



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

SEDE SUR

Departamento de Farmacobiología

**PARTICIPACIÓN DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL α Y EL RECEPTOR
TNFR1 EN LA ALODINIA TÁCTIL INDUCIDA POR ESTRÉS CRÓNICO Y POR
TRANSFERENCIA SOCIAL DEL ESTRÉS EN RATAS**

Tesis que presenta

Q.F.B. Alejandro Pluma Pluma

Para obtener el Grado de

Maestro en Ciencias en

Neurofarmacología y Terapéutica Experimental

Directora de tesis:

Dra. Janet Murbartían Aguilar

El trabajo experimental de esta tesis se realizó en el Laboratorio 4 del Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, bajo la dirección de la Dra. Janet Murbartián Aguilar.

Para la realización de este proyecto de tesis se contó con la beca de maestría (no. 634067) otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt).

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Janet Murbartián Aguilar por abrirme las puertas de su laboratorio y ser parte de su grupo de investigación. Asimismo, le agradezco la paciencia y el compromiso que puso para enseñarme y apoyarme académicamente cuando más lo necesitaba.

Al Dr. Vinicio Granados Soto y a la Dra. Angelica Almanza Gutiérrez por formar parte del comité sinodal y los comentarios que enriquecieron el proyecto y mi formación académica.

A Frida por convertirse en una gran amiga y por todo apoyo que me brindo.

A Diana por ser una gran amiga y compañera desde la universidad.

A Yarim gracias por el apoyo, los consejos, los buenos ratos y las experiencias y sobre todo el humor.

A Oscar, Mary y Delia amigos incondicionales que siempre están ahí y que con su amistad he crecido de muchas maneras.

A Cristina, Iván, Daniel, Cristian, Saúl, Erick, Hernán, Adriana, Grecia por su apoyo, consejos, amistad y los momentos tan divertidos con ustedes.

A Javier y Erika por el apoyo brindado en el laboratorio y por el hacer ameno el tiempo en el laboratorio.

A las Dra. Guadalupe García y Ana Belén Salinas por la paciencia para enseñarme, por los consejos y comentarios que enriquecieron mi trabajo y por su amistad.

A los compañeros del laboratorio 12: Yarim, Úrsula, Erika y Belén por apoyarme, los consejos y comentarios brindados y por el buen humor.

A la M. en C. Guadalupe Vidal Cantú por el apoyo brindado.

A todo el personal de bioterio, vigilancia, intendencia y administrativo que labora en el Departamento de Farmacobiología del Cinvestav, Unidad Coapa.

A todas las ratas que involuntariamente dieron su vida para poder desarrollar el trabajo experimental.

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a las personas más importantes en mi vida, mi familia. Gracias a mis padres, mis abuelos y mis hermanos quienes siempre me apoyaron. Gracias por que sin ustedes nunca podría haber llegado aquí.

También dedico este trabajo a mis tíos Gregorio, Lidia, Toño, Cinthia y Silvia porque su apoyo y amor me permitió creer y cumplir mis metas.

ÍNDICE

I. LISTA DE ABREVIATURAS	I
II. ÍNDICE DE FIGURAS	IV
III. ÍNDICE DE TABLAS.....	II
V. RESUMEN	II
VI. ABSTRACT	III
1. Introducción.....	1
1.1. Estrés.....	1
1.2. Respuesta al estrés	1
1.2.1 Sistema nervioso autónomo	1
1.2.2 Eje hipotálamo-hipófisis-médula adrenal	3
1.3. Modulación y transferencia social del estrés.....	3
1.4. Dolor	4
1.4.1 Clasificación del dolor	5
1.4.2 Fisiología del dolor.....	6
1.4.2.1 Nocicepción.....	6
1.4.2.2 Neuronas aferentes primarias	7
1.4.3 Transmisión nociceptiva	7
1.4.4 Sensibilización	9
1.4.4.1 Sensibilización periférica.....	9
1.4.4.2 Sensibilización central.....	12
1.5. Participación de las citocinas en el dolor	14
1.5.1 Factor de necrosis tumoral	15
1.5.2 TNF α y dolor	16
1.6. Estrés y dolor	18
1.6.1 Estrés y TNF α	21
2. Justificación	22
3. Hipótesis	23
4. Objetivos	23
4.1. Objetivo general.....	23
4.2. Objetivos particulares.....	23
5. Metodología	24
5.1. Animales	24
5.2. Fármacos.....	24
5.3. Modelo de hipersensibilidad al dolor inducido por estrés crónico por restricción de movimiento	24
5.4. Modelo de hipersensibilidad al dolor inducida mediante transferencia social del estrés	25
5.5. Evaluación de las conductas de olfateo (transferencia social del estrés) ...	26
5.6. Evaluación de hipersensibilidad al dolor	26

5.7. Evaluación de la actividad motora.....	27
5.8. Diseño experimental	27
5.8.1 Participación del TNF α y TNFR1 en la hipersensibilidad al dolor por estrés crónico o transferencia social del estrés.....	27
5.9. Análisis estadístico.....	28
6. Resultados	29
6.1. El estrés crónico por restricción de movimiento produce hipersensibilidad al dolor	29
6.2. La transferencia social del estrés en ratas intactas produce hipersensibilidad al dolor	29
6.3. Transferencia social del estrés.....	31
6.4. Efecto de la talidomida, el R7050 y el vehículo en ratas naïve	32
6.5. Efecto de talidomida sobre la alodinia táctil en ratas hembras sometidas a estrés crónico	32
6.6. Efecto de talidomida sobre la alodinia táctil en ratas hembras que cohabitan con ratas sometidas a estrés crónico.	33
6.7. Comparación de las curvas dosis-respuesta de la administración periférica, sistémica y espinal de talidomida.....	34
6.8. Efecto antialodínico de talidomida en ratas machos sometidos a estrés crónico y en ratas macho que cohabitan con individuos estresados	36
6.9. Efecto de R7050 sobre la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico	37
6.10. Efecto de R7050 sobre la hipersensibilidad al dolor inducida por transferencia social del estrés	38
6.11. Comparación del efecto antialodínico de talidomida y R7050 en ratas con estrés crónico y en ratas que cohabitan con sujetos estresados	39
6.12. Evaluación de la coordinación motora	40
7. Discusión	41
7.1. El estrés crónico induce alodinia mecánica en ratas.....	41
7.2. La transferencia social del estrés induce alodinia mecánica.....	43
7.3. Participación de TNF α y TNFR1 sobre la alodinia táctil de ratas con estrés crónico y de ratas que cohabitan con sujetos estresados.....	44
8. Conclusiones	47
9. Perspectivas	47
10. Referencias	48

I. LISTA DE ABREVIATURAS

[Ca ²⁺] _i	Concentración de calcio intracelular
[Cl ⁻] _i	Concentración de cloruro intracelular
5-HT	Serotonina
A-Smase	Esfingomielinasa ácida
ABC	Área bajo la curva
AMPA	Ácido α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico
ANOVA	Análisis de varianza
ASICs	Canales iónicos sensibles a ácido
ATP	Adenosina trifosfato
BDNF	Factor neurotrófico derivado de cerebro
CamK	Proteína cinasa dependiente de calmodulina
CamKII	Proteína cinasa Ca ²⁺ /calmodulina II
CB1	Receptor canabinoide tipo 1
CFA	Adyuvante completo de Freund
CGRP	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
CICUAL	Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales
CRF	Factor liberador de corticotropina
COX-2	Ciclooxigenasa 2
CX3CL-1	Fractalcina-1
DD	Dominio de muerte
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EEM	Error estándar de la media
EPSCs	Corrientes post-sinápticas excitatorias
ERK	Cinasa regulada por señal extracelular
FADD	Dominio de muerte asociado a Fas
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GRD	Ganglio de la raíz dorsal
GT	Ganglio trigeminal
HHA	Eje hipotalámico-hipofisario-adrenal
HMGB1	Proteína de alta movilidad B1
i.p.	Intraperitoneal
i.t.	Intratecal
IASP	Asociación Internacional para el Estudio del Dolor
IKBa	Inhibidor de NFκB
IL-1β	Interleucina 1β
IL-2	Interleucina 2
IL-6	Interleucina 6

IL-8	Interleucina 8
iNOS	Óxido nítrico sintasa inducible
JNK	Cinasa c-Jun N-terminal
KO	Knock out
LPS	Lipopolisacárido
LPS-RS	Lipopolisacárido de <i>Rhodobacter sphaeroides</i>
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógenos
mGluR	Receptor a glutamato de tipo metabotrópico
Nav	Canales de sodio dependientes de voltaje
Nav1.7	Canal de sodio dependiente de voltaje 1.7
Nav1.8	Canal de sodio dependiente de voltaje 1.8
Nav1.9	Canal de sodio dependiente de voltaje 1.9
NF-κB	Factor nuclear κ B
NGF	Factor de crecimiento neuronal
NK1	Neurocinina 1
NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	Óxido nítrico
p	Probabilidad
p38 MAPK	p38 proteína cinasa activada por mitógenos
Panx1	Panexina 1
PBS	Buffer de fosfatos
PGE2	Prostaglandina E2
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
PMSF	Fluoruro de fenilmetilsulfonilo
PVDF	Fluoruro de polivinilideno
PVN	Núcleo paraventricular
R-CCK2	Receptor de colecistocinina B
R-P2X7	Receptor P2X7
RIP	Proteína que interactúa con el receptor
RM	Restricción de movimiento
rpm	Revoluciones por minuto
SNA	Sistema nervioso autónomo
SNC	Sistema nervioso central
SP	Sustancia P
TACE	Enzima convertidora de metaloproteasa de matriz TNF
TGF-β	Factor de crecimiento transformante β
TLR4	Receptor tipo Toll 4
tmTNF	TNF transmembranal
TNFα	Factor de necrosis tumoral alfa

TNFR1	Receptor 1 de TNF α
TNFR2	Receptor 2 de TNF α
TRADD	Proteína de dominio de muerte relacionada con TNFR1
TRAF2	Factor 2 asociado al receptor de TNF
Tris-HCl	Trisaminometano-ácido clorhídrico
TRPA1	Receptor de potencial transitorio de anquirina 1
TRPV1	Receptor de potencial transitorio de vaniloide 1
VEH	Vehículo
WT	Silvestre (<i>wild type</i>)

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Descripción	Pág.
Fig. 1 Respuesta al estrés.....	2
Fig. 2 Clasificación del dolor.....	6
Fig. 3 Nocicepción.....	8
Fig. 4 Sensibilización periférica.....	11
Fig. 5 Sensibilización central.....	14
Fig. 6 Diseño experimental para la evaluación de la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico por restricción de movimiento.....	25
Fig. 7 Diseño experimental para la evaluación de la hipersensibilidad al dolor por transferencia social del estrés.....	25
Fig. 8 Diseño experimental de la evaluación de las conductas de olfateo (transferencia social del estrés).....	26
Fig. 9 Diseño farmacológico para la evaluación del efecto de TNF α y TNFR1 sobre la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico o por transferencia social del estrés.....	28
Fig. 10 Curso temporal del 50% de umbral de retiro de ratas sometidas a estrés crónico por restricción de movimiento.....	29
Fig. 11 Curso temporal del 50% de umbral de retiro en animales intactos que cohabitan con ratas sometidas a estrés crónico por restricción de movimiento.....	30
Fig. 12 Comparación de la hipersensibilidad al dolor entre ratas con estrés crónico y sujetos que cohabitan con ratas estresadas.....	30
Fig. 13 Interacción entre ratas con estrés crónico y ratas que cohabitan con ratas estresadas.....	31
Fig. 14 Efecto de talidomida, R7050 y vehículo sobre ratas naïve.....	32
Fig. 15 Efecto de la talidomida sobre la alodinia táctil inducida por estrés crónico.....	33
Fig. 16 Efecto de la talidomida sobre la alodinia táctil de ratas que cohabitan con ratas estresadas.....	34
Fig. 17 Comparación del efecto antialodínico de talidomida por diferentes vías de administración.....	35
Fig. 18 Efecto de la talidomida sobre la alodinia táctil en ratas machos con estrés crónico y en ratas machos que cohabitan con sujetos estresados.....	36
Fig. 19 Efecto del R7050 sobre la alodinia táctil inducida por estrés crónico.....	37
Fig. 20 Efecto del R7050 sobre la alodinia táctil de ratas que cohabitan con sujetos con estrés crónico.....	38

Fig. 21 Comparación de la administración intratecal de talidomida y R7050 sobre la alodinia táctil de ratas sometidas a estrés crónico y de ratas que cohabitan con sujetos estresados..... 39

III. ÍNDICE DE TABLAS

Descripción	Pág.
Tabla 1 Efectos de TNF en la nocicepción	17
Tabla 2 Estrés y dolor.....	20
Tabla 3 Resultados de la coordinación motora.....	40

V. RESUMEN

El estrés agudo genera una respuesta fisiológica normal que promueve la supervivencia, pero en condiciones crónicas desencadena procesos patológicos. Se ha descrito que el estrés se puede transferir de un individuo estresado a otro sujeto que cohabita con éste mediante la interacción entre ellos. Este fenómeno se define como transferencia social del estrés. Por otra parte, se ha reportado que el estrés crónico incrementa la percepción del dolor y se sugiere una relación entre los sistemas que regulan el estrés y el dolor; sin embargo, los mecanismos que subyacen a esta interacción no se conocen bien. El estrés crónico por restricción de movimiento en la rata genera alodinia mecánica. El TNF α y el receptor TNFR1 participan de manera importante en procesos de estrés crónico y en el dolor, pero su participación en la alodinia inducida por estrés crónico por restricción de movimiento no se conoce. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar si el TNF α y su receptor TNFR1 participan en la alodinia mecánica inducida por estrés crónico por restricción de movimiento en ratas. Asimismo, se determinó si los animales que cohabitan con individuos estresados por restricción de movimiento desarrollan alodinia mecánica y si en estos sujetos también participan el TNF α y el receptor TNFR1. Los datos obtenidos sugieren que el estrés crónico por restricción de movimiento produce alodinia táctil en ratas hembras y machos. De manera interesante, la cohabitación con sujetos estresados produjo alodinia táctil tanto en ratas hembras como machos. Los animales que no recibieron el estímulo estresor y que cohabitaron con sujetos estresados presentaron conductas de olfateo y exploración de la zona torso-cabeza y anogenital de los animales estresados, lo que sugiere una transferencia social del estrés. La administración intraperitoneal e intratecal de talidomida (un inhibidor de la síntesis de TNF α), así como la administración intratecal de R7050 (un antagonista del TNFR1) revirtieron la alodinia táctil de forma dosis dependiente, tanto en animales con estrés crónico por restricción de movimiento como en los animales que cohabitaron con sujetos estresados. La talidomida y el R7050 tuvieron efectos similares en ratas machos y hembras. Los datos obtenidos sugieren que la transferencia social del estrés produce alodinia mecánica en ratas que cohabitan con sujetos estresados. Además, el TNF α y el receptor TNFR1 participan en la alodinia táctil inducida por estrés crónico por restricción de movimiento y por transferencia social del estrés en ratas hembras y machos.

VI. ABSTRACT

Acute stress induces a normal physiological response that promotes survival, however in chronic conditions it can trigger pathological processes. In addition, it has been described that stress can be transferred from a stressed individual to another subject who cohabit with him through the interaction between them. This phenomenon is defined as social transfer of stress. On the other hand, it has been reported that chronic stress increases the perception of pain and suggests a relationship between stress and pain; however, the mechanisms underlying this interaction are not well understood. The chronic restraint stress in rat, the animals develop mechanical allodynia. TNF α and the TNFR1 receptor have an important role in chronic stress and pain processes, but their participation in allodynia induced by chronic stress is unknown. Therefore, the aim of this study was to determine if TNF α and TNFR1 are involved in mechanical allodynia induced by chronic stress by movement restriction in rats. Likewise, it was determined if animals that cohabit with stressed individuals in this model develop mechanical allodynia and if TNF α and TNFR1 also participate in this mechanism. The data obtained suggest that chronic restraint stress produced tactile allodynia in female and male rats. Interestingly, the cohabitation with stressed subjects produced tactile allodynia in both female and male rats. Animals that did not receive the stressor stimulus and cohabited with stressed subjects exhibited sniffing behavior and exploration of the torso-head and anogenital area of the stressed animals, suggesting a social transfer of stress. Intraperitoneal and intrathecal administration of thalidomide (an inhibitor of TNF α synthesis) as well as intrathecal administration of R7050 (a TNFR1 antagonist), reversed tactile allodynia in a dose-dependent manner, in both animals with chronic restraint stress and in animals that cohabited with stressed subjects. Thalidomide and R7050 had similar effects in male and female rats. The data obtained suggest that the social transfer of stress produces mechanical allodynia in rats that cohabit with stressed subjects. In addition, the data suggest that TNF α and TNFR1 participate in tactile allodynia induced by chronic restraint stress and social transfer of stress in both female and male rats.

1. Introducción

1.1. Estrés

El estrés es una respuesta del organismo ante un ambiente o estímulo que amenaza su supervivencia (McEwen, 2007). El estrés genera una gran variedad de respuestas fisiológicas y conductuales que alteran el estado metabólico y el comportamiento, tanto en humanos como en animales (Ulrich-Lai et al., 2015).

El estrés se clasifica en agudo o crónico dependiendo del tipo y duración del estímulo que lo produce. El estrés agudo es una respuesta fisiológica normal que permite al individuo combatir el estímulo estresor. El circuito del estrés activa mecanismos neuronales, neuroendocrinos y conductuales que promueven la supervivencia (Senst y Bains, 2014). Por otra parte, el estrés crónico se caracteriza por la exposición prolongada al estímulo. La exposición a estrés crónico puede sobrepasar el umbral de resistencia del organismo y desarrollar un estado patológico (Almela, 2006). En este caso, los ejes neuroendocrinos generan un control hormonal deficiente, donde los glucocorticoides, catecolaminas (noradrenalina y epinefrina) y citocinas aumentan su concentración y afectan al sistema nervioso central (SNC), sistema inmune y endocrino (Rohleder, 2014; Calcia et al., 2016).

1.2. Respuesta al estrés

En mamíferos, el estímulo estresor activa la respuesta al estrés mediante la activación del sistema nervioso autónomo (SNA) y del eje hipotálamo-hipófisis-médula adrenal (HHA) (Fig. 1). Estos sistemas promueven diversos procesos fisiológicos y estrategias para asegurar la supervivencia del organismo (Deak et al., 2015; Balsevich et al., 2019).

1.2.1 Sistema nervioso autónomo

El sistema nervioso autónomo regula las funciones viscerales del organismo y está conformado por dos partes: la simpática y la parasimpática. El estímulo estresor puede desencadenar la activación del sistema nervioso simpático a través de la

activación del núcleo paraventricular (PVN) del hipotálamo. Las neuronas del PVN activan a las neuronas preganglionares simpáticas de la médula espinal. A su vez, las neuronas preganglionares liberan acetilcolina y estimulan a las neuronas postganglionares que proyectan sus axones a distintos órganos como corazón, pulmones, hígado, vasos sanguíneos, etc. y liberan noradrenalina (Chabner y Knollman, 2012). Por otro lado, las neuronas preganglionares simpáticas activan de manera directa a la médula adrenal para estimular la liberación de adrenalina (Chabner y Knollman, 2012; Balsevich et al., 2019). La activación del SNA aumenta la frecuencia cardíaca, el catabolismo de glucógeno a glucosa para una liberación rápida de energía, la dilatación bronquial y el patrón del flujo sanguíneo cambia para aportar oxígeno y glucosa a los músculos esqueléticos y al cerebro, aumentando el estado de alerta. Por otro lado, la activación del SNA disminuye la actividad del sistema digestivo y la producción de orina (Guilliams, 2015).

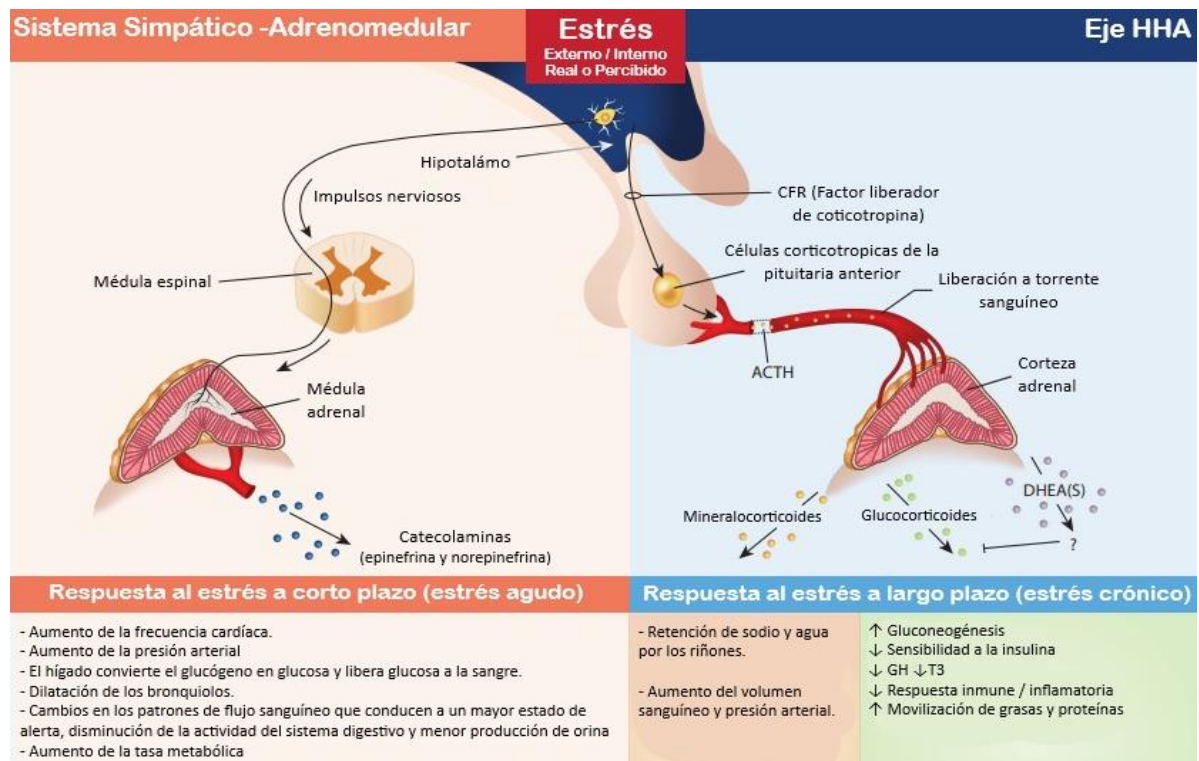


Figura 1. Respuesta al estrés. Los estímulos estresores activan al sistema nervioso autónomo y el eje hipotalámico-hipófisis-adrenal para responder ante el estímulo. La respuesta al estrés provoca el aumento en la frecuencia cardíaca y la presión arterial, la liberación de glucosa, la dilatación de los bronquiolos, cambios en el patrón del flujo sanguíneo y aumento en la tasa metabólica. Modificado de Guilliams, 2015. HHA: eje hipotalámico-hipófisis-adrenal, CFR: factor liberador de corticotropina, ACTH: hormona adrenocorticotrópica, DHEA(S): dehidroepiandrosterona (s).

