversa entre la deficiencia sensorial térmica y el dolor espontáneo continuo, así como con la alodinia ^{3,15,55}. Entonces, los pacientes con dolor y alodinia más intensos, presentan también hiperalgesia intensa al calor en el área de máximo dolor. Estos

hallazgos, sugirieron la contribución significativa al dolor y a la alodinia, de los nociceptores y se consideraron disfuncionales, pero aún conectados a sus blancos periféricos y centrales. De ahí, que los nociceptores preservados desempeñan un papel crítico en la NPH⁵⁴. Se acepta, que los pacientes con dolor a los estímulos subumbrales, también presentan un incremento de las sensaciones dolorosas a los estímulos supraumbrales (hiperalgesia), esta relación no se cumple en sentido contrario^{3,54}. Es decir, los pacientes alodínicos al calor, pueden ser considerados hiperalgésicos al calor. En este estudio, una sencilla prueba diagnóstica, en la que se utilizó una temperatura no nociva, permitió realizar la correspondencia de los síntomas sin causar daño al paciente. De esta manera, la totalidad de la muestra fue hiperalgésica al calor. En estudios preclínicos, se ha determinado que la hiperalgésia térmica que sigue a la administración intraplantar de carragenina, fue mediada por activación periférica de receptores de aminoácidos excitatorios NMDA y no NMDA. Esta involucra circuitos espinales y supraespinales en sus génesis y se nutre de impulsos provenientes de fibras finas C, muy sensibles a opiodes¹⁷⁹. Un estudio con potenciales evocados por estimulación láser (LEPs, por sus siglas en inglés) ha contribuido a reforzar el valor de la función aferente C en la NPH²³⁰. En este sentido, la EA a 10 Hz se ha reconocido por su actividad antihiperalgésica opioide dependiente y por su efecto inhibitorio preponderante sobre la actividad de las fibras C, las cuales son ricas en receptores opiodes y TRPV1²³¹. No obstante, también se obtuvo buena respuesta en los pacientes con alodinia mecánica, dependiente de impulsos de fibras gruesas A β , esta, también se controla con opiodes, pero responde mejor a la nociceptina/orfanina²²⁷. En correspondencia con este planteamiento, se ha publicado que los efectos de este péptido sobre la alodinia mecánica son más potentes, que sobre la hiperalgésia térmica; lo contrario sucede con la morfina^{227,228}.

En este estudio, se observó la reducción temprana del dolor paroxístico, desde el segundo mes del tratamiento en todos los grupos. Con mejores resultados para el grupo EA-ketamina, en el que el número de paroxismos al día disminuyeron desde el mes. En estas condiciones, el dolor independiente del estímulo de tipo paroxístico es mediado por la actividad espontánea de las fibras C. A través de los canales de sodio acumulados en el sitio del neuroma, a lo largo de los axones afectados y sanos que generan focos de hiperexcitabilidad y descargas ectópicas^{1,2,232}. Por esta razón, se utilizan en su el

tratamiento, los bloqueadores de canales de Na^+ (fármacos antiepilépticos, anestésicos locales, antiarrítmicos)¹⁷. También, la actividad de la neurona de proyección en cuerno dorsal espinal está implicada en la génesis del dolor espontáneo, que en estas condiciones, puede mostrar un desbalance inhibición-excitación^{1,2,57}. La sensibilización central se caracteriza por la actividad espontánea de estas neuronas²². Los resultados podrían relacionarse con el efecto activador de la EA a 10 Hz sobre los sistemas inhibitorios supraespinales que modulan al cuerno dorsal espinal, potencializados por el antagonista del receptor NMDA^{25,207,209}. Aunque la ketamina, también posee actividad sobre otras dianas moleculares y se ha descrito su unión a receptores opiodes y su acción bloqueadora sobre canales de Na^+ y Ca^{2+} ^{113,225}. Este fármaco se utilizó a bajas dosis y en estas condiciones se expresan preponderantemente los efectos bloqueadores sobre el receptor NMDA, el bloqueo sobre canales de Na^+ y Ca^{2+} se describe a dosis superiores en animales²³³.

5.2 Estudios Preclínicos

El presente estudio se diseñó con los parámetros óptimos para condiciones de hiperalgesia inflamatoria inducida por adyuvante completo de Freund, de acuerdo a experimentos anteriores realizados por Lao y colaboradores¹⁵¹. En este caso, se realizó en el modelo del edema de la pata inducido por carragenina, en el cual no existen antecedentes de la utilización del método de aplicación electroacupuntural con el animal conciente y no restringido^{150,151}. Ambos modelos, son modelos de inflamación e hiperalgesia, que se diferencian en el tiempo de inicio y la duración. Para el primero el inicio es más lento de 2-6 h y se prolonga por 1-2 semanas, mientras para la carragenina es más rápido, aproximadamente 1h, con prolongación hacia las 24 h, solo puede extenderse a 1 semana con aplicaciones repetidas^{41,234}.

El efecto antihiperalgésico del pretratamiento con EA, está en correspondencia con el pico hiperalgésico temprano del modelo descrito a las 3-4 h y en relación con la liberación de múltiples mediadores ⁴¹⁻⁴⁴. Este efecto, fue significativo a la hora post-inducción del daño, lo que puede estar relacionado con la actividad inhibidora de la EA sobre la fase prefagocítica (0-1 h) de la inflamación en este modelo ²⁸. Esta fase se caracteriza por el daño citoplasmático de los mastocitos de la dermis, su degranulación con el consiguiente aumento de la liberación de histamina y 5-HT, el daño citoplasmático y de organelos de células endoteliales de vasos sanguíneos, la expresión de IL-1 en estas células endoteliales dañadas, así como liberación de BK ^{28,41}. Ella, resulta en la atracción de fagocitos al sitio de lesión y el inicio de la respuesta fagocítica, de ahí que la EA secundariamente, pudiera tener repercusión sobre la fase fagocítica ²⁸. De 1-6 h se ha documentado la liberación de prostaglandinas y se induce COX-2 en el tejido inflamado, en relación con la infiltración de neutrófilos, también la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (peróxido de hidrógeno, radical superóxido, radical hidroxilo, NO, peroxinitrito) ^{28,49,50}. La EA a 2, 15 y 120 Hz inhibió el edema y la hiperalgia en este modelo ²³⁵. Este efecto se relacionó, específicamente a 2 Hz, con la inhibición de la expresión de la COX-1, COX-2 y la iNOS ^{235,236}. Ellos determinaron en este estudio, que el ARNm de la COX-1 y el de la COX-2 no se expresaron a nivel espinal ²³⁵. Además, la síntesis de PGE2 fue particularmente inhibida a nivel espinal y periférico ^{235,236}. Las terminales nociceptivas contribuyen al proceso con la liberación de neuropéptidos (SP y PRGC), también neurotrofinas como el factor de crecimiento nervioso que aumenta significativamente en estadios tempranos de la inflamación por carragenina ^{28,41,50}. En este experimento, se evaluó la fase temprana (2-6 h) de la hiperalgia térmica, esta se ha considerado el resultado de la combinación de citocinas, productos de la COX y aminas simpático-miméticas, la liberación de citocinas precede a los otros ^{41,48}. En estudios anteriores, la hiperalgia térmica ha sido inhibida por la administración previa de indometacina y morfina por vía subcutánea ⁴¹⁻⁴⁴. En

correspondencia con los resultados, el pretratamiento con EA a 10 Hz, en estas condiciones pudiera reducir la liberación de citocinas pro-inflamatorias^{41,44}. Existen evidencias, de la actividad inhibitoria de la EA sobre la producción de SP en las terminaciones periféricas, cuerno dorsal posterior y núcleo trigeminal, así como de la reducción de IL-1 β en tejido sinovial y células del Bazo en modelos de artritis²⁸. También, de su acción inhibitoria sobre la activación microglial y la disminución de la liberación de IL-1 β , IL-6 y TNF α espinal tras su aplicación sistemática en modelos de monoartritis^{165,166}. Se ha teorizado que la β endorfina liberada por el proceder, contribuye al efecto analgésico y al balance entre citocinas pro-inflamatorias, en especial el TNF α y anti-inflamatorias como la IL-10²¹⁷. También en un modelo inflamatorio de *air pouch* en ratones, la EA inhibió la migración de leucocitos hacia la *bula* a través de mecanismos opioides periféricos²³⁷.

Otro estudio, demostró un mecanismo sinérgico para el efecto antihiperalgésico de la EA a 10 y 100 Hz combinada con indometacina a dosis subanalgésicas, en un modelo de inflamación inducida por adyuvante completo de Freund en ratas²³⁸. El AINE por sus efectos periféricos como inhibidor COX-2, al disminuir los prostanoides, en especial la PGE2, de reconocido efecto sobre la sensibilización de nociceptores en la periferia, también con efectos espinales y supraespinales sobre los sistemas inhibitorios, demostrados recientemente⁷⁵. La EA, por su mecanismo opioide que deprime la liberación de glutamato y SP espinal, que determinan un balance inhibitorio en cuerno dorsal espinal^{25,26}. Al parecer, la acción favorecedora de la liberación de opioides es predominante en el efecto antihiperalgésico del proceder, demostrado en modelos inflamatorios inducidos por carragenina y adyuvante completo de Freund, también de daño neuropático^{150,151,205}.

Algunos autores, sugieren que en condiciones de dolor patológico, los cambios inducidos por el insulto persistente en los circuitos neuronales espinales, podrían determinar que los

mecanismos de analgesia electroacupuntural fueran diferentes ^{28,151}. Se demostró, mediante la utilización de antagonistas selectivos de receptores opiodes, que en estas condiciones, tanto la baja como la alta frecuencia de estímulo, producen efectos antihiperalgésicos mediados por receptores opiodes μ y δ , no por receptores κ ^{26,239}. De esta manera, la EA podría ejercer sus acciones a través de la activación de los sistemas endorfina-endomorfina y encefalina, pero no por el de dinorfina a nivel espinal durante el dolor persistente ^{26,239}. Estos hallazgos van a favor de la utilización de la EA en el dolor patológico, al no interferir este opioide, que se conoce, posee efectos duales en el cuerno dorsal espinal y puede facilitar la respuesta de un tercio de sus células superficiales ^{18,65,91}. En otro estudio realizado en el modelo de la carragenina, un antagonista selectivo del receptor κ no demostró actividad analgésica. También se documentó el efecto aditivo de la EA a 10 Hz con dosis subanalgésicas de morfina ²⁶.

No obstante, se conoce que otros sistemas que están involucrados en el modelo, pueden mediar la antinocicepción presináptica y postsináptica espinal y supraespinal de la EA a baja frecuencia y sinergizar en el efecto antihiperalgésico; como el sistema serotoninérgico ^{208,240,241}. Se demostró en un modelo inflamatorio de artritis inducida por colágeno, en el que se utilizaron antagonistas selectivos de los receptores de 5-HT y de acetilcolina, que la EA mediaba el efecto antihiperalgésico a través de la interacción de la serotonina liberada con los receptores 5-HT1A y 5-HT3, no con el 5-HT2 ²⁰⁰. Estudios previos, demostraron la importancia del receptor 5-HT1A en las vías inhibitorias descendentes antinociceptivas hacia el cuerno dorsal espinal, precisamente, en un modelo inflamatorio inducido por carragenina ²⁴⁰ y electrofisiológicamente se ha demostrado que la activación del 5-HT1 causa hiperpolarización neuronal en cuerno dorsal espinal, núcleo del *rafe magno*, sustancia gris periacueductal y tálamo ^{240,241}. En la actualidad, se considera la activación de gran amplitud de este receptor, como un nuevo mecanismo de analgesia central profunda; pues se ha

evidenciado mediante la aplicación de un agonista de alta eficacia, el F 13640, la existencia de resultados duales, prohiperalgésicos en ratas normales en modelos de dolor breve y medio ²⁴². Sin embargo, en modelos de dolor persistente inducido por formalina, adyuvante completo de Freund y neuropáticos, produce una profunda analgesia ²⁴². Se conoce que la estimulación nociceptiva y la morfina muestran acciones opuestas sobre las vías descendentes, para la primera el efecto de primer orden sería analgesia y el de segundo orden, cuando el tratamiento es continuado, sería la hiperalgesia. En el caso de la nocicepción, el efecto de primer orden sería el dolor y el de segundo orden la hipoalgesia; es el principio de la analgesia por contra-estimulación, que hoy está mejor establecido por evidencias conductuales y electrofisiológicas ²⁴². Al parecer el agonista de alta eficacia de este receptor, de manera similar a la morfina, produce efectos opuestos pro y antihiperálgicos, pero en espejo a los de la morfina, es decir, mientras se establece la tolerancia a la morfina, la tolerancia inversa se establece a este ligando, ambos cooperan en la producción de analgesia ²⁴². La EA en estas condiciones de dolor inflamatorio podría favorecer la analgesia a través de este receptor. Otros autores abogan por las acciones pronociceptivas espinales de los receptores 5-HT1A y 5-HT1B ²⁴³. Estos se encuentran densamente distribuidos en láminas superficiales del cuerno dorsal espinal y las NARD en láminas IV-VI ^{241,243}. Ellos demostraron que los receptores 5-HT1A se localizan en interneuronas gabaérgicas y encefalinérgicas, la serotonina al inhibir la actividad de estas interneuronas, podría causar disminución de la liberación de GABA y ENK con la consecuente desinhibición del cuerno dorsal espinal ²⁴³. También se ha demostrado la expresión del ARNm del receptor 5HT1A durante la inflamación inducida por carragenina, especialmente, en las neuronas espinales gabaérgicas y encefalinérgicas, con un pico a las 8h post-inyección ²⁴³.

Se documentó previamente, el bloqueo del efecto antihiperálgico de la EA mediante la administración de atropina, un antagonista muscarínico, así como el efecto sinérgico de la

combinación EA y neostigmina, un agente anticolinesterásico ²⁰⁰. Mediante estudios inmunohistoquímicos, se ha establecido que la NOS y los receptores muscarínicos están localizados en las láminas superficiales del cuerno dorsal espinal ²⁴⁴. La administración de sus agonistas, deprimen la actividad de las neuronas espinales y prolongan la latencia de retirada de la cola en ratas. Los inhibidores de la NOS, pueden incrementar los efectos que inducen los agonistas muscarínicos (oxotremorine), los que son revertidos por donores de NO ²⁴⁴. Al parecer, existe una interrelación entre los dos sistemas neurotransmisores y la vía L-arginina-NO-GMPc está involucrada en la antinocicepción muscarínica ^{80,245}. Se conoce que la estimulación muscarínica incrementa la movilización de Ca²⁺ intracelular y la activación de la nNOS es dependiente del influjo de este ²⁴⁵. Pero, el NO se ha reconocido por su efecto hiperalgésico a nivel espinal a través de la vía glutamato-NMDA-Ca²⁺-NOS-NO-GMPc, el cual es revertido por la administración de inhibidores de la NOS e inhibidores de la guanilato ciclasa ^{20-22,72}. Por otra parte, se ha descrito que la activación de los receptores muscarínicos presinápticos en la amígdala y los núcleos accumbens y estriado de la rata, inhibe la liberación de glutamato, a nivel espinal podría suceder de forma similar ²⁴⁵. La actividad presináptica de los receptores muscarínicos, inducida por la EA, pudiera favorecer la reducción de la liberación presináptica de glutamato espinal y prevenir la activación NMDA y la síntesis de NO subsiguiente.

Múltiples evidencias, demuestran la activación del sistema noradrenérgico por la EA, este se considera en la actualidad protagónico en el sistema inhibitorio descendente y en el efecto antihiperalgésico de los fármacos utilizados en el dolor patológico ²⁴⁶⁻²⁴⁸. La acupuntura y sus técnicas afines, producen liberación de noradrenalina y serotonina que interactúan con receptores α_2 adrenérgicos y de 5-HT espinales ^{208,209,247}. La quimiopuntura con veneno de abeja (*bee venom*), diluido e inyectado subcutáneamente en el punto E36, mostró efecto antihiperalgésico durante la fase II de la prueba de la formalina. El antagonista selectivo de

los receptores α_2 adrenérgicos, idazoxan y el antagonista no selectivo de receptores de 5-HT, metisergide, bloquearon el efecto, no sucedió así para los antagonistas de receptores α_1 y β adrenérgicos²⁰⁸. Esta acción de la EA sobre los receptores α_2 , 5-HT1A y 5-HT3, pero no sobre los 5-HT2A y los α_1 , también se corroboró en un modelo de dolor neuropático, en correspondencia con la inhibición de la alodinia al frío inducida por la EA a baja frecuencia²⁰⁹. El desarrollo de la inflamación periférica afecta al sistema modulador descendente originado en el *locus coeruleus* (LC) y el núcleo *subcoeruleus* (SC) de donde parten las fibras noradrenérgicas que descienden por el funículo dorsolateral al cuerno dorsal espinal, esta activación del LC/SC produce disminución de la magnitud de la hiperalgesia²¹⁰. En un estudio donde utilizan el modelo de la carragenina, también observaron la máxima hiperalgesia en el rango de 2-3 h y a las 4 h se constató un aumento significativo de Fos en LC y SC ipsi y contralateral, pero la activación unilateral es suficiente para modular la transmisión nociceptiva espinal²⁴⁸. Todos estos sistemas pudieron sinergizar en el efecto antihiperalgésico en este experimento²⁰⁷⁻²⁰⁹.

Otro sistema que pudiera estar involucrado en el efecto antihiperalgésico de la EA, es el de OFQ, ligando endógeno para el receptor similar al opioide (ORL₁ u OP₄)²²⁷⁻²²⁹. Sus efectos duales, dependen en gran medida de la vía de administración y la dosis. Por vía intratecal (i.t.) en modelos de dolor neuropático (central y periférico) atenuó la alodinia mecánica y al frío y en un modelo de dolor inflamatorio inducido por carragenina, la hiperalgesia térmica, aunque este último efecto fue limitado al nivel de los valores basales²²⁷. Tanto la inflamación como el daño neural inducen cambios en la plasticidad espinal que pueden alterar la potencia y la eficacia del OFQ^{228,229}. Los autores, describieron que la orfanina alivió la hiperalgesia térmica tras la inflamación periférica, pero no se ha esclarecido si el efecto solamente se presenta en estas condiciones nociceptivas alteradas, pues ellos no describieron los mismos efectos analgésicos sobre la pata contralateral sana²²⁸. En este experimento no evaluamos las

alteraciones mecánicas nociceptivas, solo las térmicas, precisamente los cambios más consistentes descritos en este modelo y la respuesta antihiperalgésica térmica fue significativa⁴¹. Estas evidencias dan soporte a la idea de que el mecanismo opioide fue preponderante, aunque no se puede descartar un efecto sinérgico por esta vía, ya que algunos autores describen el efecto depresor de la orfanina sobre la actividad de fibras A y C con similar potencia²²⁷⁻²²⁹. Los efectos antihiperalgésicos mecánicos de la EA en modelos de dolor neuropático, se relacionan parcialmente, con la reducción de la liberación cerebral del OFQ en NRM, que podría disminuir su acción facilitadora sobre el cuerno dorsal espinal^{201,202}. Mediante técnicas de inmunohistoquímica, se ha demostrado un denso plexo de fibras inmunorreactivas a nociceptina en zonas superficiales del cuerno dorsal espinal, núcleos laterales espinales y en el canal central, pero no se observó inmunorreactividad en fibras aferentes primarias, por lo que en condiciones normales en el ganglio de raíz dorsal espinal, tampoco se expresa el ARNm de pronociceptina²⁴⁹. En cambio, se ha publicado su expresión tras la inflamación inducida por carragenina, rápidamente se observa un pico a los 30 minutos de la administración, entonces se reduce abruptamente y vuelve a la normalidad en 6 h. Se ha determinado, de manera preponderante, en fibras finas y medianas de una subpoblación neuronal inmuno-positiva para el receptor TRPV-1²⁴⁹. La carragenina produce hiperalgnesia en animales normales, pero no en los *knockouts* para este receptor, ella induce transporte de ARNm TRPV-1 a través de los axones de las neuronas sensoriales primarias y su biosíntesis en el axón terminal, lo cual incrementa la liberación de glutamato desde las terminales centrales de estas neuronas inmunorreactivas para TRPV-1. Entonces, existe la posibilidad de que la inducción del ARNm de OFQ esté también vinculada al proceso²⁴⁹. Por lo descrito hasta este punto, no existe un consenso en cuanto a la acción del OFQ sobre el procesamiento nociceptivo, pero sí evidencias, como esta, de su participación. Su administración i.t. produce efectos opuestos sobre la transmisión nociceptiva según su concentración, a bajas

concentraciones puede generar hiperalgesia y alodinia, pero a altas produce hipoalgesia ^{229,249}. La inducción de su expresión a los 30 minutos, precede a la hiperalgesia en este modelo y da soporte a la idea el hecho de que un antagonista de OFQ inhibe la hiperalgesia inducida por carragenina en ratas. Además, la administración del OFQ ipl. produce nocicepción, mediada por la liberación de SP en las terminales periféricas ²⁴⁹. Este efecto periférico y también el producido por la administración i.t., puede ser inhibido por el pretratamiento con capsaicina, hallazgo que sugiere el efecto directo sobre las terminales periféricas y centrales de las fibras nociceptivas primarias TRPV-1 positivas ^{219,249}. En este modelo, la correlación de la inducción de OFQ en poblaciones neuronales que expresan estos receptores con el curso de la hiperalgesia térmica, muestra su participación importante en este evento. De ahí que podamos especular, que el efecto depresor central de la EA sobre la liberación de OFQ pudiera haber participado en el efecto antihiperalgésico térmico observado en este experimento y otros estudios deben dirigirse en este sentido. Además, pudiera argumentarse la participación de un mecanismo similar a la capsaicina sobre las terminales periféricas, que se ha sugerido posee la EA, al depletar las reservas de SP en las mismas ^{28,217}.

