

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA**

**LABORATORIO DE NEUROFISIOLOGÍA SENSORIAL**

**ESTUDIO DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE MINOCICLINA Y DOXICICLINA EN *Rattus norvegicus***

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**LBM. Jesua Roberto Bueno Gasca**

Matrícula 219470706

DIRECTOR DE TESIS:

**DC. Enrique Soto Eguibar**

Heróica Puebla de Zaragoza, Noviembre 2023



## *Agradecimientos*

*Este trabajo ha sido posible gracias al apoyo de muchas personas; agradezco en particular:*

*A los doctores Enrique Soto y Rosario Vega por recibirme en su laboratorio y proveerme de las herramientas necesarias para llevar a cabo este proyecto.*

*A mis tíos María Elena y Steve por el apoyo financiero que me otorgaron, demostrando su voto de confianza en mi potencial y gracias a lo cual pude dedicarme a concluir esta entrega.*

*A los amigos que estuvieron conmigo a lo largo del camino.*

*Gracias*

# Índice de contenidos

<i>Agradecimientos</i> .....	1
<b>1. Introducción</b> .....	3
<b>1.1. Transducción nociceptiva</b> .....	6
<b>1.1.1. Canales TRP</b> .....	7
<b>1.1.2. Canales ASIC</b> .....	11
<b>1.2. Vías ascendentes</b> .....	16
<b>1.3. Modulación de respuestas nociceptivas y dolor</b> .....	24
<b>1.4. Uso de modelos animales para el estudio del dolor</b> .....	28
<b>2. Justificación</b> .....	30
<b>3. Hipótesis</b> .....	30
<b>4. Objetivos</b> .....	30
<b>4.1. Objetivo general</b> .....	30
<b>4.2. Objetivos específicos</b> .....	30
<b>5. Materiales y métodos</b> .....	31
<b>5.1. Modelo animal</b> .....	31
<b>5.2. Vía de administración</b> .....	32
<b>5.3. Observación conductual</b> .....	32
<b>5.3.1. Test térmico plantar</b> .....	32
<b>5.3.2. Prueba de Von Frey</b> .....	33
<b>5.3.3. Prueba de función motora</b> .....	33
<b>5.4. Análisis estadístico</b> .....	33
<b>6. Resultados</b> .....	34
<b>6.1. Test térmico plantar</b> .....	34
<b>6.2. Prueba de Von Frey</b> .....	34
<b>6.3. Prueba motora</b> .....	36
<b>6.4. Prueba de normalidad</b> .....	36
<b>7. Discusión</b> .....	37
<b>8. Conclusiones</b> .....	39
<b>9. Referencias</b> .....	40

## 1. Introducción

Todos los lenguajes humanos poseen términos que se refieren al concepto de dolor, mismo que está asociado con experiencias desagradables y sufrimiento. A pesar de que el dolor es una experiencia compartida por todos y que es una palabra en absoluto difícil de utilizar, resulta casi imposible crear una definición universal de dolor, no sólo porque la palabra misma existe en una amplia variedad de contextos, sino que también en cada uno de ellos su significado es subjetivo (Cohen et al., 2018). Las acepciones de dolor describen experiencias físicas o emocionales, tangibles o imaginarias que pueden durar un instante o lo que dura una vida. Para el interés de la fisiología podemos tomar la definición que la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor propuso en 2020 donde expresa al dolor como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada o similar a la asociada con daño tisular real o potencial (Raja et al., 2020). El dolor es una experiencia personal influenciada en diferentes grados por factores biológicos, psicológicos y sociales.

En principio el dolor es una respuesta adaptativa que implica cambios en la fisiología, la conducta y el aprendizaje (Sturgeon & Zautra, 2016). En la literatura científica podemos encontrar también la palabra “nocicepción” usada con frecuencia de forma indistinta con “dolor”; sin embargo, para el estudio del dolor es útil crear una distinción entre estas palabras porque se refieren a procesos distintos que, hay quienes sugieren, pueden ocurrir el uno sin el otro (Johnson, 2016). Mientras que el dolor es un proceso cognitivo; la nocicepción es la detección de cambios internos o externos que podrían resultar o que resultan en daño tisular, a estos cambios les llamamos estímulos nocivos y pueden ser de naturaleza térmica, mecánica o química. Con el fin de sobrevivir, todos los organismos se han adaptado para reaccionar de forma rápida y precisa a su entorno (El-Samad, 2009). El dolor nociceptivo es precisamente una fuente de conductas evitativas protectoras (Sullivan, 2008). Las fibras nerviosas especializadas y los receptores de membrana responsables de detectar dichos estímulos reciben el nombre de nociceptores. El dolor que emerge en respuesta a la activación de estos nociceptores se llama dolor nociceptivo. El dolor nociceptivo se clasifica según el tejido donde se origina: somático superficial (en la piel), somático profundo (sistema musculoesquelético) y visceral (órganos internos).

El primer paso en cualquier proceso nociceptivo es la transducción; es decir, la conversión del estímulo nocivo a una señal eléctrica. Este fenómeno ocurre en las neuronas sensoriales aferentes

primarias. Los cambios en la temperatura son detectados por proteínas de membrana que permiten el paso de cationes, estas proteínas forman la superfamilia de los canales TRP quienes además de la termorrecepción están implicados en otras modalidades sensoriales (Samanta et al., 2018). La transducción de estímulos mecánicos depende de proteínas mecanosensibles distribuidas en la membrana de la fibra nociceptora. Las proteínas implicadas en la detección de estímulos mecánicos nocivos pertenecen a las familias DEG/ENaC (DEG-1/MEC-4), TRP (*painless*) y PIEZO (Hill & Bautista, 2020). Las señales químicas nociceptivas pueden ser exógenas o resultar de inflamación o daño tisular; entre los quimiorreceptores implicados en la nocicepción destacan los TRP, ASIC, y P2X<sub>3</sub> (Khan et al., 2019).

La segunda etapa del proceso nociceptivo es la transmisión de la señal. Las neuronas aferentes primarias nociceptivas conducen la señal a la sustancia gris del asta dorsal de la médula espinal donde liberan señales químicas para las neuronas de segundo orden. Aunque la identidad de los neurotransmisores implicados en este primer relevo sináptico no ha sido definida por completo, entre los implicados hay polipéptidos como la sustancia P y somatostatina y aminoácidos como el ácido glutámico y ácido aspártico (Yang & Chang, 2019). Una porción de las neuronas de segundo orden proyecta sus axones contralateralmente y la información nociceptiva asciende por el cuadrante anterolateral de la médula espinal hacia el tálamo y la formación reticular del tallo cerebral lo que forma las vías espinotalámica y espinorreticular (D'Mello & Dickenson, 2008).

Las neuronas de tercer orden se encargan de conducir la información nociceptiva hasta la corteza cerebral; por ejemplo, el tálamo ventrocaudal que recibe señales nociceptivas directamente de neuronas espinales, proyecta a la corteza somatosensorial y el tálamo medial que recibe información desde la formación reticular del tallo cerebral, también envía señales a la corteza somatosensorial y a otras áreas del prosencéfalo (Weiss et al., 2005).

A la vía espinotalámica se le atribuye la respuesta a dolor punzante y delimitado que ocurre superficialmente, mientras que la vía espinorreticulotalámica responde a estímulos profundos somáticos y viscerales. Otra distinción que existe es que lesiones en el tracto espinotalámico (en la porción anterolateral de la médula espinal) producen deficiencias en la detección de estímulos nocivos, mismas que son similares a las producidas por lesiones en el tálamo ventrocaudal y la corteza somatosensorial mientras que lesiones al tálamo medio no afectan la sensación de

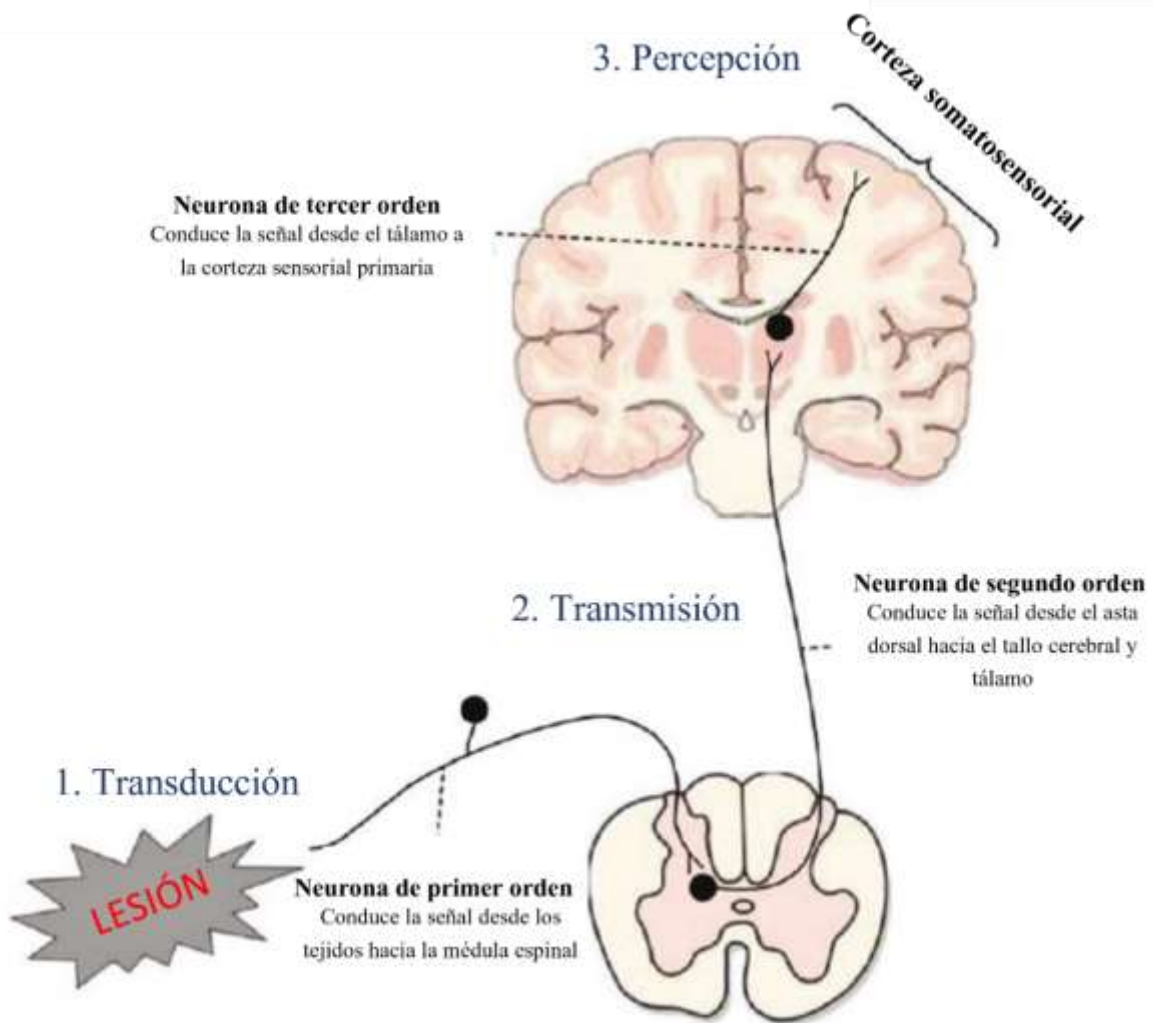
estímulos nocivos sino a los aspectos reactivos y emocionales que pueden estar totalmente ausentes (Willis & Westlund, 1997).

Es en la corteza donde ocurre la tercera etapa de la nocicepción que es la percepción del dolor. A diferencia de otras modalidades sensoriales, el dolor no posee una región cortical única delimitada a su procesamiento; sino que existe una red compleja de regiones asociadas al procesamiento del dolor. La corteza somatosensorial primaria, por ejemplo, es la responsable del aspecto discriminativo sensorial con funciones que incluyen la representación de la localización y la calidad del dolor. Por otra parte, la corteza cingulada anterior participa en el componente afectivo del dolor y en la respuesta aversiva al mismo. Las señales nociceptivas llegan a diferentes áreas corticales en un orden temporal distinto; sin embargo, el orden de estos eventos no se ha descifrado por completo, aunque entender esta relación temporal arrojaría luz a nuestro entendimiento de lo que es la experiencia dolorosa (G. Sun et al., 2023).

La cuarta etapa de la nocicepción es la modulación; es decir, la actividad descendente que puede aumentar o disminuir la sensibilidad al dolor. Estos procesos pueden ocurrir a nivel periférico, espinal o central. Es gracias a la intervención de dichos procesos de modulación que tenemos terapias y tratamientos para el manejo del dolor (Millan, 2002).

Pasada la respuesta nociceptiva inicial, la respuesta dolorosa puede continuar; a este fenómeno le llamamos dolor persistente y puede darse por mecanismos inflamatorios o neuropáticos. Este tipo de respuesta persistente puede extenderse desde algunos segundos hasta por días. Llega un punto en el cual el dolor deja de ser una respuesta adaptativa útil para la preservación o recuperación del cuerpo y se convierte en una respuesta patológica. Cuando el dolor se hace crónico suele implicar cambios a nivel central por lo que también se llama dolor nociplástico o sensibilización central (Yang & Chang, 2019).

La figura 1.1 esquematiza las distintas etapas del procesamiento de la información nociceptiva y la percepción del dolor y sus relevos sinápticos relevantes.



**Figura 1.1. Etapas de la nocicepción.** 1. Transducción de la señal en el sitio de la lesión; 2. Transmisión de la señal al sistema nervioso central; 3. Percepción del dolor en la corteza somatosensorial.

### 1.1. Transducción nociceptiva

El proceso de transducción es la transformación de señales físicas o químicas a impulsos eléctricos y la activación de vías de señalización intracelular en las fibras sensoriales. Los principales receptores implicados en la transducción de señales nociceptivas incluyen a los receptores ionotrópicos TRP, ASIC, y P2X; receptores metabotrópicos como P2Y, BK, NK y canales iónicos

dependientes de voltaje. En esta sección nos enfocaremos en las familias de TRP y ASIC por su amplia distribución y su diversidad de funciones en su participación en procesos nociceptivos.

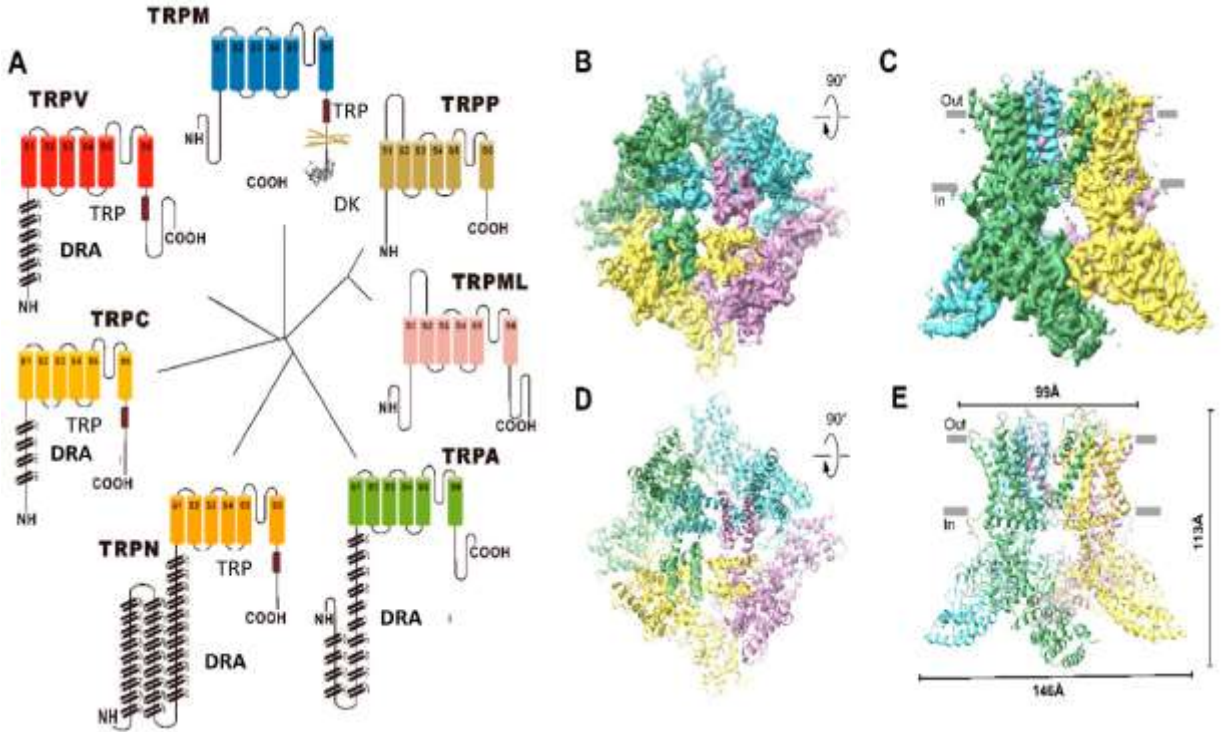
### 1.1.1. Canales TRP

Los receptores de potencial transitorio (*Transient Receptor Potential; TRP*) son proteínas que forman una familia de canales iónicos que participan en varios procesos fisiológicos que incluyen a la termorrecepción (Vay et al., 2012) y la nocicepción (González-Ramírez et al., 2017). Esta familia de canales iónicos tiene 28 miembros identificados en mamíferos que son clasificados en seis subfamilias según su homología: TRPC (*Canonical*), TRPV (*Vanilloid*), TRPM (*Melastatin*), TRPA (*Ankyrin*), TRPML (*Mucolipin*) y TRPP (*Polycystin*) (Figura 1.2). La subfamilia vainilloide ha sido ampliamente estudiada por la sensibilidad térmica de TRPV1. La familia relacionada a melastatina incluye a algunos de los pocos canales iónicos bifuncionales que poseen dominios enzimáticos funcionales. De la subfamilia anquirina, TRPA1 es el miembro más estudiado que destaca por ser un potencial blanco analgésico y por ser sensible a isotiocianatos, las moléculas que proveen a la mostaza y al wasabi de su causticidad. Los miembros de la subfamilia mucolipina se encuentran mayormente en compartimentos intracelulares y poseen un rol crítico en el metabolismo y distribución de mucolípidos tipo IV; alteraciones en TRPML1 conducen a una serie de trastornos conocidos como mucolipidosis. Los TRPP (poliquísticos) recibieron su nombre por su implicación en la enfermedad renal poliquística autosomal dominante (*Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease; ADPKD*) (Blair et al., 2023).

