



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

Departamento de Farmacobiología

**ESTUDIO DEL SISTEMA DOPAMINÉRGICO EN UN MODELO DE
FIBROMIALGIA EN RATAS**

Tesis que presenta

M. en C. Yarim Elideth De la Luz Cuellar

Para obtener el grado de

Doctora en Ciencias en

Neurofarmacología y Terapéutica Experimental

Directores de tesis:

Dr. Vinicio Granados Soto

Dr. Francisco Salvador Mercado Aca

Ciudad de México

Septiembre 2023

Los experimentos conductuales, farmacológicos y moleculares del presente trabajo se realizaron en el Laboratorio de Neurobiología del Dolor (Laboratorio 12) del Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, bajo la dirección del Dr. Vinicio Granados Soto.

Otra serie de experimentos conductuales y farmacológicos se realizaron en el Laboratorio de Fisiología Celular, que pertenece a la Dirección de Investigación en Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría “Dr. Ramón de la Fuente Muñiz”, bajo la dirección del Dr. Francisco Salvador Mercado Aca.

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo de la beca de doctorado 589914 y del proyecto A1-S-40015, ambos otorgados por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (Conahcyt), así como del proyecto 127 otorgado por SEP-Cinvestav y del proyecto NC12165994.0 otorgado por el Instituto Nacional de Psiquiatría “Dr. Ramón de la Fuente Muñiz”.

DEDICATORIAS

A mi mamá, Irma Cuellar Fuentes

Por tu cariño y apoyo incondicional de toda la vida, porque nunca has dejado de creer en mí y respaldas (casi) todas mis decisiones. Gracias por enseñarme a que las cosas se pueden hacer bien y cada vez mejor. Sin tu ayuda, no hubiera sido posible llegar hasta donde estoy. Te quiero mucho, jefecita.

A mi hermana Irma, alias “la Perris”

Por ser mi mejor amiga, confidente y segunda mamá. Gracias por moldear mi horrible carácter y enseñarme que la vida no es tan seria como parece. Y gracias también por esperarme en el pueblo para juntas recargar energía sin necesidad de llevar tierra en el barco*. Te quiero mucho, chuleta.

A mis hermanos, Olaf y Carlos

Porque seguro no tienen idea de lo que he hecho en mi vida académica, pero siempre me esperan en sus respectivos hogares con los brazos abiertos.

A mis sobrinos: Nanen, Tatis, Josh, O-Ju y “la Cachetes”

Porque sus ocurrencias me hacen reír en los momentos menos apropiados, y porque me motivan a ser un buen ejemplo. Y también porque en ustedes he gastado una buena parte de mis becas Conacyt (ahora Conahcyt) y mi salario.

A Oscar

Porque eres mi lugar seguro, no importa cuándo leas esto.

A mi enorme red de apoyo

Amigos y amigas de la preparatoria, universidad, posgrado y del mundo musical. Ustedes saben quiénes son, mil gracias por todo.

A los animales de laboratorio

No existe una forma suficientemente buena para honrarlos. Gracias.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Vinicio Granados Soto

Las palabras nunca serán suficientes, Doc. De verdad, muchas gracias por creer en mí, aun cuando yo ya me había rendido. Fue un honor pertenecer a su laboratorio, gracias por todo su apoyo tanto académico como personal.

Al Dr. Francisco Mercado

Por darme palabras de aliento en el momento correcto, por apoyarme en la realización de esta tesis y dejarme aprender en su laboratorio. Gracias también por interesarse en esta línea de investigación y respaldarme en mis avances.

A mi comité sinodal

Por sus oportunos consejos, comentarios y sugerencias que enriquecieron significativamente este trabajo. Muchísimas gracias: Dra. Mónica Lamas Gregori, Dra. Gabriela Castañeda Corral, Dr. Rodolfo Delgado Lezama y Dr. Alonso Fernández Guasti.

Al Laboratorio 12

Belen, Úrzula, Erick, Erika, Kike, Mara, Itzel, Miguel y Majo, que siempre han hecho más llevadera la vida y los experimentos. Gracias por el apoyo incondicional.

A todo el personal que labora en el Departamento de Farmacobiología

Académico, administrativo, bioterio, vigilancia, biblioteca e intendencia del Cinvestav, Sede Sur.