Por otra parte, estudios previos documentan que la liberación de glutamato y su interacción con receptores NMDA del tálamo, contribuyen al desarrollo y mantenimiento de la hiperalgesia térmica y mecánica, asociadas a la inflamación de la pata de la rata inducida por carragenina ²⁵⁰. También que pueden ocurrir cambios supraespinales de la excitabilidad neuronal en este modelo. La facilitación para evocar las respuestas a los estímulos dañinos de las neuronas del núcleo ventroposterolateral (VPL), se ha asociado a la disminución de la sensibilidad a la morfina sistémica e intratálamica comparativamente con ratas sanas. Se requieren altas dosis de morfina para inhibir las respuestas de estas neuronas ²⁵⁰⁻²⁵². Pudiera ser este, otro elemento en el modelo, que justifica un efecto sinergizado por varios sistemas en la actividad antihiperalgésica de la EA. Además, sugiere que dentro del propio sistema

opiode, es mediado por otros sitios de acción además de los receptores talámicos de este núcleo (receptores periféricos, medulares, etc.)^{26,28,239}.

El hecho de que las PWLs más prolongadas se observaran a las 3 y 4 h, nos sugiere acciones sobre mecanismos, no solo periféricos, sino centrales de la hiperalgesia inflamatoria^{20-22,41}.

Estudios previos determinaron que post-carragenina, se observa incremento significativo y persistente de glutamato, aspartato y arginina en láminas superficiales y profundas de 30 min a 3 ½ horas, momento en que comienza a decrecer a sus valores basales⁴². Los valores máximos entre 1-2 h post-carragenina en láminas superficiales y entre 1,5-3 h en las profundas, sugieren sensibilización central^{22,42,120}. El incremento en la concentración de los aminoácidos en la superficie precede al incremento en láminas profundas por 30 minutos, fenómeno que eleva la posibilidad de relación espacial y temporal entre estos eventos⁴². En el modelo de la formalina, el aumento de los aminoácidos en las láminas superficiales también induce el incremento de estos en las profundas¹⁰⁹. El aumento de arginina, sugiere la activación de neuronas en láminas superficiales del cuerno dorsal espinal a través de la argininosuccinato sintasa, con incremento de la arginina extracelular que constituye el sustrato de la NOS para la síntesis del NO, el cual amplifica la señal nociceptiva^{42,109}. De hecho, el pretratamiento con EA, pudiera evitar el establecimiento de la sensibilización central. Aunque estudios posteriores que prolongaron este modelo a 24 h, establecieron un incremento de la función del receptor NMDA después de 20 h de la inflamación inducida por carragenina. Los cambios son más evidentes en esta fase tardía de la hiperalgesia que durante la fase temprana estudiada en este experimento²⁵³. Estos resultados, se correlacionan con la participación de la ERK en el estado central de hiperexcitabilidad²⁵⁴. En este sentido se ha publicado, que son necesarias al menos 6 h de inflamación *in vivo*, para desarrollar la memorización del daño periférico a nivel central y para que esta pueda mantenerse *in vitro* en ausencia de los impulsos periféricos primariamente alterados en el modelo²⁵³. Esto se

documentó en una preparación de cordón espinal de ratas jóvenes, después de 6-20 h de la inducción de la inflamación por carragenina²⁵⁴. El no haber prolongado el modelo a más de 4h, no excluye a los cambios centrales que subyacen en la hiperexcitabilidad central, pues en este modelo y en otros de dolor inflamatorio, estos comienzan a ser observados entre 1,5-3 h en relación a la liberación espinal de aminoácidos excitatorios^{41-43,255}. Aunque evidentemente, en el rango de 6-20 h es mayor la actividad central NMDA y a las 3 h la periférica, también a nivel periférico la actividad AMPA se ha descrito en el proceso de sensibilización periférica en este modelo²⁵⁵⁻²⁵⁷. Así que, por los efectos antihiperalgésicos significativos de la EA a 10 Hz observados a las 3 y 4 h en este modelo, podemos especular que posee acciones inhibitorias sobre la actividad NMDA periférica y central^{42,253-257}. Está bien documentado, que la hiperalgesia térmica inducida por carragenina es mediada por fibras C²³¹, se relaciona con la activación de receptores glutamatérgicos NMDA y no NMDA, así como con la participación de circuitos espinales y supraespinales²⁵³⁻²⁵⁷; por lo que el efecto antihiperalgésico térmico de la EA sugiere inhibición de la actividad de fibras C y acciones sobre estos receptores a ambos niveles.

En el segundo experimento con el modelo de inflamación inducida por carragenina, se evaluó el efecto antihiperalgésico del pretratamiento con EA a 10 Hz, pero en presencia de dosis subanalodínicas de un antagonista de los receptores NMDA¹⁷⁷. Para estos fines, se utilizó la ketamina por vía sistémica^{113,177}. Los resultados demostraron que la ketamina potencializa el efecto de la EA de manera significativa a partir de la segunda hora post-carragenina, con mayor significación estadística a las 3 y 4 horas de inducida la inflamación. Estos hallazgos, son congruentes con los resultados de varios autores, aunque los métodos de aplicación de la EA y las vías de administración no coincidan con la aplicada en este experimento¹⁷⁷. Evidencias previas, afirman la importancia de los receptores de aminoácidos excitatorios como blancos para el tratamiento del dolor²⁵⁸⁻²⁶². Se ha documentado que los antagonistas

NMDA, administrados por vía i.t., producen inhibición de la fase II de la respuesta inducida por formalina y suprimen la variabilidad de respuestas nociceptivas ante el daño nervioso y la inflamación periférica ^{25,259}. Estudios recientes, demostraron una potente reducción de la producción de glutamato y aspartato en el cuerno dorsal espinal, tras el estímulo electroacupuntural a 2 Hz; esta evidencia sugiere la relación entre la analgesia electroacupuntural y los receptores de aminoácidos excitatorios ²⁵. También se publicó, que el AP5 suprime de manera dosis dependiente, la hiperalgesia térmica inducida por carragenina a dosis que no poseen interferencia con las funciones motoras. Este efecto se acompaña, de la reducción significativa de la expresión de proteína Fos en las láminas superficiales y profundas del cuerno dorsal espinal. De manera similar, el DNQX, antagonista AMPA/KA logra el mismo resultado pero a dosis muy superiores ²⁵. Cada uno de estos antagonistas combinados con la EA, muestran un potente efecto sinérgico para inhibir la hiperalgesia inducida por carragenina y la expresión de Fos espinal ²⁵. En varios modelos experimentales, con diferentes parámetros de estimulación, se proponen mecanismos biológicos heterogéneos para los efectos de la EA¹⁵¹. El incremento de diferentes neuropéptidos en el sistema nervioso central, con preponderancia para el sistema opioide es el mejor establecido en la actualidad^{146,148}. Se ha demostrado, la inhibición de la analgesia electroacupuntural inducida por antagonistas de receptores opiodes específicos ¹⁴⁵ y se ha equiparado el efecto analgésico de la EA, a una baja dosis de morfina de 3 mg/kg en ratas ²⁵. En la actualidad, existen sólidas evidencias de la interacción de los aminoácidos excitatorios con el sistema opioide, mediante la cual ejercen sus efectos farmacológicos, especialmente, en la regulación de la nocicepción^{20,25}. El pretratamiento con antagonistas NMDA y AMPA/KA potencializa y prolonga la analgesia inducida por opiodes ²⁶¹⁻²⁶⁴. De manera similar, el antagonista del sitio de glicina, 7-chlorokynurenato, también potencializa el efecto de la morfina sobre la respuesta repetitiva de las fibras C en el cuerno dorsal espinal ²⁵. La máxima disminución de

aminoácidos excitatorios secundaria al estímulo electroacupuntural se describió a los 30 min después de su inicio y los valores se restablecen a las concentraciones basales a los 60 min después de cesar el estímulo, además el efecto fue revertido por la preadministración de naloxona ^{25,145}. Estos elementos sugieren la relación entre los dos sistemas de neurotransmisión y los efectos de la EA sobre ambos. La combinación de la EA-antagonistas de receptores glutamatérgicos ejerce sus acciones sobre los receptores presinápticos de opiodes y los postsinápticos de aminoácidos excitatorios. La acción presináptica de los opiodes sobre las terminales de fibras C, reduce la liberación de neuropéptidos y neurotransmisores excitadores (SP, glutamato), este efecto sinergiza con el bloqueo del receptor NMDA producida por el antagonista ^{25,265}. El incremento en la producción de opiodes espinales producida por la EA, puede no ser alta, de ahí que no puede excluirse el efecto de su acción postsináptica ²⁵. Además, los opiodes pueden ser liberados por la activación de los centros supraespinales descendentes inhibitorios, con participación del sistema monoaminérgico. Los receptores opiodes supraespinales activados por la EA, también pueden contribuir al efecto sinérgico ^{25,151,250}. La relevancia de esta combinación, se basa en la limitación que poseen los antagonistas de receptores de aminoácidos excitatorios para su aplicación clínica. Estos fármacos no pueden administrarse a altas dosis por su neurotoxicidad ^{113,225}. La EA solo induce una analgesia moderada ^{25,150} y la utilización clínica de la combinación permite disminuir las dosis del antagonista y reducir los efectos indeseables ^{25,265}. Los elementos que limitarían estas evidencias, serían la restricción del animal durante el tiempo de estimulación y las dificultades con un grupo control para placebo de la EA exento de efectos analgésicos. Se acepta hoy la analgesia inducida por estrés bajo condiciones restrictivas (SIA, por sus siglas en inglés) ^{171,172}. En el presente trabajo se minimizaron estas interferencias, mediante el método de estimulación sin restricciones y la acupuntura simulada no invasiva ^{150,151}.

Un año después, los mismos investigadores publicaron el efecto antihiperalgésico de la combinación EA con dosis subanalgésicas del ácido kinurénico en ratas normales y dañadas con carragenina ²⁶⁵. Para este estudio, utilizaron el mismo modelo y método de estímulo con frecuencias de 60 y 2 Hz alternativamente que determinan la liberación de todos los tipos de péptidos opioides simultáneamente ^{25,265}. El ácido kinurético ostenta actividad antagonista sobre los receptores AMPA/KA y NMDA y es un metabolito del triptófano de producción endógena, que podría poseer menor toxicidad.

Otros autores, mediante técnicas inmunohistoquímicas aplicadas en modelos de inflamación persistente con adyuvante completo de Freund, lograron demostrar el efecto depresor de diferentes frecuencias (2, 15, 120 Hz) de EA, aplicada cada 3 días durante 1 mes, sobre la expresión de diferentes receptores de glutamato en cuerno dorsal espinal ¹⁹⁸. La expresión del receptor NMDA, fue reducida en todas sus regiones y a todas las frecuencias de estímulo, la expresión del receptor metabotrópico mGlu-1, también fue prevenida en láminas superficiales¹⁹⁸.

Lao y colaboradores ^{150,151}, con el método que se reproduce en este experimento, demostraron el efecto antihiperalgésico de la EA y su potenciación al combinarse con dosis subefectivas de un AINE (indometacina), morfina y el antagonista de los receptores NMDA, MK-801^{238,239,197}. Además, ellos documentaron que este mecanismo antihiperalgésico está mediado en parte, por la supresión de receptores NK-1 inducida por la EA. Este receptor, se encuentra sobre-expresado en estas condiciones inflamatorias en las láminas superficiales del cuerno dorsal espinal ¹⁹⁹. Al parecer, el efecto está en correspondencia con el aumento de la liberación de opioides causada por el proceder, que por mediación de los receptores μ y δ en estas condiciones, deprimen la liberación presináptica de SP. Este neuropéptido, sobre-expresado en condiciones patológicas, induce la expresión del ARNm para el receptor de NK-1 en

cuerno posterior. De ahí, que la inhibición de la SP, deprime la expresión de su receptor ¹⁹⁹. Es conocida la cooperación entre estos receptores y los de glutamato en el establecimiento de la hiperexcitabilidad central ²⁰⁻²². El efecto depresor de la EA sobre la expresión de ambos receptores, es una evidencia sólida que muestra la concatenación funcional de estos sistemas biológicos y apoya la hipótesis sobre la utilidad clínica del proceder para la prevención de la sensibilización central.

No obstante, otros autores vinculan los receptores de aminoácidos excitatorios, a los mecanismos de acción de la EA en animales sanos y publican efectos contrarios ¹⁶⁴. Estos resultados son congruentes con las acciones diferentes de la EA, como técnica neuromoduladora, en condiciones patológicas ^{28,151}. Específicamente, ellos sugieren, mecanismos diversos de interacción de la EA con los receptores de glutamato en condiciones de salud y enfermedad, pero apoyan la actividad molecular a este nivel ^{25,197,199,265}. En los estudios anteriores y en el presente experimento, se demuestra el efecto sinérgico antihiperalgésico de la EA con los antagonistas de los receptores NMDA en modelos de hiperalgnesia ^{25,197,265}. Mientras que en este caso, la co-administración de EA con antagonistas de los receptores NMDA y AMPA/KA respectivamente, disminuyen significativamente la latencia de retirada de la cola en ratas normales. Es decir el efecto de la combinación es la inhibición de la analgesia electroacupuntural de 2 Hz ¹⁶⁴. Para explicar estos resultados, los autores proponen, que los receptores inotrópicos para glutamato están involucrados en la analgesia electroacupuntural a baja frecuencia (2 Hz) por medio del mecanismo de depresión a largo plazo (LTD) a nivel del cuerno dorsal espinal ^{115,164}. Sandkühler, propuso un mecanismo celular a este nivel que puede sostener la analgesia duradera tras la EA. Este se basa en la estimulación de fibras A δ que condiciona el incremento de glutamato en las terminaciones nerviosas en el CDE, el cual activa a los receptores glutamatérgicos, con incremento moderado del Ca²⁺ citosólico. Este ión, activa a las proteínas fosfatasa y se

produce la LTD del refuerzo sináptico como resultado de la desfosforilación de las proteínas sinápticas, entre ellas el receptor AMPA¹⁶⁴. Este mecanismo sugiere, que la LTD puede ser producida por estimulación electroacupuntural¹⁶⁴. Por otra parte, ha sido bien documentado el papel del N-metil-D-aspartato (NMDA) en la señalización del dolor a nivel espinal²⁰. En este experimento, fue aplicado por vía i.t. en ratas y con carácter dependiente de la dosis produjo vocalización y movimiento de los miembros. La respuesta nociceptiva fue cuantificada por la TFL cada 10 minutos por 1 hora¹⁶⁴. Pero medido a intervalos de 2 minutos por 12 minutos, después de su administración a bajas dosis (0,1-0,6 µg), produjo un efecto analgésico breve¹⁶⁴. Los resultados sugieren que los aminoácidos excitatorios pueden producir efectos duales, hiperalgésicos y analgésicos. La analgesia temporal del agonista NMDA, es diferente a la duradera causada por la EA, pero la permanencia del efecto podría responder a su aplicación sistemática durante 30 minutos por días. Por otra parte se especula, que pequeñas dosis del NMDA administradas de manera continuada, podrían resultar en un efecto analgésico duradero, similar al de la EA¹⁶⁴.

Un elemento a favor de estas diferencias es el hecho de que en algunos estudios con animales sanos el proceder puede expresar proteína Fos en láminas I-II²⁶⁶. Mientras que en estados hiperalgésicos, la disminuya, como hemos comentado previamente^{25,151,267}. Aunque este hallazgo, pudiera ser consecuencia del diseño experimental, pues las intensidades altas de estímulo (6-20V) pueden ser dañinas²⁶⁶.

Se utilizó la ketamina, por ser un agente de manipulación clínica²⁶⁸. En el presente estudio mostró actividad antihiperalgésica en la NPH forma nociceptor irritable, dolor neuropático a considerar en estas investigaciones, donde está bien establecida la sensibilización central como uno de sus mecanismos subyacentes⁵⁵. Además, la ketamina es menos tóxica con respecto a otros antagonistas NMDA de aplicación básica. En este estudio clínico, tampoco se

presentaron complicaciones asociadas a la ketamina ¹¹³. No obstante, también existen publicaciones de su utilización en modelos animales de dolor neuropático en las que se documentan los efectos antialodínicos mecánicos de su combinación con la EA a 2 Hz ¹⁷⁷. Además, se ha estudiado el incremento de la eficacia antinociceptiva de la EA a 100 Hz que produce la ketamina, corroborada por la latencia de retirada de la cola (TFL) y la inhibición de la tolerancia a la EA asociada a la ketamina ²⁶⁹. Estos resultados sugieren, que el desarrollo de la tolerancia a los efectos antinociceptivos de la EA a 100 Hz, es mediado en parte, a través de los receptores NMDA y constituyen otra evidencia de la interacción de los sistemas opioide/glutamatérgico ^{21,25,270}.

El tercer experimento con este modelo, se dirigió a estudiar el efecto antihiperalgésico de la asociación de la EA a 10 Hz con un inhibidor de la NOS. En un primer tiempo, se administraron dosis bajas de 3 mg/kg de L-NAME previo al pretratamiento con EA a 10 Hz. El L-NAME a esta baja dosis por vía ip. no tuvo efecto antialodínico significativo en un modelo de dolor neuropático ⁵¹. De manera dependiente de la dosis, en el rango de 3-30 mg/kg, comenzó a hacerse significativo a partir de 10 mg y el efecto fue máximo a 30 mg ⁵¹. Está bien documentado, el efecto dual del NO en los fenómenos dolorosos, conflicto que también se expresa, en los estudios que se dirigen a la búsqueda de los efectos de la EA sobre este controvertido sistema biológico ^{78,80,109}. En el presente experimento, se observó un efecto antihiperalgésico térmico significativo moderado del L-NAME a las 1, 3 y 4 horas, congruente con los resultados de otros autores en este modelo ^{43,72,271}. La combinación del L-NAME con la EA a 10 Hz, mostró un efecto antihiperalgésico mayor que el L-NAME a las 1, 3, 4 h máximo a las 4 h y se hizo significativo a las 2 h. Inicialmente, se infirió por esta respuesta conductual que el efecto era dependiente de sus acciones inhibitorias sobre la vía glutamato-NMDA-NOS-NO-GMPc, la cual está implicada en la sensibilización central ^{22,72,120}. El efecto del proceder al disminuir la liberación de glutamato desde las terminales

nociceptivas, explicaría la existencia de bajas concentraciones de NO espinal y la actividad antihiperalgésica²⁵. La participación pronociceptiva del NO espinal en correspondencia con la hiperalgnesia térmica, ha sido documentada previamente en el modelo de la carragenina^{72,110,272}. Estudios previos demostraron que la administración i.p., intra-articular, EV, i.t. de L-NAME, reduce la hiperalgnesia térmica inducida por carragenina en ratas, lo que indica que el NO y sus isoenzimas están implicadas en el proceso^{72,273,274}. Pero, de manera interesante, la preadministración de L-arginina al L-NAME, no revirtió el efecto antihiperalgésico y los animales a los que se administró el sustrato, mostraron PWLs más prolongadas que los animales pretratados con L-NAME a 3 mg/kg. En un modelo de dolor visceral en ratones, se demostró la actividad antinociceptiva de la L-arginina administrada por vía sistémica y este efecto fue antagonizado por inhibidores de la NOS^{275,276}. El mismo resultado se obtuvo tras su administración por vía i.c.v. e i.t., pero con dosis 45 veces menores que las utilizadas por vía sistémica (ip.). Estas consideraciones, sugieren que la actividad sea preponderantemente central²⁷⁵. Este efecto, se ha atribuido al aumento de la kiotorfina, un dipéptido antinociceptivo endógeno sintetizado por la kiotorfina sintasa a partir de la L-arginina y la L-tirosina. El dipéptido, incrementa las concentraciones de encefalinas cerebrales, que a través de sus receptores δ activan las vías endógenas noradrenérgicas descendentes^{275,276}. También se ha descrito la actividad de la enzima a nivel espinal. Este efecto, fue antagonizado por naloxona y naltrindole, hecho que apoya la participación de receptores δ en este proceso¹⁴⁵. Otros autores han propuesto, que el mecanismo antinociceptivo de la L-arginina es a través de la formación periférica de NO y GMPc, que regularía directamente a los nociceptores, asociado a la promoción de la síntesis de kiotorfina central, que activaría la analgesia opioide espinal y supraespinal^{65,210}. La síntesis de NO facilitarí la activación de receptores opiodes a estos dos niveles. En correspondencia con estos hallazgos, otros autores se focalizan hacia la activación glutamato-NMDA-NOS, con otra visión y sugieren que el NO liberado en

respuesta a la activación del receptor NMDA, sería un mediador de los efectos antinociceptivos vinculados a este receptor ²⁷⁵. Además, la participación de los receptores opioides en los efectos antinociceptivos de los antagonistas NMDA, apoya esta idea ^{113,225}. Otros estudios con donores de NO, demuestran la participación de la vía NO-GMPc en la potenciación analgésica de la β endorfina y el tratamiento i.c.v. con L-arginina potencializa la antinocicepción inducida por β endorfina en ratas, efecto que fue inhibido por el L-NAME.²⁷⁷ El NO, evidentemente, está involucrado en la modulación del sistema de control descendente^{124,278}. Por otra parte, en estudios clínicos la administración sistémica de L-arginina y de donores de NO, como la nitroglicerina (NTG) en parches, para el tratamiento del dolor por cáncer, ha mostrado buenos resultados en la potencialización de la analgesia por morfina ²⁷⁹. La literatura describe, que la NTG transdérmica a dosis de 30 mg/kg/día, produce hiperalgesia y a dosis menores de 6 mg/kg/día es analgésica bajo diferentes circunstancias ²⁷⁹.