A pesar de la heterogeneidad de estructuras y funciones, todos los TRP comparten ciertas características estructurales. La parte protagónica de cualquier canal TRP consta de seis segmentos transmembranales (S1-S6) con el asa formadora del poro conformada por una serie de residuos hidrofóbicos entre los segmentos S5 y S6 (Himmel & Cox, 2020). Esta región permite el paso no selectivo de cationes a través de la membrana (predominantemente calcio, sodio y magnesio) (Duitama et al., 2020); excepto en los canales selectivos a sodio TRPM4 y TRPM5 y los selectivos a calcio TRPV5 y TRPV6 (Clapham, 2003). Las subunidades TRP forman tetrámeros que pueden ser homómeros o poseer distintas subunidades homólogas. Los canales heterómeros pueden resultar de distintos arreglos que les proveen de diversidad funcional. La gran diversidad de TRP



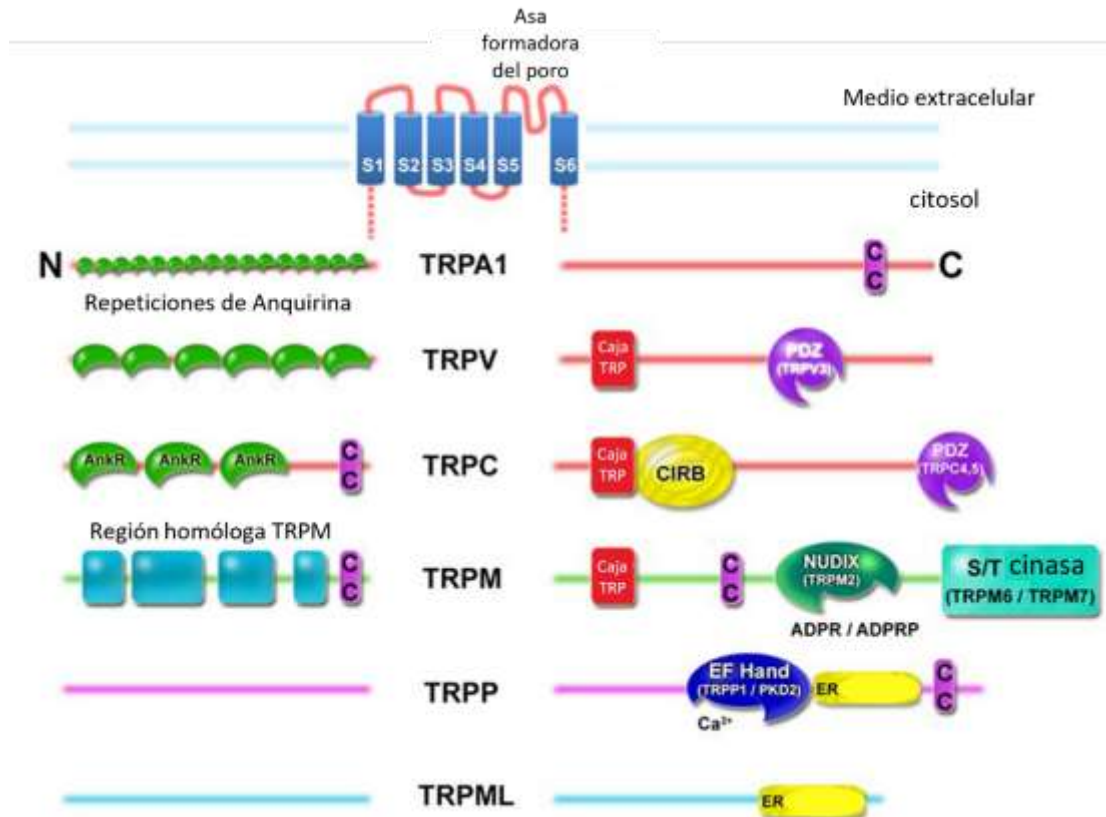
resultantes se traduce en una plétora de roles biológicos (Holzer & Izzo, 2014). Los extremos terminales citoplasmáticos contienen diferentes dominios que varían en cada subfamilia.



**Figura 1.2. Clasificación y estructura de los canales TRP.** A. Representación esquemática de la estructura secundaria de las distintas subunidades TRP con su árbol filogenético en el centro. Vista superior (B y D) y lateral (C y E) de un tetrámero TRP en su conformación cerrada. Reconstrucción tridimensional de la cristalización del canal (B y C) y modelo de listones (D y E) *Adaptado de* (Samanta et al., 2018; Su et al., 2023)

Hay veinticinco residuos que forman algo que se llama “dominio TRP” ubicado en dirección carboxilo terminal desde S6 y que se encuentra conservado hasta cierto grado en la mayoría de los TRP excepto TRPV1 y los TRPML y TRPP. En este dominio hay un motivo de seis aminoácidos (EWKFAR) que recibe el nombre de “caja TRP” y está altamente conservado en los TRPC y en menor grado en los TRPM y TRPV. La estructura primaria de TRPA1 carece del motivo de caja TRP, pero en su conformación terciaria posee un dominio adyacente a S6 que es topológicamente similar al dominio TRP de TRPV1. Otra característica en común entre los TRPC, TRPV y TRPA son dominios repetidos de anquirina en dirección N-terminal. Las réplicas de anquirina funcionan principalmente como andamiaje para interacciones entre proteínas y puede que contribuyan a la

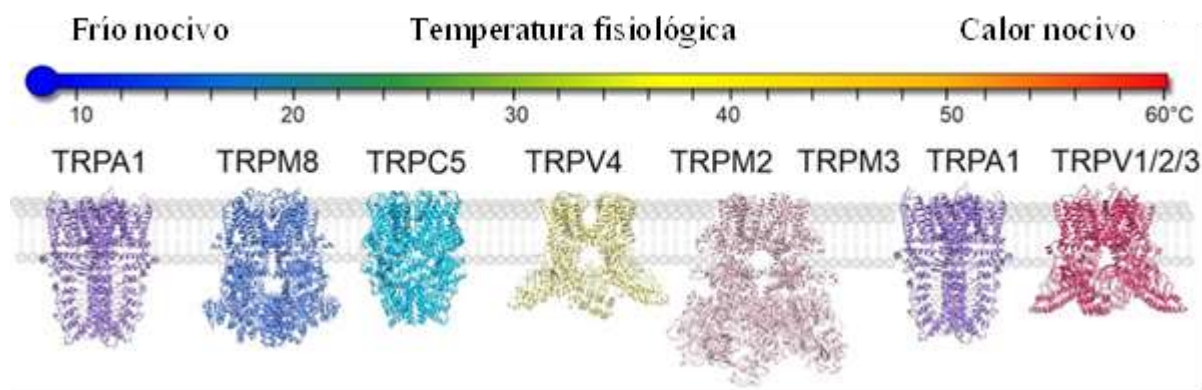
regulación y ensamblaje de canales TRP. Adicionalmente hay otros componentes estructurales como los dominios de bobina enrollada (*coiled coil*), sitios de unión a calcio y a calmodulina, dominios de unión a PDZ en el extremo C-terminal (en TRPC4/5), quinasas de serina/treonina (TRPM6/7), y un dominio Nudix hidrolasa (TRPM2) (Blair et al., 2023) (Figura 1.3).



**Figura 1.3. Topología y dominios de los canales TRP.** La parte superior de la figura ilustra la topología clásica de una subunidad TRP con seis dominios transmembrana (S1-S6) con el asa formadora de poro entre S5 y S6. Los terminales amino y carboxilo contienen elementos estructurales y funcionales indicados para cada subfamilia: **caja TRP** (EWKFAR) en TRPC; repeticiones de dominios anquirina (**AnkR**) con número variable según subfamilia; dominio *coiled-coil* (**CC**) cuya posición varía en el extremo citoplasmático; dominio serina/treonina cinasa (**S/T cinasa**) propio de TRPM6 y TRPM7; sitio de unión a calmodulina y al receptor a inositol trifosfato (**CIRB**); dominio de unión al motivo de aminoácidos PDZ (**PDZ**); dominio homólogo de NUDT9 de unión a ADP ribosa o a ADPR-2'-fosfato (**NUDIX**); dominio de unión a Ca<sup>2+</sup> en TRPP1/PKD2 (no ilustrado para TRPA1); secuencia señal de retención en el retículo endoplásmico (**ER**). *Adaptado de:* (Blair et al., 2023)

Una función que destaca en los canales TRP es la de actuar como sensores celulares que responden a estímulos físicos y químicos que los hacen sensibles a fuerzas mecánicas, a estímulos térmicos, a cambios de pH y a la presencia de un gran número moléculas (Clapham, 2003).

En el caso de la termonocicepción, son temperaturas por debajo de los 15 °C o por encima de los 45 °C las que suelen evocar una respuesta dolorosa, con variaciones discretas entre individuos. Temperaturas por debajo de los 0 °C o superiores a 50 °C pueden producir grave daño tisular (González-Ramírez et al., 2017). Los termorreceptores tienen terminaciones libres cerca de la superficie de la piel, las señales de calor se conducen por fibras tipo C mientras que tanto fibras tipo C y fibras A $\delta$  son responsables de detectar las temperaturas reportadas como frío. Algunas fibras para frío responden transitoriamente a altas temperaturas (mayores a los 45 °C) y producen algo que llamamos la respuesta paradójica al calor (Schaldemose et al., 2023). Los encargados de sensar cambios en la temperatura son canales iónicos distribuidos en las terminales libres de las neuronas sensoriales (Story, 2006). Las respuestas nociceptivas por calor son mediadas por los canales TRPV1 y TRPV2 que se activan a temperaturas de 43 °C y 52 °C respectivamente. Los canales TRPA1 transducen la señal nociceptiva por frío y se activan por debajo de los 17 °C. Los receptores TRPV1 interactúan con la capsaicina, la molécula responsable de la sensación picante, Esta interacción desplaza la curva de activación a temperaturas fisiológicas y es la responsable de la sensación de calor o dolor que suelen acompañar esta experiencia (M. Zhang et al., 2023). La figura 1.4 muestra las subfamilias TRP que participan en la detección de temperatura.



**Figura 1.4. Umbrales de temperatura para la activación de canales TRP termosensibles de mamífero (TRPM8, TRPC5, TRPA1, TRPM2-5, TRPV1-4).** Receptores TRP ordenados por su sensibilidad térmica de menor a mayor: TRPA1, TRPM8, TRPC5, TRPV4, TRPM2-3 (TRPM2 representado), TRPA1, TRPV1-3 (TRPV3 representado). Nótese que temperaturas por debajo de 15 °C y arriba de 43 °C producen respuestas nociceptivas. *Adaptado de: (INSTITUTE OF PHYSIOLOGY CAS - TRP channel research, s/f)*

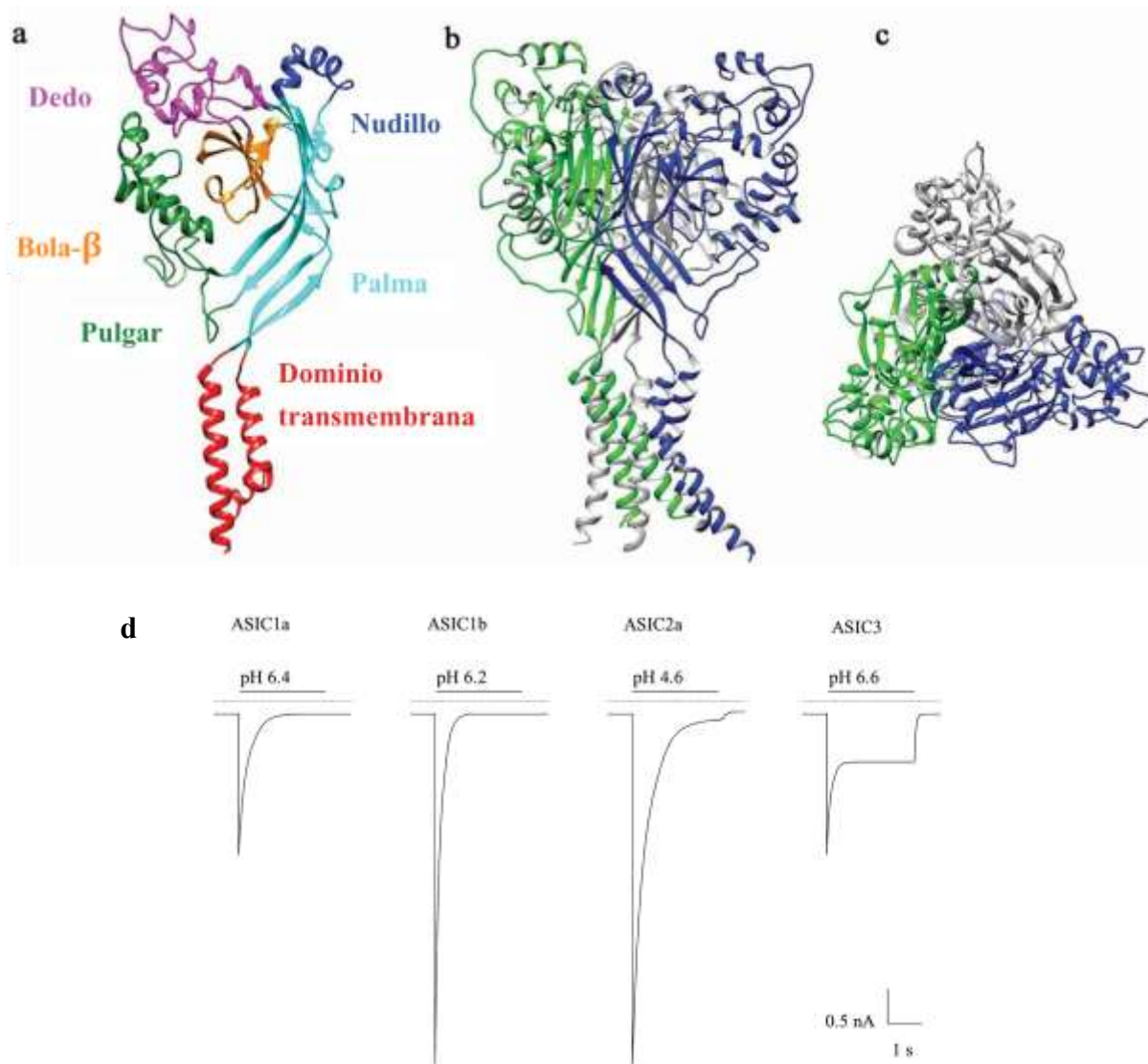
### 1.1.2. Canales ASIC

Los canales iónicos sensibles a ácido (ASIC) son canales modulares que pertenecen a la superfamilia de canales iónicos ENaC (*epithelial sodium channel*) /DEG (*degenerin*) /ASIC (*acid sensing ion channels*) cuyos miembros comparten la misma topología: dos dominios transmembranales hidrófobos, un asa extracelular rica en cisteína y terminales amino y carboxilo cortos. El poro funcional está formado por tres unidades que pueden ser réplicas de la misma subunidad (homotrómeros) o combinaciones de subunidades distintas (heterotrómeros); la composición del canal afecta sus propiedades y comportamiento (Kweon & Suh, 2013).

Existen por lo menos cinco genes que codifican para subunidades formadoras de ASIC (*ASIC1*, *ASIC2*, *ASIC3*, *ASIC4* y *ASIC5*), mismos que codifican para al menos ocho proteínas: ASIC1a, ASIC1b, ASIC1b2, ASIC2a, ASIC2b, ASIC3, ASIC4 y ASIC5 (ASIC1a, ASIC1b y ASIC1b2 son productos de splicing alternativo de *ASIC1*, mientras ASIC2a y ASIC2b resultan del splicing de *ASIC2*); no se han reportado variantes por splicing de *ASIC3*, *ASIC4* ni *ASIC5*. ASIC2b y ASIC4 no forman homómeros funcionales (que produzcan corrientes iónicas activadas por cambios de pH) sino que forman parte de heterotrómeros con otras subunidades donde modulan la expresión y propiedades del canal; todas las demás subunidades pueden encontrarse en forma homomérica (Storozhuk et al., 2021).

En su estructura terciaria, cada subunidad ASIC posee diferentes regiones nombradas con partes de la mano: la palma, el dedo, el nudillo, el pulgar y la bola beta ( $\beta$ -ball) y adicionalmente posee el dominio transmembrana. Cada tipo de subunidad aporta a la sensibilidad de pH y la cinética del canal de forma diferente. La figura 1.5 ilustra la estructura general del canal ASIC, trazos de corriente representativos de los distintos homómeros y el pH de activación para cada uno de ellos.

En el sistema nervioso central se expresan principalmente ASIC1a, ASIC2a y ASIC2b, mientras que en el sistema nervioso periférico se encuentra principalmente a ASIC1b, ASIC1b2 y ASIC3. La expresión de ASIC3 está correlacionada con su función en la detección polimodal de estímulos incluidos los nociceptivos. Aunque el ligando predilecto para ASIC es el protón, el asa extracelular que poseen es susceptible a interactuar con otras moléculas (Tikhonov et al., 2019).



**Figura 1.5. Estructura del canal y corrientes ASIC.** a. modelo de listones de una subunidad ASIC con sus dominios. b. Vista lateral del canal ASIC trimérico. c. Vista superior del canal ASIC. d. Trazos representativos de las corrientes ASIC homotriméricas. Arriba de cada trazo se observa la subunidad que conforma al canal y el pH con el que se evoca la corriente. *Adaptado de:* (Dulai et al., 2021)

Los canales ASIC participan en procesos fisiológicos y patofisiológicos dentro y fuera del sistema nervioso central. El pH extracelular en el cerebro se mantiene en valores que caen en un rango estrecho, esto ocurre gracias a la presencia de mecanismos reguladores de modo que las fluctuaciones son breves y delimitadas (Chesler, 2003). Uno de los lugares donde se han encontrado fluctuaciones de pH es la hendidura sináptica. En este espacio existe una alta densidad

de ASIC lo que apunta a que éstos cumplen alguna función relacionada a la función sináptica. La razón de la acidificación del espacio sináptico es la alta actividad neurotransmisora; cuando el impulso eléctrico llega a la terminal presináptica se liberan las vesículas que contienen neurotransmisores y que tienen un pH interno de  $\sim 5.2-5.7$  (Du et al., 2014), su alta concentración de protones se debe a la actividad de la bomba de protones vATPasa (Tabares & Betz, 2010); la función inicial de cargar las vesículas con protones es que el interior acidificado y electropositivo favorece la actividad de proteínas transportadoras de neurotransmisores que son antiportadores neurotransmisor-protón. Al ser excitadas estas vesículas llenas de protones, el contenido liberado acidifica al líquido extracelular en el espacio sináptico y activa receptores sensibles a pH localizados en la membrana postsináptica. La activación de los canales ASIC permite una corriente catiónica selectiva a  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  lo que despolariza la membrana y facilita la generación de potenciales de acción.