1.2.2 Eje hipotálamo-hipófisis-médula adrenal

La presencia del estímulo estresor estimula a las neuronas del PVN, liberando corticotropina (CRF), arginina y vasopresina. La CRF actúa sobre la hipófisis anterior (adenohipófisis) y promueve la síntesis y liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) al torrente sanguíneo. La ACTH estimula la liberación de glucocorticoides de la médula suprarrenal (Carrasco y Van De Kar, 2003; Ulrich-Lai et al., 2015). Los glucocorticoides como la corticosterona (en ratas) y el cortisol (en humanos) tienen diversas funciones necesarias para controlar la respuesta al estrés (Denver, 2009). Los glucocorticoides promueven la glucólisis y la lipólisis, lo que permite la liberación de glucosa para satisfacer la demanda de energía de la respuesta al estrés (lucha o huida) (Balsevich et al., 2019). Los niveles circulantes de glucocorticoides funcionan como un mecanismo de retroalimentación negativa en el eje HHA. El cortisol y la corticosterona inhiben la producción de CRF y ACTH a través de los receptores de glucocorticoides localizados en el hipotálamo y la hipófisis. Este mecanismo permite mantener una respuesta controlada al estrés (Carrasco y Van De Kar, 2003).

1.3. Modulación y transferencia social del estrés

Diversas especies sociales como los humanos, primates, caninos, elefantes y roedores presentan conductas de consuelo hacia individuos afligidos. Esto se conoce como comportamiento de consolación (Burkett et al., 2016; Sterley et al., 2018). El comportamiento de consolación consiste en un aumento en el contacto de afiliación de un individuo no involucrado hacia un individuo angustiado con la finalidad de producir un efecto calmante (de Waal y van Roosmalen, 1979). La vinculación social reduce la activación del eje HHA, los comportamientos tipo depresivo, el desequilibrio autonómico y la producción de hormonas o péptidos (como el cortisol, ACTH, etc.) en el sistema nervioso central de sujetos sometidos a estrés (McNeal et al., 2017). De hecho, se ha demostrado que la interacción social disminuye los cambios conductuales y fisiológicos de individuos expuestos a estrés crónico y agudo. Kirschbaum y colaboradores (1995) reportaron que el apoyo

social reduce los niveles de cortisol en saliva en seres humanos sometidos a estrés agudo que estaban acompañados comparado con aquellos individuos sin compañía. Asimismo, Burkett y colaboradores (2016) demostraron que las conductas de consuelo amortiguan el estrés en roedores. Adicionalmente, la interacción social reduce las concentraciones plasmáticas de ACTH y corticosterona después de un protocolo de estrés crónico en ratones (McNeal et al., 2017).

Recientemente se reportó que el estrés puede transmitirse de forma social en ratones que no han sido expuestos a estrés. El estudio demostró que los ratones no expuestos a estrés, pero que observan a ratones estresados, presentan cambios fisiológicos y conductuales (Burkett et al., 2016). Por otra parte, Carneiro de Oliveira y colaboradores (2017) demostraron que los ratones no estresado que cohabitan con ratones sometidos a estrés crónico tienen conductas ansiogénicas e hipernocicepción. Asimismo, se ha reportado que la interacción con animales estresados provoca cambios en los niveles de corticosterona en sangre e induce cambios en las sinapsis de las neuronas del PVN en ratones no estresados (Sterley et al., 2018). En conjunto, estos datos sugieren que el estrés es un fenómeno social que puede ser amortiguado entre individuos y que los efectos producidos por estrés también pueden transmitirse de individuos estresados a animales que cohabitan con ellos.

1.4. Dolor

El dolor forma parte importante de la homeostasis del organismo y funciona como un sistema de alerta ante estímulos potencialmente dañinos (Ortega et al., 2002). La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) define al dolor como *“una experiencia sensorial y emocional desagradable relacionada con un daño tisular potencial o real y descrito en términos de tal daño”* (Merskey y Bogduk, 1994). Esta definición refleja que el dolor es subjetivo, ya que su intensidad, apariencia e interpretación es particular de cada individuo. El dolor es un proceso sensorial complejo que muestra la integración de las señales nociceptivas periféricas y un procesamiento cerebral elaborado (Hladnik et al., 2015).

1.4.1 Clasificación del dolor

El dolor se clasifica en agudo y crónico de acuerdo con su temporalidad. El dolor agudo funciona como un mecanismo de protección ante estímulos nocivos y es de corta duración. Por el contrario, el dolor crónico es el resultado de la actividad alterada en neuronas sensoriales primarias y secundarias y puede ser consecuencia de estímulos continuos y prolongados en el sitio de la lesión, generalmente perdura por más de 3 meses y puede iniciar como un dolor agudo (Woolf, 2004; Kuner, 2010). El dolor crónico se puede presentar de manera episódica; es decir, periodos sin dolor entre episodios dolorosos que fluctúan en frecuencia e intensidad (Woolf, 2004).

El dolor se clasifica también de acuerdo con el mecanismo neurobiológico que lo produce como: dolor nociceptivo, inflamatorio, neuropático y funcional.

- El dolor nociceptivo surge en respuesta a estímulos nocivos químicos, físicos o mecánicos (Woolf, 2004) y se subdivide en dolor somático y visceral. Se considera somático cuando los nociceptores se encuentran en los tejidos superficiales y mucosas, mientras que en el visceral se localizan en órganos y cavidades internas (Fig. 2A).
- El dolor inflamatorio se origina por un daño al tejido que genera una respuesta inflamatoria (Su et al., 2014). Este dolor involucra la activación del sistema inmunológico y promueve la liberación de citocinas y otros mediadores inflamatorios liberados por células del sistema inmune, el tejido dañado y neuronal (Costigan y Woolf, 2000) (Fig. 2B).
- El dolor neuropático es el dolor que surge de una lesión del sistema nervioso periférico o central (Finnerup et al., 2016). El dolor neuropático se caracteriza por la aparición de signos sensoriales anormales como hiperalgesia (respuesta exagerada a un estímulo nocivo), alodinia (respuesta dolorosa ante estímulos inocuos) y dolor espontáneo (Colloca, 2017) (Fig. 2C).
- El dolor funcional es un tipo de dolor que aparentemente carece de una causa específica o de daño al tejido neuronal. Sin embargo, este tipo de dolor es consecuencia de una percepción anormal o de un procesamiento alterado de

la transmisión nociceptiva. La fibromialgia, el dolor de cabeza por estrés y muchos estados de dolor visceral (como el síndrome del colon irritable) son ejemplos de dolor funcional (Fong y Schug, 2014) (Fig. 2D).

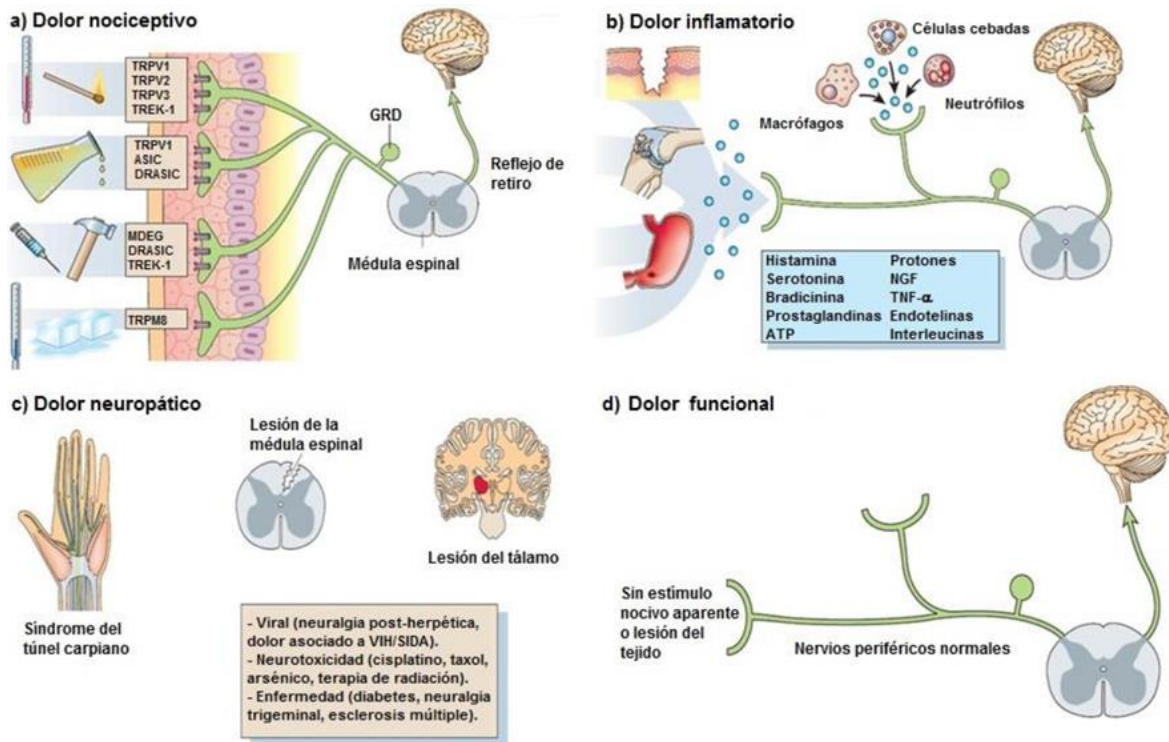


Figura 2. Clasificación del dolor. El dolor se clasifica según el mecanismo neurobiológico en: a) nociceptivo, b) inflamatorio, c) neuropático y d) funcional. Modificado de Scholz y Woolf, 2002. TRPV1-3: canal de potencial transitorio de vaniloide 1-3; TREK-1: canal de K^+ de dos poros; ASIC: canal iónico sensible al ácido; DRASIC: canal iónico sensible al ácido de la médula espinal; MDEG: canal iónico de degerina de mamíferos; TRPM8: canal de potencial transitorio de melastatina; GRD: ganglio de la raíz dorsal; ATP: adenosina trifosfato; NGF: factor de crecimiento neuronal; TNF α : factor de necrosis tumoral alfa.

1.4.2 Fisiología del dolor

1.4.2.1 Nocicepción

La nocicepción es el proceso fisiológico encargado de decodificar y procesar los estímulos nocivos y comprende la transducción, transmisión, modulación y percepción del dolor (Dubin y Patapoutian, 2010) (Fig. 3). El sistema nociceptivo está formado por las neuronas aferentes primarias (neuronas de primer orden o nociceptores), neuronas de proyección (neuronas de segundo orden) y neuronas de tercer orden.

1.4.2.2 Neuronas aferentes primarias

Las neuronas aferentes primarias transducen, conducen y transmiten los estímulos externos de alta intensidad y se encuentran distribuidas en la piel y en los tejidos profundos (Baron, 2000). Las neuronas aferentes primarias se dividen en fibras A β , A δ y C de acuerdo a su nivel de mielinización, diámetro y velocidad de conducción. Las fibras A β son mielinizadas, de diámetro grande (>10 μm) y velocidad de conducción rápida (30-100 m/s). Estas fibras transmiten información sensorial inocua y se consideran mecanosensores (Dubin y Patapoutian, 2010). Las fibras A δ son ligeramente mielinizadas, de diámetro mediano (2-6 μm) y con velocidad de conducción moderada (5-25 m/s). En contraste, las fibras C carecen de mielina, son de diámetro pequeño (0.4-1.2 μm) y de velocidad de conducción lenta (<2 m/s). Aunque las tres clases de fibras transmiten información sensorial, sólo las fibras A δ y C transmiten información nociceptiva en condiciones normales. El umbral de activación de los nociceptores depende de sus propiedades biofísicas, moleculares (tipo y densidad de receptores) y de la duración e intensidad del estímulo (Millan, 1999; Basbaum et al., 2009). Los nociceptores son células cuyo soma se encuentra en el ganglio de la raíz dorsal (GRD) o en el ganglio trigeminal (GT). Los nociceptores poseen una prolongación axónica que envían a la periferia y sirve como receptor de estímulos nocivos y otra prolongación axónica central dirigida hacia el asta dorsal de la médula espinal (Basbaum y Jessell, 2000).

1.4.3 Transmisión nociceptiva

La transmisión nociceptiva inicia con la activación de los nociceptores. Los nociceptores transducen los estímulos físicos, químicos o mecánicos de alto umbral a potenciales de acción (Basbaum et al., 2009; Ottestad y Angst, 2013). Los potenciales de acción dependen de la activación de los canales de sodio activados por voltaje (Na_v) y se transmiten hacia a las láminas I y II del asta dorsal de la médula espinal (Kuner, 2010; Svensson y Sorkin, 2017). La terminal central de los nociceptores libera glutamato, sustancia P (SP), somatostatina, el péptido relacionado con el gen de calcitonina (GCRP), entre otros. Estos neurotransmisores

activan a sus respectivos receptores expresados en las neuronas de segundo orden. Las neuronas de segundo orden median un proceso sensorial-discriminativo que integra la entrada y la salida de información sensorial hacia centros superiores (Millan, 1999; Dubin y Patapoutian, 2010). La información se transmite a centros superiores a través de los tractos espinomesencefálico (que proyecta hacia la formación reticular mesencefálica), espinoreticular (que proyecta hacia la formación reticular del bulbo) y espinotalámico (proyecta al tálamo) (Kuner, 2010). Finalmente, la información nociceptiva se procesa en la corteza somatosensorial, comprendiendo la percepción, atención y la respuesta al dolor (Borstad y Woeste, 2015) (Fig. 3).

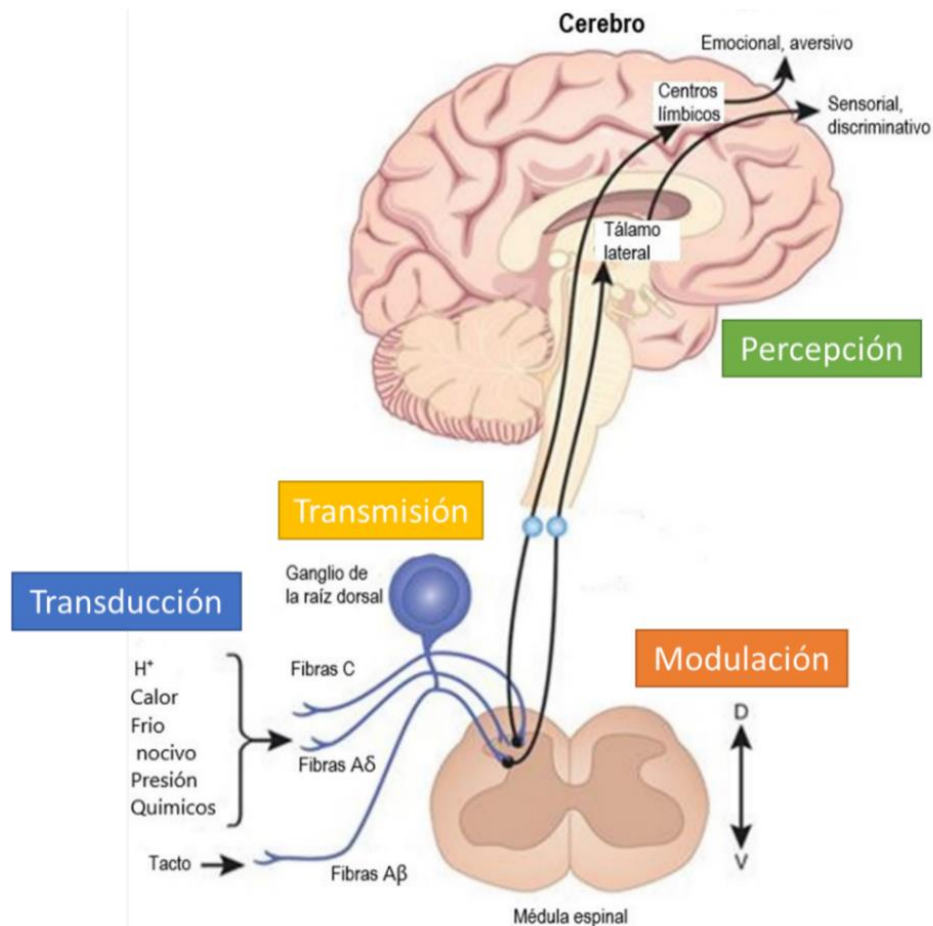


Figura 3. Nocicepción. La nocicepción comprende cuatro etapas para la transmisión de la información nociceptiva. La transducción es el mecanismo por el cual los nociceptores convierten los estímulos físicos, químico o mecánicos a potenciales de acción. La transmisión es la conducción de potenciales de acción a las neuronas de segundo orden localizadas en el asta dorsal de la médula espinal. En este sitio la información nociceptiva se modula y se transmite a centros superiores del SNC, principalmente al tálamo. Finalmente, la información se percibe como una sensación dolorosa en la corteza somatosensorial. Modificado de Kuner, 2010.

1.4.4 Sensibilización

La sensibilización es un estado de mayor excitabilidad de las aferentes primarias y de las neuronas de segundo orden por lo que se tiene un aumento en la percepción del dolor (Dubin y Patapoutian, 2010). La estimulación nociva repetida reduce el umbral de activación de los nociceptores facilitando su activación ante estímulos subumbrales, por lo que se amplifican las respuestas a estímulos dolorosos (Merskey y Bogduk, 1994; Latremoliere y Woolf, 2009). Las células implicadas en el proceso de sensibilización son las neuronas aferentes primarias, las neuronas de segundo orden, la microglía, las células de Schwann, las células satélite y los astrocitos (Abbadie et al., 2009; Gao y Ji, 2010; Ottestad y Angst, 2013). La sensibilización se produce a nivel periférico y central (Woolf, 2004).

1.4.4.1 Sensibilización periférica

La sensibilización periférica resulta de la reducción en el umbral de activación en la terminal aferente primaria debido a cambios en su fenotipo y propiedades intrínsecas, facilitando su activación por estímulos subumbrales, por lo que las respuestas a estímulos dolorosos se amplifican (Merskey y Bogduk, 1994; Latremoliere y Woolf, 2009). Las neuronas aferentes primarias, el tejido lesionado, las células del sistema inmune (macrófagos residentes, neutrófilos y linfocitos) y las células de Schwann liberan mediadores químicos que provocan la inflamación del tejido afectado (Gangadharan y Kuner, 2013). Entre los mediadores liberados se encuentran prostaglandinas, serotonina (5-HT), bradicinina, epinefrina, adenosina, adenosina trifosfato (ATP), factor de crecimiento neuronal (NGF), SP, CGRP y citocinas, entre otros (Woolf y Salter, 2000). Estos mediadores activan a sus respectivos receptores en la terminal periférica del nociceptor. La interacción ligando-receptor activa diversas cascadas de señalización que modulan la actividad transcripcional y la excitabilidad de las neuronas nociceptivas a través de la activación de cinasas como la proteína cinasa A (PKA), proteína cinasa C (PKC), proteína cinasa dependiente de calmodulina (CaMK) y proteína cinasa activada por mitógenos (MAPKs) que fosforilan diversos receptores y canales iónicos (TRPA1,

TRPV1, P2X3, ASICs, $Na_{v1.7}$, $Na_{v1.8}$, $Na_{v1.9}$) (Gangadharan y Kuner, 2013). La fosforilación modifica el umbral y la tasa de activación e inactivación de los canales iónicos y aumenta la magnitud de las corrientes despolarizantes (Woolf y Salter, 2000). Por otro lado, la activación de las fibras A δ y C generan potenciales de acción antidrómicos y ortodrómicos que inducen la liberación periférica y central de neuropéptidos como la SP y el CGRP (Wall y Devor, 1983). La SP y el CGRP provocan la despolarización de las terminales nerviosas vecinas y causan vasodilatación y extravasación plasmática que contribuyen al proceso inflamatorio y a la sensibilización (Adwanikar et al., 2007). Todos estos procesos incrementan la excitabilidad de los nociceptores, exacerbando y manteniendo el dolor (Fig. 4).