Al relacionar los resultados conductuales del presente estudio, con la determinación de los productos de oxidación del NO, en los que constatamos concentraciones significativamente elevadas en el grupo tratado con EA a 10 Hz y en el grupo EA+L-NAME a bajas dosis. Fue posible especular, que en estas condiciones, el pretratamiento con una sola aplicación de EA a 10 Hz, pudiera ejercer su actividad antihiperalgésica profiláctica a través de la activación de la vía L-arginina-NOS-NO-GMPc en el modelo de la carragenina ^{52,75,76}. Así que, en un segundo tiempo, se repitió este experimento, pero se administró L-NAME a dosis de 30 mg/kg, la cual posee actividad antialodínica máxima ⁵¹. Esta, se evidenció conductualmente, pues las PWLs fueron significativamente más prolongadas con respecto al grupo control, que cuando se administró a bajas dosis. La intención fue corroborar la hipótesis anterior, surgida de los resultados del primer tiempo experimental. Pues de verificarse, el inhibidor de la NOS atenuaría el efecto antihiperalgésico de la EA, como se ha descrito sucede con algunos AINE, como el diclofenaco y la dipirona ^{75,76,280}. En efecto, se observó la inhibición de la actividad

antihiperalgésica profiláctica del proceder. El resultado conductual, se correspondió con las bajas concentraciones plasmáticas de NO^{-3} y NO^{-2} determinadas en el estudio bioquímico, indicadores de una menor concentración de NO ^{180,181}. Desafortunadamente, las determinaciones en los homogenatos de pata y cerebro, no mostraron cambios significativos, probablemente por la técnica utilizada. Esto imposibilitó poder diferenciar la actividad a nivel periférico y central. No obstante, los cambios plasmáticos en las concentraciones de los productos de oxidación de esta molécula, indican que la actividad antihiperalgésica de la EA a 10 Hz en estas condiciones, pudiera ser mediada por esta vía. Existen pocas evidencias, en la literatura de los últimos años, relacionada al complejo fenómeno NO-EA-dolor. Se recoge el antecedente de un estudio clínico, en el cual se demostró que el contenido de NO en sangre periférica se incrementó significativamente después de la acupuntura y la moxibustión del punto E36 ⁵⁴. De manera similar, en un estudio con voluntarios sanos, se observó el mismo resultado en el plasma de la región estimulada con la EA, en relación con el aumento del flujo sanguíneo local ²⁸¹. Además, estudios recientes demostraron que la estimulación electroacupuntural de puntos en los miembros inferiores, induce el aumento de la expresión de la nNOS y la NADPH diaforasa en el núcleo gracilis de la médula dorsal y en el núcleo del tracto solitario ¹⁵⁶⁻¹⁵⁸. El NO en el núcleo gracilis, media las señales acupunturales hacia las vías medulares dorsales-talámicas. Se ha determinado que este núcleo, recibe impulsos aferentes somato-simpáticos ⁵³. El daño nervioso periférico, induce la expresión de SP y NY en el ganglio de la raíz dorsal y en este núcleo ^{53,156}. El incremento de la expresión del NO por la EA a baja frecuencia, pudiera participar en la regulación central autonómica de los reflejos somato-simpáticos (SSR, por sus siglas en inglés). Este núcleo, recibe impulsos aferentes somáticos nociceptivos e inocuos de la piel de los miembros inferiores y su activación induce cambios en la actividad simpática y la tensión arterial por excitación de los SSR ^{53,157}. La EA y la estimulación eléctrica del nervio tibial, producen inhibición simpática y analgesia ⁵³.

Estudios recientes, también demuestran que el núcleo recibe impulsos nociceptivos viscerales y se considera un centro integrador de la información visceral y somática que asciende al tálamo. El núcleo gracilis desempeña una importante función en el procesamiento central del dolor visceral y somático^{53,158}. Estudios electrofisiológicos, demostraron que los impulsos somatosensoriales ascienden por el núcleo paraventricular del tálamo, adyacentes al núcleo mediodorsal, el cual participa en el control autonómico central del aparato cardiovascular^{156,158}. La L-arginina administrada en este núcleo, facilita la respuesta hipotensiva y bradicárdica inducida por la EA del punto E36. También, se ha documentado que la respuesta analgésica al estímulo de E36, fue modificada por el NO producido a partir de la L-arginina inyectada en el núcleo gracilis^{53,156}. Las neuronas talámicas, reciben impulsos neurales desde este núcleo y su excitabilidad es modificada por el NO. Este, a nivel del núcleo gracilis posee acción inhibitoria y media la estimulación del acupunto E36⁵³. Los resultados del presente experimento, pudieran ser convergentes con estos resultados y serían una evidencia más, a favor de la participación del NO en el mecanismo de la analgesia electroacupuntural de baja frecuencia, aplicada en acupuntos de la pata trasera de la rata, en este caso VB30.

En este modelo, la nNOS, está sobre-expresada en el sistema nervioso central y se ha relacionado significativamente con la generación de hiperalgia^{43,120}. Las evidencias demuestran, que la nNOS es esencial en la fase temprana y tardía de la hiperalgia térmica inducida por carragenina^{21,72}. La neurectomía suprimió de manera similar ambas fases²⁷¹. Pero en animales *knockouts*, carentes del gen para la nNOS, se ha observado la misma respuesta bifásica en la prueba de la formalina, que en animales normales genéticamente⁴³. El efecto se ha explicado por el incremento de la eNOS espinal, que puede suplir a la isoforma ausente. La eNOS se expresó predominantemente en las glías⁴³. El inhibidor selectivo de la iNOS, aminogamidina (AG), inhibió solo la hiperalgia tardía, es decir a partir de las 2,5 h post-carragenina⁷². Estos hallazgos, permitieron establecer su responsabilidad en esta etapa, en la cual se encuentra sobre-expresada, predominantemente en las células gliales^{43,132}.

En este experimento, se pudo constatar la inhibición de la hiperalgesia térmica, que fue más significativa al utilizar el L-NAME a dosis de 30 mg/kg.

Tras el daño inducido por carragenina, no solo se ha diferenciado la actividad temporal, de las isoformas de la NOS, también se han establecido los cambios en la concentración del NO a nivel periférico y central. Se ha publicado el aumento de las concentraciones de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ en sistemas de diálisis implantados en la pata de la rata ²⁷¹. También, se ha determinado la liberación de NO en el cordón espinal, por voltametría *in vivo*, en una preparación de ratas descerebradas-espinalizadas en el curso de la inflamación periférica ²⁸². Este se incrementa rápidamente a partir de las 4 h. La administración de ketamina ip. a las 4 h post-carragenina, causó un descenso rápido en el voltanograma, que evidencia el componente NMDA en el incremento del NO espinal tras la administración de carragenina ²⁸²⁻²⁸⁶. A pesar de las evidencias, que indican la participación del NO periférico y espinal en el modelo y de detectar concentraciones plasmáticas elevadas en el grupo de animales control carragenina, con respecto al control para valores basales de nitritos. Las concentraciones plasmáticas de los productos de oxidación de esta molécula, en los grupos tratados con EA y EA+L-NAME a 3mg/kg, fueron significativamente superiores, fenómeno asociado a un efecto antihiperalgésico en el momento en que la hiperalgesia y el edema son máximos en el modelo, a las 4 h, justo cuando comienza a ser máxima la liberación del NO espinal ^{43,282}. Para interpretar estos resultados, se pudiera especular, que el pretratamiento con EA, elevó las concentraciones de NO a nivel de las vías medulares dorso talámicas y en el tallo cerebral, donde posee acciones inhibitorias ^{53,156-158}. De esta manera, por un mecanismo central, podría haber ejercido su efecto antihiperalgésico profiláctico. Otro elemento a favor de los mecanismos analgésicos supraespinales mediados por la vía L-arginina-NO-GMPc, es su contribución a la acción analgésica de la ketamina administrada por vía sistémica, que sinergiza con la EA a 10 Hz en este experimento ²⁸⁷. Está bien establecido y se ha discutido previamente, el efecto de la activación NMDA y la síntesis de NO en el inicio de la sensibilización central ^{21,284,285}. Hoy se plantean otros mecanismos, también dependientes del NO, como la poliribosilación de las proteínas sinápticas, para su mantenimiento ²⁸⁸. De manera similar, se reconoce la potenciación de los inhibidores NOS sobre la analgesia inducida por los antagonistas

NMDA, por lo que sería predecible que el L-NAME, potencializaría la analgesia inducida por ketamina a nivel espinal y supraespinal ^{114,120}. En relación a este fenómeno, se ha documentado que el L-NAME administrado por vía sistémica previno la analgesia inducida por ketamina sistémica y el L-NAME espinal no la modificó ²⁸⁷. Si bien algunos estudios, demostraron que la ketamina inhibe la producción de NO, también se ha descrito que la ketamina incrementa los productos de oxidación del NO en el hipocampo y el núcleo estriado de la rata. Estos efectos son bloqueados por el pretratamiento sistémico con L-NAME ²⁸⁷. En el ratón, el 94 % de la inhibición de la NOS cerebral ha sido documentada tras la administración ip. de 10 mg/kg. Así que, al parecer, además del efecto antagonista NMDA, la activación de la vía L-arginina-NO-GMPc supraespinal, es necesaria para la analgesia por ketamina ²⁸⁷. Esta vía, participa también en los efectos analgésicos de la morfina, codeína, de algunos AINE, antidepresivos, acetil colina, clonidina. Además, la ketamina tiene actividad sobre otros receptores, transportadores y canales iónicos vinculados a la nocicepción ^{76,289-295}. Es posible, que la ketamina ejerza estos efectos a través del incremento de la acetil colina en el cerebro. En congruencia con esta hipótesis, se ha demostrado que este fármaco de manera dependiente de la dosis, aumenta la liberación de acetil colina en el hipocampo y el núcleo estriado de ratas ²⁸⁷. Los resultados de los experimentos se corresponden con estas evidencias y los efectos sinérgicos y/o aditivos de la ketamina con la EA a 10 Hz podrían estar más vinculados a sus acciones suprasegmentarias, en relación a la vía L-arginina-NO-GMPc y a sus efectos sobre otros receptores ^{113,225,233}, más que a su antagonismo NMDA, por la vía de administración que se utilizó en el presente estudio ²⁸⁷. Además, si extrapolamos las dosis del L-NAME administrado por vía ip. en ratones a ratas ²⁸⁷, se puede asumir que el L-NAME a 30 mg/kg por esta vía, podría inhibir la actividad de un porcentaje significativo de la NOS cerebral. A esta dosis, el L-NAME bloqueó la actividad antihiperalgésica de la EA a 10 Hz, este elemento sugiere la dependencia de este efecto de la nNOS cerebral ^{72,109}. Por otra parte, el NO está relacionado con otros sistemas neurotransmisores, además del glutamatérgico, que son modulados por la EA, en los que pudiera mediar esta molécula ^{124,296}. Se ha descrito, que el NO basal deprime la liberación GABA, pero a concentraciones elevadas la induce ¹²⁴. Los donores de NO estimulan la liberación de NA y existen múltiples antecedentes que relacionan la neurotransmisión nitrinérgica y serotoninérgica

en el LC ^{109,124}. Se ha reconocido, que el NO endógeno facilita la liberación de 5-HT y los ratones *knockout* para nNOS muestran reducción de la recaptación de 5-HT y deficiencia de receptores 5-HT1A y 5-HT1B en varias regiones cerebrales¹²⁴. La facilitación de estos sistemas, promueve la inhibición en cuerno dorsal espinal. De hecho, la inducción de aminoácidos excitatorios y arginina a este nivel en el modelo de la carragenina, se acompaña de incremento en la expresión del GABA espinal en láminas profundas, esta es máxima a las 2,5 h después de iniciada la inflamación. Este dato, sugiere la actividad en interneuronas inhibitorias ⁴². También, se ha documentado la expresión de *c-fos* en el LC/SC, en consecuencia la producción y liberación de NA que reduce la magnitud de la hiperalgesia. La actividad neuronal en estos núcleos, es máxima entre 2-3 h post-CA, en relación temporal con el pico hiperalgésico ²⁴⁸. En el sentido inverso, también existen otros mecanismos por los cuales el NO puede favorecer la hiperexcitabilidad central no dependientes de la actividad del glutamato ¹²⁴.

En la actualidad, los estudios experimentales y clínicos dirigidos a estudiar la participación de la vía L-arginina-NO en el proceso dolor/hiperalgesia, aún muestran absoluta inconsistencia^{72,80,110}. Los trabajos pioneros, realizados precisamente en el modelo de la carragenina, demostraron que la acetilcolina que estimula la liberación del NO a partir de las isoformas constitutivas, antagoniza la hiperalgesia en ratas ⁸⁰. También que los donores de esta molécula mostraban actividad antihiperalgésica y que la administración de L-arginina local promovía la antinocicepción ^{71,75,79}. Los resultados de este estudio, a favor de la participación de la vía L-arginina-NO-GMPc-K⁺ en los efectos antihiperalgésicos de la EA^{297,298}, son congruentes con los de estos experimentos y aportan un argumento más, para esclarecer la participación del NO en los efectos de la EA sobre el dolor patológico.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 CONCLUSIONES

1. La EA a baja frecuencia y su combinación con ketamina muestran actividad antihiperalgésica y antialodínica en la NPH forma nociceptor irritable. La combinación EA-ketamina es superior a la EA para producir estos efectos.
2. La EA a baja frecuencia aplicada al animal conciente y no restringido muestra efecto antihiperalgésico térmico significativo, facilitado por la ketamina, en el modelo de inflamación plantar inducido por carragenina en ratas.
3. El pre-tratamiento agudo con la EA a baja frecuencia produce aumento de las concentraciones plasmáticas de los productos de oxidación del NO en correspondencia con el efecto antihiperalgésico térmico en las condiciones neuroinflamatorias inducidas por la carragenina, que es inhibido por el pre-tratamiento con L-NAME.
4. El efecto antihiperalgésico térmico profiláctico de la EA a baja frecuencia aplicada en ratas concientes y no restringidas puede estar mediado, al menos en parte, a través de la vía L-arginina-NOS-NO-GMPc en las condiciones neuroinflamatorias inducidas por carragenina.

6.2 RECOMENDACIONES

1. Determinar las concentraciones plasmáticas de los productos de oxidación del NO en pacientes con NPH forma nociceptor irritable tratados con EA a 10 Hz con el mismo método aplicado en este estudio.
2. Estudiar el efecto antihiperalgésico profiláctico y terapéutico con dos sesiones de EA y la preadministración de donores de NO en el modelo de inflamación plantar inducida por carragenina en ratas extendido a 24 h.
3. Evaluar la actividad profiláctica y terapéutica de la EA sobre la alodinia mecánica y la producción de TNF α e IL-8, en el modelo de constricción crónica del ciático

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ceraso OL. Dolor Crónico. Diagnóstico, pronóstico y orientaciones terapéuticas. *Dynia* 2000; 3:7-30
2. Ceraso OL. Dolor Neuropático. *Dynia* 2000; 3:34-52
3. Rowbotham MC, Petersan KL. Dolor asociado con Zoster y Disfunción neuronal. *Pain*. 2001; 93:1-5
4. Baymgärtner U, Magerl W, Klein T, Christian Hopf H, Treede RD. Neurogenic Hyperalgesia versus painful Hypoalgesia: Two distinct mechanisms of neuropathic pain. *Pain* 2002;96: 141-151
5. Serra J. Tratamiento del dolor neuropático. Es necesario un paso adelante. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2002; 9:59-60
6. Cruciani RA, Nieto MJ. Fisiopatología y tratamiento del dolor neuropático: avances más recientes. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2006;5:312-327
7. Kidd BL, Urban LA. Mecanismos del dolor inflamatorio. *British Journal of Anaesthesia* 2001;87(1): 3-11
8. De Leo JA, Yezienski RP. Papel de la Neuroinflamación y activación neuroinmune en el dolor persistente. *Pain* 2001; 90: 1-6
9. Xu JT, Xin WJ, Zhang Y, Wu ChY, Liu XG. The rol of necrosis factor-alpha in the neuropathic pain induced by Lumbar 5 ventral root transaction in rat. *Pain* 2006;123:306-321
10. Woolf CJ, Salter MW. Plasticidad neuronal. Amplificación de la sensación de dolor. *Science* 2000; 88:1765-1768
11. Gálvez R, Marsal C, Vidal J, del Real MA, Ruíz M, Rejas J. El dolor neuropático como causa de ansiedad, depresión y trastornos del sueño en condiciones de práctica médica habitual: resultados del estudio naturalístico DONEGA. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2006;2:81-95
12. Martin C, Solders G, Sonnerbong A, Hansson P, Painful and nonpainful neuropathy in HIV-infected patients: and análisis of somatosensory nerve function. *Eur J Pain* 2003;7:23-31
13. Hansson PT, Dickenson AH. Pharmacological treatment of peripheral neuropathic pain conditions based on shared commonalities despite multiple etiologies. *Pain* 2005; 113:251-254
14. Bennett MI, Attal N, Backonja MM, Baron R, Bouhassira D, Freynhagen R et al. Using screening tools to identify neuropathic pain. *Pain* 2007;127:199-203
15. Rowbotham MC, Petersen KL, Fields HL. La neuralgia postherpética. ¿Es algo más que una única enfermedad? *Dynia* 2000; 1:48-59
16. González-Escalada JR. Pregabalina en el tratamiento del dolor neuropático periférico. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2005;12:169-180
17. Rowbotham MC. Treatment of Neuropathic Pain: Perspective on Current Options. In: Flor H et al. IASP Scientific Program Committee. *Pain-2005 an Updated Review: Refresher Course Syllabus*. Seattle: IAPS PRESS; 2005, p.107-119