Nothing in life is to be feared, it is only to be understood. Now is time to understand more, so that we may fear less.

-Marie Curie

Art is the tree of life. Science is the tree of death.

-William Blake

Progress is made by trial and failure; the failures are generally a hundred times more numerous than the successes, yet they are usually left unchronicled.

-William Ramsay

Batman is a scientist.

-Homer Simpson

ÍNDICE

ABREVIATURAS	viii
TABLAS	ix
FIGURAS	ix
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Dolor	1
1.1.1 Transmisión nociceptiva y percepción del dolor	1
1.1.2 Modulación endógena del dolor	4
1.2 Clasificación del dolor	5
1.2.1 Nueva clasificación de la IASP para el dolor	6
1.2.2 Dolor crónico primario	8
1.3 Fibromialgia	9
1.3.1 Fisiopatología de la fibromialgia	11
1.3.2 Tratamiento de la fibromialgia	13
1.3.3 Participación de las hormonas gonadales en la fibromialgia	15
1.4 Modelo de fibromialgia inducida por reserpina en ratas	16
2. ANTECEDENTES PARTICULARES	21
2.1 Dopamina y neuronas dopaminérgicas	21
2.2 Receptores dopaminérgicos	23
2.3 El sistema dopaminérgico en la modulación del dolor	25
2.3.1 Receptores <i>D₁-like</i> en la nocicepción	27
2.3.2 Receptores <i>D₂-like</i> en la nocicepción	28
2.4 Diferencias entre sexos en la nocicepción	30
2.4.1 Papel de las hormonas gonadales en la modulación del dolor	31
2.5 Modulación dependiente del sexo de los receptores dopaminérgicos y su papel en la nocicepción	36
3. JUSTIFICACIÓN	37
4. HIPÓTESIS	38
5. OBJETIVOS	38
5.1 Objetivo general	38
5.2. Objetivos particulares	38
6. MATERIALES Y MÉTODOS	39

6.1 Animales	39
6.2 Modelo de dolor tipo fibromialgia inducido por reserpina	39
6.3 Administración intratecal.....	39
6.4 Lesión de las proyecciones espinales dopaminérgicas.....	40
6.5 Ovariectomía	40
6.6 Evaluación de las conductas nociceptivas	40
6.6.1 Determinación de la alodinia táctil.....	40
6.6.2 Evaluación del umbral de presión muscular	41
6.7 Evaluación de la coordinación motora	41
6.8 Fármacos	41
6.9 <i>Knockdown</i> de los receptores dopaminérgicos D ₁ y D ₅ espinales	42
6.10 Determinación de la expresión de los receptores de dopamina por reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa	43
6.11 Análisis de datos y estadística.....	44
7. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	45
7.1 Lesión de las neuronas dopaminérgicas espinales con 6-hidroxidopamina	45
7.2 Farmacología de los receptores dopaminérgicos.....	46
7.3 Esquema de administración de los siRNAs	48
7.4 Ovariectomía, reconstitución con estradiol y farmacología de los receptores a estrógenos	48
7.5 Reconstitución con progesterona y farmacología del receptor a progesterona	51
7.6 Efecto de la reconstitución hormonal en ratas reserpinizadas	52
7.7 Expresión de los receptores dopaminérgicos en médula espinal y ganglios de la raíz dorsal	53
8. RESULTADOS.....	55
8.1 Lesión de las neuronas dopaminérgicas espinales.....	55
8.1.1 El pre-tratamiento con 6-hidroxidopamina previene el desarrollo de la hipersensibilidad inducida por reserpina	55
8.1.2 El post-tratamiento con 6-hidroxidopamina revierte las conductas nociceptivas inducidas por reserpina.....	56
8.2 Farmacología de los receptores dopaminérgicos D _{1-like}	57
8.2.1 La activación de los receptores D _{1-like} espinales promueve la nocicepción en animales intactos	57
8.2.2 El bloqueo de los receptores D _{1-like} revierte la alodinia inducida por reserpina	58
8.2.3 El tratamiento con siRNAs dirigidos a los receptores D ₁ y D ₅ revierten la alodinia táctil y la hiperalgesia muscular inducidas por reserpina.....	61