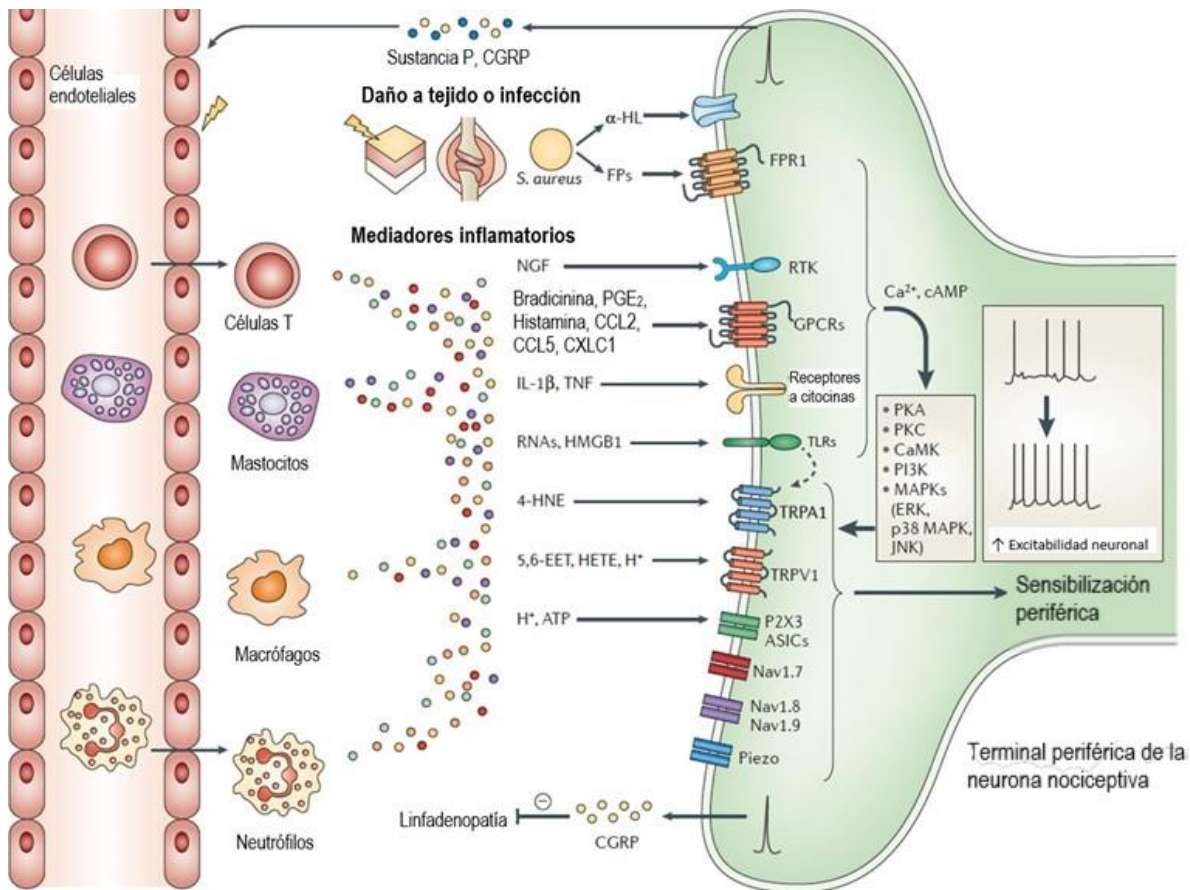


Figura 4. Sensibilización periférica. Las lesiones tisulares desencadenan la sensibilización periférica. La lesión tisular provoca la liberación de mediadores inflamatorios provenientes del tejido dañado, las neuronas aferentes primarias y las células del sistema inmune. Estos mediadores inflamatorios actúan sobre sus receptores ubicados en la membrana de la fibra aferente primaria y provocan una despolarización sostenida y reducen el umbral de activación de los nociceptores, lo que facilita la transmisión del dolor. Modificado de Ji et al., 2014. CGRP: péptido relacionado con el gen de calcitonina; α-HL: toxina α-hemolisina formadora de poros; FP's: péptidos N-formilados; NGF: factor de crecimiento neuronal; RTK: receptor de tirosina cinasa; PGE₂: prostaglandina E₂; CCL2: quimiocina CC-L2 o proteína quimioatrayente de monocitos 1; CCL5: quimiocina CC L5 o RANTES; CXCL1: quimiocina ligando 1 (CXC); GPCR's: receptores acoplados a proteína G; cAMP: adenosina monofosfato, cíclico; IL-1β: Interleucina 1β; TNF: factor de necrosis tumoral; RNAs: ácidos ribonucleicos; HMGB1: proteína de alta movilidad 1; TLRs: receptores tipo Toll; 4-HNE: 4-hidroxinonal; TRPA1: receptor de potencial transitorio de anquirina 1; 5,6-EET: ácido 5,6-epoxieicosatrienoico; HETE: ácido 5-hidroxiicosatetraenoico; H⁺: protón; TRPV1: receptor de potencial transitorio de vaniloide 1; ATP: adenosina trifosfato; P2X3: receptor purinérgico P2X3; ASICs: canales iónicos sensibles a ácido; Nav1.7: canal de sodio sensible a voltaje 1.7; Nav1.8: canal de sodio sensible a voltaje 1.8; Nav1.9: canal de sodio sensible a voltaje 1.9; PKA: proteína cinasa A; PKC: proteína cinasa C; CaMK: proteína cinasa dependiente de calmodulina; PI3K: cinasa dependiente de fosfoinositol 3; MAPKs: proteínas cinasas activadas por mitógenos; ERK: cinasa regulada por señal extracelular; p38 MAPK: p38 proteína cinasa activada por mitógenos; JNK: cinasa c-Jun N-terminal.

1.4.4.2 Sensibilización central

La activación sostenida de la terminal periférica provoca la sensibilización de las neuronas de segundo orden (Millan, 1999). La terminal central de las fibras A δ y C libera neurotransmisores (glutamato, SP y CGRP, entre otros), que actúan sobre sus receptores en las neuronas de segundo orden y activan cascadas de señalización. La sensibilización central modifica las corrientes iónicas, las propiedades eléctricas y provoca cambios en la expresión génica en las neuronas de proyección (Costigan y Woolf, 2000). Los mecanismos que subyacen a la sensibilización central son diversos y se pueden mencionar entre ellos a:

- Alteración en la transmisión glutamatérgica (Fig. 5 - 1). La terminal central de los nociceptores libera glutamato. Éste genera corrientes post-sinápticas excitatorias (EPSCs) en las neuronas de segundo orden por la activación de los receptores a ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y kainato. La despolarización de la membrana postsináptica conduce a la activación del receptor a glutamato tipo N-metil-D-aspartato (NMDA). La activación de los receptores AMPA, NMDA y de receptores a glutamato de tipo metabotrópicos (mGluR) permiten la entrada de Ca^{2+} al interior de la neurona post-sináptica. La entrada de Ca^{2+} provoca la activación de cascadas de señalización que activa a cinasas intracelulares, tales como la cinasa Src, ERK y la proteína cinasa Ca^{2+} /calmodulina II (CamKII). La cinasa Src fosforila al receptor NMDA y permite que permanezca activo. Adicionalmente, la cinasa ERK activa a la PKC que fosforila a los receptores AMPA y NMDA. La fosforilación de estos receptores aumenta su sensibilidad por glutamato, aumenta el tiempo de apertura (cinética) e incrementa su distribución, provocando la excitabilidad sostenida de las neuronas del asta dorsal (Baranauskas y Nistri, 1998; Yu y Salter, 1999; Costigan y Woolf, 2000; Basbaum et al., 2009).
- Desinhibición o la pérdida del control inhibitorio (Fig. 5 - 2). Se ha descrito que el dolor crónico disminuye la expresión del cotransportador KCC2 en las neuronas de segundo orden. Este cotransportador es esencial para mantener el gradiente de cloruro (Cl^-) (Coull et al., 2003). La disminución de KCC2 en

la neurona de proyección aumenta la concentración de Cl^- intracelular ($[\text{Cl}^-]_i$). Bajo estas condiciones, la activación de los receptores GABA_A provoca la despolarización de la membrana, favoreciendo la excitabilidad y la transmisión del dolor (Basbaum et al., 2009). Además, la modulación glicinérgica se pierde en la sensibilización central. La prostaglandina E2 (PGE2) que se libera por la neurona de proyección actúa sobre los receptores EP2 expresados en interneuronas excitadoras y en las mismas neuronas de segundo orden. La activación del receptor EP2 activa la vía AMPc-PKA que fosforila a la subunidad $\text{GlyR}\alpha_3$ del receptor de glicina, provocando que las neuronas no respondan a los efectos inhibidores de la glicina (Harvey et al., 2004).

- Activación de la microglía (Fig. 5 - 3). En condiciones de dolor crónico, el ATP liberado de sitios lesionados activa a los receptores purinérgicos P2X_4 , P2X_7 y P2Y_{12} presentes en la microglía. Esto provoca a su vez la activación y proliferación de la microglía en el asta dorsal de la médula espinal (Tsuda et al., 2003; Chessell et al., 2005; Haynes et al., 2006; Kobayashi et al., 2008). La activación del receptor P2X_4 induce la síntesis y la liberación del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). El BDNF actúa sobre los receptores TrkB en las neuronas de segundo orden, generando un cambio en el gradiente de Cl^- . Adicionalmente, la fractalcina (CX3CL-1) activa a la microglía. La CX3CL-1 funciona como un mecanismo de retroalimentación positiva entre las fibras nerviosas lesionadas y la microglía (Basbaum et al., 2009; Ji et al., 2014). La activación de la microglía conduce a cambios moleculares que involucran la secreción de moléculas de señalización como BDNF, ATP, óxido nítrico (NO), quimiocinas (CCL2), interleucina 1β (IL- 1β), interleucina 6 (IL-6) y citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa ($\text{TNF}\alpha$), que sensibilizan a las neuronas de proyección (Costigan y Woolf, 2000; Basbaum et al., 2009).

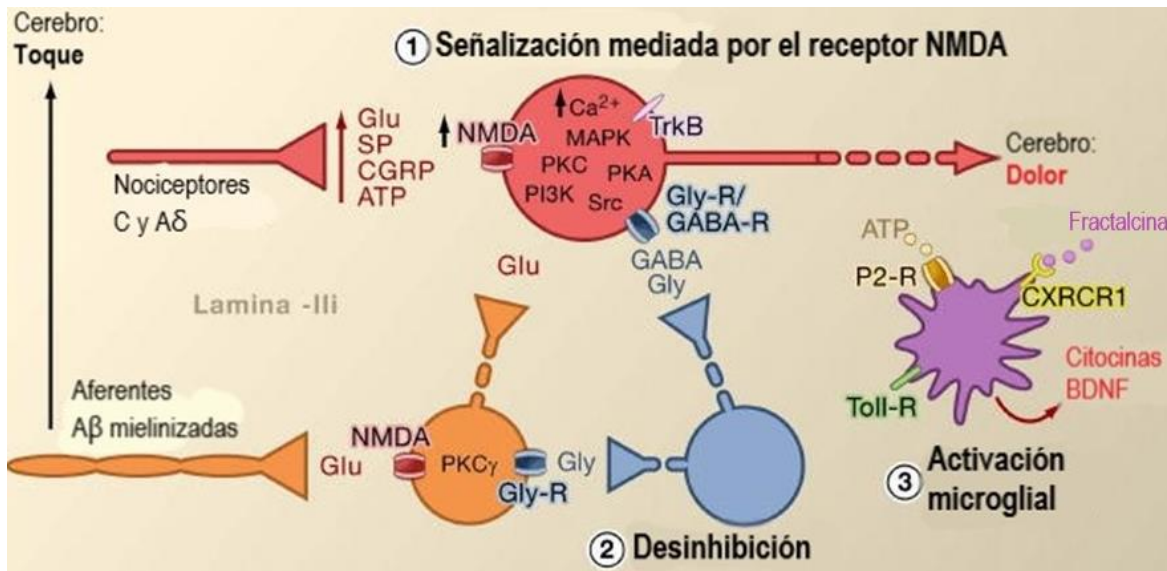


Figura 5. Sensibilización central. La sensibilización central se produce por 3 mecanismos principales: 1) la señalización mediada por el receptor NMDA, 2) la desinhibición o pérdida del control inhibitorio y 3) la activación de la microglía. Los tres mecanismos pueden funcionar de forma independiente o paralela. Modificado de Basbaum et al., 2009. Glu: glutamato; SP: sustancia P; CGRP: péptido relacionado con el gen de la calcitonina; ATP: adenosina trifosfato; NMDA: receptor de glutamato NMDA; Gly-R: receptor de glicina; MAPK: proteína cinasa activada por mitógenos; PKC: proteína cinasa C; PI3K: cinasa PI3; PKA: proteína cinasa A; Src: proteína cinasa Src; GABA-R: receptor de GABA; Toll-R: receptor tipo Toll; P2-R: receptor purinérgico 2; CXCR1: receptor de fractalcina 1; BDNF: factor neurotrófico derivado de cerebro.

1.5. Participación de las citocinas en el dolor

Las citocinas, entre las que se encuentran las linfocinas, monocinas, quimiocinas e interleucinas, son un grupo de proteínas secretadas por células del sistema inmune que se liberan al medio extracelular en respuesta a diversos estímulos inmunológicos (Zhang y An, 2007).

Las lesiones en la fibra nerviosa y los procesos inflamatorios reclutan macrófagos y células de Schwann alrededor del sitio de lesión. Estas células secretan citocinas y factores de crecimiento necesarios para la regeneración del nervio lesionado y participan también en la modulación de la respuesta nociceptiva. Por ejemplo, las citocinas proinflamatorias promueven la sensibilización de neuronas en la periferia y en el SNC (Zhang y An, 2007; Kawasaki et al., 2008; Ren y Dubner, 2010; Gao y Ji, 2010). Entre las citocinas que se han relacionado con procesos de dolor se encuentran IL-1 β , IL-2, IL-6, IFN- γ y TNF α . Se ha demostrado que estas citocinas aumentan en el plasma de pacientes con dolor crónico y se han correlacionado con la intensidad del dolor (Koch et al., 2007). Por otra parte, la administración del

adyuvante completo de Freund eleva la concentración de TNF α , IL-1 β y NGF en ratas (Woolf et al., 1997). Además, las citocinas TNF α e IL-1 β inducen sensibilización de las neuronas del asta dorsal y aumentan la neurotransmisión excitadora, mientras que la IL-6 bloquea la neurotransmisión inhibitoria en modelos animales (Kawasaki et al., 2008). De acuerdo con esto, se ha demostrado que fármacos con actividad antiinflamatoria, como la minociclina, previenen y retrasan el desarrollo del dolor (Raghavendra et al., 2003; Hua et al., 2005; Curiel-Gómez, 2018). Estos datos sugieren que las citocinas proinflamatorias son esenciales en la sensibilidad periférica y central para inducir dolor.

1.5.1 Factor de necrosis tumoral

El TNF α es un mediador de la respuesta inflamatoria a patógenos y/o daño (Abbas et al., 2015). Esta citocina regula varios procesos celulares como proliferación, supervivencia, diferenciación y apoptosis en linfocitos, miocitos, macrófagos, células endoteliales, mastocitos, fibroblastos y neuronas (Aggarwal, 2003; Ma et al., 2016). El TNF α se sintetiza como una proteína transmembranal de 212 aminoácidos (tmTNF) y posteriormente se escinde del dominio extracelular por la enzima convertidora de metaloproteasa de matriz TNF (TACE). El TNF α se libera como un homotrímero soluble (sTNF) que es biológicamente activo (Olmos y Lladó, 2014; Ma et al., 2016).

El TNF α actúa sobre los receptores TNFR1 y TNFR2 que tienen patrones diferentes de expresión y de cascadas de señalización (Olmos y Lladó, 2014; Abbas et al., 2015). El receptor TNFR1 se expresa de forma constitutiva en el SNC, los nervios periféricos y las células de Schwann (Breder et al., 1993; Ren y Dubner, 2010). Por otro lado, el TNFR2 es inducible en el SNC y no se expresa de forma constitutiva en células del GRD y de la médula espinal (Wheeler et al., 2014). El TNF α tiene mayor afinidad por el TNFR1 (Ma et al., 2016). El receptor TNFR1 tiene dominios citoplasmáticos homólogos llamados dominios de muerte (DD) esenciales para iniciar la apoptosis. La formación del complejo TNF α -receptor provoca un cambio conformacional que resulta en la separación del receptor de las proteínas inhibitorias de DD para formar un complejo con la proteína de dominio de muerte

relacionada con TNFR1 (TRADD). Este complejo recluta a la proteína RIP, al factor 2 asociado al receptor de TNF (TRAF2) y al dominio de muerte asociado a Fas (FADD). Este último activa a las caspasas 8 y 10 que conducen a la apoptosis. Además, el TNF α activa la vía del factor nuclear kB (NF- κ B), la vía de la p38 MAPK, la cinasa regulada por señal extracelular (ERK), la cinasa c-Jun N-terminal (JNK), la esfingomielinasa ácida (A-SMase) y la esfingomielinasa neutra (N-SMase). La activación de estas vías provoca la expresión de citocinas proinflamatorias (Olmos y Lladó, 2014; Ma et al., 2016).

1.5.2 TNF α y dolor

El TNF α tiene un papel importante en la sensibilización periférica y central al unirse a sus receptores presentes en neuronas de primer y segundo orden. El TNF α reduce el umbral de activación de las fibras C generando alodinia mecánica (Junger y Sorkin, 2000). También se ha reportado que las lesiones a la fibra aferente primaria aumentan la expresión de los receptores TNFR1 y TNFR2 en axones y cuerpos celulares del GRD y su activación aumenta la tasa de descarga en las fibras A δ (Shubayev y Myers, 2001; Schäfers et al., 2008). La unión de TNF α con su receptor activa la vía p38 MAPK que incrementa la corriente de los canales Na $_v$ resistentes a tetrodotoxina, promoviendo un estado de mayor excitabilidad (Chen et al., 2015; Gudes et al., 2015). Además, se ha reportado que el TNF α aumenta las corrientes de Ca $^{2+}$, reduce las corrientes sinápticas inhibitoras, aumenta las corrientes excitadoras espontáneas e inhibe la excitabilidad de las neuronas GABAérgicas a través de la vía TNFR1 p38 MAPK (Pollock et al., 2002; Zhang y Dougherty, 2011; Zhang et al., 2013). La activación de receptor TNFR1 aumenta la expresión del receptor TRPV1 en neuronas del GRD (Schaible et al., 2010).

Por otra parte, la administración de TNF α produce conductas nociceptivas en modelos animales (Tabla 1). El TNF α aumenta las conductas nociceptivas provocadas por agentes inflamatorios como carragenina o formalina, lo que produce hipersensibilidad, alodinia mecánica e hiperalgesia térmica. El TNF α produce proliferación y migración de macrófagos, secreción de citocinas y extravasación plasmática en la periferia conduciendo a un proceso inflamatorio. Asimismo, la

administración de antagonistas o bloqueadores de TNF α y su receptor disminuye las conductas nociceptivas y la hiperalgesia provocada por la administración de TNF α , carragenina, formalina y ligadura de los nervios espinales (LNE). Además, los ratones KO del receptor TNFR1 presentan una menor hipersensibilidad al dolor por carragenina (Tabla 1).

Tabla 1. Efectos de TNF en la nocicepción. La administración de TNF α aumenta las conductas nociceptivas, y el bloqueo farmacológico de TNF α revierte sus efectos.

Modelo	Sustancia administrada	Vía o sitio de administración	Efecto	Referencia
Randall-Selitto (ratas)	- TNF α	Intraplantar	TNF α produce hiperalgesia dosis independiente.	Cuhna et al., 1992
Modelo de bradicinina	- Antisuero neutralizante de TNF α - TNF α	Intraplantar	La administración de TNF α produce hiperalgesia. El antisuero revierte las conductas provocadas por bradicinina.	Ferreira et al., 1993
Ratas naïve	- TNF α	Nervio ciático	El TNF α produce alodinia mecánica e hiperalgesia térmica.	Wagner y Myers, 1996
Modelo de dolor inflamatorio	- Adyuvante completo de Freund (CFA) - TNF α recombinante - Antisuero anti-TNF α	Intraplantar	La administración de CFA aumenta los niveles de TNF α . El TNF α recombinante aumenta la sensibilidad térmica y mecánica y aumenta los niveles de IL-1 β y NGF. El antisuero anti-TNF α reduce los efectos de TNF α y CFA.	Woolf et al., 1997
Ratas naïve	TNF α	Subcutánea	El TNF disminuye el umbral mecánico en ratas. EL TNF sensibiliza las fibras C. El TNF produce extravasación plasmática.	Junger y Sorkin, 2000
Modelo de hiperalgesia inflamatoria	- Carragenina, bradicinina, TNF α y PGE2 Talidomida	Intraperitoneal	La talidomida inhibe la hiperalgesia provocada por carragenina o bradicinina, pero no la provocada por TNF α o PGE2.	Ribeiro et al., 2000
Ratas naïve	- TNF α - Anticuerpo anti-TNF α	Nervio ciático	Antinocicepción.	Sorkin y Doom, 2001
Cultivo de neuronas del GRD	- TNF α	Cultivo	Aumento de la ICa y aumento en la [Ca ²⁺] _i .	Pollock et al., 2002
Modelo de dolor neuropático	- TNF α	GRD	El TNF α aumenta la alodinia mecánica en el dolor neuropático.	Homma et al., 2002
Animales intactos y con ligadura del nervio espinal (LNE)	- TNF α - Etanercept	GRD L5	El TNF α aumenta alodinia y en dolor espontáneo en ratas con LNE. El etanercept disminuye la alodinia.	Schäfers et al., 2003a

Tabla 1. Efectos de TNF en la nocicepción (continuación).

Modelo	Sustancia administrada	Vía o sitio de administración	Efecto	Referencia
LNE en rata	Anticuerpos para TNFR 1 y 2	Inmunoreactividad en GRD	La LNE aumenta la expresión de los receptores TNFR1 y 2 en el GRD.	Schäfers et al., 2003b
LNE en rata	- Inhibidor de la p38 MAPK - Etanercept	Intraperitoneal	La inhibición de p38 disminuye la alodinia. El etanercept disminuye la alodinia mecánica y bloquea la activación de p38.	Schäfers et al., 2003c
Ratones Knock out (KO) y silvestres (WT) del receptor TNFR1	- Carragenina - TNF α	Intravenosa	Carragenina aumenta los niveles de TNF α y otras citocinas. Carragenina produce hipersensibilidad en ratones WT. Carragenina induce una menor hipersensibilidad en ratones KO. El TNF α produce hipernocicepción en ratones WT pero no en ratones KO.	Cunha et al., 2005
LNE en rata	- Etanercept	Sistémica e intratecal	La administración de etanercept disminuye la alodinia y la fosforilación de p38.	Svensson et al., 2005
Ratas naïve y GDR de ratas con SNL	Proteínas R1 y R2 (derivadas de TNF α) son activadores selectivos de TNFR1 y 2 respectivamente	Intratecal	La proteína R1 reduce ligeramente los umbrales mecánicos y térmicos en ratas. Las proteínas R1 y R2 tienen un efecto mayor en los umbrales mecánicos y térmicos. Las proteínas R1 y R2 aumentan la tasa de descarga de las fibras A δ .	Schäfers et al., 2008
Modelo de carragenina	- Anticuerpo anti-TNF α - Talidomida	Intraplantar	El anticuerpo de TNF α inhibe el edema y la alodinia mecánica. La talidomida disminuye las respuestas inflamatorias y nociceptivas de carragenina.	Rocha et al., 2006
Modelo de carragenina	- Etanercept	Intraplantar	La administración de etanercept disminuye las conductas nociceptivas evocadas por carragenina	Choi et al., 2010
Modelo de artritis	- Etanercept	Intraganglionar	El etanercept disminuye la hiperalgesia y evita la migración de macrófagos al GRD.	Schaible et al., 2010

1.6. Estrés y dolor

Existe evidencia de que el estrés modula la percepción e intensidad del dolor (Olango y Finn, 2014). Se ha descrito que la exposición a estrés agudo e intenso reduce la respuesta al dolor. Este fenómeno se denomina analgesia inducida por estrés (revisado por Jennings et al., 2014). Sin embargo, la exposición a estrés crónico disminuye el umbral del dolor en humanos y aumenta la intensidad del dolor en patologías como la fibromialgia, el síndrome del colon irritable y la artritis reumatoide (Delvaux, 1999; Herrmann et al., 2000; Wood, 2004). Asimismo, el

estrés crónico produce hipersensibilidad al dolor, hiperalgesia y alodinia en roedores en diferentes modelos experimentales (Tabla 2). Por lo tanto, el efecto del estrés sobre la nocicepción depende del tipo de estresor y del periodo de exposición (Olango y Finn, 2014).