18. Gómez-Vega C, Romero P, Callejo A, Telletxea S, Torre F, Arizaga A. Oxiconona en el dolor crónico no oncológico. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2007; 2:125-132
19. Wenrui X, Strong JA, Meij J, Zhang JM, Yu L. Neuropathic pain: Early spontaneous afferent activity is the trigger. *Pain* 2005;116:243-256
20. Dickenson AH. Preclinical Mechanisms Related to the Clinical Pharmacology of Analgesic Therapy. In: Flor H et al. IASP Scientific Program Committee. Pain-2005 an Updated Review: Refresher Course Syllabus. Seattle: IAPS PRESS; 2005, p. 13-18
21. García LE, Martínez MP, González HL. Inflamación y dolor: cambios en el sistema nervioso periférico y central. *MEDUNAB* 2001; 4(10):1-14
22. Wood JN. Molecular Mechanisms of Nociception and Pain. In: Flor H et al. IASP Scientific Program Committee. Pain-2005 an Updated Review: Refresher Course Syllabus. Seattle: IAPS PRESS; 2005, p. 179-186
23. Sjölund BH. Acupuncture or acupuntura. *Pain* 2005;114:311-312
24. Montrone V, Petruzzella O, Petrosino R. Técnicas de terapia antiálgica. En: *El dolor: un síntoma multidisciplinar*. Barcelona: HAROFARMA, S.A; 1992, p. 49-86.
25. Zhang Y, Ji GCh, Wu GCh, Zhao ZhQ. Excitatory amino acid receptor antagonists and electroacupuncture synergetically inhibit carrageenan-induced behavioral hyperalgesia and spinal Fos expression in rats. *Pain* 2002;99:525-535
26. Zhang RX , Lao L, Wang L, Liu B, Wang X, Ren K, Berman BM. Involvement of opioid receptors in electroacupuncture produced anti-hyperalgesia in rats with peripheral inflammation. *Brain Research* 2004;1020:12-17
27. Yang R, Huang ZhN, Cheng JS. Anticonvulsion Effect of Acupuntura Might be related to the decrease of neural and inducible nitric oxide synthases acupuntura and electrotherapeutics. *Res. Int. J.* 2000; 25:137-143
28. Zhang SP, Zhang JS, Ken KL, Zhang HQ. Non-opioid-depend anti-inflammatory effects of low frequency electroacupuncture. *Brain Research Bulletin* 2004;62:327-334
29. Pomeranz, B. Scientific basis of acupuntura. In: Stux G, ed. *Basics of Acupuntura*. New York: Springer-Verlag; 1997, p.30-32
30. Olivera R, Prado WA. Anti-hyperalgesic effect of electroacupuncture in a model of post-incident pain in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2000; 33:957-960
31. Argoff ChE, Katzn N, Backonja M. Treatment of postherpetic neuralgia: A review of therapeutic options. *Journal of Pain and Symptom Management* 2004;28(4):396-411
32. Bosch F. Pain Clinic: The impact of Traditional and Natural Medicine [en línea] 2003 [consultado 1 de septiembre 2003]; V (1): URL disponible en: <http://www.Medicc.org/medicc%20review/V/1/cmr.html>.
33. Bosch F. Tema 13: Medicina Tradicional y Natural. Generalidades. En: *Libro de Introducción a la Medicina General Integral*. Texto Básico. La Habana: ECIMED, 2001: 35-36.
34. Bosch F. Clínica del Dolor. Su desarrollo en Cuba. *Rev. Avances Médicos de Cuba* 1999; 17: 20-26.
35. Fan JY. The role of gap junctions in determining skin conductance and their possible relationship to Acupuntura points and meridians. *Am.J:Acupuntura*.1990; 18:163-170

36. Barlas P, Ting SLH, Chesterton PW, Jones JS. Effects of intensity of electroacupuncture upon experimental pain in healthy human volunteers: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Pain* 2006; 122(1-2):81-89
37. Linde K, Witt CM, Streng A, Weidenhammer W, Wagenpfeil S, Brinkhaus B et al. The impact of patients expectations on outcomes in four randomized controlled trials of acupuncture in patients with chronic pain. *Pain* 2007; 128:264-271
38. Baños JE, Ruíz-Barría G. La evaluación del dolor experimental en el laboratorio: los modelos de dolor neuropático en animales. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2006;13 (8): 542-552
39. Ortega A, Roca A, Micó JA. Modelos animales de dolor. Una visión crítica. *Rev.Soc.Esp. Dolor* 2002;9:447-453
40. Zelenka M, Schäfers M, Sommer C. Intraneural injection of interleukin-1 β and TNF α into rat sciatic nerve at physiological doses induces signs of neuropatic pain. *Pain* 2005; 116:257-263
41. Vinegar R, Truax JF, Selph JL, Johnson PR, Venable AL, MacKenzie KK. Pathway to carrageenan induced inflammation in the hind limb of the rat. *Fed. Proc.* 1987;46:118-126
42. Dimitrieva N, Rodríguez AJ, Pérez J, Hdez L. Differential release of neurotransmitters from superficial and deep layers of the dorsal horn in response to acute noxious stimulation and inflammation of the rat paw. *European Journal of Pain* 2004; 8:245-252
43. Tao F, Tao YX, Zhao C, Doré S, Liaw WJ, Raja SN et al. Differential roles of neuronal and endothelial nitric oxide synthases during carrageenan-induced inflammatory hyperalgesia. *Neuroscience* 2004;128:421-430
44. Eliav E, Benoliel R, Tal M. Inflammation with no axonal damage of rats saphenos nerve trunk induces ectopic discharge and mechanosensitivity in myelinated axons. *Neuroscience Letters* 2001; 311:49-52
45. Oaklander AL, Rissmiller JG, Gelman LB, Zheng L, Chang Y, Gott R. Evidence of focal small-fiber axonal degeneration in Complex Regional Pain Syndrome-I (reflex sympathetic dystrophy). *Pain* 2006; 120:235-243
46. Alexander GM, van Rijn MA, van Hilten JJ, Peireault MJ, Schwartzman RJ. Changes in cerebrospinal fluid levels of pro-inflammatory cytokines in Complex Regional Pain Syndrome. *Pain* 2005; 116:213-219
47. Albrecht PJ, Hines S, Eisenberg E, Pud D, Finlay DR, Connolly MK et al. Pathologic alterations of cutaneous innervation and vasculature in affected limbs from patients with Complex Regional Pain Syndrome. *Pain* 2006;120: 244-266
48. Xu Gy, Zhao ZQ. Change in excitability and phenotype of substance P and its receptor in cat A β sensory neurons following peripheral inflammation. *Brain Research* 2001; 112-119
49. Sammons MJ, Raval P, Davey PJ, Rogers D, Parsons AA, Bingham S. Carrageenan- induced thermal hyperalgesia in the mouse: role of growth factor and the mitogen-activated protein kinase pathway. *Brain Res.* 2000; 876:48-54
50. Gepdiremen A, Mshvildadze V, Bakuridze K, Elias R. Effects of *Leontice smirnowii* tuber monodesmosides and crude extract in carrageenan and histamine induced acute inflammation model of rats. *Phytomedicine* 2006;13:728-731
51. Lee DH, Singh JP, Logde D. Experiments with nitric oxide synthase inhibitors in spinal nerve ligated rats provides no evidence of a role for nitric oxide in neuropathic mechanical allodynia. *Neuroscience Letters* 2005;385;179-183

52. Hoheisel U, Unger T, Mense S. The possible role of the NO-cGMP pathway in nociception: Different spinal and supraspinal action of enzyme blockers on rat dorsal horn neurones. *Pain* 2005; 117:358-367
53. Ma Sh X. Neurobiology of Acupuncture: Toward CAM. *Evidence-based Compl. and Alt. Medicine* 2004; 1 (1):41-47
54. Ralt D. Intracellular communication, NO and the biology of Chinese medicine. *Cell Communication and Signaling* 2005; 3:8
55. Rowbotham N, Baron R. Postherpetic neuralgia: Irritable nociceptors and deafferentiation. *Neurobiology of Disease* 1998;5:209-227
56. Basbaum A, Bushnell C, Devor M. Pain: Basic Mechanisms. In: Flor H et al. IASP Scientific Program Committee. *Pain-2005 an Updated Review: Refresher Course Syllabus*. Seattle: IAPS PRESS; 2005, p. 3-9
57. Woolf CJ, Mannion RJ. Dolor Neuropático: etiología, síntomas, mecanismos y manejo. *The Lancet* 1999; 353:1959-1964.
58. Reichert JA, Dauyhterrs RS. Antinocicepción periférica y anticipada en un modelo de dolor visceral en ratas. *Pain* 2001; 89: 221-277
59. Buistein R. Análisis de los componentes de sensibilización central y periférica de la cefalea y la migraña. *Pain* 2001; 89: 107-110
60. Ren K, Dubner R. Inflammatory models of pain and hyperalgesia. *ILAR J*1999; 40:111-118
61. Sun H, Ren K. La Alodinea táctil inducida por lesión nerviosa es mediada por proyecciones ascendentes de la columna espinal dorsal. *Pain* 2001; 9:105-111
62. Noguchi K, Tokyama M. Biología Molecular del Dolor: ¿Tiene algún interés clínico? *Rev.Soc.Esp. Dolor* 2000;8:332-336
63. Chou Tz C. Anti-inflammatory and analgesic effects of phenol in carrageenan-evoked thermal hyperalgesia. *British Journal of Pharmacology* 2003; 139:1146-1152
64. Ceraso OL. Profilaxis del dolor. *Dynia* 2000;1:13-45
65. Ceraso OL. Dolor Postoperatorio. *Dynia* 2000; 2:9-39
66. Wortley, R. Dolor por Cáncer. *Dynia*. 1996; 1 (1): 29-33
67. Kress M. Role of Inflammatory Mediators and the Response of Primary Afferents. In: Flor H et al. IASP Scientific Program Committee. *Pain-2005 an Updated Review: Refresher Course Syllabus*. Seattle: IAPS PRESS; 2005, p. 197-205
68. Natura G, von Banchet GS, Schaible HG. Calcitonin gene-related peptide enhances TTX-resistant sodium currents in cultured dorsal root ganglion neurons from adult rats. *Pain* 2005;116: 194-204
69. Ceraso OL. Capsaicina. *Dynia* 2001; 1: 38-69
70. Arenoso HJ. Cicloxigenasas. *Dynia* 1997;2: 33-38
71. Ferreira J, Triches KM, Medeiros R, Calixto JB. Mechanisms involved in the nociception produced by peripheral protein kinase c activation in mice. *Pain* 2005;117:171-181

72. Ceraso OL. Oxido Nítrico y Dolor Inflamatorio. *Dynia* 2001; 2: 8-15
73. Opal SM and De Palo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000;117:1162-1172
74. Standiford TJ. Anti-inflammatory cytokines and cytokines antagonist. *Curr Pharm Design* 2000;6:633-649
75. Ceraso OL. Analgésicos no opiodes y AINE, nuevos aportes sobre su mecanismo de acción. *Dynia*1996;1(1):47-54
76. Duarte, ID, Dos Santos, IR, Lorezenti, BB, Ferreira, SH. Analgesia by Direct Antagonism of nociceptor sensitization involves the L-arginine-nitric oxide-cGMP pathway. *Eur J.Pharmacol.* 1990;217:225-227
77. Amarante LH, Duarte IDG. The κ opioid agonist (\pm)-bremazocine elicits peripheral antinociception by activation of the L-arginine/nitric oxide/cyclic GMP pathway. *European Journal of Pharmacology* 2002;454:19-23
78. Lane, P, Gross, SS. Oxido Nítrico: Múltiple y Ambiguo. *Science and Medicine* 2002 Mar; 96-107
79. Ferreira SH. El papel de las interleuquinas y el óxido nítrico en la mediación del dolor inflamatorio y su control con analgésicos periféricos. *Drugs*1993; 46:1-9
80. López-Jaramillo P. Óxido Nítrico y Dolor. *MEDUNAB* 2001;4 (10):1-7
81. Yamamoto Y and Gaynor RB. Therapeutic potential of inhibition of the NF- κ B pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J Clin Invest* 2001;107:135-142
82. Fernandez JC, Martel-Pelletier J, Pelletier JP. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorheology* 2002;39: 237-46
83. Triggiani M, Granata F, Oriente A, De Martino V, Gentile M, Calabrese C, Palumbo C, Marone G. Secretory phospholipases A₂ induce β -glucuronidase release and IL-6 production from human lung macrophages. *J Immunol* 2000;162:4908-4915
84. Safieh-Garabedian B, Poole S, Allchorne A, Winter J, Woolf CJ. Contribution of interleukin-1 beta to the inflammation-induced increase in nerve growth factor levels and inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 1995;115:1265-1275
85. Akbar AN, Lord JM and Salmon M. IFN- α and IFN- β : a link between immune memory and chronic inflammation. *Immunol Today* 2000;21:337-341
86. Garrido G, González D, Delporte C, Backhouse N, Quintero G, Núñez-Sellés A.J, Morales A. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. Extract (Vimag). *Phytother.Res.* 2001; 15:18-21
87. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol* 1992;10:411-452
88. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1996; 334:1717-1725
89. Chen Y, Wen-Li G, Wang C, Gu Y, Huang LY, Mechanism underlying P2X receptor-mediated responses in the neuropathic pain state. *Pain* 2005; 119:38-48
90. Signore A, Annovazzi A, Corsetti F, Capriotti G, Chianelli M, De Winter F, Scopinaro F. Biological imaging for the diagnosis of inflammatory conditions. *BioDrugs* 2002;16:241-259

91. Laughlin TM, Bethea JR, Yeziarski RB, Wilcox GL. Cytokine involvement in dynorphin-induced allodynia. *Pain* 2000; 84:159-167
92. Boone DL, Lee EG, Libby S, Gibson PJ, Chien M, Chan F, Madonia M, Burkett PR, and Ma A. Recent advances in understanding NF- κ B regulation. *Inflamm Bowel Dis* 2002;8:201–212
93. Covey W, Ignatowsky TA, Renauld AE, Knight PR, Nader D, Nader MD et al. Expression of neuron-associated Tumor Necrosis Factor Alpha in the Brain is increased during persistent pain. *Regional Anesthesia and Pain Medicine* 2002;27(4):357-366
94. Lin YL. Tumor necrosis factor α induces long-term potentiation of C-fiber evoked field potentials in spinal dorsal horn in rats with nerve injury: the rol of NF-kappa B, JNK and p38 MAPK. *Neuropharmacology* 2007; 52:708-715
95. Ulloque R. Aminoácidos neurotransmisores: ácido glutámico, ácido aspártico y glicina.[en línea]2001[consultado agosto 2005] disponible en: http://www.medilegis.com/bancoconocimiento/T/Tribuna102n3invitado/art_invitado.htm
96. Pass Y. The macro- and microarchitectures of the ligand-binding domain of glutamate receptors. *TINS* 1998; 21(3): 117-125
97. Conti P, De Amici M, De Sarro G. Synthesis and pharmacology of a new AMPA-kainate receptor agonist with potent convulsant activity. *J. Med. Chem.* 1998; 41(20): 3759-3762
98. Frerking M, Nicollm RA. Receptores de Kainato. *Current Opinion in Neurobiology* 2000;10: 342-351
99. Breukel AIM, Besselsen E, Lopes-Da Silva FH. A presynaptic N-methyl-D-aspartate autoreceptor in rat hippocampus modulating amino acid release from a cytoplasmic pool. *Eur. J. Neuroscience* 1998; 10: 106-114
100. Wilson JA, Garry EM, Anderson HA, Rosie R, Colvin LA, Mitchell R et al. NMDA receptor antagonist treatment at the time of nerve injury-induced changes in spinal NR1 and NR2b subunit expression and increases the sensitivity of residual pain behaviours to subsequently administered NMDA receptor antagonists. *Pain* 2005; 117:421-432
101. Gao X, Kee H, Chung JM, Chung K. Enhancement of NMDA receptor phosphorylation of the spinal dorsal horn and nucleus gracilis neurons in neuropathic rats. *Pain* 2005;116:62-72
102. Xu M, Kim CJ, Neubert MJ, Heinricher MM. NMDA receptor-mediated activation of medullary pro-nociceptive neurons is required for secondary thermal hyperalgesia. *Pain* 2007; 127:253-262
103. Conn PJ, Pin JP. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1997; 37: 205-237
104. Barañano DE, Ferris CD. Mensajeros neurales atípicos. *Treds in Neuro-sciences* 2001; 24 (2):99-106
105. Daher JB, De Melo MD, Tonussi CR. Evidence for a spinal serotonergic control of the peripheral inflammation in the rat. *Life Sciences* 2005; 76:2349-2359
106. Wei H, Chen Y, Hong Y. The contribution of peripheral 5-HT_{2A} receptor to carrageenan evoked hyperalgesia inflammation an spinal fos protein expression in the rat. *Neuroscience* 2005; 132:1073-1082
107. Bringham Sh, Davey TP, Sammons M, Raval P, Overend P, Parsons AA. Inhibition of inflammation –induced thermal hypersensitivity by Sumatriptan though activation of 5-HT_{1B/1D} receptor. *Experimental Neurology* 2001;167:65-73

108. Cannon KE, Chazot PL, Hann V, Shenton F, Hough LB, Rice FL. Immunohistochemical localization of histamine H3 receptors in rodent skin, dorsal root ganglia, superior cervical ganglia, and spinal cord: Potential antinociceptive targets. *Pain* 2007; 129:64-75
109. Fernández Alvarez A, Abudara V, Morales FR. El Óxido Nítrico como Neurotransmisor y Neuromodulador. *Actas de Fisiología* 1999;5:39-77
110. Melle S, Gebbart G. EL óxido nítrico y el procesamiento nociceptivo en la médula espinal. *Pain* 1993; 52:127-136
111. Desmeules J, Kondo M, et al. Antagonistas del receptor NMDA: ¿Un nuevo abordaje del dolor crónico? *Medicine Higiene* 1999;57:1491-1493
112. Sakurada T, Sakurada C, Tan Nok, Kisara K. Antagonistas del receptor para Neurokininas. *Central Nervous System Drugs* 1997; 8(6): 436-447
113. Ceraso O. L. Ketamina. *Dynia* 2001; 3: 11-40
114. Okuda K, Sakurada Ch, Takahashi M, Yamada T, Sakurada T. Characterization of nociceptive responses and spinal releases of nitric oxide metabolites and glutamate evoked by different concentrations of formalin in rats. *Pain* 2001;92:107-115
115. Tsien JZ. Construyendo un ratón más cerebral. *Scientific American* Abr. 2000, p. 42-48
116. King T, Gardell LR, Wang R, Vandanyan A, Ossipov MH, Marlan TP et al. Role of NK-1 neurotransmission in opioid-induced hyperalgesia. *Pain* 2005; 116:276-288
117. Neira F, Ortega JL. Antagonistas de los receptores glutaminérgicos NMDA en el tratamiento del dolor crónico. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2004; 11: 210-222
118. Yaksh TL. Calcium Channels as therapeutic targets in neurophatic pain. *The Journal of Pain* 2006; 7(1):513-530
119. Stahl SM. Anticonvulsants and the relief of chronic pain: pregabalin and gabapentin as alpha (2) delta ligands at voltage-gated calcium channels. *J Clin Psychiatr.* 2004; 65:596-597
120. Vetter G, Geisslinger G, Tegeder I. Release of glutamate, nitric oxide and prostaglandin E2 and metabolic activity in the spinal cord of rats following peripheral nociceptive stimulation. *Pain* 2001; 92:213-218
121. Jorkman R. Central antinociceptive effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol. *Acta Anaesth. Scand.* 1995; 39: 9-44
122. Lui PW, Lee ChH. Preemptive effects of intrathecal cyclooxygenase inhibitor or nitric oxide synthase inhibitor on thermal hypersensitivity following peripheral nerve injury. *Life Sciences* 2004; 75:2527-2538
123. Shi L, Smolders I, Umbrain V, Lauwers MH, Sarre S, Michotte Y et al. Peripheral inflammation modifies the effect of intrathecal IL-1 β on spinal PGE2 production mainly through cyclooxygenase-2 activity. A spinal microdialysis study in freely moving rats. *Pain* 2006;10:307-314
124. Guix FX, Uribealago I, Coma M, Muñoz FJ. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Progress in Neurobiology* 2005; 76:126-152
125. Sato E, Takano Y, Kuno Y, Takano M, Sato I. Involvement of spinal tyrosine kinase in inflammatory and N-methyl-D-aspartate- induced hyperalgesia in rats. *European Journal of Pharmacology* 2003;468:191-198

126. Nishikori T, Irie K, Suganuma T, Ozaki M, Yoshioka T. Anti-inflammatory potency of FR167653, a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor in mouse models of acute inflammation. *European Journal of Pharmacology* 2002; 451:327-333
127. Mattson MP and Camandola S. NF- κ B in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *J Clin Invest.* 2001;107:247-254
128. Cruz CD, Neto FL, Castro-Lopes J, McMahon SB, Cruz F. Inhibition of RSK phosphorylation decreases nociceptive behaviour in monoarthritic rats. *Pain* 2005;116:411-419
129. Tan-No K, Takahashi H, Nakagawasa O, Niijima F, Sato T, Satoh S et al. Pronociceptive role of dynorphins in uninjured animals: N-ethylmaleimide-induced nociceptive behaviour mediated through inhibition of dynorphin degradation. *Pain* 2005;113:301-309
130. Kohno T, Ji RR, Ito N, Allchorne AJ, Befort K, Karchewski LA et al. Peripheral axonal injury results in reduced μ opioid receptor pre- and post-synaptic action in the spinal cord. *Pain* 2005; 117:77-87
131. Ma JY, Zhao ZQ. The involvement of glia in long-term plasticity in the spinal dorsal horn of the rat. *Neuroreport* 2002;13(14):1781-1784
132. De Leo JA, Tawfik VL, La Croix-Fralish ML. The tetrapartite synapse; Path to CNS sensitization and chronic pain. *Pain* 2006;122:17-21
133. Hu S, Sheng WS, Ehrlich LC, Peterson PK, Chao CC. Cytokine effects on glutamate uptake by human astrocytes. *Neuroimmunomodulation* 2000;7(3):153-159
134. Simmons ML, Murphy S. Induction of nitric oxide synthase in glial cells. *J. Neurochem.* 1992;59:897-905
135. Craner MJ, Damarjian TG, Liu S, Hains BC, Lao AC, Black JA et al. Sodium channels contribute to microglia/macrophage activation and function in EAE and MS. *Glia* 2005;49(2):220-229
136. Fordyce Cb, Jagasia R, Zhu X, Schlichter LC. Microglia Kv1.3 channels contribute to their ability to kill neurons. *J Neurosci* 2005; 25 (31):7139-7149
137. Fiacco TA, McCarthy KD. Intracellular astrocyte calcium waves in situ increase the frequency of spontaneous AMPA receptor currents in CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 2004;24 (3):722-732
138. Danbolt NC. Glutamate uptake. *Prog Neurobiol* 2001; 65 (1):1-105
139. Voutsinos-Porche B, Bonvento G, Tanaka K, Steiner P, Welker E, Chatton JY et al. Glial glutamate transporters mediate a functional metabolic crosstalk between neurons and astrocytes in the mouse developing cortex. *Neuron* 2003; 37(2):275-286
140. Coull JAM, Beggs S, Bondreau D, Boivin D, Tsuda M, Inoue K et al. BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. *Nat Lett* 2005;438:1017-1021
141. Shan S, Hong C, Mei H, Ting L, Hai-Li P, Zhi-Qi Zh, Yu-Qiu Zh. New evidence the involvement of spinal fractalkine receptor in pain facilitation and spinal glial activation in rat model of monoarthritis. *Pain* 2007;129:64-75
142. Oster G, Harding G, Dukes E, Edelsberg J, Cleary PD. Pain, Medication Use, and Health-Related Quality of Life in Older Persons with postherpetic neuralgia: Results from a population-based survey. *The Journal of pain* 2005;6(6):356-363