8.3 Farmacología de los receptores dopaminérgicos <i>D₂-like</i>	63
8.3.1 Los agonistas de los receptores <i>D₂-like</i> revierten parcialmente la alodinia táctil y la hiperalgesia muscular inducidas por reserpina	63
8.3.2 Los receptores <i>D₂</i> , <i>D₃</i> y <i>D₄</i> participan en diferente medida en la hipersensibilidad inducida por reserpina	65
8.4 El efecto antinociceptivo de los fármacos dopaminérgicos es dependiente del sexo en ratas reserpinizadas	71
8.4.1 El 17 β -estradiol y la activación de los receptores a estrógenos α modulan la actividad antinociceptiva de los receptores <i>D₁-like</i>	73
8.4.2 El efecto antialodínico de los receptores <i>D₂-like</i> depende de la progesterona y del receptor a progesterona.....	76
8.5 La administración de reserpina modifica la expresión de los receptores dopaminérgicos en la médula espinal y los ganglios de la raíz dorsal.....	82
8.5.1 Expresión del ARN mensajero de los receptores dopaminérgicos en hembras reserpinizadas	82
8.5.2 Expresión del ARN mensajero de receptores dopaminérgicos en machos reserpinizados	82
9. DISCUSIÓN.....	85
9.1 Las proyecciones dopaminérgicas espinales son necesarias para el desarrollo y el mantenimiento de la hipersensibilidad inducida por reserpina	85
9.2 Los receptores dopaminérgicos <i>D₁-like</i> espinales promueven la nocicepción en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina	87
9.3 Los receptores dopaminérgicos <i>D₂-like</i> espinales tienen un papel antinociceptivo en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina	89
9.4 Los receptores dopaminérgicos modulan la nocicepción inducida por reserpina de manera dependiente del sexo	91
9.5 Efecto de la reserpina en la expresión de los receptores dopaminérgicos en médula espinal y ganglios de la raíz dorsal.....	95
10. CONCLUSIONES	97
11. PERSPECTIVAS	98
12. REFERENCIAS	99
13. ANEXOS.....	137
13.1 Artículos derivados del proyecto de doctorado	137
13.2 Artículos derivados de otros proyectos	137
13.3 Artículos de divulgación.....	138
13.4 Congresos.....	138
13.5 Actividades académicas	139
13.6 Actividades de retribución social.....	140

ABREVIATURAS

6-OHDA	6-hidroxi-dopamina	E2	17 β -estradiol
ABC	Área bajo la curva	EE	Error estándar
AC	Adenilato ciclase	ERα	Receptor de estrógenos alfa
ADN	Ácido desoxirribonucleico	ERβ	Receptor de estrógenos beta
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos	ERK	Cinasa regulada por señales extracelulares
Akt	Proteína cinasa B	FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos, por sus siglas en inglés
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico	GABA	Ácido gamma-aminobutírico
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico	GABA_A	Receptor ionotrópico del ácido gamma-aminobutírico
ANOVA	Análisis de varianza	GABA_A-α_6	Receptores GABA _A que contienen la subunidad alfa 6
ARN	Ácido ribonucleico	GABA_A-α_5	Receptores GABA _A que contienen la subunidad alfa 5
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero	GR	Receptor de glucocorticoides
ASIC3	Canales sensibles a ácido 3	GRD	Ganglios de la raíz dorsal
ATP	Adenosin trifosfato	GSK3	Glucógeno cinasa sintasa 3
ATV	Área tegmental ventral	i.t.	Intratecal
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro	IASP	Asociación Internacional para el Estudio del Dolor, por sus siglas en inglés
CFA	Adyuvante completo de Freund	JNK	Cinasas c-Jun N-terminal
COMT	Catecol-O-amino transferasa	KCC2	Co-transportador de potasio y cloruro 2
DAAA	Dopa-descarboxilasa	IL-1β	Interleucina 1 beta
DAMGO	[D-Ala ² ,N-MePhe ⁴ ,Gly-ol]-encefalina	IL-6	Interleucina 6
DARPP-32	Fosfoproteína regulada por dopamina y AMPc, de peso molecular de 32000	IL-8	Interleucina 8
DAT	Transportador de dopamina	L-DOPA	Levodopa
DES	Desipramina		
DHEA	Dehidroepiandrosterona		
DMSO	Dimetil sulfóxido		
DPN	Diarilpropionitrilo		