Las neuronas del asta dorsal de la médula espinal, del GRD y la microglía expresan receptores a glucocorticoides (receptor a glucocorticoide y a mineralocorticoide) (Khasar et al., 2008; Shaqura et al., 2016; Ibrahim et al., 2016). Las lesiones del nervio espinal en el modelo de LNE aumentan la expresión del receptor a glucocorticoides, mientras que, el bloqueo del receptor revierte la alodinia mecánica y la hiperalgesia térmica observada en el modelo de LNE (Takasaki et al., 2005), indicando que los glucocorticoides participan en la nocicepción.

Por otra parte, se ha descrito que el estrés crónico aumenta la liberación de glucocorticoides y catecolaminas de manera prolongada lo que produce hiperalgesia (Khasar et al., 2008; Velázquez-Lagunas, 2016). En el modelo de estrés crónico por derrota social se genera alodinia sin una lesión al sistema somatosensorial, pero se promueve un ambiente de neuroinflamación en la médula espinal. En este modelo, el estrés promueve la activación de la microglía y la expresión de RNAm de mediadores inflamatorios (Sawicki et al., 2019). Por otro lado, el estrés induce la liberación de glutamato y aumenta la activación de sus receptores (NMDA, AMPA y mGluR) en la médula espinal (Quintero et al., 2011).

La hipersensibilidad por estrés crónico también se ha asociado con la pérdida de los mecanismos inhibitorios a través de la vía de BDNF-trkB-KCC2-GABA_A (Dai y Ma, 2014). En apoyo a esta idea, el estrés disminuye y retarda la liberación de GABA después de un estímulo doloroso (Quintero et al., 2011). Además, el estrés crónico aumenta la liberación de BDNF y disminuye la expresión de cotransportador KCC2. La administración de un activador de KCC2 disminuye la hipersensibilidad al dolor en ratas con estrés crónico (Curiel-Gómez, 2018).

Tabla 2. Estrés y dolor. El estrés crónico produce dolor en modelos animales.

Modelo	Duración	Conducta nociceptiva	Tratamiento/receptores	Liberación de corticosterona	Referencia
Nado forzado	10-20 min/día; 3 días	Hiperalgnesia química inducida por formalina (rata)	↓ liberación de GABA ↑ liberación de glutamato	-	Quintero et al., 2000
Restricción de movimiento	1 h/5 días a la sem; 8 sem	Hiperalgnesia térmica (rata)	Morfina (5 mg/kg)	-	Da Silva-Torres et al., 2003
Restricción de movimiento	6 h/día por 3 sem	Hiperalgnesia térmica (rata)	pERK/5-HT en neuronas de RVM, NRM y LC	Corticosterona aguda, 2 y 3 semanas (300, 371, 375 ng/ml, respetivamente)	Imbe et al., 2004
Restricción de movimiento	1 h/5 días a la sem; por 8 sem	Hiperalgnesia química inducida por formalina (rata)	Morfina (5 mg/kg)	Corticosterona 8 sem	Gameiro et al., 2005
Restricción de movimiento	1 h/5 días a la sem; por 8 sem	Hiperalgnesia química inducida por formalina (40 días) (rata)	Fluoxetina 10 mg/kg Morfina 5 mg/kg	Corticosterona 0.5 y 1 hora, 3 y 40 días después. ACTH no cambió	Gameiro et al., 2006
Restricción de movimiento	1 h/5 días a la sem; por 5 sem	Formalina. Hiperalgnesia y alodinia táctil (rata)	-	-	Bardin et al., 2009
Impedimento de la ingesta de agua	1 h/día por 10 días	Hiperalgnesia visceral y activación de la microglía (rata)	p-p38/OX-42, NK1, IKBa	Corticosterona al día 10 (320 ng/ml)	Bradesi et al., 2009
Derrota social	15 días	Hiperalgnesia muscular y alodinia táctil (rata)	R-CCK2 COX-2 iNOS	-	Rivat et al., 2010
Derrota social	-	Hiperalgnesia visceral (rata)	TLR4	IL-1 β , TNF α	Tramullas et al., 2014
Restricción de movimiento	2 h/día por 10 días	Ansiedad (rata)	↑ R-P2X7, ↑Panx1 en neuronas, microglía y astrocitos	Glutamato, ATP	Orellana et al., 2015
Nado forzado	10-20 min/día; por 3 días	Hiperalgnesia térmica (rata)	Meloxicam Ketoprofeno	Corticosterona 2 días después (520 pg/ml). Los fármacos redujeron estos niveles	Guevara et al., 2015
Restricción de movimiento	2-8 h/día; por 2 sem	Alodinia táctil (rata)	P2X7	-	Li et al., 2016
Restricción de movimiento	2 h/día; por 28 días	Alodinia mecánica e hiperalgnesia térmica (rata)	Glicirricina, LPS-RS y C-34 TLR4	-	Velázquez-Lagunas, 2017
Restricción de movimiento	2 h/día por 28 días	Alodinia mecánica e hiperalgnesia térmica (rata)	↑BDNF ↓KCC2 Minociclina	-	Curiel-Gómez, 2018

Tomada y modificada de Velázquez-Lagunas, 2016. Sem: semana; RVM: médula rostral ventro medial; NRM: núcleo de rafé magno; LC: locus cerúleo; ACTH: hormona adrenocorticotrópica; LPS-RS: lipopolisacárido de *Rhodobacter sphaeroides*; *Panx1*: Panexina 1.

1.6.1 Estrés y TNF α

El aumento de citocinas y corticosterona en respuesta a la aplicación de estímulos aversivos (físicos o psicológicos) produce neuroinflamación, aumenta la percepción dolorosa y los comportamientos tipo ansiedad en roedores (Deak et al., 2015; Sawicki et al., 2019). El estrés psicológico en roedores activa a la microglía e incrementa la expresión de IL-1 β , TNF α , CCL2 y TLR4 en la médula espinal (Sawicki et al., 2019). Particularmente, la vía TLR4/NF- κ B participa en el dolor neuropático, inflamatorio y postquirúrgico de forma importante (Yuan et al., 2014; Sun et al., 2015; Liu et al., 2018; Sun et al., 2018). La activación de la vía TLR4/NF- κ B participa en la neuroinflamación que subyace a los procesos de sensibilización en el dolor crónico y conduce a la liberación de citocinas proinflamatorias como el TNF α . También, se ha reportado que el TNF α promueve la liberación de HMGB1 y estimula la vía del TLR4, retroalimentando al proceso inflamatorio (Wang et al., 1999; Kent et al., 2011). La proteína HMGB1 es una alarmina que participa en procesos inflamatorios y mediante la activación del receptor TLR4 participan en el dolor inflamatorio (Sun et al., 2018). De forma paralela, el TNF α activa la vía de NF- κ B a través de su unión al receptor TNFR1, lo que produce mayor liberación de citocinas proinflamatorias (Olmos y Lladó, 2014; Ma et al., 2016). Además, el TNF α recluta neutrófilos y promueve la liberación sostenida de IL-8 y TNF α en roedores (Cunha y Tamashiro, 1992; Vieira et al., 2009).

Por otra parte, se ha reportado que la administración intratecal de glicirricina, un inhibidor de la proteína HMGB1, reduce la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico en el modelo de restricción de movimiento. De forma similar, se demostró que el bloqueo del receptor TLR4 también disminuye la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico (Velázquez-Lagunas, 2017).

2. Justificación

El estrés crónico induce un aumento en la sensibilidad dolorosa. Sin embargo, los mecanismos moleculares que producen la hipersensibilidad al dolor en el estrés crónico no se conocen bien. Las citocinas proinflamatorias tienen un papel importante en la sensibilización dolorosa periférica y central, al igual que en el mantenimiento del estrés crónico. En particular, el TNF α participa en la inducción de conductas nociceptivas y promueve la liberación de citocinas y alarminas de macrófagos y monocitos. En el modelo de estrés crónico por restricción de movimiento se ha descrito que los animales desarrollan alodinia mecánica y que la alarmina HMGB1 y el receptor TLR4 participan en generar esta conducta nociceptiva. Sin embargo, se desconoce si el TNF α participa en la generación y/o mantenimiento de la alodinia táctil inducida por estrés crónico. Por otra parte, no se conoce si el estrés crónico por restricción de movimiento puede inducir alodinia mecánica en ratas que cohabitan con los animales estresados, de manera similar a lo reportado en modelos de transferencia social del estrés. Por lo tanto, es de nuestro interés determinar si el TNF α y su receptor TNFR1 participan en la alodinia mecánica que se observa en los animales sujetos a estrés crónico por restricción de movimiento y en ratas que cohabitan con aquellos individuos que reciben directamente el estímulo estresor.

3. Hipótesis

El TNF α y su receptor TNFR1 participan en la hipersensibilidad al dolor en ratas expuestas a estrés crónico por restricción de movimiento y en animales que cohabitan con sujetos expuestos a estrés crónico.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Determinar el papel del TNF α y el receptor TNFR1 en la hipersensibilidad al dolor inducida en ratas expuestas a estrés crónico y en aquellos animales que cohabitan con sujetos expuestos a estrés.

4.2. Objetivos particulares

1. Estandarizar el modelo de dolor inducido por estrés crónico por restricción de movimiento y por transferencia social del estrés en ratas.
2. Determinar, mediante herramientas farmacológicas, la participación del TNF α y su receptor TNFR1 en la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico por restricción de movimiento y por transferencia social del estrés.

5. Metodología

5.1. Animales

Los experimentos se realizaron utilizando ratas hembras o machos de la cepa Wistar con un peso corporal de 210-220 g. Los animales se obtuvieron del bioterio del Cinvestav, Sede Sur. Éstos se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura y humedad, con ciclos de luz-oscuridad 12:12 h y con agua y alimento *ad libitum*. Todos los experimentos se realizaron con base en las guías sobre aspectos éticos para la investigación del dolor experimental en animales (Zimmermann, 1983). El Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (CICUAL) del Cinvestav aprobó el protocolo de este estudio (0092-14).

5.2. Fármacos

La talidomida, inmunomodulador que inhibe la síntesis de TNF α (Cat. #50-53-1, Sigma-Aldrich St. Louis, Mo), y el R7050, antagonista del receptor TNFR1 (Cat. #5432, Tocris Bioscience, Bristol), se disolvieron en DMSO al 30%. La administración intratecal (i.t.) se realizó en un volumen final de 20 μ l por rata, la administración intraperitoneal (i.p.) se realizó en un volumen final de 1 ml por rata y la administración subcutánea (s.c.) se realizó en un volumen final de 50 μ l.

5.3. Modelo de hipersensibilidad al dolor inducido por estrés crónico por restricción de movimiento

La hipersensibilidad al dolor se indujo mediante estrés crónico por restricción de movimiento. La restricción de movimiento se llevó a cabo utilizando restrictores (tubos o cilindros) de acrílico, los cuales se ajustaron al tamaño de cada rata. Las ratas se mantuvieron en los restrictores durante 2 h diarias por 6 días durante 4 semanas consecutivas. Al finalizar cada sesión de estrés los animales se devolvieron a su caja hogar.

La alodinia táctil se evaluó 24 h después de la última sesión de estrés crónico (para evitar los efectos agudos del estrés) a los días 0, 1, 3, 7, 14, 21 y 28 días (Fig. 6). Los grupos se conformaron de 6 animales para cada condición experimental.

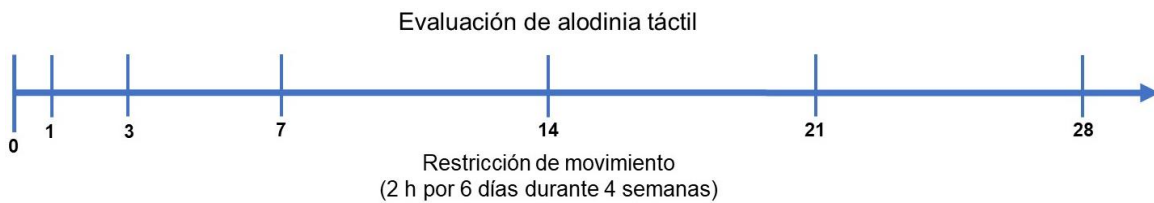


Figura 6. Diseño experimental para la evaluación de la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico por restricción de movimiento. La alodinia táctil se evaluó a los días señalados.

5.4. Modelo de hipersensibilidad al dolor inducida mediante transferencia social del estrés

Se determinó la hipersensibilidad al dolor en ratas que cohabitan con ratas sometidas a estrés crónico.

Los grupos se conformaron por 8 ratas en total, 5 ratas fueron sometidas a estrés crónico por restricción de movimiento y 3 ratas cohabitaron con los animales estresados. La alodinia táctil se evaluó 24 h después de la última sesión de estrés crónico de los animales estresados a los días 0, 1, 3, 7, 14, 21 y 28 (Fig. 7).

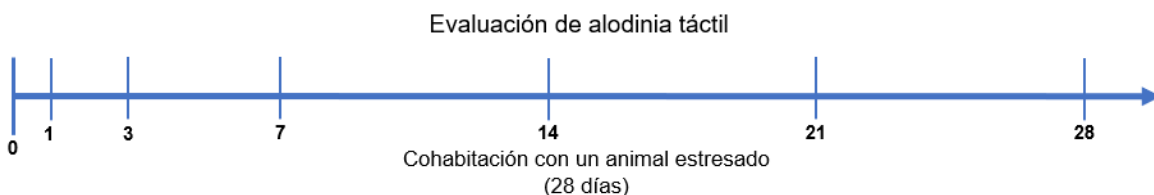


Figura 7. Diseño experimental para la evaluación de la hipersensibilidad al dolor por transferencia social del estrés. La alodinia táctil se evaluó a los días señalados.

El grupo control se conformó por 8 ratas que se manipularon para descartar que la manipulación genera estrés en las ratas. El grupo se dividió en dos subgrupos. El primer subgrupo de 5 ratas se manipuló durante 2 horas y el segundo subgrupo de 3 animales se colocó durante 2 horas en una caja diferente. Posteriormente, ambos subgrupos se devolvieron a su caja hogar.

5.5. Evaluación de las conductas de olfateo (transferencia social del estrés)

Las conductas de olfateo en la zona torso-cabeza y anogenital se evaluaron durante los primeros 5 min de interacción entre una rata sometida al protocolo de estrés por restricción de movimiento y su compañero de caja (sin restricción de movimiento). Las conductas de olfateo se evaluaron en 6 pares de ratas independientes. La evaluación se realizó los días 1, 3, 7, 14, 21 y 28 post-estrés (Fig. 8).

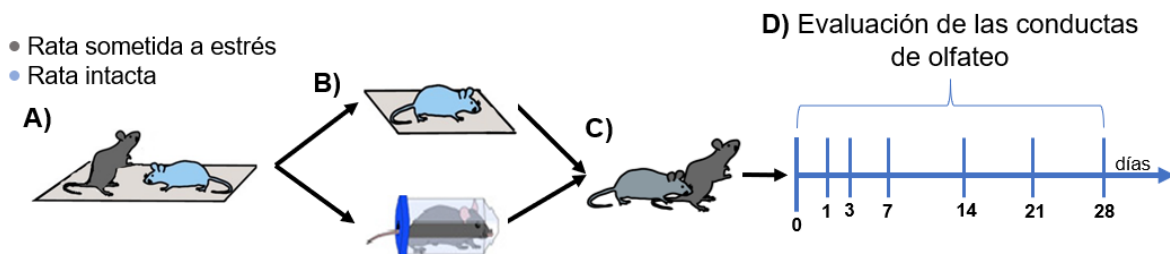


Figura 8. Diseño experimental de la evaluación de las conductas de olfateo (transferencia social del estrés). Las parejas de ratas se mantuvieron cohabitando durante 28 días (A). Una rata de cada pareja se sometió al protocolo de restricción de movimiento (B). Posteriormente, la rata sometida a estrés se devolvió con su compañera no estresada y se evaluaron las conductas de olfateo durante los primeros 5 min de contacto (C). La evaluación se realizó a los días señalados (D).

5.6. Evaluación de hipersensibilidad al dolor

La alodinia táctil se evaluó por el método de *Up and Down* (Chaplan et al., 1994). Se aplicaron una serie de filamentos calibrados de von Frey sobre la superficie plantar durante 10 segundos. La respuesta se consideró positiva si la rata retiraba la pata y se registró mediante una "X". Por el contrario, la respuesta negativa representa la ausencia en el retiro de la extremidad y se registró mediante un "O". Después del primer cambio de respuesta de positivo a negativo o viceversa se realizaron 4 mediciones adicionales con el fin de obtener 6 mediciones. Se calculó el 50% de umbral de retiro a partir de los datos obtenidos y del calibre del último finalmente utilizado. El 50% de umbral de retiro se calculó con la siguiente fórmula:

$$50\% \text{ umbral } (g) = \frac{10^{Xf + k\delta}}{10\ 000}$$

Dónde:

X_f : valor del último filamento de von Frey utilizado (en unidades de log).

k: factor de corrección basado en los patrones de respuesta de la tabla de calibración y al valor tabulado en base al patrón de respuestas positivas y negativas.

δ : diferencias de promedio entre estímulos (unidades log).

5.7. Evaluación de la actividad motora

La prueba de coordinación motriz consistió en evaluar la capacidad de los animales para mantenerse en un cilindro (Rota-rod) que gira a una velocidad de 11 rpm. Se determinó el número de veces que el animal cae del cilindro durante los 5 min que duro la prueba. Previo a la prueba los animales se entrenaron en el Rota-rod durante 10, 5 y 5 min cada día durante 3 días.

5.8. Diseño experimental

5.8.1 Participación del TNF α y TNFR1 en la hipersensibilidad al dolor por estrés crónico o transferencia social del estrés

La participación del TNF α y del receptor TNFR1 en la hipersensibilidad al dolor se determinó mediante la administración de dosis crecientes de talidomida por vía i.p. (5, 50 y 100 mg/kg) e i.t. (0.01, 0.1 y 1 μ g/20 μ l), el R7050 se administró por vía i.t. (0.1, 1 y 10 μ g/20 μ l) y el vehículo (DMSO al 30%) por vía i.t. o i.p. al día 28 post-estrés crónico y post-cohabitación. La alodinia táctil se evaluó a diferentes tiempos (0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 h) post-administración de los fármacos o el vehículo (Fig. 9). Los grupos experimentales fueron de 6 ratas para cada condición experimental.

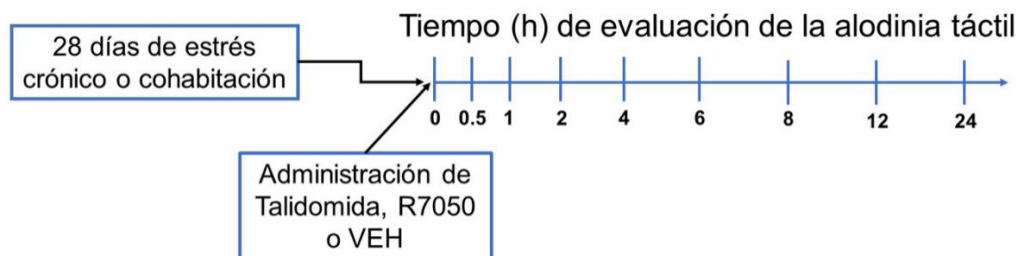


Figura 9. Diseño farmacológico para la evaluación del efecto de TNF α y TNFR1 sobre la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico o por transferencia social del estrés. La alodinia táctil se evaluó mediante el método de Up and Down. VEH: vehículo.

5.9. Análisis estadístico

Los datos se reportan como el promedio \pm el error estándar de la media (EEM) de cada grupo experimental. Los cursos temporales se construyeron a partir de los valores del umbral de retiro en función del tiempo (horas o días según sea el caso). El área bajo la curva se calculó por el método de los trapecoides (Tallarida y Murray, 1981).

Las diferencias estadísticas entre grupos se determinaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) de una o dos vías seguido de la prueba de Bonferroni o una prueba de t de student, mediante el programa estadístico Graph Prism 6.0 (GraphPad Inc., San Diego, CA). Los valores de $p < 0.05$ se consideraron significativos.

6. Resultados

6.1. El estrés crónico por restricción de movimiento produce hipersensibilidad al dolor

El estrés crónico por restricción de movimiento produjo alodinia táctil tanto en ratas hembras (Fig. 10A) como en machos (Fig. 10B) a partir del día 21 posterior de haber iniciado el protocolo de restricción de movimiento. La alodinia táctil se observó de manera similar en ambas extremidades traseras de la rata.