143. Neira F, Ortega JL. La neuralgia postherpética. ¿Un problema sin resolver? *Rev.Soc.Esp.Dolor* 1998;5:128-143
144. Sato-takeda M, Ihn H, Ohashi J, Tsuchiya N, Satake M, Arita H et al. The human histocompatibility leukocyte antigen (HLA) haplotype is associated with the onset of postherpetic neuralgia after herpes zoster. *Pain* 2004;110:329-336
145. Pomeranz B, Chiu D. Naloxone blockade of acupuncture: endorphin implicated. *Life Sci.* 1976;19:1757-1762
146. Han JS. Acupuncture: neuropeptide release produced by electrical stimulation of different frequencies. *Trends Neurosci.* 2003;26:17-22
147. Bossy, J. Vías y centros de la nocicepción. En: *Bases neurobiológicas de las reflexoterapias*. Barcelona: Masson S.A.;1985, p. 51-65
148. Han JS. Acupuncture and endorphins. *Neuroscience Letters* 2004; 361:258-261
149. Bossy, J. Participación suprasegmentaria y mecanismos superiores. En: *Bases neurobiológicas de las reflexoterapias*. Barcelona: Masson S.A.; 1985, p. 31-47
150. Lao L, Zhang G, Wei F, Berman B, Ren K. Effect of electroacupuncture on hyperalgesia and Fos protein expression in rats with persistent inflammation- a new animal model. *Clin. Acupunct.Orient.Med* 2000;1:112-113
151. Lao L, Zhang RX, Zhang G, Wang X, Berman BM, Ren K. A parametric study of Electroacupuncture on persistent hyperalgesia and Fos protein expression in rats. *Brain Research* 2004;1020:18-29
152. Moncada S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med* 1999; 92:164-169
153. Ma SX. Enhanced nitric oxide concentrations and expression of nitric oxide synthase in acupuncture points/meridians. *J Altern Complement Med* 2003; 9(2):207-215
154. Chen JX, Ma SX. Effects of nitric oxide and noradrenergic function on skin electric resistance of acupoints and meridians. *J Altern Complement Med* 2005; 11(3):423-431
155. Loiza LA, Yamaguchi S, Ito M, Ohshima N. Electroacupuncture stimulation to muscle afferents in anesthetized rats modulates the blood flow to the knee joint through autonomic reflexes and nitric oxide. *Autonomic Neuroscience. Basic and Clinical* 2002;97:103-109
156. Chen S, Ma SX. Nitric Oxide in the gracile nucleus mediates depressor response to acupuncture (ST36). *J. Neurophysiol* 2003 ;90 (2):780-785
157. Ma SX, Ma J, Moise G, Li XY. Responses of neuronal nitric oxide synthase expression in the brainstem to electroacupuncture Zusanli (ST 36) in rats. *Brain Research* 2005;1037:70-77
158. Ma SX, Li XY. Increased neuronal nitric oxide synthase expression in the gracile nucleus of brainstem following electroacupuncture points BL 64 & BL 65 in rats. *Acupunct. Electrother. Res.* 2002;27(3-4):157-169
159. Jang MH, Shiu EH, Koo GS, Lee ChY, Kim EH, Kim ChJ. Acupuncture decreases nitric oxide synthase expression in Periaqueductal gray area of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Neuroscience Letters* 2003;337:155-158

160. Dai G, Chen Y, Gu F, Chen R. Effects of electroacupuncture on the contents of NO, ET and T-AOC in the brain tissues of the cerebral hemorrhage model rats. *J. Tradit. Chin. Med.* 2005; 25 (1):62-65
161. Lu JX, Zhou PH, Wang J, Li X, Cao YZ, Zhou X, Zhu DN. Medullary ventrolateral nitric oxide mediates the cardiac effect of electroacupuncture at Neiguan acupoint on acute myocardial ischemia in rats. *Sheng Li Xue Bao* 2004; 56 (4):503-508
162. Wang L, Tang C, Lai X. Effects of electroacupuncture in learning, memory and formation system of free radicals in brain tissues of vascular dementia model rats. *J. Tradit. Chin. Med.* 2004;24 (2):140-143
163. Kim YS, Kim C, Kang M, Yoo J, Huh Y. Electroacupuncture-related changes of NADPH-diaphorase and neuronal nitric oxide synthase in the brainstem of spontaneously hypertensive rats. *Neurosci. Lett.* 2001;312(2):63-66
164. Choi BT, Lee JH, Wan J, Han S. Involvement of ionotropic glutamate receptors in low frequency electroacupuncture analgesia in rats. *Neuroscience Letters* 2005;377:185-188
165. Sun Sh, Chen WL, Wang PF, Zhao ZhQ, Zhang YQ. Disruption of glial function enhances electroacupuncture analgesia in arthritic rats. *Experimental Neurology* 2006;198:294-302
166. Sun Sh, Mao-Ying QL, Cao H, Li T, Han M, Pan H, Wang YQ, Zhao ZhQ, Zhang YQ. Is functional state of spinal microglia involved in the anti-allodynic and anti-hyperalgesic effects of electroacupuncture in rat model of monoarthritis? *Neurobiology of Disease* 2007;26:558-568
167. Rice AS, Maton S. Gabapentin in postherpetic neuralgia: a randomised double blind, placebo controlled study. *Pain* 2001; 94:215-224
168. Bossy J. Zonas Periféricas Reflejas. En: *Bases Neurobiológicas de las Reflexoterapias*. Barcelona: Masson S.A.; 1985, p.11-25
169. Besson M, Brook P, Chizh BA, Pickering AE. Tactile Allodynia in patients with postherpetic neuralgia: Lack of change in skin blood flow upon dynamic stimulation. *Pain* 2005;117:154-161
170. Argoff ChE, Katz N, Backonja M. Treatment of postherpetic neuralgia: A review of therapeutic options. *Journal of Pain and Symptom Management* 2004; 28(4):396-411
171. O'Connor J, Bensky D (Eds.). *Acupuncture: A Comprehensive text*, Eastland Press, Chicago;1981, p. 741
172. Wen YR, Yeh GCh, Shyu BCh, Ling QD, Wang KCh, Chen TL, Sun WZ. A minimal stress model for the assessment of electroacupuncture analgesia in rats under halothane. *Eur J. Pain* (2006), doi:10.1016/j.ejpain.2006.11.003
173. Yang CH, Lee BB, Jung HS, Shim JI, Roh PU, Golden GT. Effect of electroacupuncture on response to immobilization stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2002;72:847-855
174. Holtman JR, Jing X, Wala EP. Sex-related differences in the enhancement of morphine antinociception by NMDA receptor antagonists in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2003;76:285-293
175. Tannenbaum J. Ethics and pain research in animals. *ILAR J* 1999;40:97-110

176. Covino BG, Dubnet R, Gybels J, Kosterlitz HW, Liebeskind JC, Steinbach RA, Vyklicky L, Yamamura H, Zimmermann M. Ethical standards for investigations of experimental pain in animals. (Guest Editorial). *Pain* 1980;9:141-143
177. Huang Ch, Tin Li H, Shi YS, Han JS, Wan Y. Ketamine potentiates the effect of electroacupuncture on mechanical allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Neuroscience Letters* 2004; 368: 327-331
178. Vyklicky L. Techniques for the study of pain in animals. In: Bonica JJ, Liebeskind JC, Albe-Fessard DG, editors. *Advances in Pain Research and Therapy*. Vol 3. New York NY: Raven Press; 1979, p 727-745
179. Huang Ch, Hu ZhP, Long H, Shi YSH, Han JSh, Wan Y. Attenuation of mechanical but not thermal hyperalgesia by electroacupuncture with the involvement of opiodes in rat model of chronic inflammatory pain. *Brain Research Bulletin* 2004; 63:99-103
180. Archer S. Measurement of nitric oxide in biological models. *FASEB J* 1993;7:349-360
181. Rockett KA, Awburn MM, Aggarwal BB, Cowden WB and Clark IA. *In vivo* induction of nitrite/nitrate by tumor necrosis factor, lymphotoxin and interleukin-1 implies a role of nitric oxide in cytokine-induced malarial cell-mediated immunity and pathology. *Infect Immunol* 1992;60:3725-3730
182. Klaassen CD. Principles of toxicology and treatment of poisoning. In: Harmdman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG. *The farmacological basis of therapeutics*. New York: Goodman and Gilman's McGraw-Hill; 1996, p.63-75
183. Gálvez R, Ruiz S, Romerp J. Propuesta de nueva escalera analgésica para el dolor neuropático. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2006;6:377-380
184. Serpell MG; Neuropathic Pain Study Group. Gabapentin in neuropathic pain syndromes: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Pain*. 2002; 99:557-566
185. Sharma U, Allen R, Glessner C, Hes M, Lamoreaux L, Poole RM. Pregabalin effectively relieves pain in patients with diabetic peripheral neuropathy: Study 1008-014. *Diabetes*. 2000; 49:A167
186. Dworkin RH, Corbin AE, Young JP Jr, et al. Pregabalin for the treatment of postherpetic neuralgia: a randomized, placebo-controlled trial. *Neurology*. 2003; 60:1274-1283
187. Bernstein JE, Korman NJ, Bickers DR, Dahl MV, Millikan LE. Topical capsaicin treatment of chronic postherpetic neuralgia. *J Am Acad Dermatol*. 1989; 21:265-270
188. Drake HF, Harries AJ, Gamester RE, Justins D. Randomized double-blind study of topical capsaicin for the treatment of postherpetic neuralgia. *Pain* 1990; 41(Suppl 1):S58
189. Watson CP, Tyler KL, Bickers DR, Millikan LE, Smith S, Coleman E. A randomized vehicle-controlled trial of topical capsaicin in the treatment of postherpetic neuralgia. *Clin Ther*. 1993; 15:510-526
190. Watson CP, Evans RJ, Reed K, Merskey H, Goldsmith L, Warsh J. Amitriptyline versus placebo in postherpetic neuralgia. *Neurology*. 1982; 32:671-673
191. Kishore-Kumar R, Max MB, Schafer SC, et al. Desipramine relieves postherpetic neuralgia. *Clin Pharmacol Ther*. 1990; 47:305-312
192. Watson CP, Chipman M, Rood K, Evans RJ, Birkett N. Amitriptyline versus maprotiline in postherpetic neuralgia: a randomized, double-blind, crossover trial. *Pain*. 1992; 48:29-36

193. Watson CP, Evans RJ. A comparative trial of amitriptyline and zimeclidine in post-herpetic neuralgia. *Pain*. 1985; 23:387-394
194. Max MB, Schafer SC, Culnane M, Smoller B, Dubner R, Gracely RH. Amitriptyline, but not lorazepam, relieves postherpetic neuralgia. *Neurology*. 1988; 38:1427-1452
195. Pérez Cajaraville, Gil-Aldea I. Nuevas perspectivas en el tratamiento del dolor neuropático: duloxetina. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2006; 6:421-427
196. Eisenberg E, Kleiser A, Dortort A, Haim T, Yarnitsky D. The NMDA (N-methyl-D-aspartate) receptor antagonist memantine in the treatment of postherpetic neuralgia: a double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Pain* 1998; 2:321-327
197. Zhang RX, Wang L, Wang X, Ren K, Berman BM, Lao L. Electroacupuncture combined with MK-801 prolongs antihyperalgesia in rats with peripheral inflammation. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2005; 81:146-151
198. Choi BT, Kant J, Jo UB. Effects of electroacupuncture with different frequencies on spinal ionotropic glutamate receptor expression in complete Freund's adjuvant-injected rat. *Acta histochemica* 2005; 107:67-76
199. Zhang RX, Liu B, Qiao JT, Wang L, Ren K, Berman BM, Lao L. Electroacupuncture suppresses spinal expression of Neurokinin-1 receptors induced by inflammation in rats. *Neuroscience Letters* 2005; 384:339-343
200. Baek YH, Choi DY, Yang HI, Park DS. Analgesic effect of electroacupuncture on inflammatory pain in the rat model of collagen-induced arthritis: Mediation by cholinergic and serotonergic receptors. *Brain Research* 2005; 1057:181-185
201. Ma F, Xie H, Dong ZhQ, Wang Y-Q, Wu-GCh. Effects of electroacupuncture on orphanin FQ immunoreactivity and prepro-orphanin FQmRNA in nucleus of raphe magnus in neuropathic pain rats. *Brain Research Bulletin* 2004;63:509-513
202. Huang Ch, Long H, Shi YS, Han JS, Wan Y. Noscistatin potentiates electroacupuncture antinociceptive effects and reverses chronic tolerance to electroacupuncture in mice. *Neuroscience Letters* 2003;350:93-96
203. Mochizuki D. Serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors in animal models of pain. *Hum Psychopharmacol*. 2004; 19 (Suppl 1):S15-S19
204. Woolf CJ. Dissecting out mechanisms responsible for peripheral neuropathic pain: implications for diagnosis and therapy. *Life Sci* 2004;74:2605-2610
205. Hao S, Takahata O, Iwasaki H. Electroacupuncture potentiates the antinociceptive effect of intratecal endomorphin-1 in the rat formalin test. *Neuroscience Letters* 2000;287:9-12
206. Huang Ch, Wang Y, Chang JK, Han JSh. Endomorphin and μ opioid receptors in mouse brain mediate the analgesic effect induced by 2Hz but not 100Hz electroacupuncture stimulation. *Neurosci.Lett.*2000;294:159-162
207. Hao S, Sakurai K Su; Suzuki a, Takahata O and Iwasaki H. Antinociceptive effects of intrathecally administered endomorphin-1 on the thermal mechanical and inflammatory stimuli in the rat. *Anesthesiology* 1999; 91 A777
208. Kim HW, Kwon YB, Han HJ, Yang IS, Beitz AJ, Lee JH. Antinociceptive mechanisms associated with diluted bee venom acupuncture (apipuncture) in the rat formalin test: involved of descending adrenergic and serotonergic pathways. *Pharmacological research* 2005;51:183-188

209. Kin SK, Park JH, bae SJ, Kim JH, Hwang BG, Min BI, Park DS, Na HS. Effects of electroacupuncture on cold allodynia in rat model of neuropathic pain. Mediation by spinal adrenergic and serotonergic receptors. *Experimental Neurology* 2005;195:430-436
210. Mason P. Central mechanisms of pain modulation. *Current Opinion in Neurobiology* 1999;9:436-441
211. Dong ZhQ, Ma FM, Xie H, Wang YQ, Wu GCh. Changes of expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and its receptor in dorsal roots ganglions and spinal dorsal horn during electroacupuncture treatment in neuropathic pain rats. *Res Letters* 2005;376:143-148
212. Dong ZhQ, Ma FM, Xie H, Wang YQ, Wu GCh. Down-regulation of GFR α -1 expression by antisense oligodeoxynucleotide attenuates electroacupuncture analgesia on heat hyperalgesia in a rat model of neuropathic pain. *Brain Research Bulletin* 2006;69:30-36
213. Kotani N, Hashimoto H, Sato Y, Sessler DI, Yoshioka H, Kitayama T et al. Preoperative intradermal acupuncture reduces postoperative pain, nausea and vomiting, analgesic requirement and sympathoadrenal responses. *Anesthesiology* 2001;95:349-356
214. Dong ChQ, Xie H, Ma F, Li WM, Wang YQ, Wu GCh. Effects of electroacupuncture on expression of somatostatin and presomatostatin mRNA in dorsal root ganglions and spinal dorsal horn in neuropathic pain rats. *Neuroscience Letters* 2005; 385:189-194
215. Watson CP, Babul N. Efficacy of oxycodone in neuropathic pain: a randomized trial in postherpetic neuralgia. *Neurology* 1998; 50:1837-1841
216. Raja SN, Haythornthwaite JA, Pappagallo M, et al. Opioids versus antidepressants in postherpetic neuralgia: a randomized, placebo-controlled trial. *Neurology* 2002; 59:1015-1021
217. Zijlstra FJ, de Lange I, Huygen FJ, Klein J. Anti-inflammatory actions of acupuncture. *Mediators of Inflammation* 2003;12 (2):59-69
218. Chen S-R, Pan H-L. Effect of Systemic and intrathecal gabapentin on allodynia in a new rat model of postherpetic neuralgia. *Brain Research* 2005;1042:108-113
219. Ferrini F, Salio C, Vergnano AM, Merighi A. Vanilloid receptor-1 (TRPV1)-dependent activation of inhibitory neurotransmission in spinal *substantia gelatinosa* neurons of mouse. *Pain* 2007;129:195-209
220. Cerebrospinal Fluid Interleukin 8 concentrations and the subsequent development of Postherpetic Neuralgia. *Am. J Med.* 2004;116:318-324
221. Bennett GJ. Experimental Neuropathic Pain in Animals. Models and Mechanisms. In: Flor H et al. IASP Scientific Program Committee. Pain-2005 an Updated Review: Refresher Course Syllabus. Seattle: IAPS PRESS; 2005, p. 97-105
222. Hansson PT. Neuropathic Pain: Definition, Epidemiology, Classification, and Diagnostic Work-Up. In: Flor H et al. IASP Scientific Program Committee. Pain-2005 an Updated Review: Refresher Course Syllabus. Seattle: IAPS PRESS; 2005, p. 91-95
223. Chang FC, Tsai HY, Ya MC, Yi PL, Lin JG. The central serotonergic system mediates the analgesic effects of electroacupuncture on Zusanli (ST 36) acupoints. *J Biomed. Sci* 2004;11(2):179-185
224. Chang SI, Tsai Ch, Lin JG, Hsieh Ch, Lin RT, Cheng JT. Involvement of serotonin in the hypoglycemic response to 2Hz electroacupuncture on zusanli acupoint (ST36) in rats. *Neuroscience Letters* 2005;379:69-73