LTP	Potenciación a largo plazo	RES	Reserpina
MAO	Monoaminoxidasa	s.c.	Subcutánea
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógeno	siRNA	Ácido ribonucleico de interferencia pequeño
MPP	Metil-fenil-piperazilo	SN	Substantia nigra
NMDA	N-metil-D-aspartato	SNC	Sistema nervioso central
ORL-1	Receptor de ligando tipo opioide	TH	Tirosina hidroxilasa
P4	Progesterona	TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
PKA	Proteína cinasa A	VEH	Vehículo de la reserpina (ácido acético glacial al 0.5%)
PP1	Proteína fosfatasa 1	VMAT1	Transportador vesicular de monoaminas 1
PP2A	Proteína fosfatasa 2A	VMAT2	Transportador vesicular de monoaminas 2
PPT	Propilpirazoletiol		
PR	Receptor de progesterona		
qPCR	Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa		

TABLAS

Tabla 1. Tratamiento farmacológico de la fibromialgia.....	14
Tabla 2. Agonistas y antagonistas selectivos utilizados en este trabajo.....	42
Tabla 3. Secuencias Taqman utilizadas en este trabajo.	44

FIGURAS

Figura 1. Transmisión nociceptiva ascendente y descendente.	3
Figura 2. Clasificación del dolor de acuerdo con su origen neurobiológico.....	5
Figura 3. Clasificación del dolor en nociceptivo, neuropático y nociplástico.....	6
Figura 4. Clasificación del dolor crónico primario.	8
Figura 5. Signos y síntomas de la fibromialgia.....	10
Figura 6. Mecanismos que subyacen las conductas nociceptivas del modelo de fibromialgia inducida por reserpina.	19
Figura 7. Síntesis y liberación de dopamina.....	22
Figura 8. Receptores de dopamina.....	24
Figura 9. Receptores de estrógenos.	34
Figura 10. Diseño experimental del pretratamiento con 6-hidroxidopamina y los tratamientos control.	45
Figura 11. Diseño experimental del postratamiento con 6-hidroxidopamina y los tratamientos control.	46
Figura 12. Diseño experimental de la administración de fármacos en ratas naïve.....	47
Figura 13. Diseño experimental de la caracterización farmacológica.....	47
Figura 14. Diseño experimental del tratamiento intratecal con siRNAs dirigidos a los genes de los receptores D ₁ y D ₅	48
Figura 15. Diseño experimental del tratamiento agudo con 17β-estradiol previo a la administración intratecal de los fármacos dopaminérgicos.....	49
Figura 16. Diseño experimental del tratamiento con antagonistas de los receptores a estrógenos α y β y la reconstitución con 17β-estradiol previo a la administración intratecal del antagonista de los receptores D ₁ -like.	50
Figura 17. Diseño experimental del tratamiento con agonistas de los receptores estrógenos α y β antes de la administración intratecal del antagonista de los receptores D ₁ -like.	50
Figura 18. Diseño experimental de la reconstitución con 17β-estradiol y progesterona previo a la administración intratecal de los agonistas de los receptores D ₂ -like.....	51