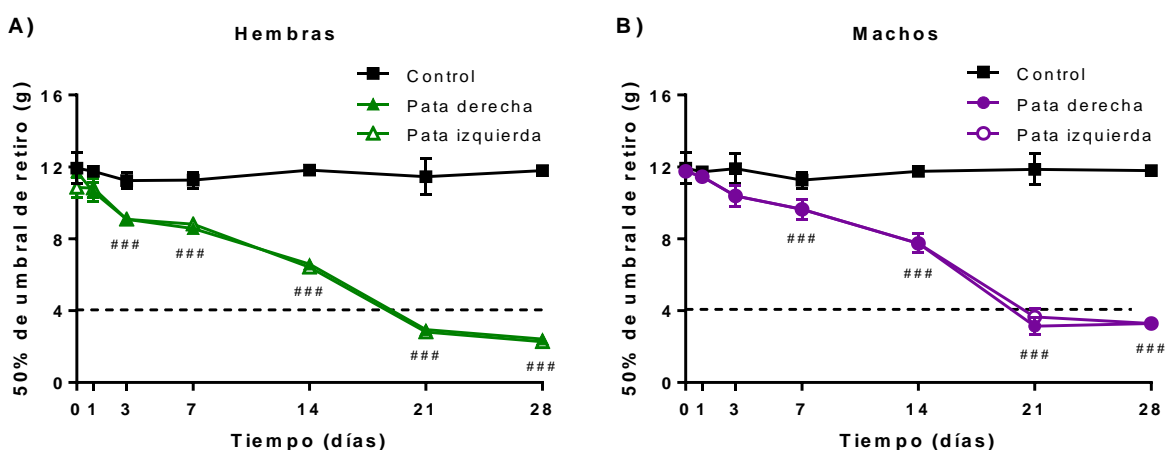


Figura 10. Curso temporal del 50% de umbral de retiro de ratas sometidas a estrés crónico por restricción de movimiento. El estrés crónico produjo alodinia táctil en ambas extremidades traseras. A) Curso temporal del 50% del umbral de retiro de ratas hembras. B) Curso temporal del 50% del umbral de retiro de ratas machos. Los datos se expresan como el promedio \pm EEM ($n = 6$). ### $p < 0.001$ vs Control por análisis de ANOVA de dos vías/Bonferroni.

6.2. La transferencia social del estrés en ratas intactas produce hipersensibilidad al dolor

La cohabitación de ratas intactas con ratas que se sometieron a estrés crónico por restricción de movimiento produjo alodinia táctil (Fig. 11). La hipersensibilidad al dolor se observó tanto en ratas hembras (Fig. 11A) como en machos (Fig. 11B). Los animales que cohabitaron con sujetos estresados presentaron alodinia táctil en ambas extremidades traseras. El umbral de retiro disminuyó hasta valores de 4 g a partir del día 21 de cohabitación con ratas estresadas. No se observaron diferencias estadísticas entre la extremidad izquierda y la derecha.

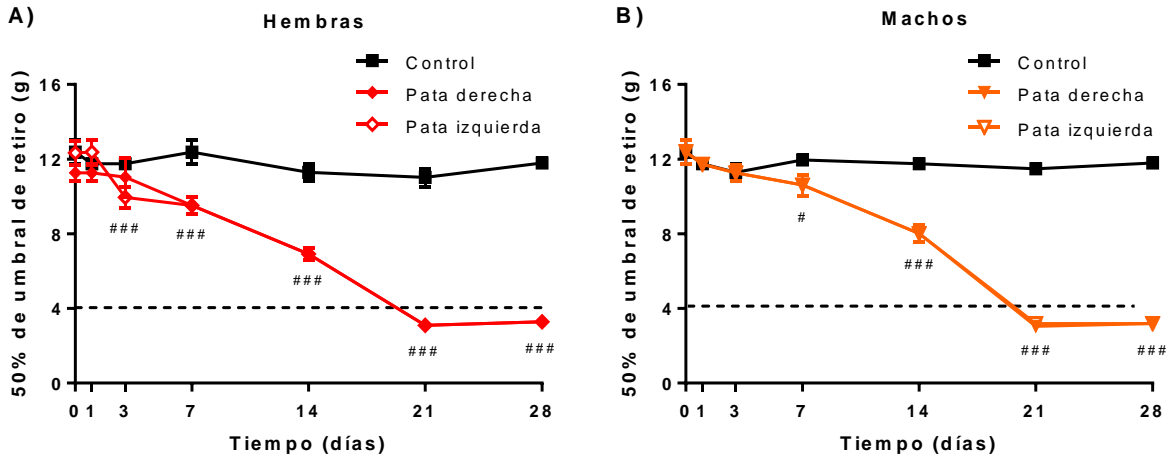


Figura 11. Curso temporal del 50% de umbral de retiro en animales intactos que cohabitaron con ratas sometidas a estrés crónico por restricción de movimiento. La cohabitación de ratas naïve con ratas con estrés crónico por restricción de movimiento produjo alodinia táctil en ambas patas traseras. A) Curso temporal del 50% del umbral de retiro de ratas hembras. B) Curso temporal del 50% del umbral de retiro de ratas machos. Los datos se expresan como el promedio \pm EEM ($n = 6$). # $p < 0.05$ ó ### $p < 0.001$ vs Control por análisis de ANOVA de dos vías/Bonferroni.

El desarrollo de alodinia táctil fue similar entre los animales con estrés crónico y aquellos que cohabitaron con sujetos estresados, tanto en ratas hembras (Fig. 12A) como en machos (Fig. 12B).

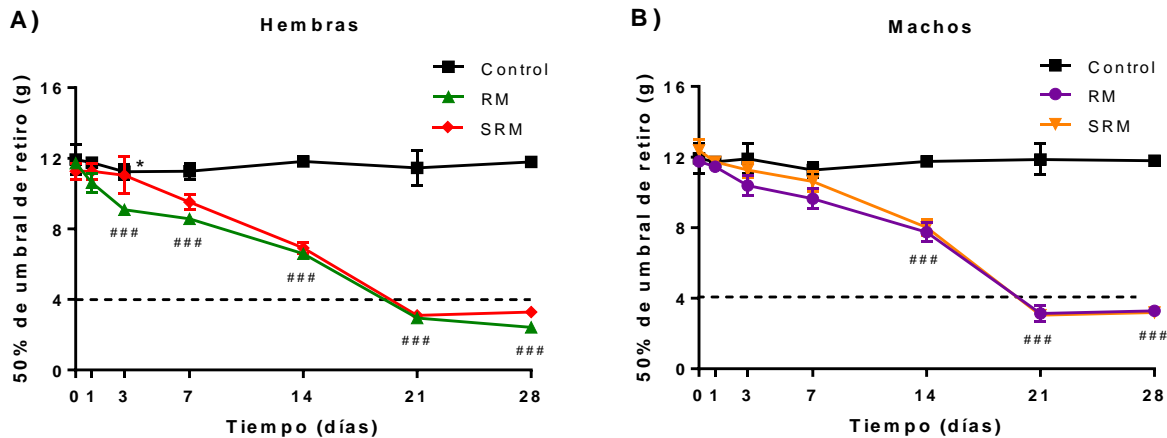


Figura 12. Comparación de la hipersensibilidad al dolor entre ratas con estrés crónico y sujetos que cohabitaron con ratas estresadas. A) Curso temporal de ratas hembras con restricción de movimiento (RM) y ratas que cohabitaron sin restricción de movimiento (SRM). B) Curso temporal de ratas machos con RM y SRM. Los datos se expresan como el promedio \pm EEM ($n = 6$). * $p < 0.05$ RM vs SRM; ### $p < 0.001$ vs Control determinado por análisis de ANOVA de dos vías/Bonferroni.

6.3. Transferencia social del estrés

La cohabitación de ratas hembras sin restricción de movimiento con ratas hembras estresadas por restricción de movimiento produjo un aumento de las conductas de exploración de la zona anogenital (Fig. 13A) y la zona torso-cabeza (Fig. 13B), durante los primeros 5 min de interacción posteriores a la sesión de estrés por restricción de movimiento. Las ratas sin exposición al estrés exploraron más a su compañera estresada en comparación con las ratas estresadas. Además, se observó que las ratas exploraron más la zona anogenital que la zona torso-cabeza (Fig. 13).

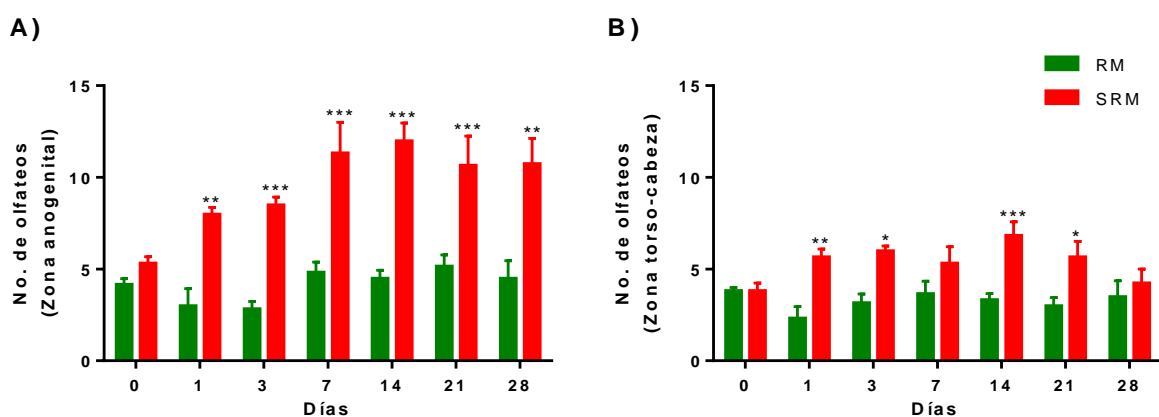


Figura 13. Interacción entre ratas con estrés crónico y ratas que cohabitan con sujetos estresados. Los histogramas muestran el número de veces que una rata explora la zona anogenital (A) o la zona torso-cabeza (B) de su compañera durante los primeros 5 minutos después de una sesión de estrés por restricción de movimiento. Los datos se expresan como el promedio \pm EEM ($n = 6$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ó *** $p < 0.001$ RM vs SRM determinado por prueba de t de Student. RM: restricción de movimiento, SRM: sin restricción de movimiento.

6.4. Efecto de la talidomida, el R7050 y el vehículo en ratas naïve

La inyección intratecal de talidomida (1 µg), R7050 (10 µg) y el vehículo (DMSO al 30%) no indujo efectos nociceptivos en ratas naïve (Fig. 14).

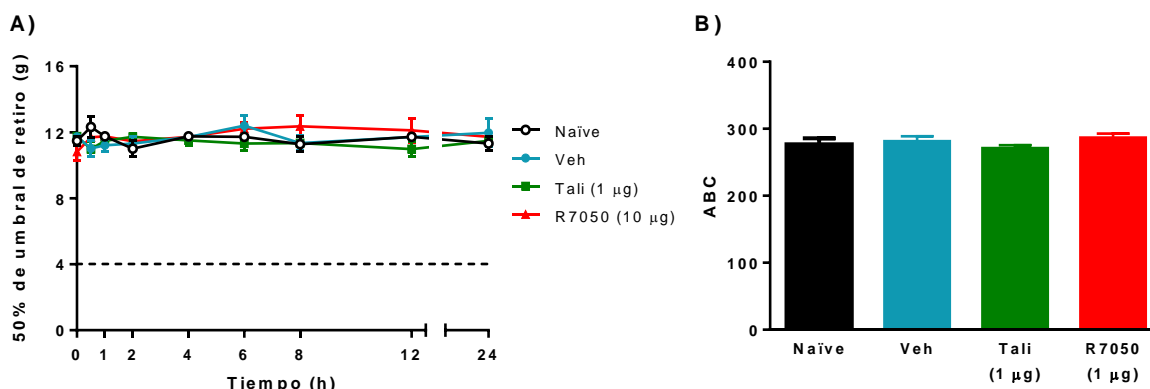


Figura 14. Efecto de talidomida, R7050 y vehículo sobre ratas naïve. A) Curso temporal del 50% del umbral de retiro (g) de la extremidad posterior derecha de ratas naïve (N) posterior a la administración intratecal de talidomida (Tali), R7050 y vehículo (Veh). B) Área bajo la curva (ABC) del curso temporal A. Las gráficas representan el promedio \pm EEM (n = 6).

6.5. Efecto de talidomida sobre la alodinia táctil en ratas hembras sometidas a estrés crónico

La administración sistémica de talidomida (vía intraperitoneal, i.p.) redujo la alodinia táctil observada en ratas hembras sometidas a restricción de movimiento. El efecto máximo se observó a las 4 h posteriores a la administración (Fig. 15A). La talidomida administrada de forma sistémica produjo un efecto antialodínico a la dosis de 50 y 100 mg/kg (Fig. 15B).

La administración espinal (vía intratecal, i.t.) de talidomida revirtió la alodinia táctil inducida por restricción de movimiento de manera dosis dependiente en ratas hembra (Fig. 15C y D). El efecto antialodínico alcanzó su pico máximo a las 4 h y regresó a valores basales a las 24 h (Fig. 15C).

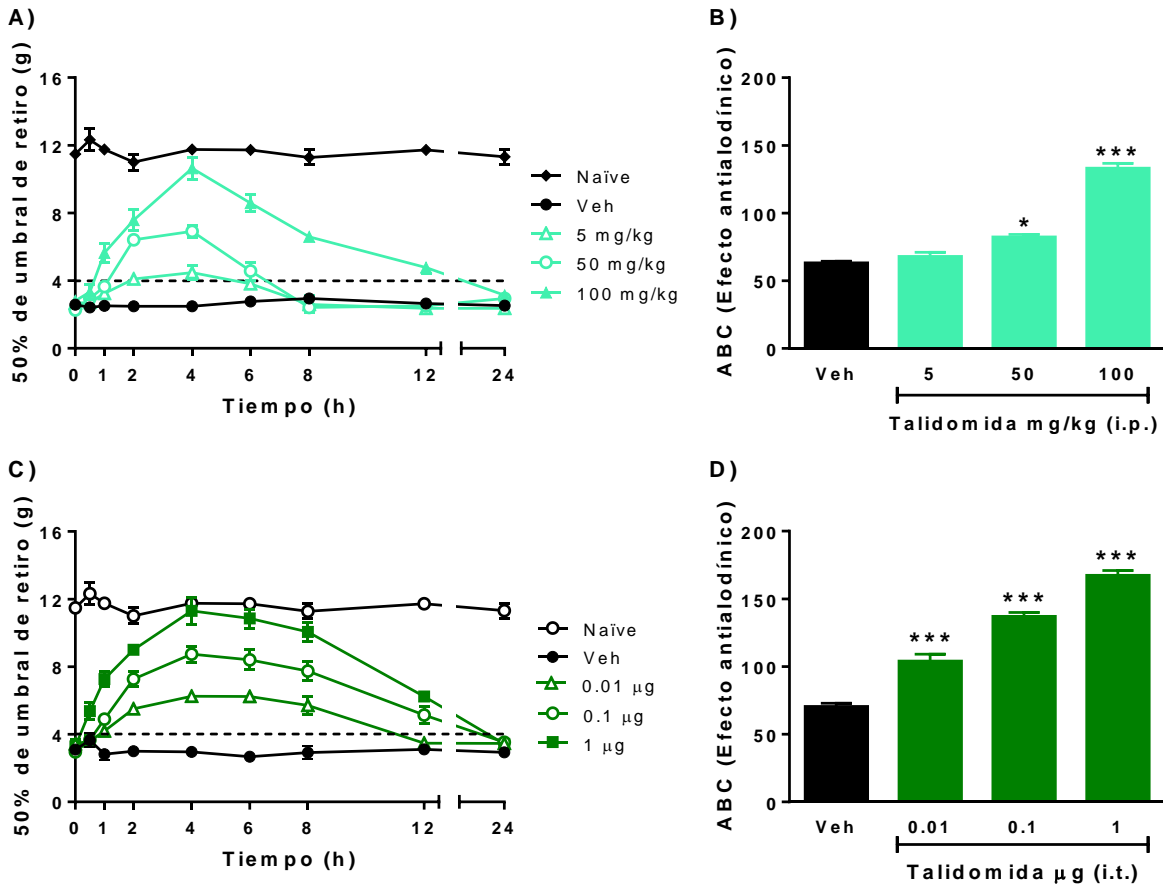


Figura 15. Efecto de la talidomida sobre la alodinia táctil inducida por estrés crónico. A) Curso temporal del efecto de la administración intraperitoneal (i.p.) de talidomida sobre la alodinia táctil inducida por estrés crónico. B) Área bajo la curva (ABC) del curso temporal en A. C) Curso temporal del efecto de la administración intratecal (i.t.) de la talidomida sobre la alodinia táctil inducida por la restricción de movimiento en ratas hembras. D) ABC del curso temporal en C. Las gráficas representan el promedio \pm EEM ($n = 6$). * $p < 0.05$ ó *** $p < 0.001$ vs Veh determinado ANOVA de una vía/Bonferroni. Veh: Vehículo.

6.6. Efecto de talidomida sobre la alodinia táctil en ratas hembras que cohabitan con ratas sometidas a estrés crónico

La administración sistémica de talidomida (i.p.) redujo la alodinia táctil observada en ratas que cohabitaron con ratas estresadas (Fig. 16A). El efecto antialodínico máximo se observó a las 4 h posteriores a la administración. La dosis máxima de talidomida mantuvo el efecto antialodínico hasta 6 h posteriores a la administración (Fig. 16A). La administración sistémica de talidomida produjo un efecto antialodínico dependiente de la dosis (Fig. 16B).

La administración espinal de talidomida (i.t.) revirtió la alodinia táctil observada en ratas hembras que cohabitaron con animales con estrés crónico (Fig. 16C). El efecto antialodínico de la talidomida fue dosis dependiente (Fig. 16D).

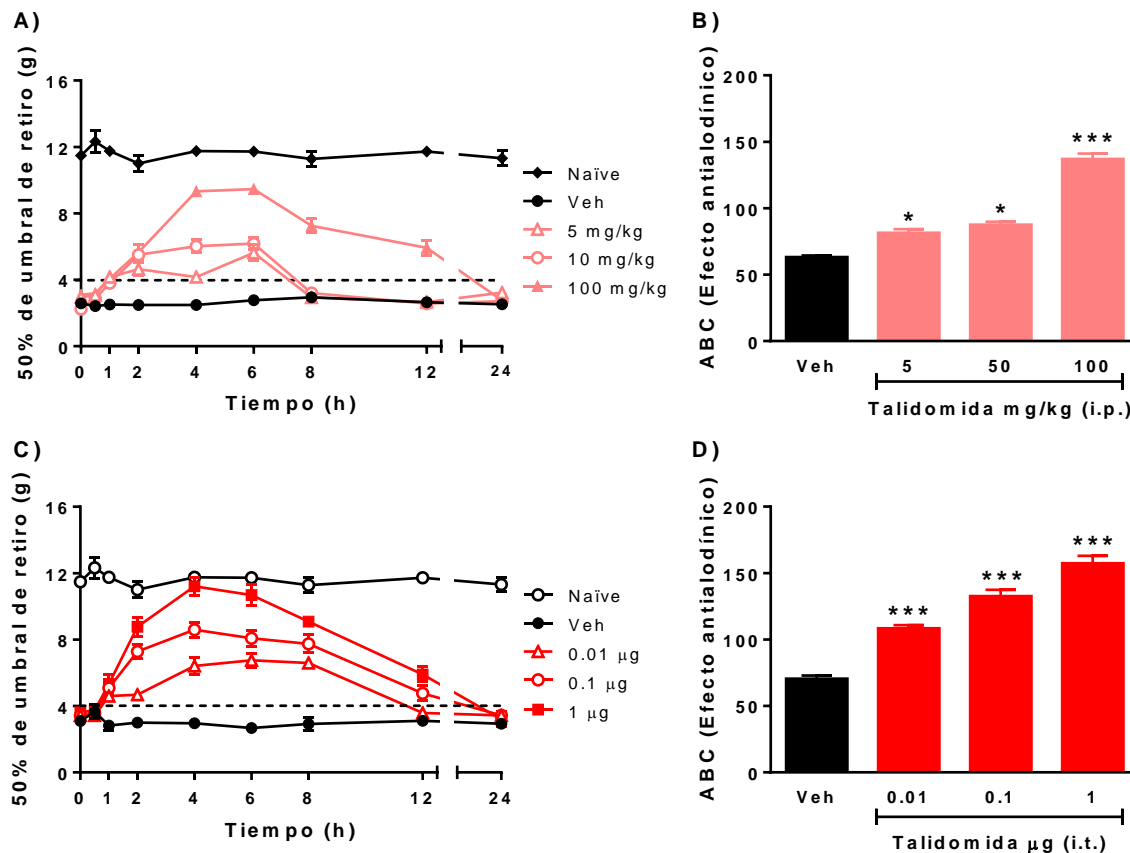


Figura 16. Efecto de la talidomida sobre la alodinia táctil de ratas que cohabitaron con ratas estresadas. A) Curso temporal del efecto de la administración intraperitoneal (i.p.) de talidomida sobre la alodinia táctil inducida en ratas hembras que cohabitan con ratas estresadas. B) Área bajo la curva (ABC) del curso temporal en A. C) Curso temporal del efecto de la administración intratecal (i.t.) de talidomida sobre la alodinia táctil observada en ratas hembras que cohabitaron con ratas con estrés crónico. D) ABC del curso temporal en C. Las gráficas representan el promedio \pm EEM ($n = 6$). * $p < 0.05$ ó *** $p < 0.001$ vs Veh. determinado ANOVA de una vía/Bonferroni. Veh: Vehículo.

6.7. Comparación de las curvas dosis-respuesta de la administración periférica, sistémica y espinal de talidomida

La administración espinal y sistémica de talidomida a las dosis máximas utilizadas (1 µg i.t. y 100 mg/kg o su equivalente 15 µg i.p.) revirtió la alodinia táctil en ratas con estrés crónico (Fig. 17A) y en ratas que cohabitaron con sujetos estresados (Fig. 17B). El curso temporal del efecto antialodínico observado con ambas vías de

administración tiene una cinética similar. Sin embargo, la comparación de las curvas dosis respuesta muestra que la administración espinal de talidomida tiene un efecto antialodínico más potente y eficaz comparado con la administración sistémica, tanto en animales con estrés crónico como en los animales que cohabitaban con ratas estresadas (Fig. 17C).

Con la finalidad de tener una mejor comparación del efecto de la talidomida sobre la alodinia mecánica en ratas con estrés crónico se comparó el efecto de 1 µg de talidomida por 3 diferentes vías de administración: intratecal, periférica y subcutánea. Como se observa en la figura 17D solo la administración intratecal de 1 µg de talidomida revirtió la alodinia mecánica en ratas con estrés crónico, y no así la administración sistémica o subcutánea, lo que sugiere que el efecto de talidomida es principalmente a nivel espinal (Fig. 17D).