225. López-Millán JM, Sánchez-Blanco C. Utilización de ketamina en el tratamiento del dolor agudo y crónico. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2007;1:45-65
226. Stener-Victorin E, Lundeberg T, Cajander S, Aloe L, Mannil L, Waldenstrom U, Olof P. Steroid-induced polycystic ovaries in rats: effect of electro-acupuncture on concentrations of endothelin-1 and nerve factor (NGF) and expression of NGF mRNA in the ovaries, the adrenal glands and the central nervous system. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003;1(1): 33
227. Hao JX, Xu IS, Wiesenteld-Hallin Z, Xu XJ. Anti-hyperalgesic and anti-allodynic effects of intrathecal nociceptin/orphanin FQ in rats after spinal cord injury, peripheral nerve injury and inflammation. *Pain* 1998; 76:385-393
228. Fu X, Wang YQ, Wu GCh. Involvement of nociceptin/orphanin FQ and its receptor in electrical produced antihyperalgesia in rats with peripheral inflammation. *Brain Research* 2006; 1078:212-218
229. Rizzi A, Nazzaro C, Marzola GG, Zucchini S, Trapella C, Guerrini R et al. Endogenous nociceptin/orphanin FQ signalling produces opposite spinal antinociceptive and supraspinal pronociceptive effects in the mouse formalin test: Pharmacological and genetic evidences. *Pain* 2006; 124:100-108
230. Truini A, Haanpaa M, Zucchi R, Galeotti F, Iannetti GD, Romaniello A, Cruccu G. Laser-evoked potentials in post-herpetic neuralgia. *Clinical Neurophysiology* 2003;114:702-709
231. Leung A, Khadivi B, Duann JR, Cho ZH, Yaksh T. The effect of Ting Point (Tendinomuscular Meridians) Electroacupuncture in thermal pain: A model for studying the neuronal mechanism of acupuncture analgesia. *The Journal of alternative and complementary medicine* 2005;11(4) 653-661
232. Devor M. Sodium Channels and Mechanisms of Neuropathic Pain. *The Journal of Pain* 2006; 7(15):53-512
233. Sawynok J, Reid A. Peripheral interactions between dextromethorphan, ketamine and amitriptyline on formalin-evoked behaviors and paw edema in rats. *Pain* 2003;102: 179-186
234. Wilson AW. An animal model of chronic inflammatory pain: Pharmacological and temporal differentiation from acute models. *European Journal of Pain* 2006; 10:537-549
235. Lee JH, Jang KJ, Lee YT, Choi YH, Choi BT. Electroacupuncture inhibits inflammatory edema and hyperalgesia through regulation of cyclooxygenases synthesis in both peripheral and central nociceptive sites. *Anest. Analg.* 2007;104:301-307
236. Lee JH, Choi YH, Choi BT. The anti-inflammatory effects of 2 Hz electroacupuncture with different intensities in acute carrageenan induced inflammation in the rat paw. *Int. J. Mol. Med* 2005;16:99-102
237. [Kim HW](#), [Roh DH](#), [Yoon SY](#), [Kang SY](#), [Kwon YB](#), [Han HJ](#), [Lee HJ](#), et al. The anti-inflammatory effects of low and high frequency electroacupuncture are mediated by peripheral opioids in a mouse air pouch inflammation model. *J. Altern. Complement. Med* 2006;12:39-44
238. Zang RX, Lao L, Wang KR, Bernir BB. Electroacupuncture combined with indomethacin enhances antihyperalgesia in inflammatory rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2004;78:793-797
239. Zhang RX, Wang L, Liu B, Qiao JT, Ren K, Berman BM, Lao L. Mu opioid receptor-containing neurons mediate electroacupuncture produced anti-hyperalgesia in rats with hind paw inflammation. *Brain Research* 2005;1048:235-240

- 240.Liu ZY, Zhuang DB, Lunderberg T, Yu LC. Involvement of 5 hydroxytryptamine 1_A receptors in the descending anti-nociceptive pathway from periaqueductal gray to the spinal dorsal horn in intact rats, rats with nerve injury and rats with inflammation. *Neuroscience* 2002;112 (2):399-407
- 241.Zhang YQ , Gao X, Guang Ch J, Huang YL, Wu GCh, Zhao Zh Q. Expression of 5-HT 1_A receptor mRNA in rat lumbar spinal dorsal horn neurons after peripheral inflammation. *Pain* 2002;98:287-295
- 242.Colpaert FC, Tarayre JP, Koek W, Pauwels PJ, Bardin L, Xu XJ et al. Large-amplitude 5HT- 1_A receptor activation: a new mechanism of profound, central analgesia. *Neuropharmacology* 2002; 43: 945-958
- 243.Zhang YQ, Yang ZL, Gao X, Wu GCh. The rol of 5- hydroxytryptamine 1_A and 5- hydroxytryptamine 1_B receptors in modulating spinal nociceptive transmission in normal and carrageenan injected rats.*Pain* 2001;92:201-211
- 244.Machelska H, Pavone F, Capone F, Przewlocka B. Antinociception after both peripheral and intrathecal injection of oxotremorine is modulated by spinal nitric oxide. *European Neuropsychopharmacology* 1999; 9:213-217
- 245.Moncada S. The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand* 1992;145:201-227
- 246.Hylden JL, Thomas DA, Iadarola MJ,Nahin RI, Dubner R. Spinal opioid analgesic are enhanced in a model of unilateral inflammation/hyperalgesia:possible involvement of noradrenergic mechanisms. *Eur. J.Pharmacol.* 1991;194:135-143
- 247.Young K, Myung K, Chon A. Effect of High or Low frequency EA of the cellular activity of catecholaminergic neurons in the Brain Sistem. *Acup.* 2000; 25:27-36
- 248.Tsuruoka M, Park Arai Y Ch, Nomura H, Matsutani K, Willis WD. Unilateral hindpaw inflammation induces bilateral activation of the Locus Coeruleus and the nucleus subcoeruleus in the rat. *Brain Research Bulletin* 2003;61:117-123
- 249.Itoh M, Takasaki I, Andoh T, Nojima H, Tominaga M, Kuraishi Y. Induction by carrageenan inflammation of prepronociceptin mRNA in VR1-immunoreactive neurons in rat dorsal root ganglia. *Neuroscience Research.* 2001; 40:227-233
- 250.Abdul A, Finn DP, Mason R, Chapman V. Comparision of responsen of ventral posterolateral and posterior complex thalamic neurons in naïve rats and rats with hind paw inflammation: μ opioid receptor mediated inhibitions. *Neuropharmacology* 2005;48:607-616
- 251.Nishiyama T. Interaction between intrathecal morphine and glutamate receptor antagonists in formalin test. *Eur. J.Pharmacol.*2000;395:203-210
- 252.Hurley RW, Hammond DL. The analgesic effects of supraspinal mu and delta opioid receptor agonists are potentiated during persistent inflammation. *J Neurosci.* 2000; 20:1249-1259
- 253.Lars Jørgen R, Svendsen F, Hale K, Tjølsen A. Increased spinal N-methyl-D aspartate receptor function after 20h of carrageenan-induced inflammation. *Pain* 2001;93:15-21
- 254.Galan A, López-García JA, Cervero F, Loird J. Activation of spinal extracelular signaling-regulated kinase-1 and -2 by intraplantar carrageenan in rodents. *Neuroscience Letters* 2002;322:37-40
- 255.López-Avila A, Rodríguez G, Coffeen U, del Angel R, Pellicer F. Self-injury behaviour induced by intraplantar carrageenan infiltration: a model of tonic nociception. *Brain Research Protocols* 2004;13:37-44

256. Wang C-Y, Wang Y-W, Zhao Z-Q. Peripheral NMDA and non NMDA receptors contribute to nociception: An electrophysiological study. *Brain Research Bulletin* 2000;52(1):31-34
257. Voitenko N, Gerber G, Youn D, Randic M. Peripheral inflammation-induced increase of AMPA-mediated currents and Ca^{2+} transients in the presence of cyclothiazide in the substantia gelatinosa neurons. *Cell Calcium* 2004;35:461-469
258. Ren K, Williams GM, Hylden JLK, Ruda Ma, Dubner R. The intrathecal administration of excitatory amino acid receptor antagonists selectively attenuated carrageenan-induced behavioral hyperalgesia in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 1992;219:235-243
259. Berrino L, Oliva P, Massimo F, Aurilio C, Majone S, Grella A, Rossi F. Antinociceptive effect in mice of intraperitoneal N-methyl-D-aspartate receptor antagonists in the formalin test. *European Journal of Pain* 2003;7:131-137
260. Wang Y, Huang Ch, Cao Y, Han J Sh. Repeated administration of low dose ketamine for the treatment of monoarthritic pain in the rat. *Life Science* 2000;67:261-267
261. Fisher K,Coderre TJ, Hagen NA. Targeting the N-metil-D-aspartate Receptor for Chronic Pain Management: Preclinical Animals Studies. Recent Clinicals Experience and Future Research Directions. *Journal of Pain and Symptom Management* 2000;20(5):358-373
262. Suzuki R, Matthews EA, Dickenson AH. Comparison of the effect MK-801, ketamine and memantine on responses of spinal dorsal horn neurones in rats model of mononeuropathy. *Pain* 2001; 91:101-109
263. Shimoyama M, Shimoyama N, Gorman AL, Elliot KJ, Inturrisi ChE. Oral ketamine is antinociceptive in the rat formalin test: role of the metabolite norketamine. *Pain* 1999;81:85-93
264. Hoffman VL, Baker AK, Vercauteren MP; Adriaensen HF, Meert TH. Epidural ketamine potentiates epidural morphine but not fentanyl in acute nociception in rats. *European Journal of Pain* 2003;7:121-130
265. Zhang YQ, Ji GCh, Wu GCh, Zhao ZhQ. Kynurenic acid enhances electroacupuncture analgesia in normal and carrageenan-injected rats. *Brain Research* 2003; 966:300-307
266. Uchida Y, Nishigori A, Takeda D, Ohshiro M, Veda Y, Ohshima M, Kashiba H. Electroacupuncture induces the expression of Fos in rat dorsal horn via capsaicin-insensitive afferents. *Brain Research* 2003; 978:136-140
267. Lao L, Zhang G, Wei F, Berman BM, Ren K. Electroacupuncture attenuates behavioral hyperalgesia and selectively reduces spinal Fos Protein Expression in rats with persistent inflammation. *The Journal of Pain* 2001;2 (2):111-117
268. Schmid RL, Sandler T, Joel K. Uso y eficacia de bajas dosis de Ketamina en el manejo del dolor agudo postoperatorio. *Pain* 1999; 82:111-123
269. Huang Ch, Long H, Shi YS, Han JS, Wan Y. Ketamine enhances the efficacy and delays the development of tolerance to electracupuncture induced antinociception in rats. *Neuroscience Letters* 2005;375:138-142
270. Wu LZ, Cui CL, Tian JB, Ji D, Ji ShH. Suppression of morphine withdrawal by electroacupuncture in rats: dynorphin and k opioid receptor implicated. *Brain Research* 1999;851:290-296
271. Omote K, Hazama K, Kawamata T, Kawamata M, Nakayaka Y, Toriyabe M et al. Peripheral nitric oxide in carrageenan-induced inflammation. *Brain Research* 2001; 912:171-175

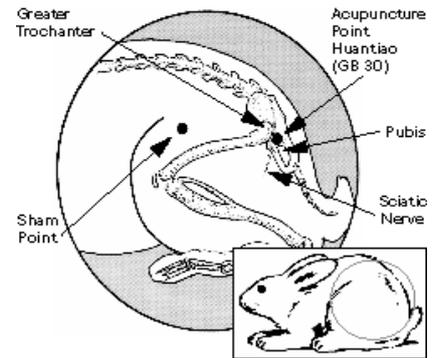
- 272.Zamora R, Vodovotz Y and Billiar TR. Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases. *Mol Med* 2000;6:347-373
- 273.Salvemini D, Seibert K, Marino MH. PG release, as a consequence of NO-driven COX activation contributes to the proinflammatory effects of NO. *Drugs News Perspect* 1996;4:204-219
- 274.Stuehr DJ. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta* 1999;1411:217-230
- 275.Chanqueo L, Yates L, Miranda HF, Pinar di G. Modulación opioide de la actividad antinociceptiva de L-arginina en ratones. *Rev. Soc. Esp Dolor* 2000;7:520-525
- 276.Kawabata A, Umeda N, Takagi H. L-arginine exerts a dual role in nociceptive processing in the brain: involvement of the kytorphine-met-enkephalin pathway and NO-cyclic GMP pathway. *Br J. Pharmacol* 1993;109:73-79
- 277.Yu Xu J, Pieper GM, Tseng LF. Activation of NO-cyclic GMP system by NO donors potentiates β endorphin-induced antinociception in the mouse. *Pain* 1995;63:377-383
- 278.Coutinho SV, Urban MO, Gebhart GF. Rol of glutamate receptors and nitric oxide in the rostral ventromedial medulla in visceral hyperalgesia. *Pain* 1998;78:59-69
- 279.Laureti GR, Perez MV, Reis Mp, Pereira NL. Double-Blind Evaluation of Transdermal Nitroglycerine as Adjuvant to Oral Morphine for Cancer Pain Management. *J.Clin. Anesth* 2002;14:83-86
- 280.Ortiz MI, Granados-Soto V, Castañeda-Hernández G. The NO-cGMP-K⁺ channel pathway participates in the antinociceptive effect of diclofenac, but not of indomethacin. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2003;76:187-195
- 281.Tsuchiya M, Sato EF, Inoue M, Asada A. Acupuncture enhances generation of nitric oxide and increases local circulation. *Anest. Analg* 2007;104:301-307
- 282.Rivot JP, Montagne J, Besson JM. Subcutaneous formalin and intraplantar carrageenan increase nitric oxide release as measured by in voltammetry in the spinal cord. *European Journal of Pain* 2002; 6:25-34
- 283.Sawynok J, Reid A. Modulation of formalin-induced behaviours and edema by local and systemic administration of dextromethorphan, memantine and ketamine. *European Journal of Pharmacology* 2002;450:153-162
- 284.De Vry J, Jul E, Franken-Kunkel P, Eckel G. Pharmacological characterization of the chronic constriction injury model of neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology* 2004;491:137-148
- 285.Gabra BH, Afify EA, Daabees TT, Zeit-Har A. The rol of NO/NMDA pathways in the development of morphine withdrawal induced by naloxone in vitro. *Pharmacological research* 2005;51:319-327
- 286.Liu Sh, Zhou W, Liu H, Yang G, Zhao W. Electroacupuncture attenuates morphine withdrawal signs and c-Fos expression in the central nucleus of the amygdala in freely moving rats. *Brain Research* 2005; 1044 (2):155-163
- 287.Bulutcu F, Dogrul A, Orguz Güç M. The involvement of nitric oxide in the analgesic effects of ketamine. *Life Sciences* 2002;71:841-853
- 288.Zhang XCh, Zhang YQ, Zhou ZhQ. Different roles of two nitric oxide activated pathways in spinal long-term potentiation of C-fiber-evoked field potentials. *Neuropharmacology* 2006;50:748-754

289. Yoon MH, Choi JI, Bae HB, Jeong SW, Chung SS, Yoo KY et al. Lack of nitric oxide-cyclic GMP-potassium channel pathway for the antinociceptive effect of intrathecal zaprinast in rat formalin test. *Neuroscience Letters* 2005;390:114-117
290. Bermúdez-Ocaña DY, Ambríz-Tutuli M, Pérez-Severiano F, Garnados Soto V. Pharmacological evidence for the participation of NO-ciclyc GMP-PKG-K⁺ channel pathway in the antiallodinyc action of resveratrol. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2006;84:535-542
291. Soares de Moura R, Ríos AA, Santos EJA, Amorin AB, de Castro A, Lemos M et al. Rol of the NO-cGMP pathway in the systemic antinociceptive effect of clonidine in rats and mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2004;78:247-253
292. Ortiz MI, Castro-Olguín J, Semaniego NP, Castañeda Hernández G. Probable activation of the opioid receptor-nitric oxide-cyclic GMP-K⁺ channels pathway by codeine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2005;82:695-703
293. Ferreira SH, Duarte ID, Lorenzetti BB. Molecular base of acetylcholine and morphine analgesia. *Agents Actions Suppl* 1991;32:101-106
294. Granados-Soto V, Rufino MO, Gomes Lopes LD. Evidence for the involvement of the nitric oxide-cGMP pathway in the antinociception of morphine in the formalin test. *Eur J Pharmacol* 1997; 340:177-180
295. Dhir A, Kulkarni SK. Involvement of L-arginina-nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in the antidrepressant-like effect of venlafaxine in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2007;31:921-925
296. Schulte D, Millar J. The effects of high-and low intensity percutaneous stimulation on nitric oxide levels and spike activity in the superficial laminae of spinal cord. *Pain* 2003;103:139-150
297. Zhang RX, Lao L, Wang X, Fan A, Wang L, Ren K, Berman BM. Electroacupuncture attenuates inflammation in rat model. *The journal of Alternative and Complementary Medicine* 2005;11(1):135-142
298. Lee J-H, Choi Y-H, Choi B-T. The anti-inflammatory effects of 2 Hz electroacupuncture with different intensities on acute carrageenan-induced inflammation in the rat paw. *International journal of molecular medicine* 2005; 16(1):99-102



Foto 1. Localización del punto VB30

inserción de las agujas



Anatomía de los roedores

del punto VB30



Foto 2. Agujas colocadas y fijadas

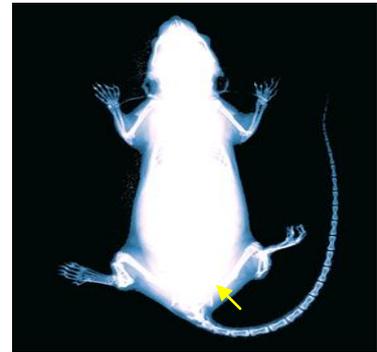


Foto 3. Localización del punto VB 30



Foto 4. Método de Lao y colaboradores

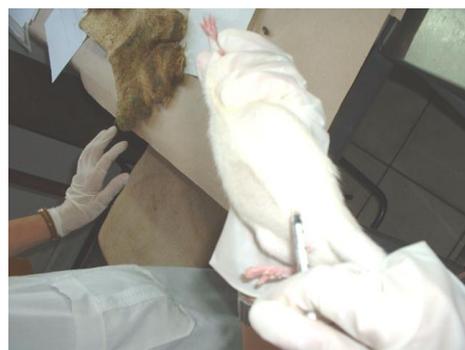


Foto 5. Administración de fármacos ip.



Foto 6. Administración de carragenina ipl.



Foto 7. Medición de la PWL (plato caliente)

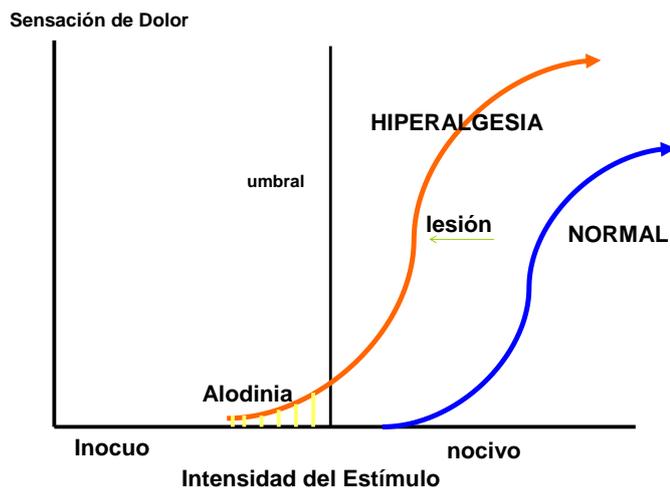


Figura I Curva de intensidad del estímulo-sensación dolorosa

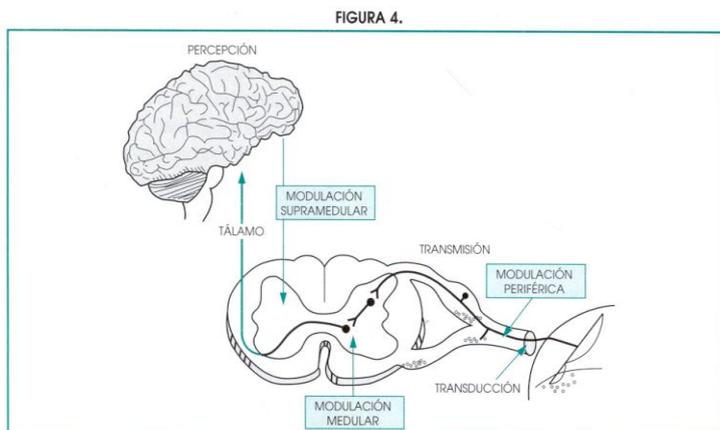


Figura II Procesos neurofisiológicos de la nocicepción. (Wortley. Dynia 1996; 1:30)

Tabla I Dolor fisiológico

ASPECTOS ANATOMO-FISIOLÓGICOS DEL DOLOR NORMAL	
PROCESOS NEUROFISIOLÓGICOS DE LA NOCICEPCIÓN	
TRANSDUCCIÓN	<p>Los nociceptores son terminales de fibras Aδ y C. En el humano 10 % de las fibras Aδ y más de 90 % de las C son nociceptivas. Se caracterizan por poseer un umbral elevado al estímulo apropiado, codifican intensidades de estímulos dentro de rangos nocivos. No responden o lo hacen irregularmente a estímulos de intensidad baja (no nocivos); por lo que poseen una capacidad diferenciadora y responden a estímulos supraumbrales con descargas persistentes, que dan información continua de la presencia de estímulos de intensidad elevada sin adaptación.</p> <p>Los cutáneos pueden ser terminaciones sensoriales libres de fibras Aδ de diámetro pequeño y poco mielinizadas por lo que conducen lentamente de (3-15 m/s) y también terminaciones de fibras amielínicas C, estas presentan diámetro más pequeño y conducen aún más lentamente a unos 0,5-2 m/seg, pues no pueden conducir de forma saltatoria. Los primeros responden a estímulos nocivos mecánicos, agudos (penetraciones de objetos punzantes). Son mecanorreceptoras de umbral alto y poseen campos receptivos puntuales. Los segundos son polimodales pues responden a estímulos nocivos mecánicos, térmicos o químicos. Se activan por sustancias liberadas por daño tisular (bradicinina, iones de potasio, histamina, etc.) y sus campos receptivos son mayores (más de 17 mm²).</p> <p>Los nociceptores de tejidos somáticos profundos son fundamentalmente nociceptores C.</p> <p>En los músculos responden a estímulos nocivos de presión, calor o isquemia y en articulaciones a movimientos nocivos y factores liberados por daño tisular.</p> <p>También encontramos nociceptores en las vísceras, son terminaciones de fibras C amielínicas y se localizan en corazón, pulmones, tracto respiratorio, sistema biliar, testículos, uréteres y útero. Los del tracto digestivo son receptores sensoriales inespecíficos. De manera general participan en sensaciones internas de congestión, embolismo pulmonar, isquemia miocárdica, cólicos renales y biliares, irritación del tracto respiratorio, inflamación de mucosa o serosa, dolor del parto etc.</p>