Figura 19. Diseño experimental de la reconstitución con 17β-estradiol, el bloqueo del receptor a progesterona previo a la reconstitución con progesterona, así como el tratamiento intratecal con pramipexol.....	52
Figura 20. Diseño experimental de la reconstitución con 17β-estradiol y progesterona en hembras reserpinizadas sin ovariectomía previo al tratamiento intratecal con SCH-23390 o pramipexol.....	53
Figura 21. Diseño experimental de la determinación de la expresión de los receptores dopaminérgicos en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina.....	54
Figura 22. Efecto del pretratamiento con 6-hidroxidopamina en la hipersensibilidad inducida por reserpina.	55
Figura 23. Efecto del post-tratamiento con 6-hidroxidopamina en la hipersensibilidad inducida por reserpina.	56
Figura 24. Efecto del tratamiento con 6-hidroxidopamina sobre la coordinación motora.	57
Figura 25. Efecto del tratamiento intratecal con dopamina, SCH-23390 y SKF-38393.....	58
Figura 26. Efecto de la administración intratecal de SCH-23390 en las conductas nociceptivas inducidas por reserpina.	59
Figura 27. Efecto de la administración de SKF-38393 sobre el efecto del SCH-23390.....	60
Figura 28. Efecto del knockdown inducido por el siRNA dirigido a los receptores D₁ y D₅.	62
Figura 29. Efecto del tratamiento con los siRNAs sobre la coordinación motora y la expresión del ARNm de los receptores D₁ y D₅.	63
Figura 30. Efecto de la administración intratecal de quinpirol en la hipersensibilidad inducida por reserpina.	64
Figura 31. Efecto de la administración intratecal de pramipexol en la hipersensibilidad inducida por reserpina.	65
Figura 32. Efecto de la administración de antagonistas selectivos de los receptores D₂, D₃ y D₄ sobre el efecto antialodínico del quinpirol.	67
Figura 33. Efecto de la administración de los antagonistas selectivos de los receptores D₂, D₃ y D₄ sobre el efecto antihiperalgésico del quinpirol.	68
Figura 34. Efecto de la administración de antagonistas selectivos de los receptores D₂, D₃ y D₄ sobre el efecto antialodínico del pramipexol.	69
Figura 35. Efecto de la administración de antagonistas selectivos de los receptores D₂, D₃ y D₄ sobre el efecto antihiperalgésico del pramipexol.	70

Figura 36. Efecto de la administración de SCH-23390, pramipexol y quinpirol sobre la alodinia táctil inducida por reserpina en ratas hembra y macho.	72
Figura 37. Efecto de la administración de SCH-23390 y pramipexol en el dolor neuropático.	73
Figura 38. El efecto antialodínico de SCH-23390 requiere de la participación del 17 β -estradiol y del receptor a estrógenos α	75
Figura 39. Efecto de la administración de agonistas selectivos del receptor a estrógenos α y β en el efecto antialodínico de SCH-23390 en ratas ovariectomizadas y reserpinizadas.	76
Figura 40. La reconstitución con 17 β -estradiol no restablece el efecto antialodínico de los agonistas D ₂ -like.	77
Figura 41. El efecto antialodínico de pramipexol y quinpirol requiere de la participación del 17 β -estradiol y progesterona.	79
Figura 42. El efecto del pramipexol requiere de la señalización del receptor de progesterona.	80
Figura 43. El tratamiento hormonal potencia el efecto de los fármacos dopaminérgicos en ratas reserpinizadas.	81
Figura 44. Curso temporal de la expresión del ARNm de los receptores D ₁ , D ₂ , D ₃ y D ₅ en ratas hembras tratadas con reserpina.	83
Figura 45. Curso temporal de la expresión del ARNm de los receptores D ₁ , D ₂ , D ₃ y D ₅ en ratas macho tratados con reserpina.	84