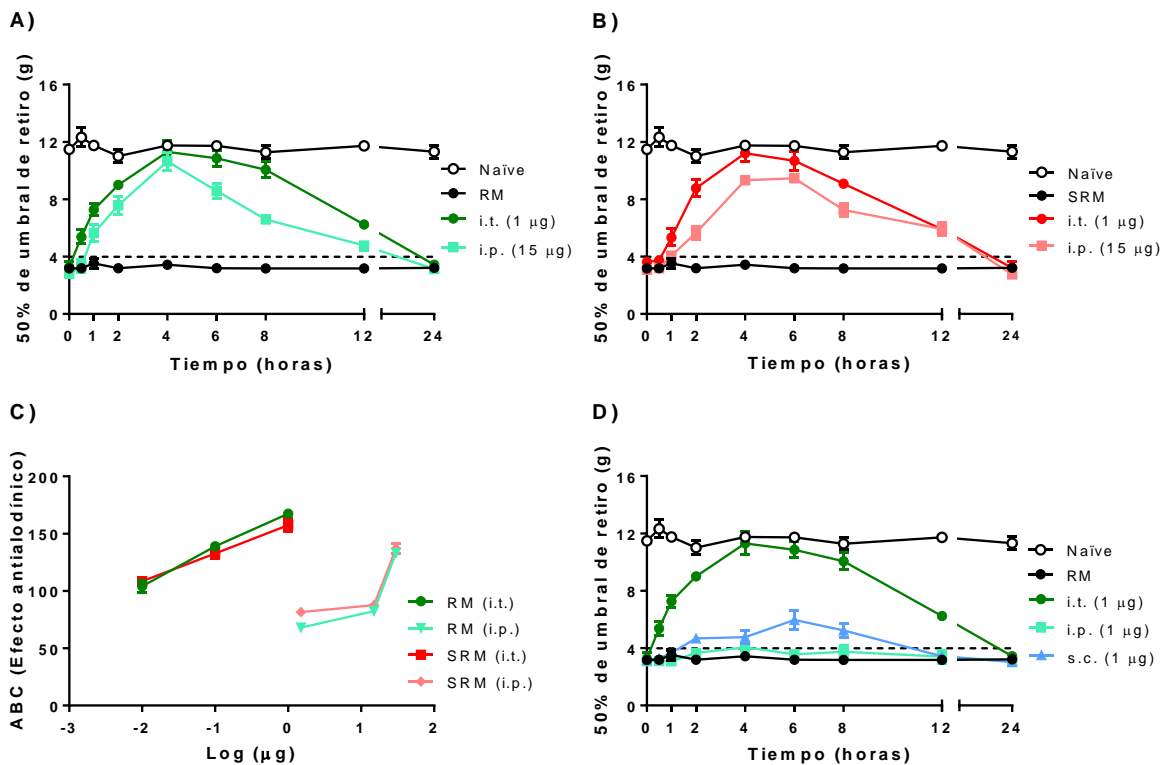


Figura 17. Comparación del efecto antialodínico de talidomida por diferentes vías de administración. A) Efecto de la administración intratecal (i.t.) e intraperitoneal (i.p.) de talidomida sobre la alodinia táctil de ratas hembras con restricción de movimiento (RM). B) Efecto de la administración i.t. e i.p. de talidomida sobre la alodinia táctil de ratas hembras que cohabitaban con ratas con estrés crónico (SRM). C) Curvas dosis-respuestas de la administración i.t. e i.p. de talidomida en ratas con RM y en ratas SRM. D) Efecto de la administración i.t., i.p. y subcutánea (s.c.) de 1 µg de talidomida sobre la alodinia táctil de ratas hembras con RM. Las gráficas representan el promedio ± EEM (n = 6).

6.8. Efecto antialodínico de talidomida en ratas machos sometidos a estrés crónico y en ratas macho que cohabitan con individuos estresados

La administración intratecal de talidomida revirtió la alodinia táctil inducida por estrés crónico por restricción de movimiento en ratas machos (Fig. 18A) y así como en ratas machos que cohabitaron con sujetos con estrés crónico (Fig.18B). El efecto de la talidomida en ratas macho fue similar a las ratas hembras, tanto en animales con restricción de movimiento (Fig. 18C) como en animales que cohabitaron con sujetos estresados (Fig. 18D).

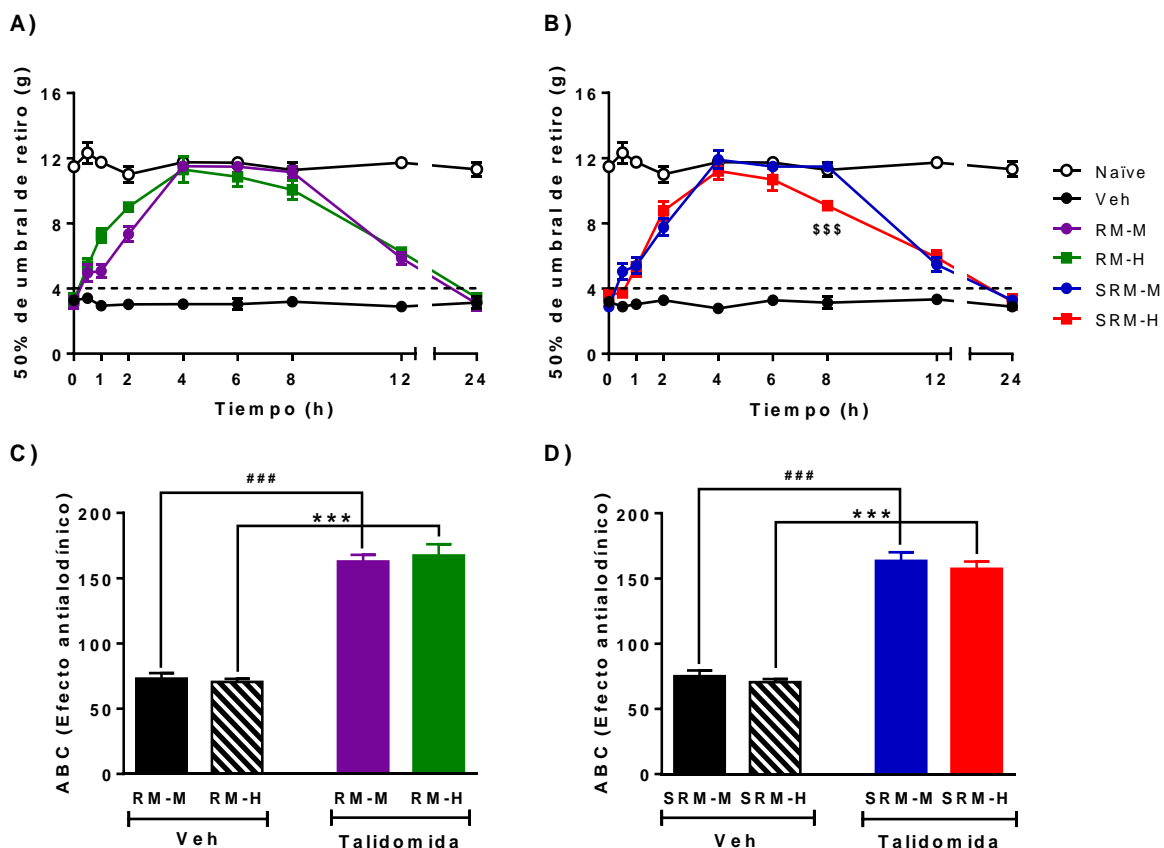


Figura 18. Efecto de la talidomida sobre la alodinia táctil en ratas machos con estrés crónico y en ratas machos que cohabitan con sujetos estresados. A) Curso temporal del efecto de la administración intratecal de 1 μ g de talidomida sobre la alodinia táctil inducida por la restricción de movimiento en ratas machos (RM-M) y en ratas hembras (RM-H). B) Curso temporal del efecto de la administración espinal de 1 μ g de talidomida sobre la alodinia táctil en ratas machos que cohabitan con sujetos estresados (SRM-M) y en ratas hembras (SRM-H). C) Área bajo la curva (ABC) del curso temporal en A. D) ABC del curso temporal en B. Las gráficas representan el promedio \pm EEM (n = 6). \$\$\$ p < 0.001 M vs H determinado por ANOVA de dos vías/Bonferroni. *** p < 0.001 vs Veh del grupo de ratas hembras; #### p < 0.001 vs Veh del grupo de ratas machos determinado por ANOVA de una vía/Bonferroni. Veh: Vehículo.

6.9. Efecto de R7050 sobre la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico

La administración intratecal de R7050 revirtió la alodinia táctil en ratas hembras con estrés crónico por restricción de movimiento de manera dosis dependiente (Fig. 19A y B). El R7050, a la máxima dosis administrada (10 μg) revirtió la alodinia táctil inducida por estrés crónico en ratas machos de manera similar a las hembras (Fig. 19C y D).

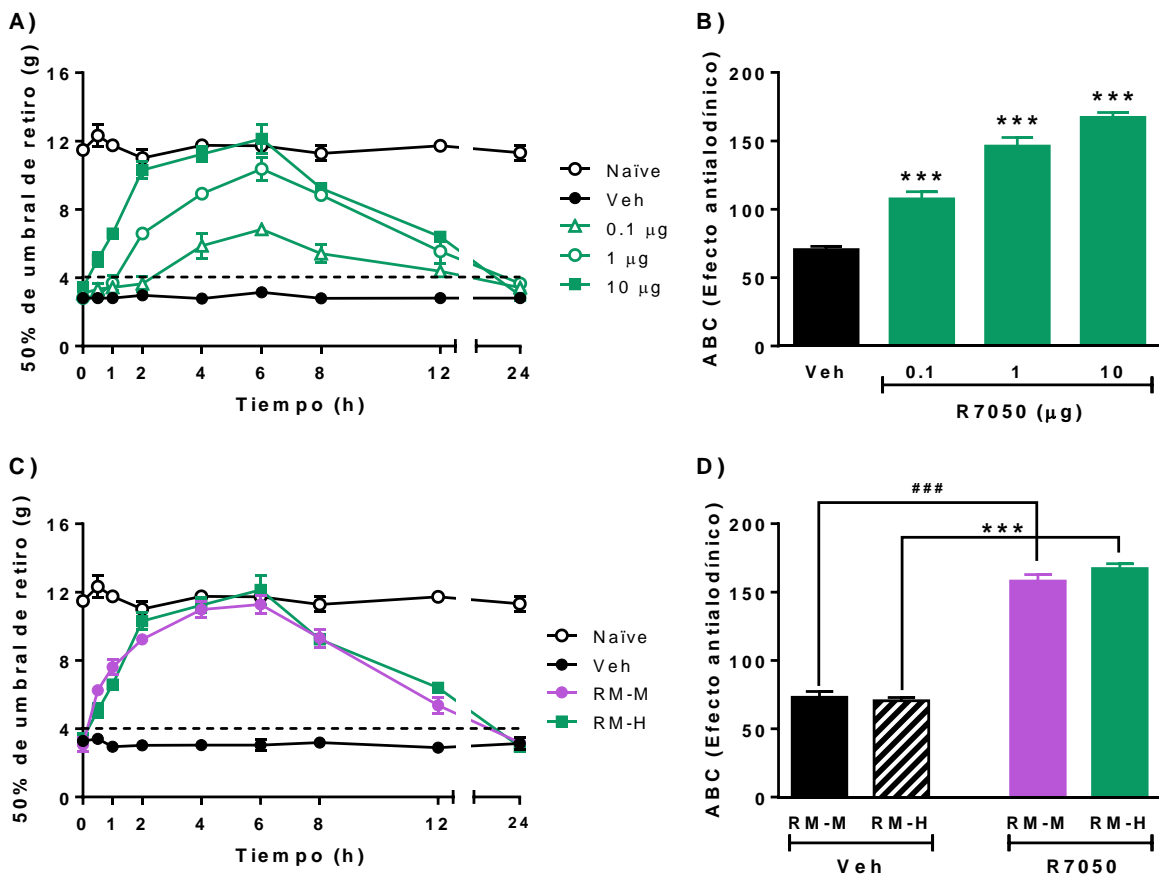


Figura 19. Efecto del R7050 sobre la alodinia táctil inducida por estrés crónico. A) Curso temporal de la administración intratecal de R7050 sobre la alodinia táctil en ratas hembras estrés crónico por restricción de movimiento. B) Área bajo la curva (ABC) del curso temporal en A. C) Comparación del curso temporal del efecto de la administración intratecal de 10 μg de R7050 sobre la alodinia táctil de ratas machos con estrés crónico (RM-M) contra el grupo de ratas hembras (RM-H). D) ABC del curso temporal en C. Las gráficas representan el promedio \pm EEM ($n = 6$). *** $p < 0.001$ vs Veh del grupo de ratas hembras; ### $p < 0.001$ vs Veh del grupo de ratas machos determinado por ANOVA de una vía/Bonferroni. Veh: Vehículo.

6.10. Efecto de R7050 sobre la hipersensibilidad al dolor inducida por transferencia social del estrés

La administración intratecal de R7050 revirtió la alodinia táctil en ratas hembras que cohabitaban con ratas hembras sometidas a estrés crónico (Fig. 20A). El efecto antialodínico observado fue dosis dependiente (Fig. 20B). El R7050, a la máxima dosis administrada (10 μ g), revirtió la alodinia táctil en ratas machos que cohabitaban con ratas machos con estrés crónico de manera similar a las ratas hembras (Fig. 20C y D).

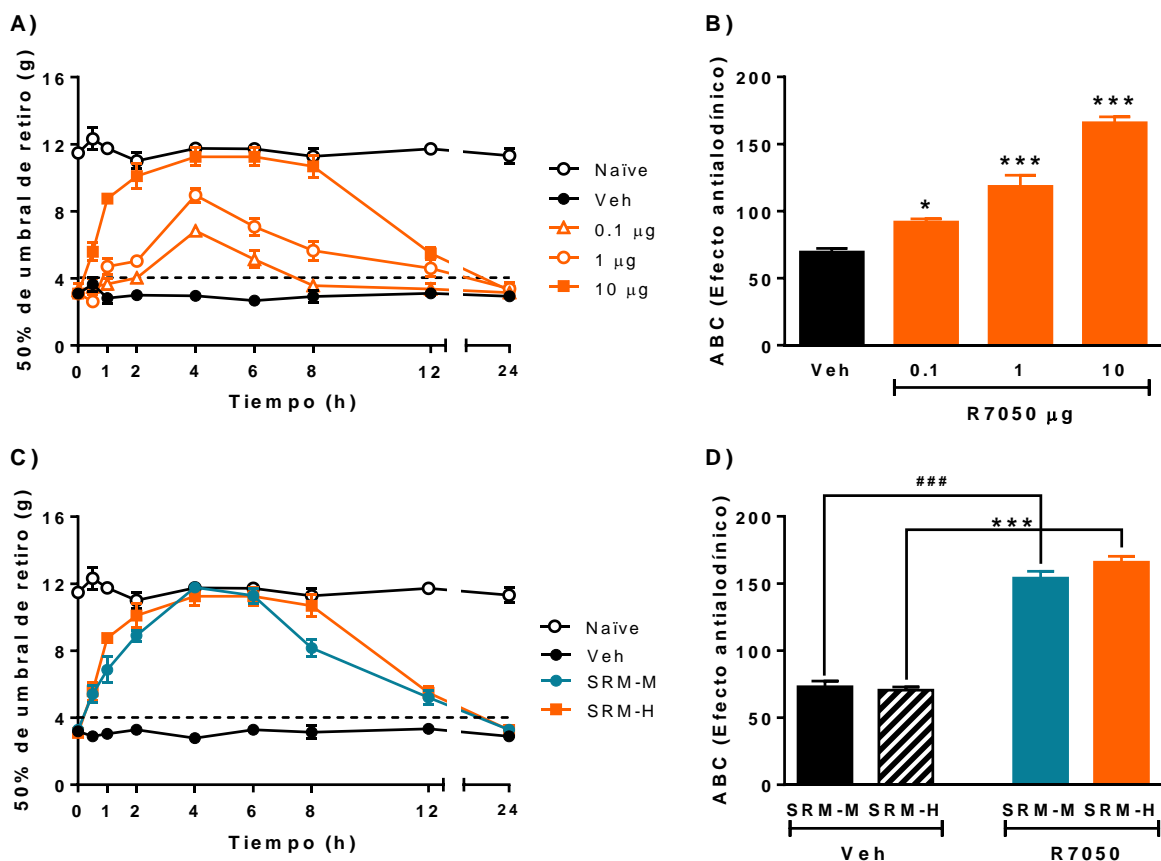


Figura 20. Efecto del R7050 sobre la alodinia táctil de ratas que cohabitaban con sujetos con estrés crónico. A) Curso temporal del efecto de la administración intratecal de R7050 sobre la alodinia táctil en ratas hembras que cohabitaban con ratas sometidas a estrés crónico (SRM-H). B) Área bajo la curva (ABC) del curso temporal en A. C) Comparación del curso temporal del efecto de la administración intratecal de 10 μ g de R7050 sobre la alodinia táctil de ratas machos que cohabitaban con ratas con estresadas (SRM-M) contra el grupo de ratas hembras que cohabitaban con sujetos estresados (SRM-H). D) ABC del curso temporal en C. Las gráficas representan el promedio \pm EEM (n = 6). *** p < 0.001 vs Veh del grupo de ratas hembras; ### p < 0.001 vs Veh del grupo de ratas machos determinado por ANOVA de una vía/Bonferroni. Veh: Vehículo.

6.11. Comparación del efecto antialodínico de talidomida y R7050 en ratas con estrés crónico y en ratas que cohabitan con sujetos estresados

La administración intratecal de talidomida revirtió la alodinia táctil de forma similar en ratas sometidas a estrés crónico y en ratas que cohabitaron con sujetos estresados tanto en ratas hembras (Fig. 21A) como en machos (Fig. 21B). Un efecto similar se observó con la administración intratecal de R7050 (Fig. 21C y D).

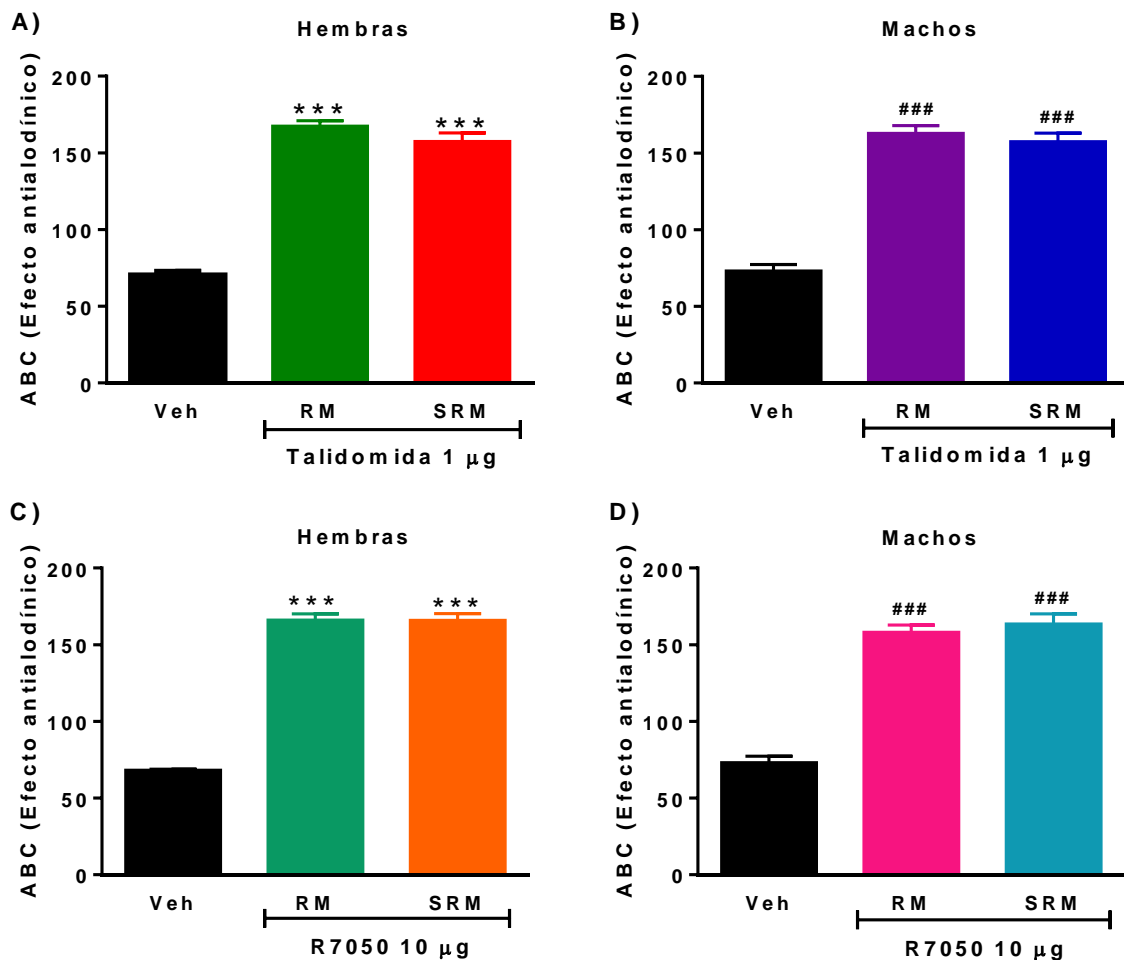


Figura 21. Comparación de la administración intratecal de talidomida y R7050 sobre la alodinia táctil de ratas sometidas a estrés crónico y de ratas que cohabitaron con sujetos estresados.

A) Efecto antialodínico de 1 μ g talidomida en ratas hembras sometidas a estrés crónico y ratas hembras que cohabitaron con sujetos estresados. B) Efecto antialodínico de 1 μ g de talidomida en ratas machos sometidas a estrés crónico y ratas machos que cohabitaron con sujetos estresados. C) Efecto antialodínico de 10 μ g de R7050 en ratas hembras sometidas a estrés crónico y ratas hembras que cohabitan con sujetos estresados. D) Efecto antialodínico de 10 μ g R7050 en ratas machos sometidas a estrés crónico y ratas machos que cohabitaron con sujetos estresados. Las gráficas representan el promedio \pm EEM (n = 6). *** p < 0.001 vs Veh en ratas hembras; ### p < 0.001 vs Veh en ratas machos determinado por ANOVA de una vía/Bonferroni. Veh: Vehículo, RM: ratas con estrés crónico por restricción de movimiento, SRM: ratas que cohabitaron con ratas estresadas.

6.12. Evaluación de la coordinación motora

La administración de talidomida y R7050, a las máximas dosis utilizadas, no afectó la coordinación motora de las ratas en el rota-rod (Tabla 3). Estos resultados sugieren que la talidomida y el R7050 no tienen efectos adversos sobre la conducta motora que puedan influir en el efecto antialodínico que producen.