<p>MODULACIÓN PERIFÉRICA</p>	<p>La regulación funcional de los nociceptores depende del balance entre las concentraciones de AMPc y GMPc, respectivos segundos mensajeros del sistema nervioso simpático y parasimpático, así como de muchos de estos mediadores.</p>
<p>TRANSMISIÓN</p>	<p>Toda la información que percibimos no es dolorosa, existe un doble sistema para la transmisión de información sensorial al cerebro: El Sistema Dorsal Lemniscal que transmite la información preponderantemente inocua y el Sistema Espinotalámico que transmite la información nociceptiva.</p> <p>Sistema Dorsal Lemniscal: Este sistema incluye las columnas dorsales y las vías espinocervicales localizadas en las columnas dorsolaterales. Conduce Información sensorial rápida, fina, precisa, denominada Epicrítica. Las Fibras son de tipo Aβ gruesas, mielinizadas, mecanorreceptoras de bajo umbral (MUB), diámetro mayor (5-16μm) y velocidad de conducción elevada (30-70 m/s). El sentido mecanorreceptivo incluye tacto, vibración, presión y sentido cinestésico. Participa en la modulación de la aferencia nociceptiva y en situaciones patológicas los impulsos de fibras Aβ pueden ser dolorosos.</p> <p>Tracto Espinotalámico (TET): Las células de origen del tracto se encuentran en las láminas de Rexed I, IV, V del cuerno dorsal espinal, la mayoría de sus axones se decusan en la comisura anterior y ascienden en el cuadrante anterolateral contralateral y terminan en las células del núcleo talámico ventroposterior, estas envían sus axones a la corteza somatosensorial en el <i>girus</i> postcentral. Algunos axones del tracto terminan en el tálamo medial en el sistema intralaminar, estas células tienen amplios campos receptivos y una menor organización topográfica. Las regiones del tálamo medial que reciben información nociceptiva se proyectan a muchos sitios corticales y subcorticales como la corteza límbica y la motora. La diversidad de estas proyecciones pudiera reflejar la diversidad de respuestas emotivas y motoras que evoca el dolor. Los disparos de estas neuronas son influenciados por estados conductuales como la atención y la distracción. Otros axones terminan en el tálamo posterior, se ha identificado que estos núcleos reciben información específica dolorosa y térmica de la lámina I del cuerno dorsal espinal, esta región del tálamo envía información a la corteza insular y es la única controvertida.</p> <p>Tracto Espinoreticular (TER): Este tracto está localizado en el cuadrante anterolateral. Algunos axones terminan sobre células de las vías moduladoras descendentes del dolor y pueden ser involucrados en los fenómenos clínicos de la contra-irritación, mediante la cual un dolor puede reducir la severidad de otro. Otras fibras constituyen el tracto espinoreticulotalámico que termina en el tálamo medial en conjunto con el TET.</p>

	<p>Tracto Espinomesecefálico (TEM): Este termina primariamente en el <i>coliculus</i> superior y en la sustancia gris periacueductal, las proyecciones a esta área activan vías descendentes de control, los estímulos dolorosos que activan las neuronas de la SGP están involucradas en aspectos autonómicos y somatomotores de la reacción de defensa. La actividad nociceptiva en el <i>coliculus</i> superior pudiera estar involucrada en la integración multisensorial y en las reacciones conductuales y de orientación hacia los estímulos dolorosos.</p> <p>Vía postsináptica de la Columna Dorsal (CD): Aunque la mayoría de las fibras que ascienden en la columna dorsal son axones colaterales de gran diámetro de aferentes primarias, algunas neuronas nociceptivas de la lámina V proyectan sus axones en esta vía hacia los núcleos <i>gracilis</i> y <i>cuneiforme</i>, que pueden ser importantes para la transmisión del dolor visceral. Por lo que se reconocen como nuevas vías de transmisión nociceptiva,</p> <p>Sistema Espino-Parabraquial-Amigdala (SEPA): Se origina en las láminas I y V del cuerno dorsal, estas fibras ascienden en el funículo dorsolateral y se proyecta hacia al área parabraquial del puente y de ahí al complejo amigdalino. Este sistema puede normalmente estar involucrado en los temores y la memoria dolorosa, así como en la conducta y las reacciones autonómicas a los estímulos nocivos tales como vocalización, huída, enfriamiento, dilatación pupilar y respuesta cardiorrespiratoria.</p>
<p>MODULACIÓN MEDULAR</p>	<p>En 1954 Rexed demostró la organización laminar de la sustancia gris del cuerno dorsal espinal. Estudios fisiológicos han demostrado también una organización funcional laminar.</p> <p>Lámina I (Zona Marginal): Las células responden primariamente y en algunos casos exclusivamente a estímulos nocivos, algunas a estímulos inocuos como a las temperaturas moderadas. Muchos de sus axones contribuyen al TET. Llegan aferentes Aδ de nociceptores cutáneos, musculares, articulares y viscerales. Algunos cutáneos C en la parte ventral.</p> <p>Lámina II (Sustancia Gelatinosa de Rolando): Contiene pequeñas interneuronas muchas responden a estímulos nocivos, ellas modulan a las células de láminas I y V; se observa la llegada de aferentes C de nociceptores cutáneos.</p> <p>En I y II preferentemente solo llega información nociceptiva. En la lámina III y IV: Las células responden a estímulos inocuos, táctiles, roce del pelo, no al pinchazo ni a los estímulos dolorosos. Encontramos aferentes Aβ de mecanorreceptores de bajo umbral. Aferentes Aδ de mecanorreceptores de folículos pilosos (información inocua). Las fibras Aβ evitan las láminas superficiales.</p>

En **Lámina V**: Las células responden a estímulos nocivos somáticos y viscerales e inoos, se encuentran células de amplio rango dinámico (NARD), además de la convergencia de diferentes tipos de entradas (aférentes A δ de nociceptores cutáneos, musculares, articulares y viscerales; aférentes A β) estas neuronas reciben entradas de zonas amplias (convergencia espacial). En el centro del campo receptivo tanto los estímulos inoos como los nocivos son excitatorios, pero en las regiones periféricas los estímulos inoos conducidos por fibras gruesas son inhibitorios, lo que pudiera explicar la acción de los masajes, TENS EA. En condiciones de injuria neural, la pérdida de este componente inhibitorio del campo receptivo determina un aumento de la respuesta de las NARD a los estímulos nocivos.

En **lámina VI**: Algunas aférentes A δ . Aférentes A β en porción dorsal. Responden a los movimientos articulares y cutáneos.

Lámina X: Llegada de nociceptores viscerales. Constituye una cadena polisináptica en médula espinal que lleva información nociceptiva al cerebro.

A manera de generalización podemos concluir que las **neuronas nociceptivas** en el cuerno posterior de la médula espinal, se encuentran de manera preferente en las **Láminas Superficiales I y II** y en las **Profundas V, VI**.

Estas son de **dos tipos**:

Clase 3: Nociceptivas Puras (NNP) en las Láminas I y V. Tienen gran importancia en la señalización del carácter nocivo del estímulo.

Clase 2: De Rango Dinámico Amplio (NARD), capaces de responder a estímulos nocivos e inoos, aumentando la frecuencia de descarga en proporción a la intensidad del estímulo. Candidatas para los procesos de integración sensorial y plasticidad. Se encuentran en capas más profundas.

Además encontramos otras neuronas:

Clase I: Mecanorreceptoras que están preferentemente en lámina III.

Interneuronas:

a)-Células limitantes de Cajal (Tallo): Son de localización dorsal, reciben aferencias primarias nociceptivas, táctiles y descendentes de núcleos supraespinales. Se conectan con lámina I. Son excitadoras.

b)-Células centrales de Cajal (Islote): Son de localización ventral, reciben aferencias primarias no nociceptivas y se conectan con neuronas NNP y NARD, sus prolongaciones dendríticas no salen de Lámina II, actividad típica interneuronal. Son inhibitorias.

<p>MODULACIÓN SUPRAMEDULAR</p>	<p>El sistema modulador supraespinal está integrado por un conjunto de circuitos descendentes que modulan la transmisión nociceptiva a nivel del cuerno posterior, puede ser activado por estrés, dolor, placebo, electricidad, administración de opiáceos y desde el punto de vista bioquímico está integrado por el sistema opioide y por el sistema monoaminérgico (noradrenalina y serotonina). Anatómicamente funciona a nivel del mesencéfalo, el bulbo (región rostral y ventromedial) y la médula espinal. A nivel del mesencéfalo son activas especialmente las áreas de la sustancia gris periacueductal (SGP) que se extienden hasta el suelo del tercer ventrículo, los núcleos dorsales del <i>rafe</i> y la formación reticular mesencefálica. Estas estructuras se proyectan descendentemente hacia los núcleos bulbares a la región reticular ventrobulbar (RVB) como el núcleo <i>magno</i> del <i>rafe</i> (NRM) y la FR ventral adyacente que constituye el núcleo reticular gigantocelular y el núcleo reticular paragigantocelular lateral. Estos emiten sus axones a través del funículo dorsolateral hasta el cuerno dorsal espinal. Los núcleos situados en esta región se consideran la vía final común que canaliza las influencias endógenas tanto inhibitorias como facilitadoras que modulan la nocicepción a nivel espinal, esta región bulbar sirve de estación entre el mesencéfalo y los núcleos espinales del asta posterior. En esta zona se han caracterizado en la rata los sistemas de células <i>on</i> y células <i>off</i>, las primeras se activan ante un estímulo periférico y se mantienen descargando durante todo el tiempo que dura la respuesta motora refleja al estímulo, su actividad es permisiva o facilitadora, son activadas por estimulación dolorosa e inhibidas por morfina. Las segundas interrumpen su actividad inmediatamente antes que se produzca la respuesta refleja, se inhiben por el estímulo doloroso y se excitan por estímulo eléctrico o por morfina. Se postula que los opiodes inhiben a interneuronas gabaérgicas que inhiben a las células <i>off</i> y causan su desinhibición. Ellas tienen actividad tónica alternante, es decir la inactividad de uno coincide con la actividad del otro. El efecto neto de este proceso será la inhibición nociceptiva en cuerno dorsal espinal. Las neuronas de la SGP que contienen aminoácidos excitatorios se proyectan hacia el RVB excitan células <i>off</i> y causan inhibición en CDE, las células <i>off</i> que contienen serotonina se proyectan extensamente en el RVB, ellas estimulan otras células <i>off</i> e inhiben células <i>on</i>. Las células <i>on</i> son inhibidas directamente por neuronas que contienen péptidos opiodes; algunas de las células <i>on</i> inhibidas por opiodes contienen GABA y sus colaterales inhiben a células <i>off</i>. Otras neuronas extrínsecas contienen neurotensina o NA proveniente del <i>locus coeruleus</i> y serotonina de los núcleos del <i>rafe</i>, la NA puede tener acción excitadora $\alpha 1$ e inhibidora $\alpha 2$. La SGP contiene cuerpos celulares ricos en encefalinas, dinorfina, α neoendorfina y terminales hipotalámicas ricas en β endorfina, pues esta solo se produce en el hipotálamo, también de SP. Las terminaciones espinales de los axones del RVB son más densos en laminas I, II y V. El sistema opioide espinal tiene efecto inhibitor a través de circuitos locales y del sistema descendente tanto a nivel presináptico como postsináptico.</p>
---------------------------------------	---



Figura III Receptor NMDA

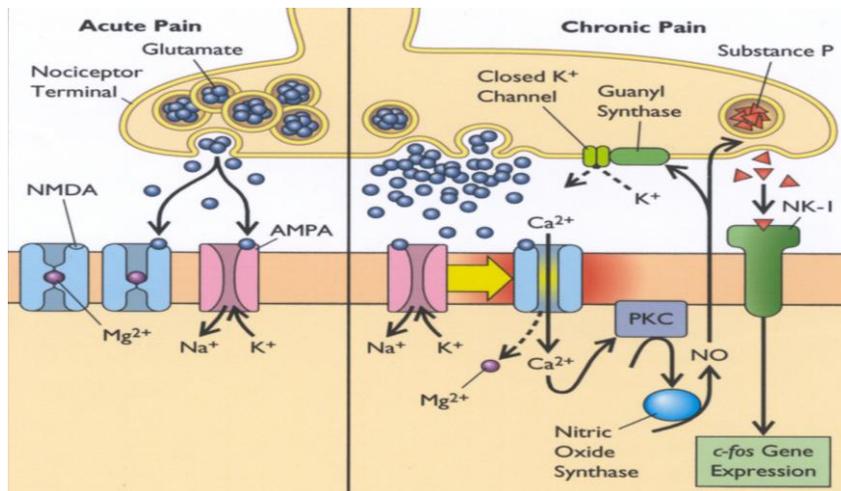


Figura IV. Mecanismos Moleculares de la Sensibilización Central (Brookoff D: Hosp. Pract, pp 45-59 julio, 2000)

DESINHIBICIÓN – ALODINIA- HIPEREXCITABILIDAD

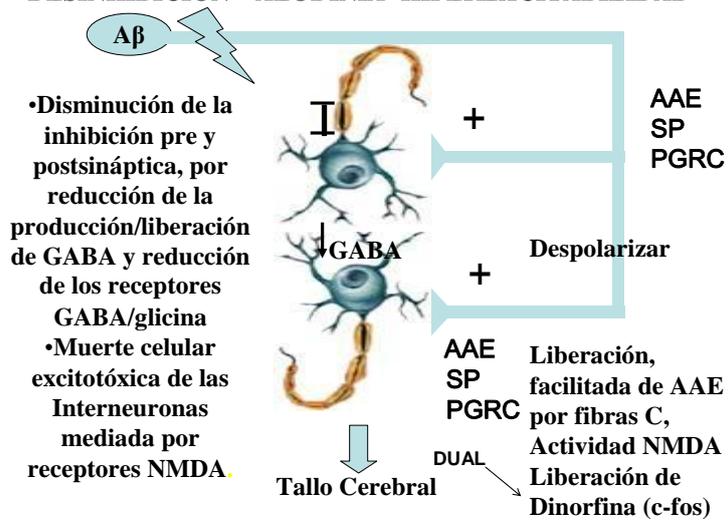


Figura V Mecanismo Desinhibición o Desbalance Excitación-Inhibición

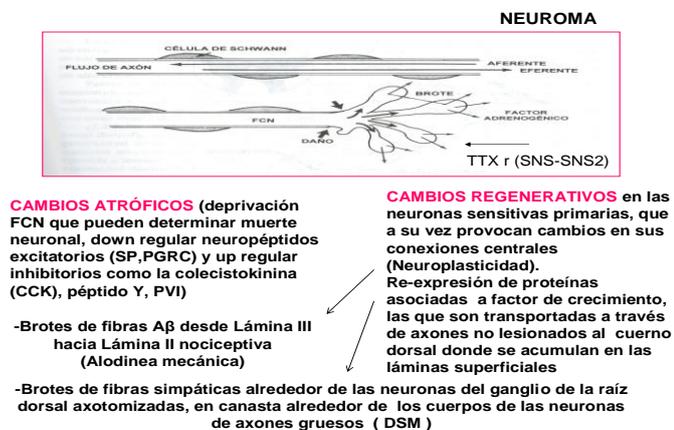


Figura VI Mecanismos de Reorganización Estructural o Neuroplasticidad

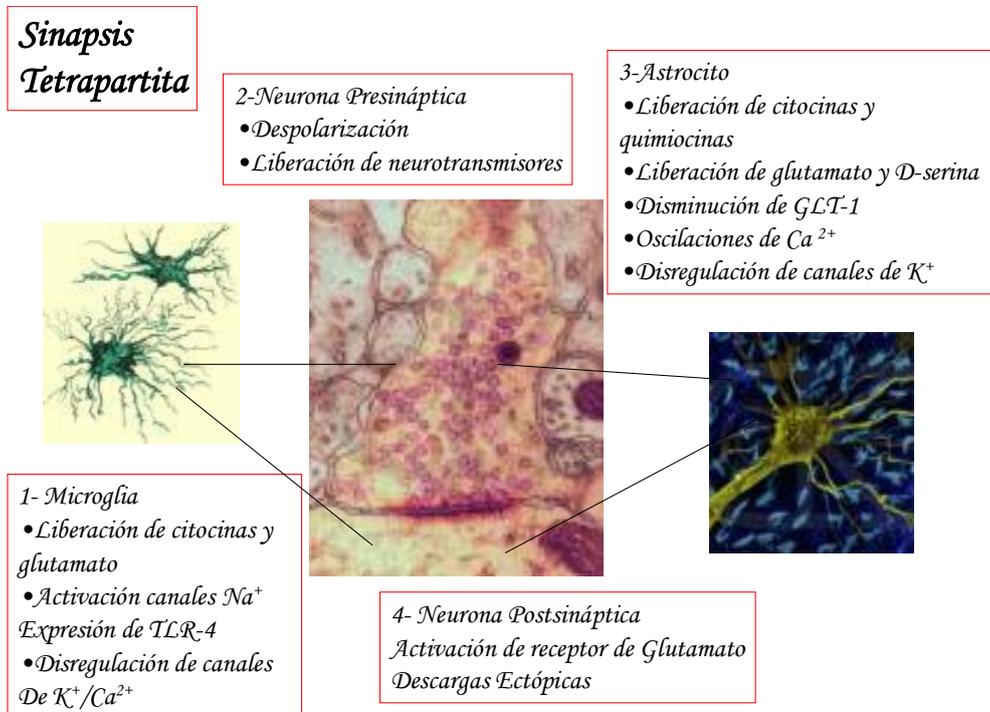


Figura VII Modelo Teórico de Sinapsis Tetrapartita (De Leo J.A, Tawfik VL, La Croix-Fralish ML. The tetrapartite synapse; Path to CNS sensitization and chronic pain. Pain 2006;122:17-21)



Paciente con DAZ, de 1 mes de evolución. Al cabo de los 3 meses se estableció el diagnóstico de NPH. Tratamiento con EA-ketamina



Tratamiento con EA a 10 Hz

PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TEMA DE TESIS

1. Garrido B, Bosch F, Rabí MC, Hernández M, Fernández L. Laser y dolor neuropático. Rev. Cub. Anest. Rean. 2003; 2 (3): 37-41
2. Garrido B, Bosch F, Rabí MC, Hernández M. Bases Neurobiológicas de la Acupuntura y la Electroacupuntura. Revista Habanera de Ciencias Médicas 2005; 10. Disponible en <http://www.ucmh.sld.cu/rhab/articulorev10/beatriz.htm>.
3. Garrido B, Bosch F, Rabí MC, Hernández M. Neuromodulación Acupuntural y Regulación Nociceptiva. Revista Habanera de Ciencias Médicas 2006;12
Disponible en: <http://www.ucmh.sld.cu/rhab/articulorev12/clindeldolor.htm>.
4. Garrido B. Neuromodulación Acupuntural del Cuerno Posterior y Dolor Patológico. Rev. Cub. Anest. Rean.2006;14(2)
Disponible en: <http://bvs.sld.cu/revistas/scar/vol4/no2/scar02205.pdf>
5. Garrido B. Síndrome Doloroso Regional Complejo. Un acercamiento entre fisiopatología y terapéutica. Rev. Soc. Esp. Dolor 2005;12(4):227-234

6. Garrido B, Bosch F, Rabí MC, Hernández M, Fernández L. Síndrome Doloroso Regional Complejo tipo I. Tratamiento mediante bloqueos simpáticos y más. Rev. Soc. Esp. Dolor 2005;12(7): 417-424
7. Garrido B, Bosch F, Garrido G, Hernández I, Delgado R. Ventajas del método de Lao para la aplicación electroacupuntural en ratas. Experiencia en Cuba. Rev. Cub. Anest. Rean.2006;15(2)
Disponible en: <http://bvs.sld.cu/revistas/scar/vol5/no2/scar05206.pdf>
8. Garrido B, Bosch F, Garrido G, Hernández I, Delgado R. Modelos animales de dolor y electroacupuntura. Rev. Soc. Esp. Dolor 2007;4:296-306
9. Temas para la Maestría en Medicina Bioenergética y Naturalista en la Atención Primaria de Salud incluidos en CD

PRINCIPALES EVENTOS EN LOS QUE SE HAN PRESENTADO TRABAJOS RELACIONADOS CON EL TEMA DE TESIS

1. Garrido B, Bosch F, Rabí MC, Hernández M, Fernández L. Laser y dolor neuropático periférico. II Jornada Provincial del Perioperatorio en el anciano con enfermedad ortopédica. XIV Forum de Ciencia y Técnica premio relevante a nivel municipal y ponencia destacada a

nivel provincial. IV Congreso Internacional de Medicina Tradicional, Natural Y Bioenergética. I Congreso Nacional de Acupuntura y Técnicas afines. Congreso Internacional de Terapia Neural según Huneke. 77 aniversario. I Simposio Internacional de Artes Marciales y Ejercicios Orientales en la Salud. Holguín 2002. VII Congreso Cubano de Reumatología año 2002. III Simposio Provincial de Anestesia Regional Calixto García 2003. Mejor Trabajo en Cartel de la sesión.