Los canales ASIC también están acoplados a vías de señalización intracelular por medio de señales de calcio y por la interacción de sus subunidades con el andamiaje proteico citosólico que incluye a PSD-95 (*Postsynaptic density protein 95*) y PICK1 (*Protein interacting with C-Kinase 1*) (Zha, 2013).

La presencia de ASIC en la sinapsis también está vinculada con la plasticidad sináptica (Kweon & Suh, 2013); plasticidad sináptica se refiere a la capacidad de la sinápsis de modificar su fuerza en respuesta a la experiencia. Las corrientes ASIC1a están implicadas en dos formas importantes de plasticidad sináptica: la potenciación a largo plazo y depresión a largo plazo. La evidencia para esto radica en la localización de ASIC1a y ASIC2a en áreas sinápticas excitatorias; la alta expresión de ASIC2a en dendritas, espinas dendríticas y sinaptosomas y en las limitaciones en potenciación a largo plazo y procesos de memoria espacial en modelos animales que carecen el gen ASIC1 (Mango & Nisticò, 2020).

La expresión de ASIC1a en la amígdala y el hipocampo es particularmente alta (J. Wu et al., 2016) y ratones transgénicos que no expresan ASIC1, presentan problemas relacionados a conductas evitativas basadas en miedo por limitaciones en la adquisición y retención del miedo condicionado (Chiang et al., 2015). En el otro extremo, ratones con sobre expresión de ASIC1 muestran mayor respuesta al condicionamiento del miedo (Wemmie et al., 2004). Parte del proceso de adquisición

del miedo depende de la potenciación a largo plazo en las sinapsis amigdalinas y este proceso es dependiente de ASIC. Cabe mencionar que aún es controvertido qué tanto depende la potenciación a largo plazo de la actividad ASIC, ya que ha habido inconsistencia en la reproducibilidad de limitaciones en potenciación a largo plazo en ratones *knock out* ASIC1a; por ejemplo, algunos experimentos señalan que ASIC1a no es necesario para la potenciación a largo plazo en el hipocampo (P.-Y. Wu et al., 2013).

En este momento es difícil delimitar hasta qué punto contribuyen los ASIC a la potenciación a largo plazo, pero otra posible participación posible de los ASIC es una interacción con receptores NMDA que facilita su actividad, misma que es importante en la inducción de potenciación a largo plazo; todo esto sugiere un rol importante para los ASIC1a en la plasticidad sináptica hipocampal.

Los canales ASIC también participan en la fisiopatología de la isquemia cerebral. En la actualidad consideramos que la sobrecarga de calcio es la principal responsable del daño celular tras un evento isquémico; sin embargo, los mecanismos específicos por los cuales se da tal desplazamiento de calcio no están del todo claros. La excitotoxicidad o toxicidad por glutamato es un mecanismo molecular mencionado con frecuencia como el responsable de dispersar el daño ante un evento vascular cerebral, en el cual la activación de receptores a este neurotransmisor permite o facilita el paso de calcio al citosol (Shen et al., 2022). Esto convirtió a la transmisión glutamatérgica en un blanco farmacológico interesante; no obstante, ensayos clínicos que han usado antagonistas al glutamato como neuroprotectores contra la isquemia cerebral han fracasado (Hoyte et al., 2004; Ikonomidou & Turski, 2002). Esto sugiere la existencia de mecanismos adicionales para la toxicidad por calcio en este tipo de acontecimiento. Durante el insulto isquémico, la interrupción del suministro de oxígeno incrementa la actividad del metabolismo anaeróbico y como consecuencia tiene la acumulación de ácido láctico en el espacio extracelular. Es posible que la acidificación del área cercana a la lesión implique la activación de ASIC1a quien también tiene la capacidad de causar un incremento en el calcio libre intracelular hasta niveles que conducen a la muerte celular (Simon & Xiong, 2006). Este razonamiento condujo al descubrimiento de que el bloqueo farmacológico de ASIC atenúa el daño isquémico post-infarto con una ventana terapéutica de hasta cinco horas desde la presentación del evento isquémico (Pignataro et al., 2007; Xiong et al., 2004).

Las convulsiones son otro fenómeno de la actividad cerebral que involucra cambios en el pH; la excitación neuronal intensa durante un episodio de este tipo induce a acidosis, misma que tiene la facultad de terminar con la actividad convulsiva. Estudios genéticos demostraron que interrumpir la expresión de ASIC1a empeora la actividad convulsiva mientras que su sobreexpresión tiene el efecto contrario. Los ASIC1a activados por acidosis estimulan la actividad de interneuronas inhibitorias que contribuyen al cese de la convulsión; lo que sugiere que activadores ASIC podrían ser utilizados para tratar desórdenes convulsivos (Cheng et al., 2021).

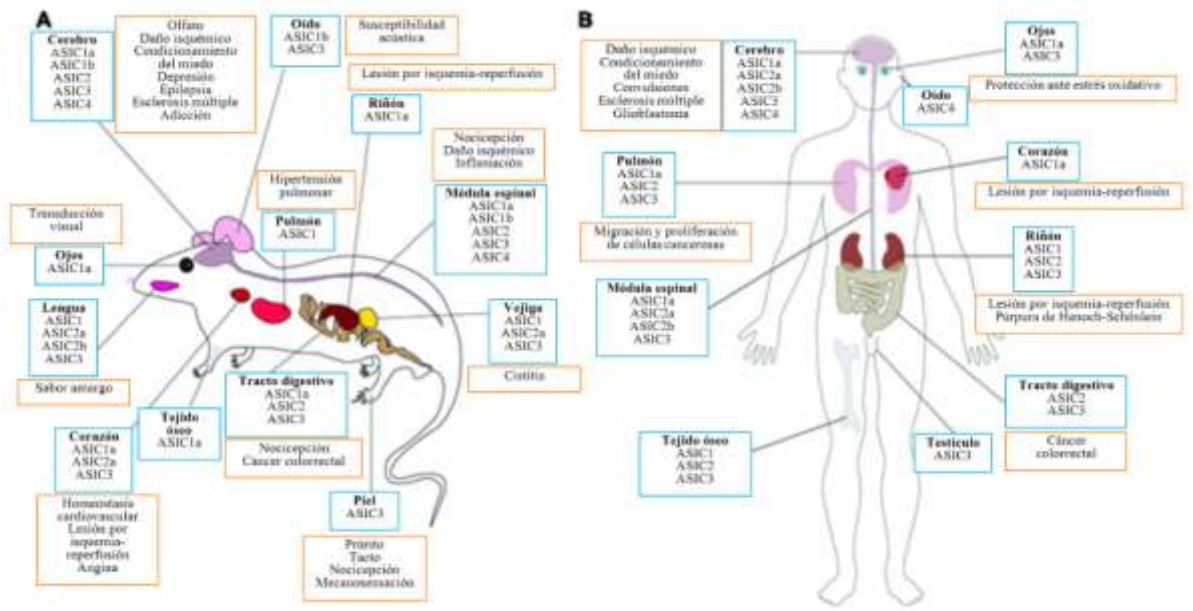
La acidosis causada por la inflamación de tejido nervioso en la esclerosis múltiple aporta a la degeneración axonal por la acumulación de calcio intracelular mediada por ASIC1a. El uso de amilorida, un antagonista inespecífico de ASIC, ha demostrado tener una actividad neuroprotectora contra la degeneración en sujetos con esclerosis múltiple (Fazia et al., 2019).

Los ASIC también participan en la sensación somática mecánica y nociceptiva. Los miembros de la familia Deg/ENaC son reconocidos mecanorreceptores en invertebrados. MEC-4 es el canal de Na<sup>+</sup> mecanosensible en *C. elegans*. A partir de esto se encontró que genes relacionados codifican para proteínas que responden a cambios en el pH extracelular y que podrían estar implicadas en la mecanotransducción en mamíferos: los ASIC. Después de ello la evidencia ha sido controvertida pues los experimentos no siempre han sido reproducibles; por ejemplo, algunos grupos encontraron que altas concentraciones de amilorida o benzamil (bloqueadores no selectivos de ASIC) inhibían la actividad mecanorreceptora de neuronas sensoriales aisladas pero otros grupos no pudieron confirmar estos hallazgos. A pesar de estos inconvenientes, se ha ido acumulando evidencia que señala a la participación de ASIC en los procesos de mecanotransducción (Carattino & Montalbetti, 2020; Omerbašić et al., 2015).

La participación de ASIC en la nocicepción está asociada a la abundante expresión de subunidades ASIC en las neuronas sensoriales nociceptivas. Entre ellas, ASIC3 es el principal sensor de pH implicado en procesos dolorosos. La distribución de ASIC3 destaca en fibras nociceptivas que inervan fibras musculares esqueléticas y cardíacas, articulaciones y tejido óseo (Dulai et al., 2021). En estos tejidos el metabolismo anaeróbico inducido por actividad física extenuante o lesión tisular conduce a la acumulación de ácido láctico y protones y la activación de nociceptores. Otro efecto que tienen la inflamación y el daño de tejidos es el aumento en los niveles de expresión de ASIC1a,



ASIC2b y ASIC3 en neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (Gu & Lee, 2010). La activación de ASIC es potenciada por mediadores inflamatorios como bradiquinina, ácido araquidónico y óxido nítrico (Deval et al., 2008). Se han encontrado corrientes con las características de corrientes ASIC3 en neuronas sensoriales cutáneas de rata activadas por la acidificación del tejido. Además, el dolor inducido por acidosis puede ser eliminado por la administración de APETx2, un bloqueador específico de ASIC3 (Andreev et al., 2018); efectos similares se han observado en sujetos *knockdown* de ASIC3 por ARN de interferencia (Chen et al., 2002). La figura 1.6 incluye la expresión de ASIC en otros sistemas tanto en la rata como en el humano.



**Figura 1.6. Distribución de ASIC.** Las cajas azules enumeran las subunidades expresadas en los diferentes órganos y tejidos de la rata (A) y el humano (B); las cajas naranjas, las funciones o condiciones en las que éstas participan. *Adaptado de:* (Foster et al., 2021)

## 1.2. Vías ascendentes

Como antes mencionamos, las aferentes nerviosas especializadas en la detección de estímulos nocivos se llaman nociceptores que son las terminaciones libres de fibras nerviosas tipo Aδ y C

(Reddi et al., 2013). Estas fibras pueden ser activadas por estímulos de distintas naturalezas físicas o químicas; algunas de ellas son específicas para un tipo específico de señal mientras que otras son sensibles a varios tipos y les llamamos fibras polimodales. La membrana citoplasmática de estas células posee un potencial eléctrico cercano a los  $-70\text{mV}$  que se mantiene así por el transporte activo de iones de sodio y potasio por la bomba sodio-potasio ATP-asa (Neto, 2023). Los receptores de membrana específicos a cada tipo de estímulo que describimos antes permiten el paso de iones que constituye una señal eléctrica; si esta actividad tiene la amplitud suficiente, desplazará el potencial de membrana hasta valores que activan a canales dependientes de voltaje y se produce un potencial de acción que se propaga a lo largo del axón de la fibra nerviosa. De no alcanzarse este valor umbral, la respuesta se limita a un cambio localizado de corta duración. En este nivel, existe un proceso que se llama sensibilización primaria que consiste en facilitar la activación de las fibras nociceptoras reduciendo su umbral de activación; es decir, disminuir la estimulación requerida para causar que un potencial de acción se dispare (Gangadharan & Kuner, 2013).

Las fibras nerviosas que captan la información sensorial son clasificadas en tres grupos:  $A\beta$ ,  $A\delta$  y C. A diferencia de las fibras  $A\delta$  y C, las fibras  $A\beta$  se encargan de conducir información sobre estímulos inocuos. Cada una de estas fibras posee características que les permite relevar distintos tipos de información sensorial. Las fibras  $A\beta$  poseen un gran diámetro (5-12  $\mu\text{m}$ ) y son altamente mielinizadas por lo que tienen una rápida capacidad de conducción (30-70 m/seg). Tienen umbrales de activación bajos con relación a los de fibras  $A\delta$  y C lo que les permite responder al tacto ligero. Las fibras  $A\delta$  poseen un grosor intermedio (2-5  $\mu\text{m}$ ) y sus vainas de mielina son más delgadas que las de las fibras  $A\beta$  por lo cual su velocidad de conducción es menor (12-30 m/s) (Agarwal et al., 2019). Estas fibras responden a estímulos térmicos y mecánicos y son responsables de la respuesta reflejo inicial en el dolor agudo; su actividad está asociada con sensaciones de dolor punzante y rápido que es bien localizado y de corta duración. Por último, las fibras tipo C son las que poseen menor diámetro de todas (0.4-1.2  $\mu\text{m}$ ) y no presentan mielinización; en consecuencia, son las fibras de conducción más lenta (0.5-2.3 m/seg). Estas fibras son polimodales. Su activación conduce a percepciones dolorosas descritas como dolor lento que quema; la experiencia dolorosa inducida por la activación de estas fibras suele ser difícil de localizar y de duración prolongada (Reddi et al., 2013). La tabla 3.1 compara las características de las distintas fibras sensoriales aquí mencionadas.

Características de las fibras	Mielinizadas		No mielinizadas
Tipo de fibra	A $\beta$	A $\delta$	C
Diámetro (um)	5-12	2-5	0.4-1.2
Velocidad de conducción (m/seg)	35-90	5-40	0.5-2
Modalidad sensorial	Tacto; presión	Dolor, Frío, tacto	Temperatura nociva, presión mecánica intensa, nocicepción química

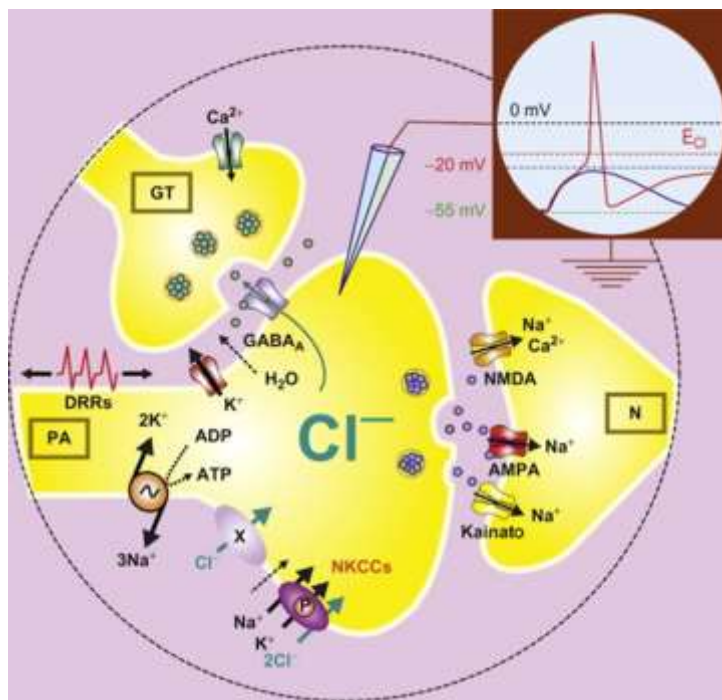
**Tabla 1.1. Clasificación y características de las fibras sensoriales.**

La señal nociceptiva viaja desde la periferia a lo largo de las fibras nerviosas tipo A $\delta$  y C al asta dorsal de la médula espinal donde es relevada a la aferente de segundo orden (Fenton et al., 2015). Las aferentes primarias comunican la información nociceptiva por medio de diversos neurotransmisores y neuropéptidos entre los cuales destacan el glutamato y la sustancia P (Reddi et al., 2013).

Es frecuente que se conciba al proceso nociceptivo como algo lineal y directo donde la señal se origina en la periferia y viaja hasta el sistema nervioso central a donde llega y es procesada sin cambio alguno. Sin embargo, incluso a nivel periférico, la detección nociceptiva es susceptible a modificaciones. Las fibras nociceptivas primarias son altamente complejas y poseen en sus extremos distales una plétora de receptores tales que permiten señalización autócrina o parácrina; de modo que la fibra nociceptora hace las veces de centro integrador de la información sensorial (Carlton, 2014). Se ha encontrado que en las aferentes nociceptivas primarias se expresan un gran número de ligandos y de receptores lo que permite que estas fibras interactúen con su microambiente modificándolo y siendo influenciadas por él. Esto quiere decir que la información nociceptiva es susceptible de ser procesada incluso antes del primer relevo sináptico (Gold & Gebhart, 2010).

Sumando a la complejidad de las fibras nociceptivas existe un mecanismo que permite que señales sean conducidas de forma antidrómica hacia las terminaciones periféricas donde inducirán la

liberación de señales químicas (Carlton, 2014). Fibras tipo C secretan péptido relacionado al gen de la calcitonina (CGRP) y sustancia P que son mediadores proinflamatorios neurogénicos que favorecen la vasodilatación y extravasación plasmática (Agarwal et al., 2019; Li et al., 2012). Este fenómeno de conducción antidrómica ha sido nombrado reflejo de la raíz dorsal (*DDR*; *dorsal root reflex*) y es detonado por la liberación de GABA por interneuronas en la médula espinal. Los receptores GABA<sub>A</sub> en la membrana presináptica de las aferentes primarias permiten la salida de iones cloro lo que resulta en la despolarización de la membrana (Sorkin et al., 2018). La razón por la que GABA produce aquí una respuesta excitatoria en contraste con la respuesta inhibitoria que evoca en el resto del sistema nervioso central, radica en la presencia de intercambiadores cloro-sodio-potasio (NKCC) expresados en la terminal presináptica que hacen que la concentración del ion cloro sea mayor en la parte citosólica de esta región (Hamann et al., 2010; Spitzer, 2010); la figura 1.7 ilustra el mecanismo que detona el reflejo de la raíz dorsal.