RESUMEN

La fibromialgia es un síndrome de dolor crónico generalizado que afecta principalmente a las mujeres y cuya causa se desconoce. Se sabe que la función dopaminérgica y los niveles de dopamina están alterados en pacientes, pero se desconoce si la dopamina tiene una participación relevante en la aparición o el mantenimiento del dolor. Además, el papel de las hormonas gonadales en la fibromialgia ha sido poco estudiado pese a que la severidad del dolor puede estar influenciada por procesos hormonales como el ciclo menstrual y la menopausia. El propósito de este estudio fue evaluar la participación de la dopamina y de los receptores dopaminérgicos espinales en un modelo de dolor tipo fibromialgia en ratas, así como la influencia del 17β -estradiol y la progesterona en la función de estos receptores. La administración repetida de reserpina produjo alodinia táctil e hiperalgia muscular en ratas Wistar hembra. La destrucción de las neuronas dopaminérgicas espinales con 6-hidroxidopamina, antes y después del tratamiento con reserpina, previno el desarrollo y el mantenimiento de la hipersensibilidad tipo fibromialgia, respectivamente. Además, la administración intratecal de dopamina o de SKF-38393 (agonista de receptores *D₁-like*) produjo hipersensibilidad en ratas *naïve*, efecto que fue abolido por SCH-23390 (antagonista *D₁-like*). Esto indica que la dopamina ejerce un efecto pronociceptivo a nivel de la médula espinal. Por otra parte, la administración intratecal de SCH-23390 (antagonista *D₁-like*), pramipexol y quinpirol (agonistas *D₂-like*), así como los siRNAs dirigidos a los receptores *D₁* y *D₅*, revirtió la hipersensibilidad inducida por reserpina. En otra serie de experimentos, la administración intratecal de quinpirol y pramipexol (agonistas no selectivos de los receptores *D₂-like*) revirtió la alodinia táctil inducida por reserpina y tuvo un efecto modesto sobre la hiperalgia muscular. Por su parte, el L-741,626 (antagonista selectivo del subtipo *D₂*) revirtió el efecto antialodínico y antihiperalgésico del quinpirol y del pramipexol cuando se co-administró con estos agonistas en concentraciones equimolares. El antagonista selectivo de los receptores *D₄*, L-745,870, revirtió parcialmente el efecto antinociceptivo de ambos agonistas, mientras que PG01037 (antagonista selectivo de los receptores *D₃*) no modificó su efecto. Estos resultados sugieren que el subtipo *D₂* es el modulador principal de los efectos antinociceptivos de quinpirol y pramipexol. De manera interesante, el efecto antialodínico del antagonista *D₁-like* como de los agonistas *D₂-like* fue menor en machos reserpinizados. Esto nos llevó a considerar la participación de las hormonas gonadales en la función nociceptiva de los receptores dopaminérgicos. En apoyo a esto, la ovariectomía abolió el efecto antialodínico de SCH-23390, mientras que la reconstitución sistémica con 17β -estradiol o la inyección espinal de propilpirazoletriol (agonista del receptor de estrógenos α) restauró dicho efecto. La inyección intratecal de ICI-182,780 (antagonista agonista del receptor de estrógenos α/β) o metil-piperidino-pirazol (antagonista receptor de estrógenos α) evitó la recuperación del efecto de SCH-23390 en ratas ovariectomizadas tratadas con 17β -estradiol. En contraste, la ovariectomía redujo parcialmente el efecto antialodínico del pramipexol y del quinpirol en

las ratas reserpinizadas, pero fue necesaria la combinación de 17β -estradiol y progesterona para restaurar dicho efecto. Además, la mifepristona (antagonista del receptor de progesterona) previno la recuperación del efecto antialodínico del quinpirol y del pramipexol inducido por la combinación de 17β -estradiol y progesterona. Por otro lado, la reserpina modificó ligeramente la expresión del ARNm de los receptores espinales D_2 y D_5 en ratas hembra, y de los receptores D_2 y D_3 en los machos. Los resultados sugieren que la dopamina tiene un papel pronociceptivo en el dolor tipo fibromialgia inducida por reserpina en ratas a través de la activación de receptores D_1 -like en la médula espinal. La función de los receptores dopaminérgicos D_1 - y D_2 -like depende del sexo en ratas reserpinizadas. La función de los receptores D_1 -like depende de 17β -estradiol y del receptor de estrógenos α , mientras que el de los receptores D_2 -like depende tanto de 17β -estradiol como de progesterona y de los receptores de progesterona espinales. Los receptores dopaminérgicos, particularmente los receptores D_1 -like, podrían ser un blanco terapéutico para el dolor tipo fibromialgia en mujeres.