2. Garrido B. Bases Neurobiológicas de la Acupuntura y Técnicas afines en el tratamiento del dolor. Discusión para la acreditación como Miembro Numerario de la SCAR
3. Garrido B. Bases Científicas de la Acupuntura y sus técnicas afines. Encuentro Intra-hospitalario Médico-Dental México-Cuba 2003. Medicina Natural y Tradicional.
4. Garrido B. Neurobiología del Dolor y Bases Científicas de la Acupuntura y sus técnicas afines. II Congreso de la Sociedad Cubana de Medicina Bioenergética y Naturalista 2003.
5. Garrido B, Bosch F, Rabí MC, Hernández M, Laser y Herpes Zoster. Valor en la profilaxis de la NPH. XVII Forum de Ciencia y Técnica. XV Jornada Científica del Hospital y IV Jornada de Bioética 2005. (premiado en Forum a nivel de Hospital)
6. Garrido B, Bosch F, Rabí MC, Hernández M. Neuromodulación Acupuntural y Dolor Patológico. 2do Congreso Internacional de Farmacología y Terapéutica. 5to Congreso Nacional de La SCF 2004.
7. Garrido B. Neuromodulación Acupuntural y Dolor Patológico. VII Congreso Cubano de Anestesiología y Reanimación. CubAnestesia 2004 IV Curso de Técnicas Intervencionistas en el Tratamiento del Dolor. III Simposio Internacional de Dolor
8. Garrido B, Bosch F, Rabí MC, Hernández M. Convergencia de la Medicina tradicional y la Medicina Académica. Actividad Científica AMECA 2004
9. Garrido B. Introducción al dolor patológico. Taller: Universalidad del Dolor. Un acercamiento preclínico-clínico. Una terapéutica racional. SETD-SCAR en conjunto con la SCF. 2005

10. Garrido B. Mecanismos Fisiopatológicos del Dolor Neuropático. 1ra Jornada Provincial de Actualización en el Estudio y Tratamiento del Dolor en Pinar del Río.
11. Garrido B. Síndrome Doloroso Regional Complejo. Un acercamiento entre fisiopatología y terapéutica. Rev Soc Esp Dolor 2005;12(4):227-234 Garrido B, Bosch F, Rabí MC, Hernández M, Fernández L. Síndrome Doloroso Regional Complejo tipo I. Tratamiento mediante bloqueos simpáticos y más. Rev Soc Esp Dolor 2005;12 (7): 417-424 Concurso XXXI premio Anual de la Salud Instancia Dirección Municipal de Salud-Facultad de Ciencias Médicas 10 de Octubre. Premiados a nivel municipal
12. Garrido B, Bosch F, Garrido G, Hernández I, Delgado R. Efecto antihiperalgésico de la electroacupuntura combinada con ketamina en un modelo inflamatorio inducido por carragenina en ratas. XI Congreso Cubano de Reumatología 2006
13. Garrido B, Bosch F, Garrido G, Hernández I, Delgado R. Efecto antihiperalgésico de la electroacupuntura combinada con ketamina en un modelo inflamatorio inducido por carragenina en ratas. XVIII Jornada Científica XIX Forum de Ciencia y Técnica y VI Jornada de Bioética HDCQ 10 de Octubre.
14. Garrido B, Bosch F, Garrido G, Hernández I, Márquez L, Martínez I, Merino NJ, Delgado R. Método de aplicación electroacupuntural para el estudio del efecto antihiperalgésico con el animal conciente y no restringido XIX Forum de Ciencia y Técnica del Centro de Química Farmacéutica. Ponencia Destacada a nivel de centro.
15. Garrido B, Bosch F, Márquez L, Martínez I, Hernández I, Merino NJ, Luque Y, Delgado R, Garrido G. The anti-hyperalgesic effect of electroacupuncture in the carrageenan induced-inflammatory model of pain in rats. Aprobado para Pharmacology 2007.
16. Garrido B, Bosch F, Rabí MC, Hernández M, Morales C, Guevara M, Álvarez A, Reynaldo G, Delgado R, Garrido G. Tratamiento del dolor neuropático periférico y electroacupuntura. Aprobado para el Congreso de Ensayos Clínicos 2007

17. Garrido B. Efecto antihiperalgésico de la electroacupuntura en un modelo *in vivo* de dolor inducido por carragenina. Tema de Tesis para optar por el grado de Master en Medicina Bioenergética y Naturalista en la Atención Primaria de la Salud

ABREVIATURAS UTILIZADAS

CDE: Cuerno dorsal espinal

NO: Óxido nítrico

NMDA: N-metil-D-aspartato

TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa

ME: Médula espinal

DN: Dolor neuropático

IASP: Asociación Internacional para Estudio del Dolor

SN: Sistema nervioso

DNP: Dolor neuropático periférico

SDRC: Síndrome doloroso regional complejo

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

NPH: Neuralgia postherpética

AINE: Analgésico antiinflamatorio no esteroideo

GMPc: Guanosina monofosfato cíclico

AMPc: Adenosina monofosfato cíclico

ADT: Antidepresivo tricíclico

FAE: Fármaco antiepiléptico

CCI: Daño por constricción crónica

CA: Carragenina

CFA: Adyuvante completo de Freund

FCN: Factor de crecimiento nervioso

SP: Sustancia P

IL-1 β : Interleucina 1beta

IL-6: Interleucina 6

IL-8: Interleucina 8

IL-10: Interleucina 10

NOS: Óxido nítrico sintasa

nNOS: Óxido nítrico sintasa neuronal

eNOS: Óxido nítrico sintasa epitelial

iNOS: Óxido nítrico sintasa inducible

SNC: Sistema nervioso central

SDN: Síndromes de dolor neuropático

TRPV1: Receptor potencial transitorio vainilloide subtipo 1

SNS/SNS2: Canales de sodio específicos de neuronas sensoriales

FNDC: Factor neurotrófico derivado del cerebro

K⁺: Ión potasio

H⁺: Ión hidrógeno

ATP: Adenosín trifosfato

BK: Bradicinina

5-HT: Serotonina

LTs: Leucotrienos

NA: Noradrenalina

PRGC: Péptido relacionado al gen de la calcitonina

COX-2: Ciclooxygenasa 2

COX-1: Ciclooxygenasa 1

PLA2: Fosfolipasa A2

IFN γ : Interferon gamma

TNF α -R1: Receptor 1 para TNF α

TNF α -R2: Receptor 2 para TNF α

NF- κ B: Factor de transcripción nuclear kappa B

PGs: Prostaglandinas

PGE₂: Prostaglandina E₂

PGD₂: Prostaglandina D₂

PGF_{2a}: Prostaglandina F_{2a}

LPS: Lipopolisacáridos

AP-1: Factor activador de proteína 1

AMPA: Amino-3hidroxi-5metil-4isoxazol-propiónico

KA: Kainato

LTP: Potenciación a largo plazo

LTD: Depresión a largo plazo

SOM: Somatostatina

CCK 8: Colecistocinina 8

TRH: Factor liberador de tirotrópina

PIV: Polipéptido intestinal vasoactivo

APP: Polipéptido aviario pancreático

GABA: Ácido gamma amino butírico

mGluRs: Receptores metabotrópicos de glutamato

NK1: Neurocinas 1

NK2: Neurocinina 2

CO: Monóxido de carbono

SSRIs: Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina

PK C: Proteína cinasa C

PK A: Proteína cinasa A

GCc: Guanilato ciclasa

L-NAME: Metiléster L-N⁶ nitroarginina

NARD: Neurona de amplio rango dinámico

iGluRs: Receptores inotrópicos de glutamato

DAG: 1,2 diacil glicerol

IP3: Inositol 1,4,5 trifosfato

TrkB: Tirosina cinasa B

TrkA: Tirosina cinasa A

MAPK: Proteínas cinasas activadas por mitógenos

ERK: Cinasas reguladas por señales extracelulares

NY: Neuropeptido Y

GRD: Ganglio de la raíz dorsal

DSM: Dolor simpácticamente mantenido

TLR-4: Toll-like 4

GLT-1 y GLAST: Transportadores de alta afinidad de glutamato

CXCR1: Receptor de fractalcina

i.c.v.: Vía intracerebroventricular

ip.: Vía intraperitoneal

ipl.: Vía intraplantar

EV: Vía endovenosa

i.t.: Vía intratecal

LCR: Líquido cefalorraquídeo

EA: Electroacupuntura

SGP: Sustancia gris periacueductal

E36: Punto estómago 36

PC6: Punto pericardio 6

VB30: Punto vesícula biliar 30

SOD: Superóxido dismutasa

EVA: Escala análoga visual

PDMD: Puntuaciones diarias medias de dolor

HDCQ: Hospital docente clínico quirúrgico

CENPALAB: Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio

SD: Sprague Dawley

PWL: Latencia de retirada de la pata

HEPES: Acido 4-(2-hidroximetil)-1-piperazin-etanosulfónico

NO₂⁻: Nitritos

NO₃⁻ : Nitratos

ANOVA: Análisis de varianza

e.e.m.: Error estándar de la media

NRM: Núcleo del rafe magno

OFQ: Sistema nociceptin/orfanin

TENS: Neuroestimulación Eléctrica Transcutánea

GDNF: Factor neurotrófico derivado de células gliales

GFRα1: Receptor del factor neurotrófico derivado de células gliales

EMA: Agencia Europea del Medicamento

HZ: Herpes zoster

DAZ: Dolor asociado a zoster

RMN: Resonancia magnética nuclear

TFT: Prueba de retirada de la cola

LEPs: Potenciales evocados por estimulación laser

LC: Locus ceruleus

SC: Núcleo subceruleus

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

ENK: Enkefalina

VPL: Núcleo ventroposterolateral del tálamo

SIA: Analgesia inducida por estrés

L-NAME: L-N⁶ monometilarginina

AG: Aminogamidina

MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Consentimiento de participación en el estudio: “Evaluación del efecto de la Electroacupuntura y su combinación con ketamina en pacientes portadores de Neuralgia Post-herpética forma nociceptor irritable.”

Información al paciente:

Con la presentación de esta información y el apartado de declaraciones y firmas, se le solicita su participación como sujeto de investigación en este estudio. Usted tiene el derecho de conocer todo lo relacionado con la investigación, de modo que pueda decidir si acepta o no participar en el estudio.

Es preciso que comprenda que ocurrirá si Ud. firma este modelo accediendo a participar en la investigación. La información puede contener palabras que Ud. no entienda. Por favor, pídale al médico (investigador responsable) que le explique y aclare todas sus interrogantes, pues ésa es su responsabilidad.

A quien llamar en caso de responsabilidad.

Dr. _____, investigador responsable.

Dirección y teléfonos:

Dr. _____, investigador responsable.

Dirección y teléfonos:

Propósito y concepción general del estudio.

Este estudio constituye una investigación que pretende explorar la seguridad y el efecto terapéutico de la Electroacupuntura y su combinación con ketamina en el tratamiento de la neuralgia postherpética (NPH), como una patología modelo de dolor neuropático. Para su realización se conformarán tres grupos de tratamiento que recibirán EA en número de

15 sesiones diarias, EA asociada a ketamina a bajas dosis por vía IM dos veces por semana durante 3 semanas y ketamina de forma similar.

Características de la NPH

La NPH, uno de los dolores neuropáticos más frecuentes y de difícil tratamiento, la complicación más temida del herpes zoster, de curso crónico. Además, los fármacos utilizados en su tratamiento se asocian a efectos indeseables en el sistema nervioso central, la función hepática y cardiovascular. Es importante el tratamiento analgésico temprano y en este caso con una técnica poco invasiva con actividad moduladora del sistema nervioso, que permitiría asociar bajas dosis de fármacos y evitar estos efectos. Pudiera ser una opción más para mejorar la calidad de vida, pues el dolor crónico se memoriza y tiene repercusión en la neurobiología del individuo.

Características de la terapia en estudio

La EA es una técnica milenaria que se aplica extensamente en nuestro país, es inocua y efectiva. Aplicada por personal entrenado no causa molestias. Libera mediadores endógenos con actividad analgésica, antiinflamatoria y reguladores de la función neural, que según estudios recientes, posee actividad sobre los mecanismos fisiopatológicos que promueven la memorización del dolor y las alteraciones de su procesamiento en la NPH. La ketamina es un fármaco con actividad anestésica y analgésica con actividad específica demostrada para estas alteraciones (antialodínica). A esta baja dosis y por vía intramuscular (IM) es muy segura para su uso ambulatorio. Mediante el interrogatorio y examen físico el médico determinará si usted tiene contraindicaciones para su uso.

Asignación al azar o aleatorización.

Usted recibirá una de las tres terapias establecidas en el estudio

Tratamiento.

EA 15 sesiones diarias de 20 minutos

EA 15 sesiones diarias de 20 minutos. ketamina 0,5 mg/kg IM dos veces a las semana

Ketamina 0,5mg/kg IM dos veces a las semana

Evaluaciones.

El paciente evaluará al despertar la intensidad de la analgesia de las 24 h previas y lo anotará en un diario aplicando una escala numérica de Likert 0- no dolor a 10 dolor máximo insoportable la semana antes de la consulta de seguimiento. Este se realizará hasta los 3 meses de iniciada la terapéutica

Beneficios esperados.

Se espera el efecto antihiperalgésico de estas terapias. Una vez que culmine la investigación, la información obtenida podrá ser usada para la generalización de estas terapias y para mejorar la evolución clínica y la calidad de vida de los pacientes.

Posibles riesgos.

Hasta el momento, la literatura no ha reportado la manifestación de eventos adversos para la EA. El paciente debe venir a recibir el tratamiento desayunado, pues el proceder tiene efecto hipoglucemiante. La ketamina a esta dosis por vía IM no produce pérdida de la conciencia ni fenómenos de agitación. Las contraindicaciones serán observadas por el especialista. En caso de presentarse algún evento adverso, los especialistas actuarán de acuerdo a su naturaleza e intensidad (la decisión puede incluir la interrupción del tratamiento) y se tomarán las medidas necesarias para la disminución y eliminación de los mismos. Cualquier manifestación de algún evento adverso, Ud. deberá informárselo al especialista cuanto antes.

Participación voluntaria e informada.

Su aprobación de participación en el estudio es totalmente voluntaria y no representa compromiso alguno con el médico, pues Ud. puede aceptar o no participar en el mismo con garantías de recibir la atención médica adecuada que necesite, en caso de dar su aprobación. De igual forma puede abandonarla voluntariamente cuando lo desee, sin tener que dar explicaciones y sin que repercuta en sus cuidados médicos.

Ud. tiene el derecho de tomarse el tiempo que estime conveniente para analizar este documento y su médico de asistencia está en el deber de aclarar cualquier inquietud que usted tenga al respecto. Además debe exigir que se le entregue una copia, que conservará y que podrá consultar con un tiempo límite de 12 horas sus familiares y allegados.

Puede consultar además, la información relacionada con el producto en estudio, de la cual existirá una copia en el archivo del investigador responsable, a quien la puede solicitar.

Su aprobación de participación en el estudio será dada cuando Ud. firme y feche el apartado de Declaraciones y Firmas, que le será entregado por el médico, del cual también debe conservar copia.

Confidencialidad de la información.

La información que resulte de esta investigación, así como lo relacionado con su identidad y datos personales se mantendrán bajo confidencialidad y en caso de que se necesite hacer referencias a éstos, se hará a través de un código de identificación que le será asignado desde el momento en que dé su aprobación por escrito. Sin embargo, al firmar este documento, Ud. autoriza a que representantes del centro productor accedan a dicha información cuando lo necesiten. También los investigadores participantes en el estudio, así como auditores del mismo tendrán acceso a la información.

La información que se derive de este estudio podrá ser utilizada en publicaciones o presentaciones en eventos científicos, refiriéndose a su persona a través de códigos, nunca a través de su nombre.

Si Ud. decide abandonar el estudio, debe aclararle al médico si no quiere que sus resultados sean empleados en la investigación. De no hacerlo, los datos obtenidos hasta ese momento serán utilizados para el estudio.

Procedimientos legales.

Previo a la inclusión de los pacientes, el estudio fue sometido al análisis por un Comité de Revisión y Ética, quien garantizará que se cumpla con los requisitos éticos, metodológicos y científicos necesarios para la realización de esta investigación con el objetivo de proteger sus derechos como paciente y como individuo autónomo.

Otros aspectos de relevancia.

- Si durante el estudio se producen descubrimientos significativos como por ejemplo la aparición de eventos adversos graves que no se conozcan hasta el momento, Ud. recibirá la información al respecto.
- En su historia clínica se recogerá que Ud. es un sujeto de investigación.

Declaraciones y Firmas de Paciente.

Yo _____

(Nombre y Apellidos del Paciente)

He leído y comprendido la Hoja de información que me ha sido entregada.

He podido hacer todas las preguntas que me preocupaban sobre el estudio.

He recibido respuestas satisfactorias a mis preguntas.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando yo lo desee.
2. Sin tener que dar explicaciones.
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

He tenido contacto con el Dr. _____,

quien

(Nombres y Apellidos del Investigador Clínico)

me explicó todos los aspectos relacionados con el ensayo clínico.

Y para expresar libremente mi conformidad de participar en el estudio firmo este Modelo.

Firma del Paciente: _____

Fecha por el Paciente: |_|_|_|_|_|_|_|_| (Día/Mes/Año)

Firma del Investigador responsable: _____

Fecha por el Investigador responsable: |_|_|_|_|_|_|_|_| (Día/Mes/Año)

Hospital: |_|_|_|_|

DIARIO DE DOLOR

Paciente: _____

INICIO _____ FIN TTO _____

Escala de Likert: 0 no dolor a 10 el peor dolor soportable

Escriba diariamente si tuvo necesidad de asociar a su tratamiento otra terapia rescate permitida para aliviar el dolor y en la medida que no le fue necesario o fue reduciendo hasta su eliminación.

Semana 1	Semana 6	Semana 11
Día 1:-----	Día 1:-----	Día 1:-----
Día 2:-----	Día 2:-----	Día 2:-----
Día 3:-----	Día 3:-----	Día 3:-----
Día 4:-----	Día 4:-----	Día 4:-----
Día 5:-----	Día 5:-----	Día 5:-----
Día 6:-----	Día 6:-----	Día 6:-----
Día 7:-----	Día 7:-----	Día 7:-----
Semana 2	Semana 7	Semana 12
Día 1:-----	Día 1:-----	Día 1:-----
Día 2:-----	Día 2:-----	Día 2:-----
Día 3:-----	Día 3:-----	Día 3:-----
Día 4:-----	Día 4:-----	Día 4:-----
Día 5:-----	Día 5:-----	Día 5:-----
Día 6:-----	Día 6:-----	Día 6:-----
Día 7:-----	Día 7:-----	Día 7:-----
Semana 3	Semana 8	Semana 13
Día 1:-----	Día 1:-----	Día 1:-----
Día 2:-----	Día 2:-----	Día 2:-----
Día 3:-----	Día 3:-----	Día 3:-----
Día 4:-----	Día 4:-----	Día 4:-----
Día 5:-----	Día 5:-----	Día 5:-----
Día 6:-----	Día 6:-----	Día 6:-----
Día 7:-----	Día 7:-----	Día 7:-----
Semana 4	Semana 9	
Día 1:-----	Día 1:-----	
Día 2:-----	Día 2:-----	

Día 3:-----	Día 3:-----	
Día 4:-----	Día 4:-----	
Día 5:-----	Día 5:-----	
Día 6:-----	Día 6:-----	
Día 7:-----	Día 7:-----	
Semana 5	Semana 10	
Día 1:-----	Día 1:-----	
Día 2:-----	Día 2:-----	
Día 3:-----	Día 3:-----	
Día 4:-----	Día 4:-----	
Día 5:-----	Día 5:-----	
Día 6:-----	Día 6:-----	
Día 7:-----	Día 7:-----	

Semana previa a captación

L (I)							
1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 1

L (1)							
1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 2

L (2)							
1	2	3	4	5	6	7	M

--	--	--	--	--	--	--	--

Semana 3

L (3)							
1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 4

L (4)							
1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 5

L (5)							
1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 6

L (6)							
1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 7

L (7)							
1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 8

L (8)							
1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 9

L (9)							

1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 10

L (10)							
1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 11

L (11)							
1	2	3	4	5	6	7	M

Semana 12

L (12)							
1	2	3	4	5	6	7	M

EVA