**Figura 1.7. Maquinaria molecular responsable del reflejo de la raíz dorsal (DRR).**

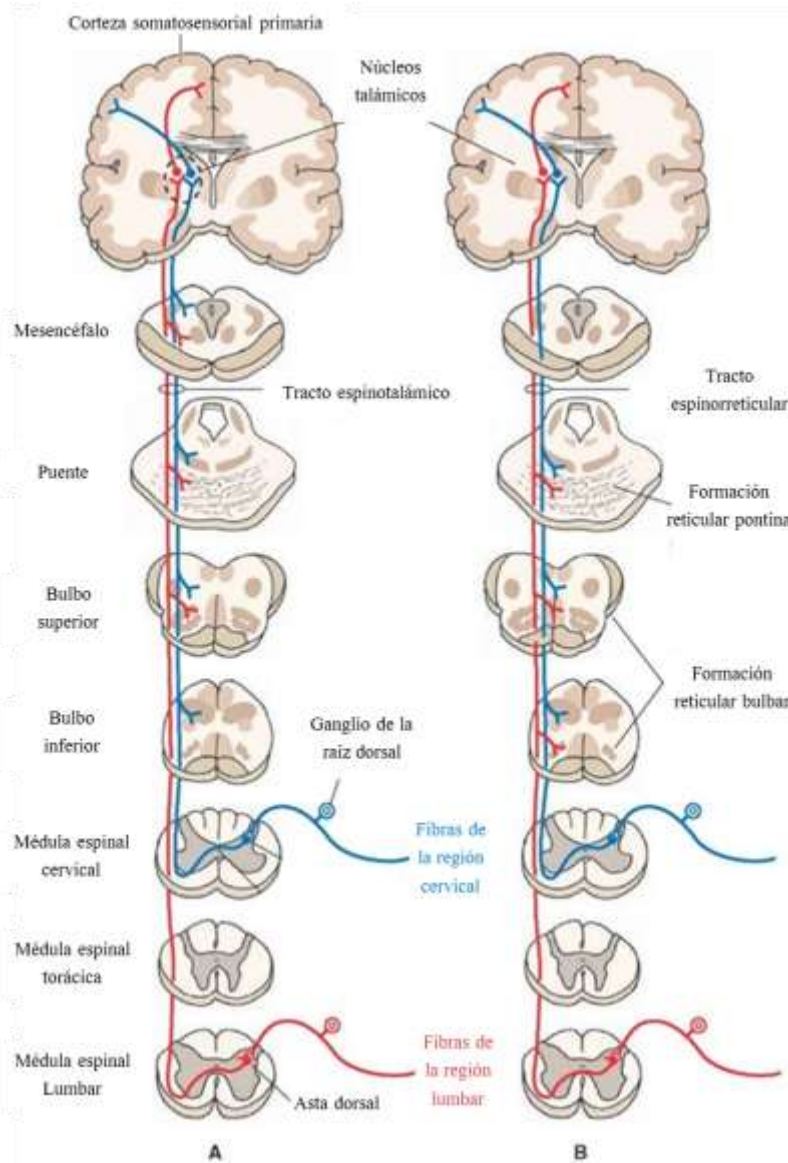
La actividad del intercambiador NKCC y de un posible mecanismo de transporte activo de cloro aún no identificado (X) son responsables de aumentar la  $[Cl^-]$  en la terminal presináptica nociceptiva (PA) desplazando la  $E_{Cl}$  hacia valores despolarizantes de modo que la liberación de GABA por interneuronas (GT) en el asta dorsal produce potenciales de acción en la terminal aferente que viaja de forma antidrómica hacia la periferia constituyendo el reflejo de la raíz dorsal y ortodrómicamente detonando la liberación de neurotransmisores hacia la aferente de segundo orden (N). *Adaptado de:* (Hamann et al., 2010)

El asta de la raíz dorsal de la médula espinal es un sitio complejo de modulación de la comunicación nociceptiva que es el resultado de la interacción entre aferentes primarias, interneuronas y vías descendentes. El balance de la transmisión excitatoria y la modulación inhibitoria determina la activación de las aferentes de segundo orden y la conducción de la señal nociceptiva .

Los tractos que conducen señales nociceptivas se agrupan en el cuadrante anterolateral de la médula espinal y el sistema de la columna dorsal; aquellos que cursan el cuadrante anterolateral llegan al sistema reticular del tallo cerebral y al tálamo y el sistema de la columna dorsal llega a los núcleos de la columna dorsal en el bulbo raquídeo (Weiss et al., 2005). El sistema anterolateral tiene la particularidad de ser el principal contribuyente de aferencias nociceptivas al sistema límbico como las cortezas prefrontal, insular y anterior del cíngulo. El sistema límbico es responsable de respuestas autonómicas y afectivas al dolor e integra la información proveniente de varios sistemas colaterales que incluyen a los tractos espinoamigdalares, espinoreticular y espinotalámico. El sistema postsináptico de la columna dorsal, por otra parte, es responsable de relevar información nociceptiva visceral adicionalmente a su función más canónica de acarrear información táctil y propioceptiva (Grubb & Pasvankas, 2019).

Los somas neuronales que originan el sistema anterolateral se encuentran en el asta dorsal de la médula espinal, en la lámina I, en las capas externas de la lámina II y en las láminas IV y V (Ganapathy et al., 2023). En este sistema se encuentran los axones que conducen al tálamo y que forman el tracto espinotalámico. Este tracto se organiza en dos secciones, una ventral y una dorsal. El tracto espinotalámico humano está conformado por fibras mielinizadas de un diámetro  $< 10 \mu\text{m}$  y con una velocidad de conducción de 40 m/seg (Reddi et al., 2013). Los axones y sus colaterales que ascienden por la porción ventrolateral terminan en núcleos distribuidos en el bulbo, el mesencéfalo y el diencéfalo que incluyen en orden ascendente a la formación reticular (vía espinoreticular), la sustancia gris periacueductal del mesencéfalo (tracto espino mesencefálico), el núcleo parabraquial (tracto espino parabraquial) y el hipotálamo (tracto espinohipotalámico) (Grubb & Pasvankas, 2019). (La figura 1.8 esquematiza los tractos espinotalámico y espinoreticular). La observación clínica de cordotomía anterolateral demuestra que las fibras ascienden dos niveles antes de decusar y que presentan una organización somatotópica donde las fibras sacrales forman una banda a nivel del ligamento dentado y los niveles más rostrales se organizan ventralmente de forma progresiva. Mapeo de esta somatotopía indica que el rostro está representado medialmente por fibras provenientes del núcleo del trigémino y las estructuras más caudales se representan sucesivamente de forma más lateral (Weiss et al., 2005). Adicionalmente, la cordotomía anterolateral total resulta en anestesia total a partir de un nivel por debajo de la cordotomía. Anestesia parcial fue observada en forma de alteraciones en la respuesta al dolor y en los umbrales térmicos; misma que es asociada a lesiones en uno o dos segmentos por debajo de la

cordotomía. La zona de anestesia parcial indica que no todas las fibras han decusado en la comisura anterior de modo que algunas permanecieron ilesas en el otro lado de la médula espinal (Broggi et al., 2012). Las fibras de la comisura anterior decusan de forma transversal y no diagonal; entonces los niveles de pérdida total o parcial se deben en parte al hecho que las raíces dorsales ascienden o descienden un nivel antes de ingresar a la médula (Weiss et al., 2005).



**Figura 1.8. Vías nociceptivas ascendentes.**

Representación esquemática de las vías espinotalámica y espinoreticular con sus respectivas proyecciones en el tallo cerebral. Adaptado de: (*The Spinal Cord (Organization of the Central Nervous System) Part 3, s/f*).

En 1986, Nathan y colaboradores (Nathan et al., 1986) compilaron casos de pacientes con lesiones de las columnas anterolaterales acompañadas o no de lesiones a las columnas dorsales y

observaron que pacientes con lesiones de las columnas dorsales conservan el tacto fino y la sensación de presión con discriminación deficiente. Lesiones a las columnas posteriores producen deficiencias ligeras en la sensación táctil, lesiones en el tracto espinotalámico no limitan la sensación táctil y lesiones en ambas estructuras causan la pérdida total de sensibilidad a tacto y presión. Lesiones de las columnas dorsales que no afecten al tracto espinotalámico resultan en un aumento en la sensación dolorosa, al cosquilleo, al calor y al frío, lo que señala que la transmisión nociceptiva y de la temperatura en el tracto espinotalámico es inhibida por la columna dorsal. Varios estudios adicionales demuestran que todos los pacientes con dolor central presentan anomalías psicofísicas en las sensaciones de dolor y temperatura mediadas por el tracto espinotalámico (Beric et al., 1988; Boivie et al., 1989; Vestergaard et al., 1995).

La presencia de neuronas nociceptivas y no nociceptivas ha sido demostrada en varios modelos animales en los tractos espinoreticular, espinomesencefálico, espinohipotálamico, espinobraquial y espinotalámico (Weiss et al., 2005). Las células no nociceptivas de este grupo son neuronas de bajo umbral que suman menos del diez por ciento de las neuronas del asta dorsal. Las neuronas nociceptivas de estos tractos existen en dos tipos celulares: neuronas específicamente nociceptivas y neuronas de amplio rango dinámico, estas últimas son las más abundantes y conforman cerca del setenta por ciento de la población del asta dorsal (Grubb & Pasvankas, 2019). Las neuronas de rango dinámico amplio se concentran mayormente en las láminas más profundas (IV y V) donde reciben aferencias de neuronas nociceptivas y de bajo umbral por lo cual responden tanto a estímulos nocivos como a estímulos inocuos (J. Zhang et al., 2013). La actividad de las neuronas de amplio rango dinámico es graduada de modo que los estímulos nocivos propician una mayor respuesta que estímulos no nocivos, esta propiedad puede estar implicada en la discriminación de estimulación dañina de la inocua. En contraste, bajo condiciones fisiológicas, las neuronas nociceptivas responden solo a estímulos nocivos y su frecuencia de descarga aumenta linealmente conforme aumenta la intensidad del estímulo (Bushnell & Duncan, 1987). La mayoría de las neuronas específicamente nociceptivas se encuentran en las láminas superficiales del asta dorsal (I y II).

El sistema de la médula espinal dorsal incluye aferentes primarias cuyos axones ascienden en las columnas posteriores de la médula espinal para formar su primera sinapsis en los núcleos de la columna dorsal (*cuneatus* y *gracilis*) y aferentes secundarias que se originan en la sustancia gris

de la médula espinal que reciben el nombre de proyecciones postsinápticas de la columna dorsal (Westlund, 2007). Las fibras aferentes están organizadas de modo que proyecciones de las extremidades inferiores se encuentran en la porción más medial del núcleo *gracilis* y aquellas provenientes de extremidades superiores se encuentran en la parte más lateral del núcleo *cuneatus*; mientras que el torso está representado en una región entre estos dos núcleos (Bican et al., 2013; Sanvictores et al., 2023). Las fibras de este grupo están dispuestas de forma que aquellas que provienen de las regiones más distales del cuerpo ocupan la porción dorsal de la médula espinal mientras que las originadas en regiones más proximales ocupan la porción ventral. Los axones de las aferentes de segundo orden en los núcleos de la columna dorsal cruzan la línea media y se agrupan en el lemnisco medio contralateral en el tallo cerebral para ascender a través del tallo cerebral hacia su terminación en el núcleo ventral posterior lateral del tálamo (Prats-Galino et al., 2012).

Las neuronas que conforman el sistema de la columna dorsal responden en su mayoría solo a estímulos inocuos. La información acarreada por estas vías proviene de receptores foliculares, corpúsculos de Pacini y receptores de adaptación lenta tipo I y II. Por otra parte, el núcleo *cuneatus* participa en las respuestas sensoriales musculares que provienen de los husos musculares y órganos tendinosos de Golgi (Al-Chalabi et al., 2023). También existe evidencia que sugiere un papel de los núcleos de la columna dorsal en la transmisión nociceptiva como la recurrencia de sensibilidad al dolor y dolor referido observadas tras lesiones del cuadrante anterolateral espinal. También existen neuronas nociceptivas que han sido identificadas en la columna dorsal. Las vías postsináptica de la columna dorsal y espinocervical ascienden a los núcleos de la columna dorsal y al núcleo lateral cervical respectivamente y contienen axones de neuronas que responden a estímulos nociceptivos (Werberger & Basbaum, 2019).

Tanto el sistema anterolateral como el sistema de la columna dorsal proveen información a los centros integrativos del tallo cerebral que contribuyen a las respuestas autonómicas, afectivas, neurohormonales y moduladoras al dolor. En el tálamo, el núcleo ventral posterolateral funciona como el principal conmutador de información hacia la corteza para la localización del dolor y el núcleo medial se comunica con la corteza del cíngulo que produce respuestas afectivas y motivacionales al dolor (Mercer Lindsay et al., 2021).



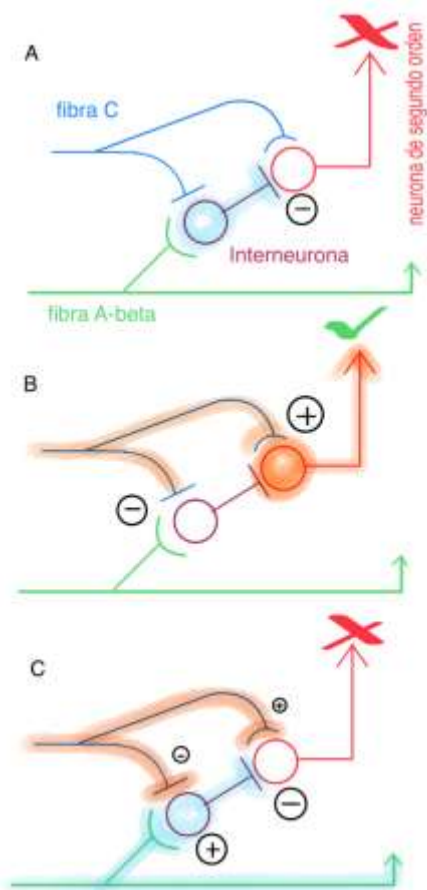
### **1.3. Modulación de respuestas nociceptivas y dolor**

Las señales nociceptivas son susceptibles a modificaciones que facilitan o limitan su transmisión. La modulación originada en niveles superiores proyecta a estructuras del tallo cerebral y al asta dorsal de la médula espinal que funcionan como centros integrativos. La modulación de la transmisión nociceptiva incluye elementos sensoriales y afectivos que resultan en la experiencia subjetiva única e individualizada del dolor (Bannister, 2019).

Uno de los mecanismos de regulación de la transmisión de las señales nociceptivas es la teoría de la compuerta de la médula espinal que describe un mecanismo que controla el paso de señales al sistema nervioso central. Si la compuerta está abierta, permitirá el paso de la señal que desencadenará la percepción del dolor. Si la compuerta se cierra, las señales nociceptivas serán detenidas a nivel espinal y no se producirá la experiencia dolorosa (Woolf, 2022).

El mecanismo de dicha compuerta se localiza en la sustancia gelatinosa del asta dorsal de la médula espinal donde ocurre el relevo entre la primera y la segunda neurona aferente. A este nivel se encuentran interneuronas inhibitorias que regulan la respuesta ante la activación de las fibras primarias. Las fibras tipo A $\delta$  y C liberan señales que excitan a la neurona secundaria; si a la par de ellas son activadas las fibras tipo A $\beta$ , que detectan estímulos táctiles no nocivos, éstas activan a las interneuronas inhibitorias y reducen la transmisión de las señales nociceptivas (Braz et al., 2014). La figura 1.9 ilustra la circuitería que permite el mecanismo de compuerta para la transmisión de la información nociceptiva.

En contraste con este mecanismo donde la modulación tiene un origen periférico, existe una serie de circuitos de modulación descendente que tienen su origen a nivel central. La sustancia gris periacueductal, el núcleo cerúleo y la región rostral ventromedial del bulbo raquídeo juegan un rol importante en las vías descendentes que inervan al asta dorsal (Ossipov et al., 2014). Tanto el tálamo como la amígdala reciben aferencias espinales y aportan a las respuestas afectivas al dolor que se manifiestan en cambios en los niveles de alerta, de ansiedad y de atención. Las proyecciones aferentes al tallo cerebral también producen respuestas del sistema nervioso autónomo que produce la respuesta simpática con cambios en la frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y tensión arterial (Burton et al., 2016).

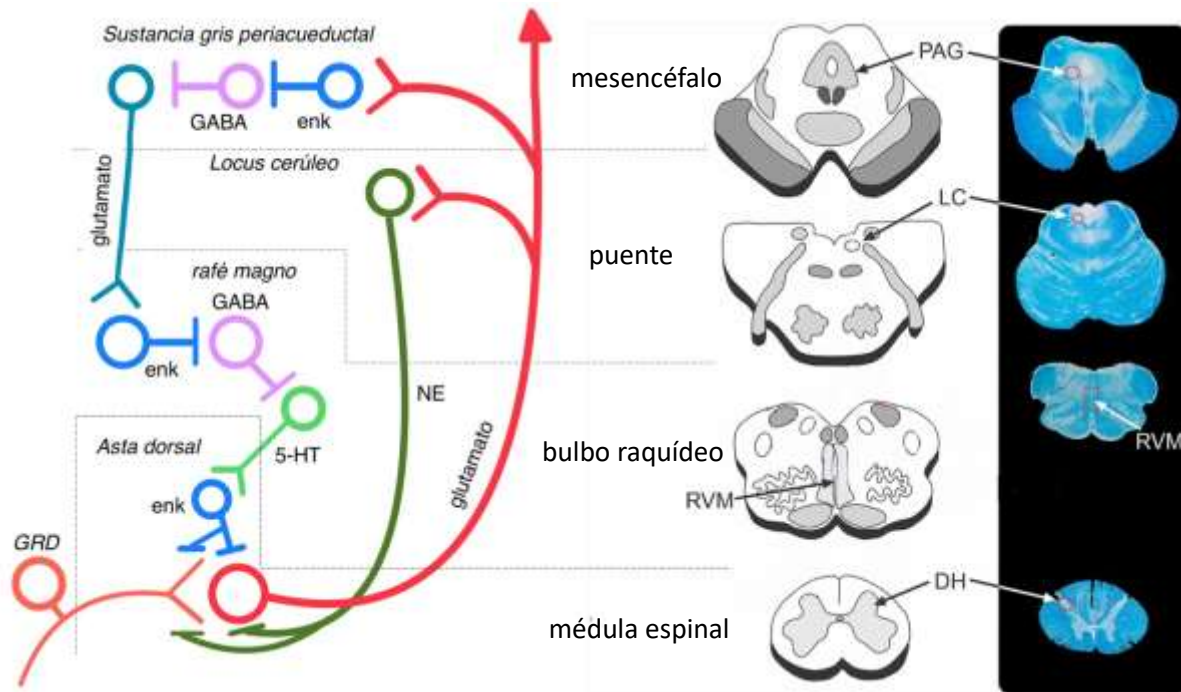


### Figura 1.9. Teoría de la compuerta.

Representación esquemática de los circuitos neuronales que regulan el flujo de impulsos nerviosos hacia centros superiores del sistema nervioso central. **A.** Condición basal con la compuerta cerrada. Las fibras nociceptivas (fibra C) y las fibras táctiles (A-beta) no están activadas. Interneuronas en el asta dorsal poseen un tono basal inhibitorio sobre las neuronas de segundo orden. **B.** La activación de las fibras nociceptivas silencia a las interneuronas inhibitorias y recluta a neuronas de segundo orden. La compuerta está abierta y la información continúa a los centros superiores. **C.** La activación simultánea de fibras táctiles (A-beta) produce un cierre de la compuerta al potenciar la actividad de las interneuronas inhibitorias.