Tabla 3. Resultados de la coordinación motora. Promedio de caídas de los animales sometidos a la prueba de coordinación motora (rota-rod).

Grupo	Antes del tratamiento	Después del tratamiento (4 h)
Talidomida (100 mg/kg)	1/6	0/6
R7050 (10 µg)	0/6	0/6

7. Discusión

7.1. El estrés crónico induce alodinia mecánica en ratas

El estrés aumenta la percepción dolorosa en estados de dolor crónico como fibromialgia, dolor de cabeza por estrés y artritis reumatoide, e incrementa la percepción dolorosa en personas con dolor neuropático (Delvaux, 1999; Herrmann et al., 2000; Wood, 2004; Greco et al., 2004). Asimismo, se ha reportado que los factores psicosociales, entre los que se incluyen el estrés, están relacionados con la percepción del dolor musculoesquelético en poblaciones jóvenes (Østerås et al., 2015; Mikkonen et al., 2016). Por lo tanto, el estrés crónico afecta de forma importante la percepción de dolor y disminuye la calidad de vida en humanos. Por lo cual, es interesante estudiar y describir la fisiopatología del dolor en condiciones de estrés crónico para mejorar y optimizar las terapias en estos pacientes.

El presente trabajo confirma que el modelo de estrés crónico por restricción de movimiento genera alodinia táctil. La alodinia se observó en ambas extremidades traseras de los animales, indicando que la alodinia está establecida de forma generalizada. En concordancia, se ha reportado que el estrés crónico por restricción de movimiento produce alodinia mecánica, hiperalgesia térmica y química e hipernocicepción en ratas (Da Silva-Torres et al., 2003; Gameiro et al., 2005; Orellana et al., 2015; Li et al., 2016; Carniero de Olivera et al., 2017; Velázquez-Lagunas, 2017; Curiel-Gómez, 2018). Asimismo, se ha demostrado que la aplicación repetida de estímulos estresores (físicos o psicológicos) producen hipersensibilidad al dolor en roedores (Quintero et al., 2000; Bradesi et al., 2009; Rivat et al., 2010; Sawicki et al., 2019).

El modelo de estrés crónico por restricción de movimiento genera alodinia táctil independiente del sexo. Nuestros datos concuerdan con los estudios previos realizados por Velázquez-Lagunas (2017) y Curiel-Gómez (2018). Estos estudios demostraron que el modelo de restricción de movimiento produce alodinia táctil e hiperalgesia térmica tanto en ratas machos como en ratas hembras.

Hasta la fecha no se conocen del todo los mecanismos que subyacen a la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico. Diversos estudios proponen que la aplicación repetida de un estímulo estresor promueve la liberación sostenida de glucocorticoides, catecolaminas y citocinas que estimulan al sistema inmune y promueven un estado de neuroinflamación en el SNC y SNP (Johnson et al., 2005; Frank et al., 2007; Glovatchcka et al., 2012; Sawicki et al., 2019). Se ha descrito que el aumento en los niveles de catecolaminas (epinefrina y norepinefrina) produce dolor a través de los receptores β_2 y β_3 adrenérgicos (Khasar et al., 2008; Ciszek et al., 2016). Los receptores adrenérgicos se expresan en las neuronas aferentes primarias, células de la glía y células del sistema inmune (Kanno et al., 2010; Gyoneva y Traynelis, 2013; Ochoa-Cortes et al., 2014; Scanzano y Cosentino, 2015). Las catecolaminas activan macrófagos y mastocitos de forma periférica, promoviendo una respuesta inflamatoria y la consecuente liberación de citocinas proinflamatorias como $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 y CCL2 (Glovatchcka et al., 2012). En apoyo a esto, bloqueo de los receptores β adrenérgicos reduce las conductas nociceptivas y disminuye la expresión de citocinas proinflamatorias (Johnson et al., 2005; Wohleb et al., 2011; Ciszek et al., 2016).

Por otra parte, la activación de la microglía es importante en el dolor inducido por estrés (Sawicki et al., 2019). Se ha descrito que el estrés crónico activa a la microglia a través de los receptores adrenérgicos (Nair y Bonneau, 2006; Ciszek et al., 2016; Sun et al., 2017). Además, el estrés crónico incrementa a la expresión del receptor TLR4 en la médula espinal (Sawicki et al., 2019). De manera particular en el modelo de estrés crónico por restricción de movimiento se ha reportado que la inhibición de la alarmina HMGB1 y el bloqueo del receptor TLR4 reduce la hipersensibilidad al dolor en el modelo de estrés crónico (Velázquez-Lagunas, 2017). Por lo tanto, diversos estudios sugieren que la neuroinflamación puede ser la causa de la hipersensibilidad al dolor en modelos de estrés crónico.

7.2. La transferencia social del estrés induce alodinia mecánica

Los datos obtenidos en este estudio demuestran por primera vez que la cohabitación de ratas naïve con sujetos con estrés crónico por restricción de movimiento genera alodinia táctil en animales que no están expuestos a estrés. En este trabajo se observó que las ratas que cohabitaron con sujetos estresados reducen su umbral de respuesta a estímulos mecánicos y desarrollan alodinia táctil de manera similar a los sujetos que reciben el estímulo estresor directamente. Previamente se describió que los ratones no estresados que cohabitan con ratones sometidos a estrés crónico tienen conductas ansiogénicas e hipernocicepción (Carneiro de Oliveira et al., 2017). Además, se ha reportado que el estrés se transmite de forma social en roedores y desencadena las respuestas al estrés en sujetos no estresados (Sterley et al., 2018). Por lo tanto, la interacción de ratas no estresadas con sujetos estresados puede generar hipersensibilidad al dolor como lo demuestran nuestros datos.

Sterley y colaboradores sugieren que la transferencia social del estrés requiere de una comunicación hormonal a través del olfato. Los investigadores observaron que los ratones sin estrés olfateaban la zona anogenital del ratón estresado y la ausencia de esta conducta no generaba transferencia social de estrés. En este trabajo se observó que las ratas no estresadas exploraron y olfatearon las zonas anogenital y torso-cabeza de los sujetos estresados en mayor medida que la exploración que realizaron las ratas estresadas hacia las ratas naïve. Estos resultados sugieren que la exploración entre sujetos estresados y no estresados contribuye en la transmisión del estrés y en consecuencia el desarrollo de las conductas nociceptivas evaluadas. Sin embargo, se requieren más evidencia experimental que lo sustente.

Adicionalmente, se observó que la cohabitación de ratas no estresadas con sujetos estresados genera alodinia táctil de forma independiente del sexo. Estos datos concuerdan con lo reportado por Sterley y colaboradores, ya que ellos sugieren que la transferencia social del estrés es independiente del sexo ya que los niveles de

corticosterona aumentan tanto en ratones hembras como machos que cohabitan con sujetos estresados.

7.3. Participación de TNF α y TNFR1 sobre la alodinia táctil de ratas con estrés crónico y de ratas que cohabitan con sujetos estresados

La administración de talidomida, un inmunomodulador que inhibe la síntesis de TNF α , redujo la alodinia táctil en ratas estresadas y en ratas que cohabitaron con sujetos estresados sugiriendo que el TNF α participa en la hipersensibilidad al dolor generada por estrés crónico y por transferencia social del estrés. Se ha descrito que las citocinas participan de forma importante para la modulación de dolor. Particularmente, la inhibición o el bloqueo de TNF α revierte las conductas nociceptivas en diferentes modelos de dolor (Ferreira et al., 1993; Ribeiro et al., 2000; Schäfers et al., 2003a; Rocha et al., 2006). Además, se ha descrito que el estrés crónico libera citocinas proinflamatorias, particularmente TNF α (Sawicki et al., 2019). El aumento de citocinas y cortisol en respuesta al estrés conduce a un proceso de neuroinflamación y la activación de la microglia y astrocitos (Deak et al., 2015; Sawicki et al., 2019). De igual manera, la activación de la microglía libera TNF α , que participa en los procesos de sensibilización central y periférica (Kawasaki et al., 2008; Ji et al., 2014). Nuestros datos sugieren la participación del TNF α a nivel de la médula espinal ya que la administración intraperitoneal y subcutánea de talidomida no revirtió la alodinia táctil de manera tan eficiente como lo hizo la administración intratecal. Es posible que la microglia libere el TNF α a nivel de la médula espinal y que este factor active a sus receptores presentes en neuronas del asta dorsal de la médula espinal, células Schwann, células satelitales y astrocitos (Breder et al., 1993; Ren y Dubner, 2010). En apoyo a esto, se ha demostrado que la administración intratecal de minociclina, un inhibidor de la microglía, también reduce la alodinia táctil en el modelo de estrés crónico por restricción de movimiento (Curiel-Gómez, 2018).

Se ha descrito ampliamente que el TNF α actúa sobre los receptores TNFR1 y TNFR2 presentes en neuronas de primero y segundo orden. El receptor TNFR1 se

expresa de forma constitutiva en los GRDs, en la médula espinal y en las células de Schwann (Breder et al., 1993; Ren y Dubner, 2010) y se ha descrito su participación en la sensibilización periférica y central (Schäfers et al., 2003b; Schäfers et al., 2008). En contraste, el receptor TNFR2 no se expresa de forma constitutiva en células del GRD y de la médula espinal (Wheeler et al., 2014). Sin embargo, ambos receptores a TNF α aumentan su expresión en axones y cuerpos celulares del GRD después de una lesión a la fibra aferente primaria (Shubayev y Myers, 2001). Con base en esto, se decidió evaluar la participación del TNFR1 en el modelo de hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico por restricción de movimiento y en ratas con transferencia social del estrés. Los datos obtenidos con la administración de R7050, antagonista selectivo del receptor TNFR1, sugieren la participación de TNFR1 en la alodinia táctil generada por estrés crónico y por transferencia social del estrés.

Se ha reportado que la activación del receptor TNFR1 activa la vía de señalización de p38 MAPK e incrementa la corriente de los canales Na $_v$ resistentes a tetrodotoxina, promoviendo un estado de mayor excitabilidad en la médula espinal (Chen et al., 2015; Gudes et al., 2015). Además, el TNF α aumenta las corrientes de Ca $^{2+}$, reduce las corrientes sinápticas inhibitoras, aumenta las corrientes excitadoras espontáneas e inhibe la excitabilidad de las neuronas GABAérgicas a través de la vía TNFR1-p38 MAPK (Pollock et al., 2002; Zhang y Dougherty, 2011; Zhang et al., 2013). Por lo que en general, la activación de TNFR1 induce una mayor excitabilidad. En apoyo a esto, se ha reportado que la lesión de la fibra aferente primaria aumenta la expresión de TNFR1 y la tasa de descarga en las fibras A δ (Shubayev y Myers, 2001; Schäfers et al., 2008). Además, en condiciones de dolor crónico aumenta la expresión de TNFR1 y contribuye al desarrollo de conductas nociceptivas (Miao et al., 2018; Zhang et al., 2019).

De forma paralela, la unión del TNF α con su receptor TNFR1 activa la vía de señalización NF-kB, lo que produce mayor liberación de citocinas proinflamatorias (Olmos y Lladó, 2014; Ma et al., 2016). El TNF α promueve la liberación de la

alarmina HMGB1 que estimula la vía del TLR4. La vía TLR4/NF- κ B participa en el dolor neuropático, inflamatorio y postquirúrgico de forma importante (Yuan et al., 2014; Sun et al., 2015; Liu et al., 2018; Sun et al., 2018). La activación de la vía TLR4/NF- κ B conduce a la liberación de TNF α y retroalimenta al proceso inflamatorio desencadenado por el TNF α (Wang et al., 1999; Kent et al., 2011). Se ha descrito que el estrés crónico incrementa la expresión del receptor TLR4 y la activación de la vía TLR4/NF- κ B (Sawicki et al., 2019). Además, se ha reportado que la alarmina HMGB1 participa en el modelo de hipersensibilidad por estrés crónico a través del receptor TLR4 (Velázquez-Lagunas, 2016).

La inhibición de TNF α y el bloqueo de TNFR1 redujeron la alodinia táctil de manera similar en ratas hembras como en ratas machos. Esto sugiere que el TNF α y el TNFR1 participan en el mecanismo de la hipersensibilidad al dolor por estrés crónico y por transferencia social del estrés de manera independiente del sexo. Nuestros datos contrastan con un reporte previo en el que se observó que la inhibición de TNF α con XPro1595 revierte la alodinia táctil en ratones machos con constricción crónica del nervio ciático, pero no en ratones hembras (Del Rivero et al., 2019). Esta discrepancia podría deberse a que los mecanismos que subyacen al dolor neuropático y el generado por estrés crónico no son los mismos.

Por lo tanto, los datos obtenidos en el presente trabajo sugieren que el TNF α y el receptor TNFR1 participan en la hipersensibilidad al dolor generada por estrés crónico por restricción de movimiento y por la transferencia social del estrés. Aunque en este estudio se evaluó farmacológicamente la participación del TNFR1 no se descarta la participación del receptor TNFR2.

8. Conclusiones

El estrés crónico produce alodinia táctil en animales que están sujetos al estímulo estresor, así como en animales que cohabitan con sujetos estresados probablemente a través de un proceso de transferencia social del estrés.

Los datos obtenidos sugieren que el TNF α y su receptor TNFR1 participan en la hipersensibilidad nociceptiva inducida por estrés crónico y por transferencia social del estrés en ratas.

9. Perspectivas

- Evaluar la concentración de corticosterona en ratas que cohabitan con sujetos estresados para sustentar si efectivamente se presenta el fenómeno de transferencia social del estrés.
- Evaluar mediante la utilización de un RNA de interferencia la participación del TNFR2 en la hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico y por transferencia social del estrés.
- Evaluar la expresión de los receptores TNFR1 y TNFR2 en GRD y médula espinal dorsal de ratas con dolor crónico por restricción de movimiento y en animales con transferencia social del estrés.
- Evaluar la vía catecolaminas-microglía y glucocorticoides-microglía a nivel espinal en el modelo de hipersensibilidad al dolor inducida por estrés crónico y por transferencia social del estrés.

10. Referencias

- Abbadie C, Bhangoo S, De Koninck Y, Malcangio M, Melik-Parsadaniantz S, White FA. (2009). Chemokines and pain mechanisms. *Brain Research Reviews*, 60(1), 125-134.
- Abbas A K, Lichtman AH, Pillai S. (2015). Inmunología celular y molecular (Octava ed.). Barcelona, España: Elsevier.
- Adwanikar H, Ji G, Li W., Doods H, Willis WD, Neugebauer V. (2007). Spinal CGRP1 receptors contribute to supraspinally organized pain behavior and pain-related sensitization of amygdala neurons. *Pain*, 132(1-2), 53-66.
- Aggarwal B. (2003). Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nature Reviews Immunology*, 3, 745-756.
- Almela M (2006). Hormonas, estado de ánimo y función cognitiva (Primera ed.). Madrid, España: Editorial Delta.
- Balsevich G, Abizaid A, Chen A, Karatsoreos IN, Schmidt MV. (2019). Stress and glucocorticoid modulation of feeding and metabolism. *Neurobiology of stress*, 11, 100171.
- Bardin L, Malfetes N, Newman-Tancredi A, DepoortaRe R. (2009). Chronic restraint stress induces mechanical and cold allodynia, and enhances inflammatory pain in rat: relevance to human stress-associated painful pathologies. *Behavioural Brain Research*, 205, 360-366.
- Baron R. (2000). Capsaicin and nociception: from basic mechanisms to novel drugs. *The Lancet*, 356(9232), 785-787.
- Baranauskas G, Nistri A. (1998). Sensitization of pain pathways in the spinal cord: cellular mechanisms. *Progress in Neurobiology*, 54(3), 349-365.
- Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. (2009) Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139(2), 267-284.
- Basbaum AI, Jessel TM (2000). Perception of pain. *Principes of Neural Science* (Quinta ed.). EUA: McGraw-Hill, 47-492.
- Borstad J, Woeste C. (2015). The role of sensitization in musculoskeletal shoulder pain. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, 19(4), 251-256.

- Bradesi S, Svensson CI, Steinauer J, Pothoulakis C, Yaksh TL, Mayer EA (2009). Role of spinal microglia in visceral hyperalgesia and NK1R up-regulation in a rat model of chronic stress. *Gastroenterology*, 136(4), 1339-1348.
- Breder CD, Tsujimoto M, Terano Y, Scott DW, Saper CB. (1993). Distribution and characterization of tumor necrosis factor- α -like immunoreactivity in the murine central nervous system. *Journal of Comparative Neurology*, 337(4), 543-567.
- Burkett JP, Andari E, Johnson ZV, Curry DC, de Waal FB, Young LJ. (2016). Oxytocin-dependent consolation behavior in rodents. *Science*, 351(6271), 375-378.
- Calcia MA, Bonsall DR, Bloomfield PS, Selvaraj S, Barichello T, Howes OD. (2016). Stress and neuroinflammation: a systematic review of the effects of stress on microglia and the implications for mental illness. *Psychopharmacology*, 233(9), 1637-1650.
- Carneiro de Oliveira PE, Zaniboni CR, Carmona IM, Fonseca AR, Canto-de-Souza A. (2017). Preliminary behavioral assessment of cagemates living with conspecifics submitted to chronic restraint stress in mice. *Neuroscience Letters*, 657, 204-210.
- Carrasco G, Van De Kar L. (2003). Neuroendocrine pharmacology of stress. *European Journal of Pharmacology*, 463(1-3): 235-272.
- Chabner B, Knollman B. (2012). Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. (Primera ed.) Ciudad de México, México: McGraw-Hill.
- Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL. (1994). Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *Journal of Neuroscience Methods*, 53(1), 55-63.
- Chen W, Sheng J, Guo J, Gao F, Zhao X, Dai J, Wang G, Li, K. (2015). Tumor necrosis factor- α enhances voltage-gated Na⁺ currents in primary culture of mouse cortical neurons. *Journal of neuroinflammation*, 12, 126.
- Chessell IP, Hatcher JP, Bountra C, Michel AD, Hughes JP, Green P, Egerton J, Murfin M, Richardson J, Peck WL, Grahames CB, Casula MA, Yiangou Y, Birch

- R, Anand P, Buell GN. (2005). Disruption of the P2X7 purinoceptor gene abolishes chronic inflammatory and neuropathic pain. *Pain*, 114, 386-396.
- Choi JI, Svensson CI, Koehn FJ, Bhuskute A, Sorkin LS. (2010). Peripheral inflammation induces tumor necrosis factor dependent AMPA receptor trafficking and Akt phosphorylation in spinal cord in addition to pain behavior. *Pain*, 149(2), 243-253.
 - Ciszek, B., Buckley, S., Nackley, A. (2016). Persistent COMT-dependent pain is initiated by peripheral, but not spinal or central, β 2- and β 3- adrenergic receptors. *Anesthesiology*, 124(5): 1122-1135.
 - Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, Freeman R, Truini A, Attal N, Finnerup NB, Eccleston C, Bennett DL, Dworkin RH, Raja SN (2017). Neuropathic pain. *Nature Reviews. Disease Primers*, 16, 17002.
 - Costigan M, Woolf CJ. (2000). Pain: molecular mechanisms. *The Journal of Pain*, 1(3), 35-44.
 - Coull JA, Boudreau D, Bachand K, Prescott SA, Nault F, SÍk A, De Koninck P, De Koninck Y. (2003). Trans-synaptic shift in anion gradient in spinal lamina I neurons as a mechanism of neuropathic pain. *Nature*, 424(6951), 938-942.
 - Cunha FQ, Tamashiro WMSC. (1992). Tumour necrosis factor-alpha and interleukin-8 inhibit neutrophil migration in vitro and in vivo. *Mediators of Inflammation*, 1(6), 397-401.
 - Cunha TM, Verri WA, Silva JS, Poole S, Cunha FQ, Ferreira SH. (2005). A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(5), 1755-1760.
 - Curiel-Gómez, E. (2018). Participación del co-transportador KCC2 en un modelo de dolor inducido por estrés crónico en ratas. (Tesis de maestría) Cinvestav, Ciudad de México, México.
 - Da Silva-Torres IL, Cucco SN, Bassani M, Duarte MS, Silveira PP, Vasconcellos AP, Tabajara AS, Dantas G, Fontella FU, Dalmaz C, Ferreira MB (2003). Long-

lasting delayed hyperalgesia after chronic restraint stress in rats-effect of morphine administration. *Neuroscience Research*, 45(3): 277-283.

- Dai S, Ma Z. (2014). BDNF-trkB-KCC2-GABA pathway may be related to chronic stress-induced hyperalgesia at both the spinal and supraspinal level. *Medical Hypotheses*, 83(6), 772-774.
- de Waal FBM, van Roosmalen A. (1979). Reconciliation and consolation among chimpanzees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 5(1), 55-66.
- Del Rivero T, Fischer R, Yang F, Swanson KA, Bethea JR. (2019). Tumor necrosis factor receptor 1 inhibition is therapeutic for neuropathic pain in males but not in females. *Pain*, 160(4), 922-931.
- Deak T, Quinn M, Cidlowski JA, Victoria NC, Murphy AZ, Sheridan JF. (2015). Neuroimmune mechanisms of stress: sex differences, developmental plasticity, and implications for pharmacotherapy of stress-related disease. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 18(4), 367-380.
- Delvaux MM. (1999). Stress and visceral perception. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 13, 33A-36A.
- Denver RJ. (2009). Structural and functional evolution of vertebrate neuroendocrine stress systems. *Trends in Comparative Endocrinology and Neurobiology*, 1163(1), 1-16.
- Dubin AE, Patapoutian A. (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3760-3772.
- Elenkov IJ, Chrousos GP. (2002). Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 966, 290-303.
- Ferreira SH, Lorenzetti BB, Poole S. (1993). Bradykinin initiates cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia. *British Journal of Pharmacology*, 110(3), 1227-1231.
- Finnerup NB, Haroutounian S, Kamerman P, Baron R, Bennett DL, Bouhassira D, Cruccu G, Freeman R, Hansson P, Nurmikko T, Raja SN, Rice ASC, Serra J, Smith BH, Treede RD, Jensen TS. (2016). Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical. *Pain*, 157(8), 1599-1606.