ABSTRACT

Fibromyalgia is a widespread chronic pain syndrome that mainly affects women and whose cause is unknown. Although alterations in dopaminergic function and dopamine levels have been observed in patients, it is unknown whether dopamine plays a relevant role in fibromyalgia-like pain processing. Likewise, the role of gonadal hormones in the modulation of fibromyalgia has been little explored even though pain severity may be influenced by hormonal processes such as menstrual cycle and menopause. The aim of this study was to evaluate the participation of dopamine and spinal dopamine receptors in a fibromyalgia-type pain model in rats, as well as the influence of 17β -estradiol and progesterone on the function of these receptors. Repeated administration of reserpine produced tactile allodynia and muscle hyperalgesia in both hind paws of female Wistar rats. Destruction of dopaminergic neurons with 6-hydroxydopamine before and after reserpine treatment prevented the development and maintenance of fibromyalgia-type hypersensitivity, respectively. Moreover, intrathecal injection of dopamine and SKF-38393 induced tactile hypersensitivity in naïve female rats, and this effect was abolished by SCH-23390 (D_1 -like antagonist). These data suggest that dopamine has a pronociceptive effect in the spinal cord. Secondly, intrathecal injection of SCH-23390 (D_1 -like antagonist), pramipexole and quinpirole (D_2 -like agonists), as well as siRNAs against D_1 and D_5 receptor subtypes, reversed reserpine-induced hypersensitivity. In another set of experiments, intrathecal injection of quinpirole and pramipexole (non-selective D_2 -like receptor agonists) reversed reserpine-induced tactile allodynia and had a modest effect on muscle hyperalgesia. Moreover, L-741,626 (selective D_2 subtype antagonist) prevented the antiallodynic and antihyperalgesic effect of quinpirole and pramipexole when it was co-administered with these agonists in equimolar concentrations. Meanwhile, the selective D_4 receptor antagonist, L-745,870, partially reversed the antinociceptive effect of both agonists, while PG01037 (selective D_3 receptor antagonist) did not modify their effect. These results suggest that the D_2 subtype is the main modulator of the antinociceptive effects of quinpirole and pramipexole in fibromyalgia-like pain. Interestingly, the antiallodynic effect of the D_1 -like antagonist like and D_2 -like agonists was lower in reserpinized male rats. This led us to consider the participation of gonadal hormones in the nociceptive function of dopaminergic receptors. In support of this, ovariectomy abolished the antiallodynic effect of SCH-23390, while systemic reconstitution of 17β -estradiol or spinal injection of propylpyrazoletriol (estrogen receptor α agonist) restored this effect. Intrathecal injection of ICI-182,780 (estrogen receptor α/β antagonist) or methyl-piperidino-pyrazole (estrogen receptor α antagonist) prevented the recovery of SCH-23390-induced antiallodynic effect in 17β -estradiol-treated ovariectomized rats. In contrast, ovariectomy partially reduced the antiallodynic effect of pramipexole and quinpirole in reserpinized rats, but the combination of 17β -estradiol and progesterone was necessary to restore this effect. In addition, mifepristone (progesterone receptor antagonist) prevented recovery of the antiallodynic effect of quinpirole and

pramipexole induced by 17 β -estradiol plus progesterone. Furthermore, reserpine slightly modified the mRNA expression of spinal D₂ and D₅ receptors in female rats, and D₂ and D₃ receptors in males. Our data suggest that dopamine has a pronociceptive role in reserpine-induced fibromyalgia-like pain in rats through activation of D₁-like receptors in the spinal cord. Function of spinal D₁- and D₂-like dopaminergic receptors depends on sex in reserpinized rats. The function of D₁-like receptors is dependent on 17 β -estradiol and estrogen receptor α , while that of D₂-like receptors is dependent on both 17 β -estradiol and progesterone, as well as on spinal progesterone receptors. Dopamine receptors, particularly D₁-like receptors, could be a suitable target to treat fibromyalgia-type pain in women.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Dolor

El dolor es una respuesta del organismo que lo protege ante estímulos que ponen en riesgo su integridad. De acuerdo con la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés), el dolor se define como una “experiencia sensorial y emocional desagradable asociada, o similar a la asociada, con daño tisular real o potencial” (Raja et al., 2020). La habilidad para percibir estímulos nocivos es esencial para la supervivencia y el bienestar de los individuos (Basbaum et al., 2009). No obstante, el dolor es una función compleja que involucra tanto el componente sensorial (nocicepción) como el procesamiento cognitivo y emocional de estos estímulos a nivel cerebral (Julius y Basbaum, 2001).

El dolor patológico resulta de la modificación celular, molecular y estructural de las redes que modulan la percepción y la respuesta al dolor, lo que altera su función bajo diferentes condiciones. Por lo tanto, el dolor pierde su carácter adaptativo-protector, se vuelve crónico, debilitante y, en ocasiones, incapacitante (Woolf, 2010; Raffaelli y Arnaudo, 2017). El dolor crónico es un problema de salud pública que afecta a alrededor del 20% de la población mundial (Goldberg y McGee, 2011), con una gran variabilidad entre las poblaciones de cada país. Asimismo, la prevalencia recae principalmente sobre las mujeres, las personas de la tercera edad y las personas con ingresos económicos bajos o que viven en zonas rurales (Zimmer et al., 2022). En el 2010 se estimaba que aproximadamente 28 millones de mexicanos padecían dolor crónico (Covarrubias-Gómez et al., 2010) y, pese a que no hay estudios más recientes, es posible que esta cifra haya incrementado con el paso de los años.