Los sistemas de modulación descendente implican la participación de los sistemas monoaminérgico, colinérgico y opioide. El sistema opioide está constituido por tres familias de receptores (DOR, MOR y KOR) y sus ligandos opioides endógenos o exógenos (derivados del opio naturales, sintéticos o semisintéticos). Este sistema está distribuido en múltiples regiones del sistema nervioso central y participa en modulación del dolor, el sistema de recompensa, respuestas al estrés y control autónomo (Benarroch, 2012). La mayor parte de la acción analgésica por opioides es mediada por receptores MOR (Pasternak, 2005). A nivel de la médula espinal, en la sustancia gelatinosa el sistema opioide actúa por medio de varios mecanismos: inhiben directamente la aferencia de nociceptores primarios por medio de receptores MOR que inhiben a canales de calcio produciendo una disminución en la liberación de neurotransmisores excitatorios como glutamato o sustancia P; adicionalmente, en los somas o dendritas de las aferentes secundarias, la activación de receptores MOR conduce a la activación de canales de potasio que

hiperpolarizan a la membrana postsináptica y reducen así la transmisión de la señal nociceptiva. Otro mecanismo de activación de las interneuronas opioides que actúan sobre las terminales pre y postsinápticas de las aferentes nociceptivas es el aumento del tono serotoninérgico (Ozdemir, 2017).



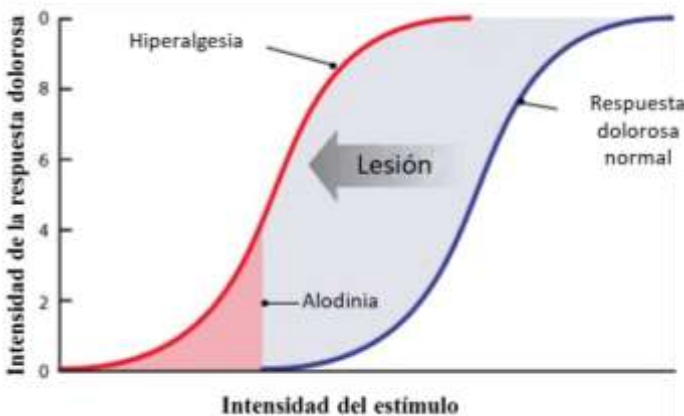
**Figura 1.10. Modulación descendente de la nocicepción.** El lado derecho de la imagen contiene cortes de las estructuras donde se encuentran los relevos sinápticos representados en el diagrama de la izquierda. En la representación en el lado izquierdo las terminaciones en **Y** son excitatorias y las terminaciones en **T** son inhibitorias; en rojo las aferentes ascendentes. *enk* = encefalina, *NE* = norepinefrina.

El sistema opioide está acoplado con transmisión gabaérgica en las vías descendentes de la siguiente manera: las aferentes espinotalámicas envían proyecciones glutamatérgicas a la sustancia gris periacueductal donde activan interneuronas opioides que silencian interneuronas gabaérgicas que normalmente inhiben a eferentes glutamatérgicas que proyectan al núcleo del raquídeo en la porción rostral ventral del bulbo raquídeo. La eferente glutamatérgica activa a otra interneurona opioide que silencia a su vez a una interneurona gabaérgica adicional (da Silva & Menescal-de-Oliveira, 2007). Este silenciamiento retira la inhibición a eferentes serotoninérgicas que proyectan a la

sustancia gelatinosa. En resumen, el sistema opioide produce analgesia inhibiendo las vías ascendentes y desactivando la inhibición de las vías descendentes.

Adicionalmente, las aferentes espinales envían proyecciones glutamatérgicas al *locus cerúleo* en el puente donde activan a eferentes noradrenérgicas que ejercen su actividad sobre receptores  $\alpha_2$  en las terminales primarias presinápticas y postsinápticas secundarias (Llorca-Torrallba et al., 2016). La figura 1.10 resume esquemáticamente los mecanismos de modulación descendente de la nocicepción.

Inversamente, existen procesos que facilitan la actividad nociceptiva y que llamamos sensibilización. Estos procesos pueden ocurrir a nivel periférico y en distintos puntos del sistema nervioso central. La función fisiológica de estas respuestas es adaptativa; en la fase aguda tras el evento lesivo, la sensibilización produce, por medio del dolor, conductas protectoras de los tejidos dañados que idealmente permiten su recuperación. Cuando estos fenómenos pierden su función adaptativa se vuelven patológicos y se observan en cuadros de dolor que se clasifican clínicamente como dolor crónico, dolor nociplástico o síndromes de sensibilización central (Fitzcharles et al., 2021).



**Figura 1.11. Alodinia e hiperálgia.**

La curva azul representa la respuesta normal a estímulos dolorosos a partir de cierta intensidad. Después de una lesión la curva se desplaza hacia la izquierda (en rojo) y ahora la respuesta a estímulos normalmente nocivos es de mayor intensidad (hiperalgesia) y estímulos que antes no producían una respuesta dolorosa ahora lo hacen (alodinia; área roja bajo la curva.) *Adaptado de:* (Viana, 2018)

La sensibilización da como resultado alodinia e hiperálgia; la alodinia es la respuesta dolorosa a estímulos usualmente inocuos mientras que la hiperálgia es una respuesta intensificada a estímulos nociceptivos. En otras palabras, la alodinia es la respuesta nociceptiva a estímulos que en condiciones normales no producen dolor (por ejemplo, el tacto ligero), la hiperálgia es una

amplificación de la respuesta en comparación a la respuesta normal a un estímulo nocivo (Jensen & Finnerup, 2014). La figura 1.11 ilustra la diferencia entre alodinia e hiperalgesia.

Los mecanismos de sensibilización periférica implican la participación del sistema nervioso, endócrino e inmune. Los procesos propios de la inflamación producen cambios en la actividad de las fibras sensitivas junto con modificaciones de la arquitectura del tejido afectado. La sensibilización periférica incluye cambios en los extremos distales de las aferentes nociceptivas que pueden incluir modificaciones en la cinética de los canales iónicos y receptores que faciliten su activación o prolonguen el tiempo que permanecen activados y un aumento en la expresión de los mismos (Rocha et al., 2007).

A nivel central, en el asta dorsal la sensibilización implica un aumento de canales de calcio en la membrana aferente presináptica, lo que aumenta la tasa de liberación de neurotransmisor. Además, existen cambios en la membrana postsináptica que también facilitan la generación de potenciales de acción, incluido un aumento en la expresión de receptores a glutamato y un decremento en la producción de GABA y glicina. Existen varios cambios plásticos que pueden facilitar la cronificación de la activación nociceptiva como la alodinia producida por el contacto de fibras A $\beta$  con aferentes nociceptivas secundarias (Harte et al., 2018).

La sensibilización central en resumen implica un aumento en la excitabilidad de las aferentes nociceptoras, la disminución, o inclusive la pérdida, del tono inhibitorio descendente y cambios plásticos que implican la reorganización estructural.

#### **1.4. Uso de modelos animales para el estudio del dolor**

El uso de animales de laboratorio nos ha permitido descubrir muchos aspectos sobre la fisiología y la patología del dolor. La disección de animales permitió estudiar las estructuras anatómicas que participan en la detección de estímulos dolorosos y sus vías de transmisión. Adicionalmente, la disección permite hacer uso de técnicas para el estudio de los mecanismos celulares y moleculares implicados en procesos relacionados al dolor. Existen varios tipos de prueba que pueden realizarse *in-vivo*. En particular, las pruebas de tipo umbral son de utilidad porque aportan información cuantitativa. Estas pruebas consisten en someter al sujeto de estudio a estímulos que incrementan su intensidad de forma gradual y registrar el punto en el cual se presenta la primera respuesta (Bars et al., 2001). Se suelen usar estímulos térmicos, mecánicos y eléctricos y se toma en cuenta que su

intensidad se mantenga por debajo de la que produciría daño tisular o inflamación (Bannon & Malmberg, 2007).

Estas pruebas sensoriales pueden ser combinadas con modificaciones del animal como vivisección, edición genética, intervención farmacológica, habituación, sensibilización o inducción de inflamación en el sitio de estimulación.

Es responsabilidad del equipo de investigación minimizar el sufrimiento de los animales de laboratorio. Esto se logra mediante el perfeccionamiento de las técnicas de manipulación, el descarte de técnicas en las cuales el sufrimiento provocado en los animales no es justificado por el valor de la información que otorga (por ejemplo la prueba de contorsión que evalúa el dolor visceral por medio de la inyección intraperitoneal de un agente irritante, usualmente ácido acético o formaldehído, para evaluar analgesia), la sustitución de técnicas por alternativas más benignas que proveen información similar (como utilizar estimulación térmica focalizada en lugar de la plancha caliente), la limitación de la manipulación de cada individuo y su sometimiento en el menor número posible de pruebas, la regulación de factores ambientales que causan malestar en el modelo según su especie (niveles de ruido, intensidad luminosa, temperatura, acceso a agua y alimento, capacidad de socializar, número de individuos que comparten el mismo espacio). Siempre que exista una alternativa que exente a animales de ser utilizados como modelo experimental, ésta deberá ser preferida; algunos ejemplos comunes incluyen el uso de líneas celulares y modelos computacionales (National Research Council, 2010b).

La cuidadosa observación de los sujetos de investigación por parte de la persona examinadora es importante para garantizar la confiabilidad de los resultados. En el caso específico de la rata su comportamiento y apariencia física son indicadores de su estado de salud y mental. La primera actividad de la persona a cargo del experimento debe ser observar la condición del animal. Idealmente, la rata debe tener su pelaje limpio y bien mantenido porque estos animales son sumamente prolijos. Se deben observar las mucosas nasales y orales que deben estar libres de secreciones al igual que los ojos que deben ser brillantes y vivaces. El comportamiento normal de la rata es curioso y esto se puede notar en sus conductas exploratorias de su entorno y el movimiento constante de sus vibrisas (Wolfensohn & Lloyd, 2013).

Un aumento en los niveles de estrés de la rata se manifiesta en conductas como bruxismo, chasquido de dientes, pelaje erizado, hipo o hipercinesia, bostezo o estornudos excesivos, cambios

posturales que propician la agresión o la huida (aumento de lordosis, orejas y cola retraídas, extremidades separadas y desplazamiento lateral). Las conductas dolorosas de la rata se manifiestan en reflejos de retirada, lamido o mordisqueo de la zona afectada y vocalizaciones (Gärtner et al., 1980; Makowska & Weary, 2013).

## **2. Justificación**

El dolor y padecimientos relacionados al dolor representan una carga a la sociedad en términos de bienestar y económicos. El dolor es la causa número uno de discapacidad en el mundo y afecta a la población económicamente activa (Ferreira et al., 2023). Internacionalmente se considera que más de cuarta parte de la población cursa con algún cuadro doloroso (Covarrubias-Gómez et al., 2010). En México, el dolor ha sido reportado por el Instituto Mexicano del Seguro Social dentro de las veinte principales causas de consulta médica (*Gaceta del Senado*, s/f; Vázquez Alatorre, 2021). El dolor con frecuencia ocurre en comorbilidad con adicciones lo que complica aún más su tratamiento (Savage et al., 2008) y ha contribuido a la crisis de los opioides en Norteamérica (Bonnie et al., 2017). Lo que insta con urgencia a aumentar los esfuerzos de investigación básica y traslacional para entender los procesos relacionados al dolor y encontrar alternativas con mayor margen terapéutico.

## **3. Hipótesis**

Las tetraciclinas minociclina y doxiciclina poseen actividad antinociceptiva en la rata que no compromete su sensibilidad mecánica ni su actividad locomotora.

## **4. Objetivos**

### **4.1. Objetivo general**

Conocer el efecto de las tetraciclinas minociclina y doxiciclina sobre la nocicepción en la rata.

### **4.2. Objetivos específicos**

1. Determinar si minociclina y doxiciclina poseen actividad antinociceptiva en la rata.
2. Comparar el efecto de minociclina y doxiciclina con el de un agente conocido (Indometacina).
3. Evaluar el efecto de minociclina y doxiciclina sobre la sensibilidad mecánica y la respuesta motriz de la rata.

## **5. Materiales y métodos**

Se utilizó un diseño experimental por bloques aleatorizados. Se contemplaron cuatro condiciones; dos condiciones de prueba y controles positivo y negativo. Las condiciones de prueba fueron las tetraciclinas Minociclina y Doxiciclina (Sigma-Aldrich), el control negativo fue la solución vehículo y el control positivo fue el AINE Indometacina (Bruluart); todos los fármacos se administraron a una dosis de 50 mg/Kg. El vehículo para todos los fármacos fue agua destilada y la administración fue por vía oral por medio de la técnica de gavage a través de una sonda gástrica. El volumen máximo recomendado para la administración por vía oral equivale a 10 mL/Kg de peso de cada animal (2 mL para una rata de 200 g); para este estudio nos apegamos al volumen óptimo de ~5 mL/Kg (Turner et al., 2011). Los volúmenes administrados estuvieron en un rango de .8 mL – 1.2 mL. Las ratas se identificaron por medio de marcaje en la cola con tinta indeleble. Se asignó un número a cada uno de los tratamientos (1 control, 2 minociclina, 3 doxiciclina y 4 indometacina) y el día del experimento se utilizó una inteligencia artificial (Google o ChatGPT) para generar números aleatorios dentro de ese rango para cada uno de los sujetos y de ese modo asignar el grupo al que pertenecería cada uno. Cada día de experimento se pesaron a los sujetos, se calcularon las dosis y se disolvieron los fármacos.

### **5.1. Modelo animal**

Se utilizaron ratas Wistar con un peso entre 200 y 300 g, que equivale a cerca de diecisiete semanas de edad (Nistiar et al., 2012). Se habituaron a las condiciones del área de prueba durante 1 h el día anterior y 30 min antes el día del experimento. La manipulación de los animales comenzó a las 10:00 h y todo el manejo de ellos se realizó entre las 10:00 y 15:00 h. En el área de trabajo se colocó a cada rata en una caja de acrílico con dimensiones de 96 mm x 196 mm x 140 mm donde permaneció durante el tiempo de habituación y de prueba. El manejo de los animales se apegó a las especificaciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y las recomendaciones del Consejo Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la BUAP (CICUAL) el cual aprobó el uso de las técnicas mencionadas más abajo (Oficio VIEP/DGI/3048/2022). Un total de 34 animales fue utilizado para la realización de este estudio.

Las medidas incluidas para reducir el sufrimiento animal incluyeron: sustituir la manipulación por la cola por sostener al animal por el cuerpo, mantener una iluminación tenue en el área de prueba, monitorear la temperatura del área de trabajo, limitar los niveles de ruido, evitar productos de



limpieza con aromas fuertes y permitir que los animales socialicen entre si en el tiempo fuera del experimento (National Research Council, 2010).

## **5.2. Vía de administración**

Para la administración de fármacos por vía oral se utilizó la técnica de Gavage la cual consiste en el uso de una sonda intragástrica que puede ser de plástico flexible o metálica. En los experimentos aquí mencionados utilizamos una sonda mecánica.

El primer paso es la inmovilización del animal; para ello se colocan los dedos índice y pulgar sobre la cerviz y se le sujeta de forma gentil pero firme. Los tres dedos restantes se envuelven alrededor del torso del animal y se le levanta de la superficie de forma que no pueda impulsarse con las patas traseras.

Antes de introducir la sonda, ésta se coloca por encima de la parte ventral del animal de modo que se pueda estimar la distancia desde la punta de la nariz hasta la apófisis xifoides del esternón que es la longitud aproximada para que la apertura de la sonda se encuentre dentro del estómago. Estando inmovilizado el animal, se introduce la sonda por la comisura de la boca, se bordea el paladar, se recorre el esófago y se continúa hasta el estómago. Se administra el total del volumen y se retira la sonda.

## **5.3. Observación conductual**

### **5.3.1. Test térmico plantar**

Se aplicó un estímulo térmico focalizado en cualquiera de las patas traseras del sujeto experimental. Para esta prueba la celda de acrílico y el animal se colocan sobre una placa de vidrio; el estímulo es producido por un láser infrarrojo que se acomoda por debajo del animal de modo que el láser apunte a la pata trasera. Un área de aproximadamente 2 mm<sup>2</sup> se calienta hasta una temperatura de 50 grados Celsius. El equipo utilizado (Ugo Basile Thermal Plantar Test) detecta el momento en que la rata retira la pata, detiene el estímulo y muestra en pantalla el tiempo que transcurrió en segundos desde el inicio del estímulo hasta la respuesta de retirada; se configuró un tiempo límite de 20 s para evitar daño tisular en el caso que el animal permanezca estático. Para un muestreo adecuado un criterio de inclusión para cada medición fue la observación de alguna conducta que sugiera una respuesta dolorosa y se excluyeron las mediciones en las cuales la retirada de la pata se debiera a conductas no evitativas como la exploración o reacomodo.

### **5.3.2. Prueba de Von Frey**

Esta prueba mide la sensibilidad mecánica de los sujetos de investigación. Se utiliza para detectar alodinia o hiperalgesia. Consiste en aplicar un filamento flexible de punta roma a la planta de la pata del animal y aplicar una fuerza que aumenta gradualmente. Se utilizó un equipo automatizado (Ugo Basile Dynamic Plantar Aesthesiometer) configurado para incrementar gradualmente la fuerza hasta alcanzar los 50 g en un intervalo de 30 s. El equipo detecta automáticamente cuando el sujeto retira la pata y arroja el tiempo transcurrido y la fuerza ejercida en ese momento.