- Fong A, Schug SA. (2014). Pathophysiology of pain: a practical primer. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 134(4), 8-14.
- Frank MG, Baratta MV, Sprunger DB, Watkins LR, Maier SF. (2007). Microglia serve as a neuroimmune substrate for stress-induced potentiation of CNS pro-inflammatory cytokine responses. *Brain, Behavior and Immunity*, 21(1), 47-59.
- Gameiro GH, Andrade Ada A, De Castro M, Pereira LF, Tambeli CH, Veiga MC (2005). The effects of restraint stress on nociceptive responses induced by formalin injected in rat's TMJ. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 82(2), 338-344.
- Gameiro GH, Gameiro PH, Andrade Ada S, Pereira LF, Arturi MT, Marcondes FK, Veiga MC (2006). Nociception and anxiety-like behavior in rats submitted to different periods of restraint stress. *Physiology and Behavior*, 87(4), 643-649.
- Gangadharan V, Kuner R. (2013). Pain hypersensitivity mechanisms at a glance. *Disease Models and Mechanisms*, 6(4), 889-895.
- Gao YJ, Ji RR. (2010). Chemokines, neuronal-glia interactions, and central processing of neuropathic pain. *Pharmacology and Therapeutics*, 126(1), 56-68.
- Glovatchcka V, Ennes H, Mayer EA, Bradesi S. (2012). Chronic stress-induced changes in pro-inflammatory cytokines and spinal glia markers in the rat: a time course study. *Neuroimmunomodulation*, 19(6), 367-376.
- Greco CM, Rudy TE, Manzi S. (2004). Effects of a stress-reduction program on psychological function, pain, and physical function of systemic lupus erythematosus patients: a randomized controlled trial. *Arthritis and Rheumatism*, 51(4), 625-634.
- Gudes S, Barkai O, Caspi Y, Katz B, Lev S, Binshtok AM. (2015). The role of slow and persistent TTX-resistant sodium currents in acute tumor necrosis factor- α -mediated increase in nociceptors excitability. *Journal of neurophysiology*, 113(2), 601-619.
- Guevara C, Fernandez AC, Cardenas R, Suarez-Roca H (2015). Reduction of spinal PGE2 concentrations prevents swim stress-induced thermal hyperalgesia. *Neuroscience Letters*, 591, 110-114.

- Williams TG. (2015). The role of stress and the HPA axis in chronic disease management. EUA: Point Institute.
- Gyoneva S, Traynelis SF. (2013). Norepinephrine modulates the motility of resting and activated microglia via different adrenergic receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 288(21), 15291-15302.
- Harvey RJ, Depner UB, Wässle H, Ahmadi S, Heindl C, Reinold H, Smart TG, Harvey K, Schütz B, Abo-Salem OM, Zimmer A, Poisbeau P, Welzl H, Wolfer DP, Betz H, Zeilhofer HU, Müller U. (2004). GlyR $\alpha 3$: an essential target for spinal PGE₂-mediated inflammatory pain sensitization. *Science*, 304(5672), 884-887.
- Haynes SE, Hollopeter G, Yang G, Kurpius D, Dailey ME, Gan WB, Julius D. (2006). The P2Y₁₂ receptor regulates microglial activation by extracellular nucleotides. *Nature Neuroscience*, 9, 1512–1519.
- Herrmann M, Scholmerich J, Straub RH. (2000). Stress and rheumatic diseases. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 26(4), 737-763.
- Hladnik A, Bičanić I, Petanjek Z. (2015). Functional neuroanatomy of nociception and pain. *Periodicum Biologorum*, 117(2), 195-204.
- Homma Y, Brull SJ, Zhang JM. (2002). A comparison of chronic pain behavior following local application of tumor necrosis factor alpha to the normal and mechanically compressed lumbar ganglia in the rat. *Pain*, 95(3), 239-246.
- Hua XY, Svensson CI, Matsui T, Fitzsimmons B, Yaksh TL, Webb M. (2005). Intrathecal minocycline attenuates peripheral inflammation-induced hyperalgesia by inhibiting p38 MAPK in spinal microglia. *European Journal of Neuroscience*, 22(10), 2431-2440.
- Ibrahim S, Xie W, Strong JA, Tonello R, Berta T, Zhang JM. (2018). Mineralocorticoid antagonist improves glucocorticoid receptor signaling and dexamethasone analgesia in an animal model of low back pain. *Frontiers in cellular neuroscience*, 12, 453.
- Imbe H, Murakami S, Okamoto K, Iwai-Liao Y, Senba E. (2004). The effects of acute and chronic restraint stress on activation of ERK in the rostral ventromedial medulla and locus coeruleus. *Pain*, 112(3), 361-371.

- Jennings EM, Okine BN, Roche M, Finn DP. (2014). Stress-induced hyperalgesia. *Progress in Neurobiology*, 121, 1-18.
- Ji RR, Xu ZZ, Gao YJ. (2014). Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(7): 533-548.
- Johnson JD, Campisi J, Sharkey CM, Kennedy SL, Nickerson M, Greenwood BN, Fleshner M. (2005). Catecholamines mediate stress-induced increases in peripheral and central inflammatory cytokines. *Neuroscience*, 135(4), 1295-1307.
- Junger H, Sorkin LS. (2000). Nociceptive and inflammatory effects of subcutaneous TNF α . *Pain*, 85(1-2). 145-151.
- Kanno T, Yaguchi T, Nishizaki T. (2010). Noradrenaline stimulates ATP release from DRG neurons by targeting β_3 adrenoceptors as a factor of neuropathic pain. *Journal of Cellular Physiology*, 224(2), 345-351.
- Kawasaki Y, Zhang L, Cheng JK, Ji RR. (2008). Cytokine mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. *The Journal of Neuroscience*, 28(20), 5189-5194.
- Kent BD, Ryan S, McNicholas WT. (2011). Obstructive sleep apnea and inflammation: Relationship to cardiovascular co-morbidity. *Respiratory Physiology y Neurobiology*, 178(3), 475-481.
- Khasar S, Burkham J, Dina O, Brown A, Bogen O, Alessandri-Haber N, Levine J. (2008). Stress induces a switch of intracellular signaling in sensory neurons in a model of generalized pain. *Journal of Neuroscience*, 28(22), 5721-5730.
- Kirchbaum C, Klauer T, Filipp SH, Hellhammer DH. (1995). Sex-specific effects of social support on cortisol and subjective responses to acute psychological stress. *Psychosomatic Medicine*, 57(1), 23-31.
- Kobayashi K, Yamanaka H, Fukuoka T, Dai Y, Obata K, Noguchi K. (2008). P2Y₁₂ receptor upregulation in activated microglia is a gateway of p38 signaling and neuropathic pain. *Journal of Neuroscience*, 28, 2892-2902.

- Koch A, Zacharowski K, Boehm O, Stevens M, Lipfert P, von Giesen HJ, Wolf A, Freynhagen R. (2007). Nitric oxide and pro-inflammatory cytokines correlate with pain intensity in chronic pain patients. *Inflammation Research*, 56(1), 32-37.
- Kuner R. (2010). Central mechanisms of pathological pain. *Nature Medicine*, 16, 1258-1266.
- Latremoliere A, Woolf CJ. (2009). Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *The Journal of Pain*, 10(9), 895-926.
- Li XQ, Li M, Zhou ZH, Liu BJ, Chen HS. (2016). Chronic restraint stress exacerbates nociception and inflammatory response induced by bee venom in rats: the role of the P2X7 receptors. *Neurological Research*, 38(2), 158-165.
- Liu P, Yuan HB, Zhao S, Liu FF, Jiang YQ, Guo YX, Wang XL. (2018). Activation of GABA_B receptor suppresses diabetic neuropathic pain through toll-Like receptor 4 signaling pathway in the spinal dorsal horn. *Mediators of Inflammation*, 10(2018),6016272.
- Ma K, Zhang H, Baloch Z. (2016). Pathogenetic and therapeutic applications of tumor necrosis factor- α (TNF- α) in major depressive disorder: a systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(5), 733.
- McEwen BS. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological Reviews*, 87(3), 873-904.
- McNeal N, Appleton KM, Johnson AK, Scotti MAL, Wardwell J, Murphy R, Bishop C, Knecht A, Grippo AJ. (2017). The protective effects of social bonding on behavioral and pituitary-adrenal axis reactivity to chronic mild stress in prairie voles. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 20(2), 175-182.
- Merskey H, Bogduk N. (1994). Pain terms: a list with definitions and notes on usage. (Segunda ed.). Seattle, EUA.
- Miao X, Huang Y, Liu TT, Guo R, Wang B, Wang XL, Chen LH, Zhou Y, Ji RR, Liu T. (2018). TNF- α /TNFR1 Signaling is required for the full expression of acute and chronic itch in mice via peripheral and central mechanisms. *Neuroscience Bulletin*, 34(1), 42-53.
- Mikkonen P, Heikkala E, Paananen M, Remes J, Taimela S, Auvinen J, Karppinen J. (2016). Accumulation of psychosocial and lifestyle factors and risk

of low back pain in adolescence: a cohort study. *European Spine Journal*, 25(2), 635-642.

- Millan MJ. (1999). The induction of pain: an integrative review. *Progress in Neurobiology*, 57(1), 1-164.
- Nair A, Bonneau RH. (2006). Stress-induced elevation of glucocorticoids increases microglia proliferation through NMDA receptor activation. *Journal of Neuroimmunology*, 171(1-2), 72-85.
- Ochoa-Cortes F, Guerrero-Alba R, Valdez-Morales EE, Spreadbury I, Barajas-Lopez C, Castro M, Bertrand J, Cenac N, Vergnolle N, Vanner SJ. (2014). Chronic stress mediators act synergistically on colonic nociceptive mouse dorsal root ganglia neurons to increase excitability. *Neurogastroenterology and motility*, 26(3), 334-345.
- Olango WM, Finn DP. (2014). Neurobiology of stress-induced hyperalgesia. *Current topics in Behavioral Neurosciences*, 20, 251-280.
- Olmos G, Lladó J. (2014). Tumor necrosis factor alpha: a link between neuroinflammation and excitotoxicity. *Mediators of Inflammation*, 2014, 861231.
- Orellana JA, Moraga-Amaro R, Díaz-Galarce R, Rojas S, Maturana CJ, Stehberg J, Sáez JC. (2015). Restraint stress increases hemichannel activity in hippocampal glial cells and neurons. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9,1-12.
- Ortega A, Roca A, Micó JA. (2002). Modelos animales de dolor. Una visión crítica. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 9, 447-453.
- Østerås B, Sigmundsson H, Haga M. (2015). Perceived stress and musculoskeletal pain are prevalent and significantly associated in adolescents: an epidemiological cross-sectional study. *BMC Public Health*, 15, 1081.
- Ottestad E, Angst MS. (2013). Nociceptive pain. Ed. Hemmings, Egan, *Pharmacology and Physiology for Anesthesia* (pp. 235-252).
- Pollock J, McFarlane SM, Connell MC, Zehavi U, Vandenabeele P, MacEwan DJ, Scott RH. (2002). TNF- α receptors simultaneously activate Ca²⁺ mobilisation and stress kinases in cultured sensory neurones. *Neuropharmacology*, 42(1), 93-106.

- Quintero L, Cardenas R, Suarez-Roca H. (2011). Stress-induced hyperalgesia is associated with a reduced and delayed GABA inhibitory control that enhances post-synaptic NMDA receptor activation in the spinal cord. *Pain*, 152(8), 1909-1922.
- Quintero L, Moreno M, Avila C, Arcaya J, Maixner W, Suarez-Roca H. (2000). Long-lasting delayed hyperalgesia after subchronic swim stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 67(3), 449-458.
- Raghavendra V, Tanga F, DeLeo JA. (2003). Inhibition of microglial activation attenuates the development but not existing hypersensitivity in a rat model of neuropathy. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306(2), 624-630.
- Ren K, Dubner R. (2010). Interactions between the immune and nervous systems in pain. *Nature Medicine*, 16(11), 1267-1276.
- Ribeiro RA, Vale ML, Ferreira SH, Cunha FQ. (2000). Analgesic effect of thalidomide on inflammatory pain. *European Journal of Pharmacology*, 391(1-2), 97-103.
- Rivat C, Becker C, Blugeot A, Zeau B, Mauborgne A, Pohl M, Benoliel JJ. (2010). Chronic stress induces transient spinal neuroinflammation, triggering sensory hypersensitivity and long-lasting anxiety-induced hyperalgesia. *Pain*, 150(2), 358-368.
- Rocha ACC, Fernandes ES, Quintão NLM, Campos MM, Calixto JB. (2006). Relevance of tumour necrosis factor- α for the inflammatory and nociceptive responses evoked by carrageenan in the mouse paw. *British Journal of Pharmacology*, 148(5), 688-695.
- Rohleder N. (2014). Stimulation of systemic low-grade inflammation by psychosocial stress. *Psychosomatic Medicine*, 76(3), 181-189.
- Sawicki CM, Kim JK, Weber MD, Faw TD, McKim DB, Madalena KM, Lerch JK, Basso DM, Humeidan ML, Godbout JP, Sheridan JF. (2019). Microglia promote increased pain behavior through enhanced inflammation in the spinal cord during repeated social defeat stress. *Journal of Neuroscience*, 39(7), 1139-1149.

- Scanzano A, Cosentino M. (2015). Adrenergic regulation of innate immunity: a review. *Frontiers in Pharmacology*, 6, 171.
- Schäfers M, Lee DH, Brors D, Yaksh TL, Sorkin LS. (2003a). Increased sensitivity of injured and adjacent uninjured rat primary sensory neurons to exogenous tumor necrosis factor- α after spinal nerve ligation. *Journal of Neuroscience*, 23(7), 3028-3038.
- Schäfers M, Sorkin LS, Geis C, Shubayev VI. (2003b). Spinal nerve ligation induces transient upregulation of tumor necrosis factor receptors 1 and 2 in injured and adjacent uninjured dorsal root ganglia in the rat. *Neuroscience Letters*, 347(3), 179-182.
- Schäfers M, Svensson CI, Sommer C, Sorkin LS. (2003c). Tumor necrosis factor- α induces mechanical allodynia after spinal nerve ligation by activation of p38 MAPK in primary sensory neurons. *Journal of Neuroscience*, 23(7), 2517-2521.
- Schäfers M, Sommer C, Geis C, Hagenacker T, Vandenabeele P, Sorkin LS. (2008). Selective stimulation of either tumor necrosis factor receptor differentially induces pain behavior in vivo and ectopic activity in sensory neurons in vitro. *Neuroscience*, 157(2), 414-423.
- Schaible HG, Segond von Banchet G, Boettger MK, Bräuer R, Gajda M, Richter F, Hensellek S, Brenn D, Natura G. (2010). The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Neuroendocrine Immunology in Rheumatic Diseases: Translation from Basics to Clinics*, 1193(1), 60-69.
- Scholz J, Woolf C. (2002). Can we conquer pain?. *Nature Neuroscience*, 5, 1062-1067.
- Senst L, Bains J (2014). Neuromodulators, stress and plasticity: a role for endocannabinoid signalling. *Journal of Experimental Biology*, 217, 102-108.
- Shaqura M, Li X, Al-Madol MA, Tafelski S, Beyer-Koczorek A, Mousa SA, Schäfer M. (2016). Acute mechanical sensitization of peripheral nociceptors by aldosterone through non-genomic activation of membrane bound mineralocorticoid receptors in naive rats. *Neuropharmacology*, 107, 251-261.

- Shubayev VI, Myers RR. (2001). Axonal transport of TNF- α in painful neuropathy: distribution of ligand tracer and TNF receptors. *Journal of Neuroimmunology*, 114(1-2), 48-56.
- Sorkin LS, Doom CM. (2000). Epineurial application of TNF elicits an acute mechanical hyperalgesia in the awake rat. *Journal of the Peripheral Nervous System*, 5(2), 96-100.
- Sterley TL, Baimoukhametova D, Tamás F, Zurek AA, Daviu N, Rasiah NP, Rosenegger D, Bains JS. (2018). Social transmission and buffering of synaptic changes after stress. *Nature Neuroscience*, 21, 393-403.
- Su, YS, Sun WH, Chen CC. (2014). Molecular mechanism of inflammatory pain. *World Journal Anesthesiology*, 3(1), 71-81.
- Sun Y, Yang M, Tang H, Ma Z, Liang Y, Li Z. (2015). The over-production of TNF- α via Toll-like receptor 4 in spinal dorsal horn contributes to the chronic postsurgical pain in rat. *Journal of Anesthesia*, 29(5), 734-740.
- Sun R, Zhao Z, Feng J, Bo J, Rong H, Lei Y, Gu X. (2017). Glucocorticoid-potentiated spinal microglia activation contributes to preoperative anxiety-induced postoperative hyperalgesia. *Molecular Neurobiology*, 54(6), 4316–4328.
- Sun X, Zeng H, Wang Q, Yu Q, Wu J, Feng Y, Deng P, Zhang H. (2018). Glycyrrhizin ameliorates inflammatory pain by inhibiting microglial activation-mediated inflammatory response via blockage of the HMGB1-TLR4-NF- κ B pathway. *Experimental Cell Research*, 369(1), 112-119.
- Svensson CI, Schäfers M, Jones TL, Powell H, Sorkin LS. (2005). Spinal blockade of TNF blocks spinal nerve ligation-induced increases in spinal P-p38. *Neuroscience Letters*, 379(3), 209-213.
- Svensson C, Sorkin L. (2017). Neuronal regulation of pain and inflammation. In Firestein GS, Budd RC, Gabriel SE, McInnes IB, O’Dell JR, Kelley and Firestein’s Textbook of Rheumatology (decima ed., Vol. I). EUA: Elsevier, 461-474.
- Takasaki I, Kurihara T, Saegusa H, Zong S, Tanabe T. (2005). Effects of glucocorticoid receptor antagonists on allodynia and hyperalgesia in mouse model of neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology*, 524(1-3), 80-83.

- Tallarida RJ, Murray RB. (1981). Manual of pharmacologic calculations with computer programs (Cuarta ed.) Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag.
- Teixidor J, Massó J. (1997). Dolor: bases fisiopatológicas y tratamiento del paciente con dolor. Medicina Interna. Masson, Barcelona.
- Tramullas M, Finger BC, Moloney RD, Golubeva AV, Moloney G, Dinan TG, Cryan JF (2014). Toll-like receptor 4 regulates chronic stress-induced visceral pain in mice. *Biology Psychiatry*, 76(4), 340-348.
- Tsuda M, Shigemoto-Mogami Y, Koizumi S, Mizokoshi A, Kohsaka S, Salter MW, Inoue K. (2003). P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. *Nature*, 424, 778–783.
- Ulrich-Lai YM, Fulton S, Wilson M, Petrovich G, Rinaman L. (2015). Stress exposure, food intake, and emotional state. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 18(4), 381-399.
- Velazquez-Lagunas I. (2017). Participación de la alarmina HMGB1 y el receptor TLR4 en un modelo de dolor inducido por estrés crónico en ratas. (Tesis de maestría) Cinvestav, Ciudad de México, México.
- Vieira SM, Lemos HP, Grespan R, Napimoga MH, Dal-Secco D, Freitas A, Cunha TM, Verri WA, Souza-Junior DA, Jamur MC, Fernandes KS, Oliver C, Silva JS, Teixeira MM, Cunha, FQ. (2009). A crucial role for TNF- α in mediating neutrophil influx induced by endogenously generated or exogenous chemokines, KC/CXCL1 and LIX/CXCL5. *British Journal of Pharmacology*, 158(3), 779-789.
- Wagner R, Myers RR. (1996). Endoneurial injection of TNF-alpha produces neuropathic pain behaviors. *NeuroReport*, 25(7), 2897-2901.
- Wall PD, Devor M. (1983). Sensory afferent impulses originate from dorsal root ganglia as well as from the periphery in normal and nerve injured rats. *Pain*, 17(4), 321-339.
- Wang H, Vishnubhakat JM, Bloom O, Zhang M, Ombrellino M, Sama A, Tracey KJ. (1999). Proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor and interleukin 1) stimulate release of high mobility group protein-1 by pituicytes. *Surgery*, 126(2), 389-392.

- Wheeler MA, Heffner DL, Kim S, Espy SM, Spano AJ, Cleland CL, Deppmann CD. (2014). TNF- α /TNFR1 signaling is required for the development and function of primary nociceptors. *Neuron*, 82(3), 587-602.
- Wohleb ES, Hanke ML, Corona AW, Powell ND, Stiner LM, Bailey MT, Nelson RJ, Godbout JP, Sheridan JF. (2011). β -Adrenergic receptor antagonism prevents anxiety-like behavior and microglial reactivity induced by repeated social defeat. *The Journal of neuroscience*, 31(17), 6277-6288.
- Wood PB. (2004). Stress and dopamine: Implications for the pathophysiology of chronic widespread pain. *Medical Hypotheses*, 62(3), 420-424.
- Woolf CJ. (2004). Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Annals of Internal Medicine*, 140, 441-451.
- Woolf CJ, Allchorne A, Safieh-Garabedian B, Poole S. (1997). Cytokines, nerve growth factor and inflammatory hyperalgesia: the contribution of tumour necrosis factor α . *British Journal of Pharmacology*, 121(3), 417-424.
- Woolf CJ, Salter MW. (2000). Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science*, 288(5472), 1765-1768.
- Yu XM, Salter MW. (1999). Src, a molecular switch governing gain control of synaptic transmission mediated by N-methyl-d-aspartate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(14), 7697-7704.
- Yuan B, Liu D, Liu X. (2014). Spinal cord stimulation exerts analgesia effects in chronic constriction injury rats via suppression of the TLR4/NF- κ B pathway. *Neuroscience Letters*, 3(581), 63-68.
- Zhang JM, An J. (2007). Cytokines, inflammation and pain. *International Anesthesiology Clinics*, 45(2), 27-37.
- Zhang H, Dougherty PM. (2011). Acute inhibition of signalling phenotype of spinal GABAergic neurons by tumour necrosis factor- α . *The Journal of Physiology*, 589(18), 4511-4526.
- Zhang J, Wang L, Wang H, Su Z, Pang X. (2019). Neuroinflammation and central PI3K/Akt/mTOR signal pathway contribute to bone cancer pain. *Molecular pain*, 15, 1744806919830240.

- Zhang H, Zhang H, Dougherty PM. (2013). Dynamic effects of TNF- α on synaptic transmission in mice over time following sciatic nerve chronic constriction injury. *Journal of Neurophysiology*, 110(7), 1663-1671.
- Zimmermann M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 16, 109-110.