### **5.3.3. Prueba de función motora**

Para determinar si el tratamiento disminuye el tiempo de respuesta a estímulos nocivos por efectos sobre la motricidad del animal, realizamos una prueba de motricidad que consiste en colocar al sujeto sobre un rodillo rotatorio, observar sus movimientos y cuantificar el tiempo que permanecen sobre el rodillo sin caer al soporte inferior. Usamos el equipo Rota-Rod (Ugo Basile instruments) configurado a una rapidez constante de 32 rpm. Para esta serie de experimentos consideramos que el animal presentaba una motricidad normal si podía permanecer sobre el rodillo por un mínimo de 60 s a una rapidez de giro de 16 ó 32 rpm. Añadimos la observación de la naturalidad del movimiento como criterio de inclusión para un resultado positivo. También se tomó en cuenta el escenario en el cual el animal no permanezca sobre el rodillo por razones que no impliquen su habilidad motora; es decir, que el animal brinque de forma voluntaria en un intento de escape, que el animal permanezca inmóvil por una respuesta a estrés o que la conducta exploratoria del animal sean los causantes de que caiga del rodillo. Para minimizar la incidencia de sucesos de este tipo se incluyó un entrenamiento el día anterior a la prueba colocando a cada sujeto durante 1 min a 16 rpm. Se previó que, si en el día del experimento algún sujeto no permaneciera al menos 60 s en el rodillo, pero la observación no sugiriera un impedimento motor, se dejaría al animal descansar por al menos un minuto en su aislamiento y se realizaría la prueba de nuevo.

### **5.4. Análisis estadístico**

Cada punto muestral es el promedio de tres mediciones tomadas con 1 min de separación entre ellas. Se tomaron mediciones basales pasado el tiempo de habituación y mediciones de prueba después de 1 h tras la administración de los fármacos. Se utilizó la prueba T de Student para comparar cada grupo con el control y con su propia condición basal, se consideró estadísticamente

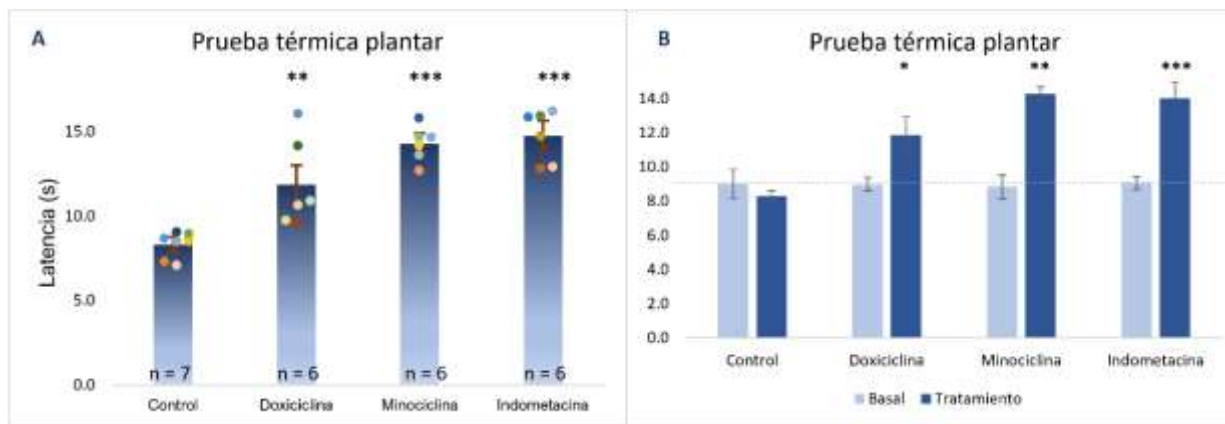
significativo a cualquier valor  $P < 0.05$ . Los datos se presentan como el promedio  $\pm$  el error estándar y como porcentajes de cambio. Para determinar la distribución de la muestra se aplicó una prueba gráfica de normalidad cuantil-cuantil.

## 6. Resultados

### 6.1. Test térmico plantar

Para esta prueba, la latencia de respuesta 1 h después del tratamiento fue de  $8.3 \pm 0.5$ ,  $11.9 \pm 1.1$ ,  $14.3 \pm 0.6$  y  $14.8 \pm 0.9$  s para los grupos de control ( $n = 7$ ), doxiciclina ( $n = 6$ ;  $P = 0.006$ ), minociclina ( $n = 6$ ;  $P < 0.001$ ) e indometacina ( $n = 6$ ;  $P < 0.001$ ) respectivamente (Valor  $P$  obtenido de la comparación con el grupo control) (Figura 6.1A).

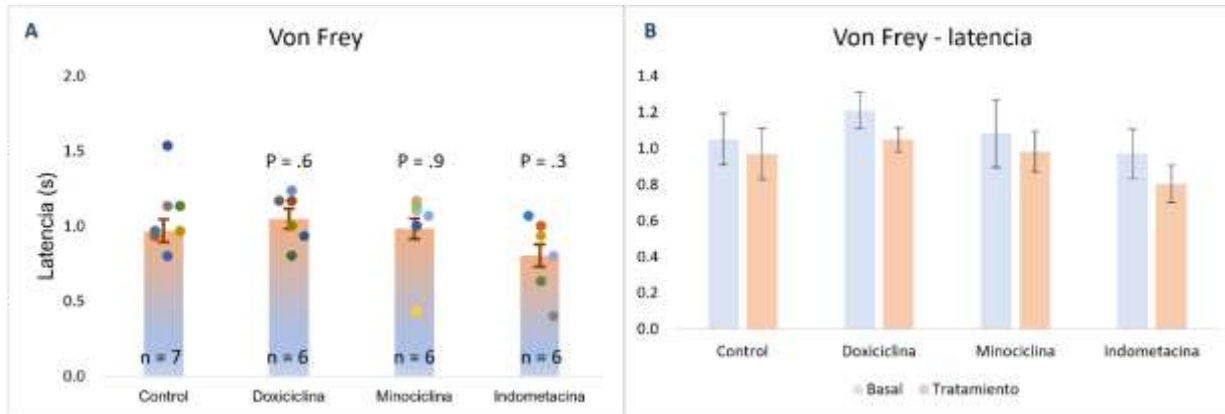
En comparación con sus condiciones basales, la latencia aumentó en un 32 % en el grupo de doxiciclina ( $n = 6$ ;  $P = 0.01$ ), 61 % en el grupo de minociclina ( $n = 6$ ;  $P = 0.001$ ) y 62 % en el grupo de indometacina ( $n = 6$ ;  $P < 0.001$ ). La latencia del grupo al que se le administró solo el vehículo disminuyó en un 7 %; sin embargo, esta diferencia no fue significativa ( $n = 8$ ;  $P = 0.3$ ) (Valor  $P$  obtenido de la comparación de cada tratamiento con su medición basal) (Figura 6.1B).



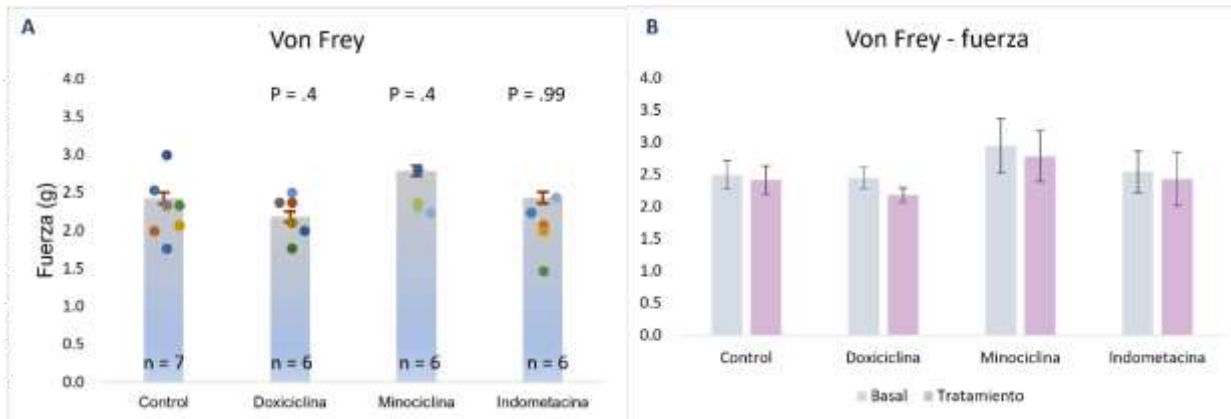
**Figura 6.1.** A) Comparación por grupos de la latencia de respuesta 1h después de la administración del tratamiento. (Doxiciclina  $P = .006$ ; Minociclina e Indometacina  $P < .001$ ) B) Comparación del tratamiento con la condición basal en cada caso (Control  $P = .3$ ; Doxiciclina  $P = .01$ ; Minociclina  $P = .001$ ; Indometacina  $P < .001$ ).

### 6.2. Prueba de Von Frey

Pasada 1 h después de la administración del tratamiento, la latencia en la prueba de Von Frey fue de  $1.1 \pm 0.1$  s en el grupo control ( $n = 7$ ),  $1.1 \pm 0.1$  s con doxiciclina ( $n = 6$ ;  $P = 0.65$ ),  $1 \pm 0.1$  s con minociclina ( $n = 6$ ;  $P = 0.95$ ) y  $0.8 \pm 0.1$  s con indometacina ( $n = 6$ ;  $P = 0.38$ ). La fuerza aplicada fue de  $2.4 \pm 0.2$  g en el grupo control ( $n = 7$ ),  $2.2 \pm 0.1$  g con doxiciclina ( $n = 6$ ;  $P = 0.4$ ),  $2.8 \pm 0.4$  g con minociclina ( $n = 6$ ;  $P = 0.4$ ) y  $2.4 \pm 0.4$  g con indometacina ( $n = 6$ ;  $P = 0.9$ ). No hay diferencia significativa entre grupos ni con las condiciones iniciales (Fig. 6.2).



**Figura 6.2.** A) Comparación entre grupos de la latencia de respuesta 1h después de la administración del tratamiento (Doxiciclina  $P = .6$ ; Minociclina  $P = .9$ ; Indometacina  $P = .3$ ). B) Cambio en relación con la condición basal para cada tratamiento (Control  $P = .6$ ; Doxiciclina  $P = .3$ ; Minociclina  $P = .5$ ; Indometacina  $P = .3$ ).



**Figura 6.3.** A) Comparación entre grupos de la fuerza necesaria para evocar una respuesta 1h después de la administración del tratamiento (Doxiciclina  $P = .4$ ; Minociclina  $P = .4$ ; Indometacina  $P = .9$ ). B) Cambio con relación a la condición basal en cada tratamiento (Control  $P = .7$ ; Doxiciclina  $P = .3$ ; Minociclina  $P = .5$ ; Indometacina  $P = .7$ ).

### 6.3. Prueba motora

Todos los sujetos fueron capaces de mantenerse sobre el rodillo por al menos 60 s a 16 y a 32 rpm.

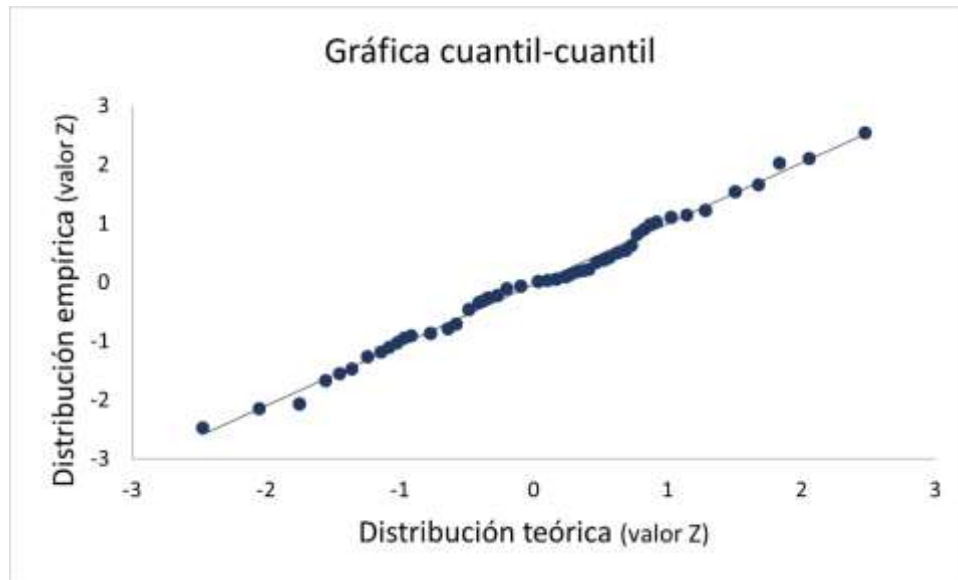
Prueba Rota-Rod								
Nº	Control		Doxiciclina		Minociclina		Indometacina	
	16 rpm	32 rpm	16 rpm	32 rpm	16 rpm	32 rpm	16 rpm	32 rpm
1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
6	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
7	✓	✓	-	-	-	-	-	-

✓ representa que el sujeto pudo permanecer por 60 s sobre el rodillo en movimiento sin demostrar afectaciones en su motricidad.

**Tabla 6.1. Resultados de la prueba motora.** Las viñetas indican si los sujetos pudieron permanecer sobre el rodillo por la duración estipulada (60 s).

### 6.4. Prueba de normalidad

La gráfica cuantil-cuantil es un método visual de determinar si una población tiene la misma distribución que otra; en este caso se utilizaron las mediciones basales de todos los grupos en la prueba térmica de donde obtuvimos sus valores  $Z$  y se graficaron contra la distribución normal teórica. El hecho de que la relación es casi lineal nos permite considerar que nuestra población se distribuye de forma normal.



**Figura 6.4. Gráfica cuantil-cuantil.** La distribución teórica de una población normal está representada en el eje de las abscisas y la distribución empírica de la muestra en el eje de las ordenadas.

## 7. Discusión

De los resultados observados podemos inferir que la administración de minociclina y doxiciclina no afecta la capacidad de respuesta motora de la rata porque los sujetos de estudio tuvieron un desempeño normal en la prueba de Rota-Rod. Adicionalmente, la administración de estos fármacos no alteró la sensibilidad mecánica evaluada por la prueba de Von Frey la cual sirve para determinar la sensibilidad mecánica periférica y puede ser utilizada para medir alodinia e hiperalgesia en dolor inflamatorio (Deuis et al., 2017). Murinos que han sido editados genéticamente para carecer de ASIC3, ASIC1A y ASIC2 presentan la misma respuesta en pruebas de Von Frey que animales *wild type* (Chen & Wong, 2013). Todo esto puede explicar que el antagonismo de minociclina y doxiciclina sobre ASIC no afecte la sensibilidad mecánica de la rata. Un posible escenario en el cual la inhibición de ASIC por tetraciclinas afectaría la conducta de retirada de la pata por estimulación mecánica en la prueba con filamentos de Von Frey sería en un modelo de dolor inflamatorio ya que la acidificación intersticial causada por la actividad inflamatoria causa sensibilización mecánica (Steen et al., 1992). Se ha demostrado que la sensibilización mecánica dependiente de protones está asociada a la actividad de ASIC3 y no de otros receptores susceptibles a pH como los TRP (Nasu et al., 2023). Los mecanismos de sensibilización mecánica están específicamente asociados a la actividad de ASIC3; se ha demostrado que animales mutantes de

ASIC3 presentan una reducción en hiperalgesia mecánica en modelos de dolor articular y muscular (Ikeuchi et al., 2008; Omerbašić et al., 2015; Sluka et al., 2003). Los AINE pueden llegar a tener un efecto exiguo sobre algunas formas de sensibilidad mecánica (Acosta et al., 2005); sin embargo, en nuestro modelo la indometacina no alteró esta función en la pata de la rata.

En la prueba de estimulación térmica nociva, observamos un aumento en la latencia de respuesta tras la administración de minociclina y doxiciclina. A pesar de que una elevación de la temperatura puede conducir a la acidificación del tejido por la liberación de moléculas proinflamatorias (Schwacha et al., 2010), la participación de ASIC de forma periférica en la respuesta a la prueba térmica usada en este estudio, dada la breve duración del estímulo térmico y su baja intensidad, es en cualquier caso marginal. La termo nocicepción es atribuida a la actividad de canales TRP; en el caso de altas temperaturas específicamente TRPA1; el efecto analgésico de la indometacina en este caso podría ser atribuido, al menos en parte, por una actividad directa sobre los TRP ya que se ha reportado que metabolitos de varios AINE inhiben corrientes TRP (De Logu et al., 2019; Tsagareli et al., 2018). De forma más contundente ha sido demostrado que algunos AINE inhiben directamente a corrientes ASIC y regulan su expresión a la baja (Voilley et al., 2001). No hay reportes de interacciones entre tetraciclinas con TRP, lo que sugiere que la actividad antinociceptiva de estas implique a los ASIC u otros mecanismos. La participación de los ASIC resulta interesante puesto que éstos se encuentran presentes a lo largo de las vías ascendentes y en los mecanismos centrales relacionados al dolor (Papalampropoulou-Tsiridou et al., 2022). El efecto analgésico de minociclina ha sido previamente descrito y se ha atribuido a la inhibición de la activación de la microglía (Han et al., 2019; J.-S. Sun et al., 2015) lo que contribuye a su efecto antinociceptivo en casos de dolor crónico (Zhou et al., 2018), dolor inflamatorio (Cho et al., 2006) y dolor neuropático (Guasti et al., 2009; Shin et al., 2021). Aunque en menor medida, existen reportes similares para la actividad antinociceptiva de doxiciclina (Bastos et al., 2012; Singh et al., 2021); además de esto, se ha encontrado que la administración de doxiciclina es efectiva para reducir los síntomas en dos terceras partes de pacientes con dolor pélvico (Ross et al., 2018) aun cuando presentan un urocultivo negativo (Burkhard et al., 2004). El hallazgo de que tanto minociclina como doxiciclina inhiben la actividad de ASIC en neuronas del ganglio de la raíz dorsal (Sánchez et al., 2018) también apoya la noción de que su efecto analgésico está mediado por ASIC.

Queda claro que minociclina y tetraciclina tienen un efecto analgésico y que este puede estar relacionado con su capacidad de inhibir corrientes ASIC; sin embargo, el alcance de la participación de ASIC en estos mecanismos todavía debe ser estudiado. Las perspectivas de investigación con este fin podrían incluir estudios conductuales adicionales que establezcan la relación dosis-respuesta para la analgesia de estas y otras tetraciclinas, la aplicación del mismo procedimiento experimental en biomodelos modificados genéticamente a la alta y a la baja para ASIC (con particular interés en ASIC3) o en modelos *wild-type* coaplicados con tetraciclinas y agonistas o antagonistas ASIC, pruebas *ex-vivo* para dilucidar el sitio de actividad de tetraciclinas que podrían incluir registros electrofisiológicos *in-vitro* de cultivos primarios de ganglios de la raíz dorsal tomados de animales *wild-type* y mutantes *ASIC3-null*.

## **8. Conclusiones**

La administración de minociclina y doxiciclina en la rata tiene un efecto antinociceptivo cuya potencia es comparable a la del AINE indometacina. Adicionalmente, la administración de estas tetraciclinas no altera la capacidad de respuesta motora del animal ni afecta la sensibilidad mecánica en la pata. Los canales ASIC son un candidato importante para explicar el mecanismo de la acción antinociceptiva de estos fármacos.



## 9. Referencias

1. Acosta, M. C., Berenguer-Ruiz, L., García-Gálvez, A., Perea-Tortosa, D., Gallar, J., & Belmonte, C. (2005). Changes in mechanical, chemical, and thermal sensitivity of the cornea after topical application of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *46*(1), 282–286. <https://doi.org/10.1167/iovs.04-0884>
2. Agarwal, R., Gaiha, R., & Walega, D. (2019). *Pharmacology of Pain Transmission and Modulation* (pp. 9–14). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-18005-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-18005-8_2)
3. Al-Chalabi, M., Reddy, V., & Alsalman, I. (2023). Neuroanatomy, Posterior Column (Dorsal Column). En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507888/>
4. Andreev, Y. A., Osmakov, D. I., Koshelev, S. G., Maleeva, E. E., Logashina, Y. A., Palikov, V. A., Palikova, Y. A., Dyachenko, I. A., & Kozlov, S. A. (2018). Analgesic Activity of Acid-Sensing Ion Channel 3 (ASIC3) Inhibitors: Sea Anemones Peptides Ugr9-1 and APETx2 versus Low Molecular Weight Compounds. *Marine Drugs*, *16*(12), 500. <https://doi.org/10.3390/md16120500>
5. Bannister, K. (2019). Descending pain modulation: Influence and impact. *Current Opinion in Physiology*, *11*, 62–66. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2019.06.004>
6. Bannon, A. W., & Malmberg, A. B. (2007). Models of Nociception: Hot-Plate, Tail-Flick, and Formalin Tests in Rodents. *Current Protocols in Neuroscience*, *41*(1), 8.9.1-8.9.16. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0809s41>
7. Bars, D. L., Gozariu, M., & Cadden, S. W. (2001). Animal Models of Nociception. *Pharmacological Reviews*, *53*(4), 597–652.
8. Bastos, L. F. S., de Oliveira, A. C. P., Watkins, L. R., Moraes, M. F. D., & Coelho, M. M. (2012). Tetracyclines and pain. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, *385*(3), 225–241. <https://doi.org/10.1007/s00210-012-0727-1>

9. Benarroch, E. E. (2012). Endogenous opioid systems: Current concepts and clinical correlations. *Neurology*, 79(8), 807–814. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182662098>
10. Beric, A., Dimitrijevic, M. R., & Lindblom, U. (1988). Central dysesthesia syndrome in spinal cord injury patients. *PAIN*, 34(2), 109. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(88\)90155-8](https://doi.org/10.1016/0304-3959(88)90155-8)
11. Bican, O., Minagar, A., & Pruitt, A. A. (2013). The Spinal Cord: A Review of Functional Neuroanatomy. *Neurologic Clinics*, 31(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2012.09.009>
12. Blair, N. T., Caceres, A. I., Carvacho, I., Chaudhuri, D., Clapham, D. E., De Clerq, K., Delling, M., Doerner, J. F., Fan, L., Grimm, C. M., Ha, K., Hu, M., Jabba, S. V., Jordt, S. E., Julius, D., Kahle, K. T., Liu, B., Liu, Q., McKemy, D., ... Zhu, M. X. (2023). Transient Receptor Potential channels (TRP) in GtoPdb v.2023.2. *IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology CITE*, 2023(2). <https://doi.org/10.2218/gtopdb/F78/2023.2>
13. Boivie, J., Leijon, G., & Johansson, I. (1989). Central post-stroke pain—A study of the mechanisms through analyses of the sensory abnormalities. *Pain*, 37(2), 173–185. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(89\)90128-0](https://doi.org/10.1016/0304-3959(89)90128-0)
14. Bonnie, R. J., Ford, M. A., & Phillips, J. K. (Eds.). (2017). *Pain Management and the Opioid Epidemic: Balancing Societal and Individual Benefits and Risks of Prescription Opioid Use*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/24781>
15. Braz, J., Solorzano, C., Wang, X., & Basbaum, A. I. (2014). Transmitting pain and itch messages: A contemporary view of the spinal cord circuits that generate gate control. *Neuron*, 82(3), 522–536. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.01.018>
16. Broggi, G., Burzaco, J., Hitchcock, E. R., Meyerson, B. A., & Toth, S. (2012). *Advances in Stereotactic and Functional Neurosurgery 8: Proceedings of the 8th Meeting of the European Society for Stereotactic and Functional Neurosurgery, Budapest 1988*. Springer Science & Business Media.

17. Burkhard, F. C., Blick, N., Hochreiter, W. W., & Studer, U. E. (2004). Urinary urgency and frequency, and chronic urethral and/or pelvic pain in females. Can doxycycline help? *The Journal of Urology*, *172*(1), 232–235. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000128698.93305.2e>
18. Burton, A. R., Fazalbhoy, A., & Macefield, V. G. (2016). Sympathetic Responses to Noxious Stimulation of Muscle and Skin. *Frontiers in Neurology*, *7*.  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2016.00109>
19. Bushnell, M. C., & Duncan, G. H. (1987). Mechanical response properties of ventroposterior medial thalamic neurons in the alert monkey. *Experimental Brain Research*, *67*(3), 603–614.  
<https://doi.org/10.1007/BF00247291>
20. Carattino, M. D., & Montalbetti, N. (2020). Acid-sensing ion channels in sensory signaling. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, *318*(3), F531–F543.  
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00546.2019>
21. Carlton, S. M. (2014). Nociceptive primary afferents: They have a mind of their own. *The Journal of Physiology*, *592*(Pt 16), 3403–3411. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.269654>
22. Chen, C.-C., & Wong, C.-W. (2013). Neurosensory mechanotransduction through acid-sensing ion channels. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *17*(3), 337–349.  
<https://doi.org/10.1111/jcmm.12025>
23. Chen, C.-C., Zimmer, A., Sun, W.-H., Hall, J., Brownstein, M. J., & Zimmer, A. (2002). A role for ASIC3 in the modulation of high-intensity pain stimuli. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *99*(13), 8992–8997. <https://doi.org/10.1073/pnas.122245999>
24. Cheng, Y., Zhang, W., Li, Y., Jiang, T., Mamat, B., Zhang, Y., Wang, F., & Meng, H. (2021). The Role of ASIC1a in Epilepsy: A Potential Therapeutic Target. *Current Neuropharmacology*, *19*(11), 1855–1864. <https://doi.org/10.2174/1570159X19666210402102232>

25. Chesler, M. (2003). Regulation and Modulation of pH in the Brain. *Physiological Reviews*, 83(4), 1183–1221. <https://doi.org/10.1152/physrev.00010.2003>
26. Chiang, P.-H., Chien, T.-C., Chen, C.-C., Yanagawa, Y., & Lien, C.-C. (2015). ASIC-dependent LTP at multiple glutamatergic synapses in amygdala network is required for fear memory. *Scientific Reports*, 5(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/srep10143>
27. Cho, I.-H., Chung, Y. M., Park, C.-K., Park, S.-H., Lee, H., Kim, D., Piao, Z. G., Choi, S.-Y., Lee, S. J., Park, K., Kim, J. S., Jung, S. J., & Oh, S. B. (2006). Systemic administration of minocycline inhibits formalin-induced inflammatory pain in rat. *Brain Research*, 1072(1), 208–214. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.12.039>
28. Clapham, D. E. (2003). TRP channels as cellular sensors. *Nature*, 426(6966), Article 6966. <https://doi.org/10.1038/nature02196>
29. Cohen, M., Quintner, J., & van Rysewyk, S. (2018). Reconsidering the International Association for the Study of Pain definition of pain. *Pain Reports*, 3(2), e634. <https://doi.org/10.1097/PR9.0000000000000634>
30. Council, N. R., Studies, D. on E. and L., Research, I. for L. A., & Animals, C. for the U. of the G. for the C. and U. of L. (2010a). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition*. National Academies Press.
31. Council, N. R., Studies, D. on E. and L., Research, I. for L. A., & Animals, C. on R. and A. of P. in L. (2010b). *Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals*. National Academies Press.
32. Covarrubias-Gómez, A., Guevara-López, U., Gutiérrez-Salmerón, C., Betancourt-Sandoval, J. A., & Córdova-Domínguez, J. A. (2010). *Epidemiología del dolor crónico en México*. 4.
33. da Silva, L. F. S., & Menescal-de-Oliveira, L. (2007). Role of opioidergic and GABAergic neurotransmission of the nucleus raphe magnus in the modulation of tonic immobility in guinea pigs. *Brain Research Bulletin*, 72(1), 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2006.12.005>

34. De Logu, F., Li Puma, S., Landini, L., Tuccinardi, T., Poli, G., Preti, D., De Siena, G., Patacchini, R., Tsagareli, M. G., Geppetti, P., & Nassini, R. (2019). The acyl-glucuronide metabolite of ibuprofen has analgesic and anti-inflammatory effects via the TRPA1 channel. *Pharmacological Research*, *142*, 127–139. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.02.019>
35. Deuis, J. R., Dvorakova, L. S., & Vetter, I. (2017). Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *10*, 284. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>
36. Deval, E., Noël, J., Lay, N., Alloui, A., Diochot, S., Friend, V., Jodar, M., Lazdunski, M., & Lingueglia, E. (2008). ASIC3, a sensor of acidic and primary inflammatory pain. *The EMBO Journal*, *27*(22), 3047–3055. <https://doi.org/10.1038/emboj.2008.213>
37. D’Mello, R., & Dickenson, A. H. (2008). Spinal cord mechanisms of pain. *British Journal of Anaesthesia*, *101*(1), 8–16. <https://doi.org/10.1093/bja/aen088>
38. Du, J., Reznikov, L. R., Price, M. P., Zha, X., Lu, Y., Moninger, T. O., Wemmie, J. A., & Welsh, M. J. (2014). Protons are a neurotransmitter that regulates synaptic plasticity in the lateral amygdala. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(24), 8961–8966. <https://doi.org/10.1073/pnas.1407018111>
39. Duitama, M., Vargas-López, V., Casas, Z., Albarracín, S. L., Sutachan, J.-J., & Torres, Y. P. (2020). TRP Channels Role in Pain Associated With Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Neuroscience*, *14*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2020.00782>
40. Dulai, J. S., Smith, E. St. J., & Rahman, T. (2021). Acid-sensing ion channel 3: An analgesic target. *Channels*, *15*(1), 94–127. <https://doi.org/10.1080/19336950.2020.1852831>
41. El-Samad, H. (2009). *Control Strategies in Times of Adversity: How Organisms Survive Stressful Conditions*. <https://doi.org/10.7551/mitpress/8194.003.0006>

42. Fazia, T., Pastorino, R., Notartomaso, S., Busceti, C., Imbriglio, T., Cannella, M., Gentilini, D., Morani, G., Ticca, A., Bitti, P., Berzuini, C., Dalmay, T., Battaglia, G., & Bernardinelli, L. (2019). Acid sensing ion channel 2: A new potential player in the pathophysiology of multiple sclerosis. *The European Journal of Neuroscience*, *49*(10), 1233–1243. <https://doi.org/10.1111/ejn.14302>
43. Fenton, B. W., Shih, E., & Zolton, J. (2015). The neurobiology of pain perception in normal and persistent pain. *Pain Management*, *5*(4), 297–317. <https://doi.org/10.2217/pmt.15.27>
44. Ferreira, M. L., De Luca, K., Haile, L. M., Steinmetz, J. D., Culbreth, G. T., Cross, M., Kopec, J. A., Ferreira, P. H., Blyth, F. M., Buchbinder, R., Hartvigsen, J., Wu, A.-M., Safiri, S., Woolf, A. D., Collins, G. S., Ong, K. L., Vollset, S. E., Smith, A. E., Cruz, J. A., ... March, L. M. (2023). Global, regional, and national burden of low back pain, 1990–2020, its attributable risk factors, and projections to 2050: A systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Rheumatology*, *5*(6), e316–e329. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(23\)00098-X](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(23)00098-X)
45. Fitzcharles, M.-A., Cohen, S. P., Clauw, D. J., Littlejohn, G., Usui, C., & Häuser, W. (2021). Nociceptive pain: Towards an understanding of prevalent pain conditions. *The Lancet*, *397*(10289), 2098–2110. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00392-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00392-5)
46. Foster, V., Rash, L., King, G., & Rank, M. (2021). Acid-Sensing Ion Channels: Expression and Function in Resident and Infiltrating Immune Cells in the Central Nervous System. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *15*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.738043>
47. *Gaceta del Senado*. (s/f). Recuperado el 8 de noviembre de 2023, de [https://www.senado.gob.mx/65/gaceta\\_del\\_senado/documento/119755](https://www.senado.gob.mx/65/gaceta_del_senado/documento/119755)
48. Ganapathy, M. K., Reddy, V., & Tadi, P. (2023). Neuroanatomy, Spinal Cord Morphology. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545206/>
49. Gangadharan, V., & Kuner, R. (2013). Pain hypersensitivity mechanisms at a glance. *Disease Models & Mechanisms*, *6*(4), 889–895. <https://doi.org/10.1242/dmm.011502>

50. Gärtner, K., Büttner, D., Döhler, K., Friedel, R., Lindena, J., & Trautschold, I. (1980). Stress response of rats to handling and experimental procedures. *Laboratory Animals*, *14*(3), 267–274. <https://doi.org/10.1258/002367780780937454>
51. Gold, M. S., & Gebhart, G. F. (2010). Nociceptor sensitization in pain pathogenesis. *Nature Medicine*, *16*(11), Article 11. <https://doi.org/10.1038/nm.2235>
52. González-Ramírez, R., Chen, Y., Liedtke, W. B., & Morales-Lázaro, S. L. (2017). TRP Channels and Pain. En T. L. R. Emir (Ed.), *Neurobiology of TRP Channels* (1a ed., pp. 125–148). CRC Press. <https://doi.org/10.4324/9781315152837-8>
53. Grubb, S., & Pasvankas, G. W. (2019). Anatomy and Physiology: Mechanisms of Nociceptive Transmission. En Y. Khelemsky, A. Malhotra, & K. Gritsenko (Eds.), *Academic Pain Medicine* (pp. 1–7). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-18005-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-18005-8_1)
54. Gu, Q., & Lee, L.-Y. (2010). Acid-Sensing Ion Channels and Pain. *Pharmaceuticals*, *3*(5), 1411–1425. <https://doi.org/10.3390/ph3051411>
55. Guasti, L., Richardson, D., Jhaveri, M., Eldeeb, K., Barrett, D., Elphick, M. R., Alexander, S. P., Kendall, D., Michael, G. J., & Chapman, V. (2009). Minocycline Treatment Inhibits Microglial Activation and Alters Spinal Levels of Endocannabinoids in a Rat Model of Neuropathic Pain. *Molecular Pain*, *5*, 35. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-5-35>
56. Hamann, S., Herrera-Perez, J. J., Zeuthen, T., & Alvarez-Leefmans, F. J. (2010). Cotransport of water by the Na<sup>+</sup>–K<sup>+</sup>–2Cl<sup>–</sup> cotransporter NKCC1 in mammalian epithelial cells. *The Journal of Physiology*, *588*(21), 4089–4101. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.194738>
57. Han, Y., Zhang, L., Wang, Q., Zhang, D., Zhao, Q., Zhang, J., Xie, L., Liu, G., & You, Z. (2019). Minocycline inhibits microglial activation and alleviates depressive-like behaviors in male adolescent mice subjected to maternal separation. *Psychoneuroendocrinology*, *107*, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2019.04.021>

58. Harte, S. E., Harris, R. E., & Clauw, D. J. (2018). The neurobiology of central sensitization. *Journal of Applied Biobehavioral Research*, 23(2), e12137. <https://doi.org/10.1111/jabr.12137>
59. Hill, R. Z., & Bautista, D. M. (2020). Getting in Touch with Mechanical Pain Mechanisms. *Trends in Neurosciences*, 43(5), 311–325. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2020.03.004>
60. Himmel, N. J., & Cox, D. N. (2020). Transient receptor potential channels: Current perspectives on evolution, structure, function and nomenclature. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1933), 20201309. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.1309>
61. Holzer, P., & Izzo, A. A. (2014). The pharmacology of TRP channels. *British Journal of Pharmacology*, 171(10), 2469–2473. <https://doi.org/10.1111/bph.12723>
62. Hoyte, L., Barber, P. A., Buchan, A. M., & Hill, M. D. (2004). The Rise and Fall of NMDA Antagonists for Ischemic Stroke. *Current Molecular Medicine*, 4(2), 131–136. <https://doi.org/10.2174/1566524043479248>
63. Ikeuchi, M., Kolker, S. J., Burnes, L. A., Walder, R. Y., & Sluka, K. A. (2008). Role of ASIC3 in the primary and secondary hyperalgesia produced by joint inflammation in mice. *Pain*, 137(3), 662–669. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2008.01.020>
64. Ikonomidou, C., & Turski, L. (2002). Why did NMDA receptor antagonists fail clinical trials for stroke and traumatic brain injury? *The Lancet Neurology*, 1(6), 383–386. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(02\)00164-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(02)00164-3)
65. *INSTITUTE OF PHYSIOLOGY CAS - TRP channel research*. (s/f). Recuperado el 30 de octubre de 2023, de <https://fgu.cas.cz/en/articles/795-trp-channel-research>
66. Jensen, T. S., & Finnerup, N. B. (2014). Allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: Clinical manifestations and mechanisms. *The Lancet Neurology*, 13(9), 924–935. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70102-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70102-4)



67. Johnson, C. (2016). Research tools for the measurement of pain and nociception. *Animals*, 6(11).  
<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20163396708>
68. Khan, A., Khan, S., & Kim, Y. S. (2019). Insight into Pain Modulation: Nociceptors Sensitization and Therapeutic Targets. *Current Drug Targets*, 20(7), 775–788.  
<https://doi.org/10.2174/1389450120666190131114244>
69. Kweon, H.-J., & Suh, B.-C. (2013). Acid-sensing ion channels (ASICs): Therapeutic targets for neurological diseases and their regulation. *BMB Reports*, 46(6), 295–304.  
<https://doi.org/10.5483/BMBRep.2013.46.6.121>
70. Li, W.-W., Guo, T.-Z., Liang, D., Sun, Y., Kingery, W. S., & Clark, J. D. (2012). Substance P Signaling Controls Mast Cell Activation, Degranulation, and Nociceptive Sensitization in a Rat Fracture Model of Complex Regional Pain Syndrome. *Anesthesiology*, 116(4), 882–895.  
<https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e31824bb303>
71. Llorca-Torralba, M., Borges, G., Neto, F., Mico, J. A., & Berrocoso, E. (2016). Noradrenergic Locus Coeruleus pathways in pain modulation. *Neuroscience*, 338, 93–113.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.05.057>
72. Makowska, I. J., & Weary, D. M. (2013). Assessing the emotions of laboratory rats. *Applied Animal Behaviour Science*, 148(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2013.07.017>
73. Mango, D., & Nisticò, R. (2020). Role of ASIC1a in Normal and Pathological Synaptic Plasticity. En S. H. F. Pedersen (Ed.), *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* (Vol. 177, pp. 83–100). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/112\\_2020\\_45](https://doi.org/10.1007/112_2020_45)
74. Mercer Lindsay, N., Chen, C., Gilam, G., Mackey, S., & Scherrer, G. (2021). Brain circuits for pain and its treatment. *Science Translational Medicine*, 13(619), eabj7360.  
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abj7360>

75. Millan, M. J. (2002). Descending control of pain. *Progress in Neurobiology*, *66*(6), 355–474.  
[https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(02\)00009-6](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(02)00009-6)
76. Nasu, T., Hori, A., Hotta, N., Kihara, C., Kubo, A., Katanosaka, K., Suzuki, M., & Mizumura, K. (2023). Vacuolar-ATPase-mediated muscle acidification caused muscular mechanical nociceptive hypersensitivity after chronic stress in rats, which involved extracellular matrix proteoglycan and ASIC3. *Scientific Reports*, *13*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39633-1>
77. Nathan, P. W., Smith, M. C., & Cook, A. W. (1986). SENSORY EFFECTS IN MAN OF LESIONS OF THE POSTERIOR COLUMNS AND OF SOME OTHER AFFERENT PATHWAYS. *Brain*, *109*(5), 1003–1041.  
<https://doi.org/10.1093/brain/109.5.1003>
78. Neto, A. P. G. D. P. (2023). *Transit of electric currents in the human nervous system: Hypothesis* [Preprint]. In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1390477/v2>
79. Nistiar, F., Racz, O., Lukacinova, A., Hubkova, B., Novakova, J., Lovasova, E., & Sedlakova, E. (2012). Age dependency on some physiological and biochemical parameters of male Wistar rats in controlled environment. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, *47*(9), 1224–1233. <https://doi.org/10.1080/10934529.2012.672071>
80. Omerbašić, D., Schuhmacher, L.-N., Bernal Sierra, Y.-A., Smith, E. St. J., & Lewin, G. R. (2015). ASICs and mammalian mechanoreceptor function. *Neuropharmacology*, *94*, 80–86.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.12.007>
81. Ossipov, M. H., Morimura, K., & Porreca, F. (2014). Descending pain modulation and chronification of pain. *Current opinion in supportive and palliative care*, *8*(2), 143–151.  
<https://doi.org/10.1097/SPC.0000000000000055>
82. Ozdemir, E. (2017). The pathophysiological role of serotonin receptor systems in opioid analgesia and tolerance. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, *6*(2), 217.  
<https://doi.org/10.18203/2319-2003.ijbcp20170312>

83. Papalampropoulou-Tsiridou, M., Shiers, S., Wang, F., Godin, A. G., Price, T. J., & De Koninck, Y. (2022). Distribution of acid-sensing ion channel subunits in human sensory neurons contrasts with that in rodents. *Brain Communications*, 4(6), fcac256.  
<https://doi.org/10.1093/braincomms/fcac256>
84. Pasternak, G. W. (2005). Molecular Biology of Opioid Analgesia. *Journal of Pain and Symptom Management*, 29(5, Supplement), 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2005.01.011>
85. Pignataro, G., Simon, R. P., & Xiong, Z.-G. (2007). Prolonged activation of ASIC1a and the time window for neuroprotection in cerebral ischaemia. *Brain*, 130(1), 151–158.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awl325>
86. Prats-Galino, A., Soria, G., Notaris, M. de, Puig, J., & Pedraza, S. (2012). Functional anatomy of subcortical circuits issuing from or integrating at the human brainstem. *Clinical Neurophysiology*, 123(1), 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2011.06.035>
87. Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F. J., Mogil, J. S., Ringkamp, M., Sluka, K. A., Song, X.-J., Stevens, B., Sullivan, M. D., Tutelman, P. R., Ushida, T., & Vader, K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: Concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 161(9), 1976–1982.  
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>
88. Reddi, D., Curran, N., & Stephens, R. (2013). An introduction to pain pathways and mechanisms. *British Journal of Hospital Medicine*, 74(Sup12), C188–C191.  
<https://doi.org/10.12968/hmed.2013.74.Sup12.C188>
89. Rocha, A. P. C., Kraychete, D. C., Lemonica, L., Carvalho, L. R. de, Barros, G. A. M. de, Garcia, J. B. dos S., & Sakata, R. K. (2007). Pain: Current aspects on peripheral and central sensitization. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 57, 94–105. <https://doi.org/10.1590/S0034-70942007000100011>

90. Ross, J., Guaschino, S., Cusini, M., & Jensen, J. (2018). 2017 European guideline for the management of pelvic inflammatory disease. *International Journal of STD & AIDS*, *29*(2), 108–114. <https://doi.org/10.1177/0956462417744099>
91. Samanta, A., Hughes, T. E. T., & Moiseenkova-Bell, V. Y. (2018). Transient Receptor Potential (TRP) Channels. En J. R. Harris & E. J. Boekema (Eds.), *Membrane Protein Complexes: Structure and Function* (pp. 141–165). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-7757-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7757-9_6)
92. Sánchez, L., Vega, R., Ortega, A., Félix, R., & Soto, E. (2018). Minocycline and Doxycycline Inhibit ASIC Currents in Dorsal Root Ganglion Neurons. *Biophysical Journal*, *114*, 490a. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.11.2685>
93. Sanvictores, T., Jozsa, F., & Tadi, P. (2023). Neuroanatomy, Autonomic Nervous System Visceral Afferent Fibers and Pain. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560843/>
94. Savage, S. R., Kirsh, K. L., & Passik, S. D. (2008). Challenges in Using Opioids to Treat Pain in Persons With Substance Use Disorders. *Addiction Science & Clinical Practice*, *4*(2), 4–25.
95. Schaldemose, E. L., Andersen, N. T., Finnerup, N. B., & Fardo, F. (2023). When cooling of the skin is perceived as warmth: Enhanced paradoxical heat sensation by pre-cooling of the skin in healthy individuals. *Temperature (Austin, Tex.)*, *10*(2), 248–263. <https://doi.org/10.1080/23328940.2022.2088028>
96. Schwacha, M. G., Thobe, B. M., Daniel, T., & Hubbard, W. J. (2010). Impact of Thermal Injury on Wound Infiltration and the Dermal Inflammatory Response<sup>1</sup>. *Journal of Surgical Research*, *158*(1), 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2008.07.034>
97. Shen, Z., Xiang, M., Chen, C., Ding, F., Wang, Y., Shang, C., Xin, L., Zhang, Y., & Cui, X. (2022). Glutamate excitotoxicity: Potential therapeutic target for ischemic stroke. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *151*, 113125. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113125>

98. Shin, D. A., Kim, T. U., & Chang, M. C. (2021). Minocycline for Controlling Neuropathic Pain: A Systematic Narrative Review of Studies in Humans. *Journal of Pain Research*, *14*, 139–145. <https://doi.org/10.2147/JPR.S292824>
99. Simon, R., & Xiong, Z. (2006). Acidotoxicity in brain ischaemia. *Biochemical Society Transactions*, *34*(6), 1356–1361. <https://doi.org/10.1042/BST0341356>
100. Singh, S., Khanna, D., & Kalra, S. (2021). Minocycline and Doxycycline: More Than Antibiotics. *Current Molecular Pharmacology*, *14*(6), 1046–1065. <https://doi.org/10.2174/1874467214666210210122628>
101. Sluka, K. A., Price, M. P., Breese, N. M., Stucky, C. L., Wemmie, J. A., & Welsh, M. J. (2003). Chronic hyperalgesia induced by repeated acid injections in muscle is abolished by the loss of ASIC3, but not ASIC1. *Pain*, *106*(3), 229–239. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(03\)00269-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(03)00269-0)
102. Sorkin, L. S., Eddinger, K. A., Woller, S. A., & Yaksh, T. L. (2018). Origins of antidromic activity in sensory afferent fibers and neurogenic inflammation. *Seminars in Immunopathology*, *40*(3), 237–247. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0669-2>
103. Spitzer, N. C. (2010). How GABA generates depolarization. *The Journal of Physiology*, *588*(Pt 5), 757–758. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.183574>
104. Steen, K. H., Reeh, P. W., Anton, F., & Handwerker, H. O. (1992). Protons selectively induce lasting excitation and sensitization to mechanical stimulation of nociceptors in rat skin, in vitro. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *12*(1), 86–95. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-01-00086.1992>
105. Storozhuk, M., Cherninskyi, A., Maximyuk, O., Isaev, D., & Krishtal, O. (2021). Acid-Sensing Ion Channels: Focus on Physiological and Some Pathological Roles in the Brain. *Current Neuropharmacology*, *19*(9), 1570–1589. <https://doi.org/10.2174/1570159X19666210125151824>

106. Story, G. M. (2006). The Emerging Role of TRP Channels in Mechanisms of Temperature and Pain Sensation. *Current Neuropharmacology*, 4(3), 183–196.
107. Sturgeon, J. A., & Zautra, A. J. (2016). Social pain and physical pain: Shared paths to resilience. *Pain Management*, 6(1), 63–74. <https://doi.org/10.2217/pmt.15.56>
108. Su, W., Qiao, X., Wang, W., He, S., Liang, K., & Hong, X. (2023). TRPV3: Structure, Diseases and Modulators. *Molecules*, 28(2), 774. <https://doi.org/10.3390/molecules28020774>
109. Sullivan, M. J. L. (2008). Toward a Biopsychomotor Conceptualization of Pain: Implications for Research and Intervention. *The Clinical Journal of Pain*, 24(4), 281–290. <https://doi.org/10.1097/AJP.0b013e318164bb15>
110. Sun, G., McCartin, M., Liu, W., Zhang, Q., Kenefati, G., Chen, Z. S., & Wang, J. (2023). Temporal pain processing in the primary somatosensory cortex and anterior cingulate cortex. *Molecular Brain*, 16(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13041-022-00991-y>
111. Sun, J.-S., Yang, Y.-J., Zhang, Y.-Z., Huang, W., Li, Z.-S., & Zhang, Y. (2015). Minocycline attenuates pain by inhibiting spinal microglia activation in diabetic rats. *Molecular Medicine Reports*, 12(2), 2677–2682. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3735>
112. Tabares, L., & Betz, B. (2010). Multiple Functions of the Vesicular Proton Pump in Nerve Terminals. *Neuron*, 68(6), 1020–1022. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.12.012>
113. *The Spinal Cord (Organization of the Central Nervous System) Part 3.* (s/f). Recuperado el 6 de noviembre de 2023, de [https://what-when-how.com/neuroscience/the-spinal-cord-organization-of-the-central-nervous-system-part-3/#google\\_vignette](https://what-when-how.com/neuroscience/the-spinal-cord-organization-of-the-central-nervous-system-part-3/#google_vignette)
114. Tikhonov, D. B., Magazanik, L. G., & Nagaeva, E. I. (2019). Ligands of Acid-Sensing Ion Channel 1a: Mechanisms of Action and Binding Sites. *Acta Naturae*, 11(1), 4–13.

115. Tsagareli, M. G., Nozadze, I., Tsiklauri, N., & Gurtskaia, G. (2018). Non-steroidal anti-inflammatory drugs attenuate agonist-evoked activation of transient receptor potential channels. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *97*, 745–751. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.131>
116. Turner, P. V., Brabb, T., Pekow, C., & Vasbinder, M. A. (2011). Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS*, *50*(5), 600–613.
117. Vay, L., Gu, C., & McNaughton, P. A. (2012). The thermo-TRP ion channel family: Properties and therapeutic implications. *British Journal of Pharmacology*, *165*(4), 787–801. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01601.x>
118. Vázquez Alatorre, A. G. (2021). *PROPOSICIÓN CON PUNTO DE ACUERDO POR EL QUE SE EXHORTA RESPETUOSAMENTE A LOS GOBIERNOS DE LAS ENTIDADES FEDERATIVAS PARA QUE A TRAVÉS DE SUS SECRETARÍAS DE SALUD, LAS INSTITUCIONES DE SALUD PÚBLICA Y SUS RESPECTIVOS SISTEMAS DE SALUD, A QUE EMPRENDAN DIVERSAS MEDIDAS EN MATERIA DE DOLOR CRÓNICO Y CUIDADOS PALIATIVOS. 64.* [https://infosen.senado.gob.mx/sgsp/gaceta/64/3/2021-08-18-1/assets/documentos/PA\\_Morena\\_Sen\\_Antares\\_Cuidados\\_Paliativos.pdf](https://infosen.senado.gob.mx/sgsp/gaceta/64/3/2021-08-18-1/assets/documentos/PA_Morena_Sen_Antares_Cuidados_Paliativos.pdf)
119. Vestergaard, K., Nielsen, J., Andersen, G., Ingeman-Nielsen, M., Arendt-Nielsen, L., & Jensen, T. S. (1995). Sensory abnormalities in consecutive, unselected patients with central post-stroke pain. *Pain*, *61*(2), 177–186. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00140-A](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)00140-A)
120. Viana, F. (2018). Chapter 6 - Nociceptors: Thermal allodynia and thermal pain. En A. A. Romanovsky (Ed.), *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 156, pp. 103–119). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63912-7.00006-0>
121. Voilley, N., de Weille, J., Mamet, J., & Lazdunski, M. (2001). Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-

- sensing ion channels in nociceptors. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(20), 8026–8033. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-20-08026.2001>
122. Weiss, N., Lawson, H. C., Greenspan, J. D., Ohara, S., & Lenz, F. A. (2005). Studies of the human ascending pain pathways. *Thalamus & Related Systems*, 3(1), 71–86. <https://doi.org/10.1017/S1472928805000099>
123. Wemmie, J. A., Coryell, M. W., Askwith, C. C., Lamani, E., Leonard, A. S., Sigmund, C. D., & Welsh, M. J. (2004). Overexpression of acid-sensing ion channel 1a in transgenic mice increases acquired fear-related behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(10), 3621–3626. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308753101>
124. Wercberger, R., & Basbaum, A. I. (2019). Spinal cord projection neurons: A superficial, and also deep analysis. *Current Opinion in Physiology*, 11, 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2019.10.002>
125. Westlund, K. N. (2007). Postsynaptic Dorsal Column Projection, Anatomical Organization. En R. F. Schmidt & W. D. Willis (Eds.), *Encyclopedia of Pain* (pp. 1956–1959). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-29805-2\\_3475](https://doi.org/10.1007/978-3-540-29805-2_3475)
126. Willis, W. D., & Westlund, K. N. (1997). Neuroanatomy of the Pain System and of the Pathways That Modulate Pain. *Journal of clinical neurophysiology : official publication of the American Electroencephalographic Society*, 14(1), 2–31. <https://doi.org/10.1097/00004691-199701000-00002>
127. Wolfensohn, S., & Lloyd, M. (2013). *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. John Wiley & Sons.
128. Woolf, C. J. (2022). Pain modulation in the spinal cord. *Frontiers in Pain Research*, 3. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpain.2022.984042>



129. Wu, J., Xu, Y., Jiang, Y.-Q., Xu, J., Hu, Y., & Zha, X. (2016). ASIC subunit ratio and differential surface trafficking in the brain. *Molecular Brain*, *9*(1), 4.  
<https://doi.org/10.1186/s13041-016-0185-7>
130. Wu, P.-Y., Huang, Y.-Y., Chen, C.-C., Hsu, T.-T., Lin, Y.-C., Weng, J.-Y., Chien, T.-C., Cheng, I. H., & Lien, C.-C. (2013). Acid-Sensing Ion Channel-1a Is Not Required for Normal Hippocampal LTP and Spatial Memory. *Journal of Neuroscience*, *33*(5), 1828–1832.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4132-12.2013>
131. Xiong, Z.-G., Zhu, X.-M., Chu, X.-P., Minami, M., Hey, J., Wei, W.-L., MacDonald, J. F., Wemmie, J. A., Price, M. P., Welsh, M. J., & Simon, R. P. (2004). Neuroprotection in ischemia: Blocking calcium-permeable acid-sensing ion channels. *Cell*, *118*(6), 687–698.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.08.026>
132. Yang, S., & Chang, M. C. (2019). Chronic Pain: Structural and Functional Changes in Brain Structures and Associated Negative Affective States. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(13), 3130. <https://doi.org/10.3390/ijms20133130>
133. Zha, X. (2013). Acid-sensing ion channels: Trafficking and synaptic function. *Molecular Brain*, *6*(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-6-1>
134. Zhang, J., Cavanaugh, D. J., Nemenov, M. I., & Basbaum, A. I. (2013). The modality-specific contribution of peptidergic and non-peptidergic nociceptors is manifest at the level of dorsal horn nociceptive neurons. *The Journal of Physiology*, *591*(4), 1097–1110.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.242115>
135. Zhang, M., Ma, Y., Ye, X., Zhang, N., Pan, L., & Wang, B. (2023). TRP (transient receptor potential) ion channel family: Structures, biological functions and therapeutic interventions for diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *8*(1), Article 1.  
<https://doi.org/10.1038/s41392-023-01464-x>

136. Zhou, Y.-Q., Liu, D.-Q., Chen, S.-P., Sun, J., Wang, X.-M., Tian, Y.-K., Wu, W., & Ye, D.-W. (2018). Minocycline as a promising therapeutic strategy for chronic pain. *Pharmacological Research*, *134*, 305–310. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.07.002>