La subjetividad y la complejidad del dolor crónico lo convierten en un reto para los grupos de investigación que continúan elucidando los mecanismos subyacentes y buscando alternativas terapéuticas para su tratamiento.

1.1.1 Transmisión nociceptiva y percepción del dolor

La percepción del dolor inicia mediante la detección de estímulos potencialmente dañinos a través de una subpoblación de neuronas periféricas conocidas como nociceptores (Basbaum et al., 2009; Dubin y Patapoutian, 2010). Los nociceptores, también llamados

neuronas aferentes primarias o neuronas de primer orden, son capaces de distinguir entre estímulos inocuos y estímulos nocivos gracias a su alto umbral de activación (Woolf y Ma, 2007; Basbaum et al., 2009). Las membranas de los nociceptores expresan receptores específicos y canales iónicos que son sensibles al calor, al frío, a la presión mecánica, a cambios en el pH o a irritantes químicos (Julius y Basbaum, 2001; Woolf y Ma, 2007; Gold y Stucky, 2020). Algunos nociceptores son polimodales, mientras que otros son sensibles a un solo tipo de estímulo. Asimismo, la velocidad de conducción es directamente proporcional al diámetro axonal del nociceptor y al grado de mielinización. Con base en sus características anatómicas y funcionales, podemos clasificar a los nociceptores en tres tipos (Julius y Basbaum, 2001; Dubin y Patapoutian, 2010):

- a) Fibras C. La mayoría de los nociceptores son de diámetro axonal pequeño (0.4-1.4 μm) y no mielinizados, poseen una velocidad de conducción de 0.4-1.4 m/s.
- b) Fibras A δ . Son nociceptores de diámetro axonal mediano (6-10 μm), ligeramente mielinizados, con una velocidad de conducción de 5-30 m/s.
- c) Fibras A β . Son fibras de diámetro axonal grande (10-30 μm), responsables de la propiocepción y el tacto ligero, están mielinizadas y su velocidad de conducción es de 30-100 m/s. Pese a que la mayoría de estas neuronas no se consideran nociceptores, un subgrupo de fibras A β responde a estímulos de alto umbral y pueden conducir estímulos nocivos a alta velocidad (Nagi et al., 2019).

Las fibras aferentes primarias contienen sus cuerpos celulares en los ganglios de la raíz dorsal (GRD) y en el ganglio trigeminal. Además, tienen una morfología pseudounipolar única en la que tanto la terminal central como la periférica emanan de un mismo tallo axonal (Basbaum et al., 2009). Los nociceptores detectan los estímulos nocivos y los transducen en forma de señales eléctricas (potenciales de acción) que se propagan a través de sus axones hasta las terminales centrales, localizadas principalmente en las láminas I y II del asta dorsal de la médula espinal (**Figura 1**) (Julius y Basbaum, 2001; Woolf 2004). La llegada del potencial de acción a la terminal central de la aferente primaria produce la apertura de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, incrementando la concentración intracelular de Ca^{2+} e induciendo la liberación de neuromoduladores (glutamato, sustancia P, CGRP) hacia el espacio sináptico y/o extrasináptico (Julius y Basbaum, 2001). Una vez que estos mediadores activan a sus

respectivos receptores en la neurona postsináptica de segundo orden, la información nociceptiva asciende al tálamo a través del tracto espinotalámico, y al tallo cerebral mediante los tractos espinoparabraquial y espinomesencefálico (Pertovaara y Almeida, 2006; Tracey y Mantyh, 2007). Las proyecciones espinales hacia el tallo cerebral son particularmente importantes para integrar la actividad nociceptiva con procesos homeostáticos y autonómicos (Tracey y Mantyh, 2007). Las neuronas de tercer orden del tálamo proyectan hacia distintas áreas cerebrales responsables de la discriminación sensorial y los componentes aversivo, cognitivo y emocional del dolor, tales como la corteza somatosensorial, la corteza prefrontal, la corteza anterior del cíngulo, la ínsula, el núcleo accumbens, la amígdala y el hipocampo (Brodin et al., 2016).

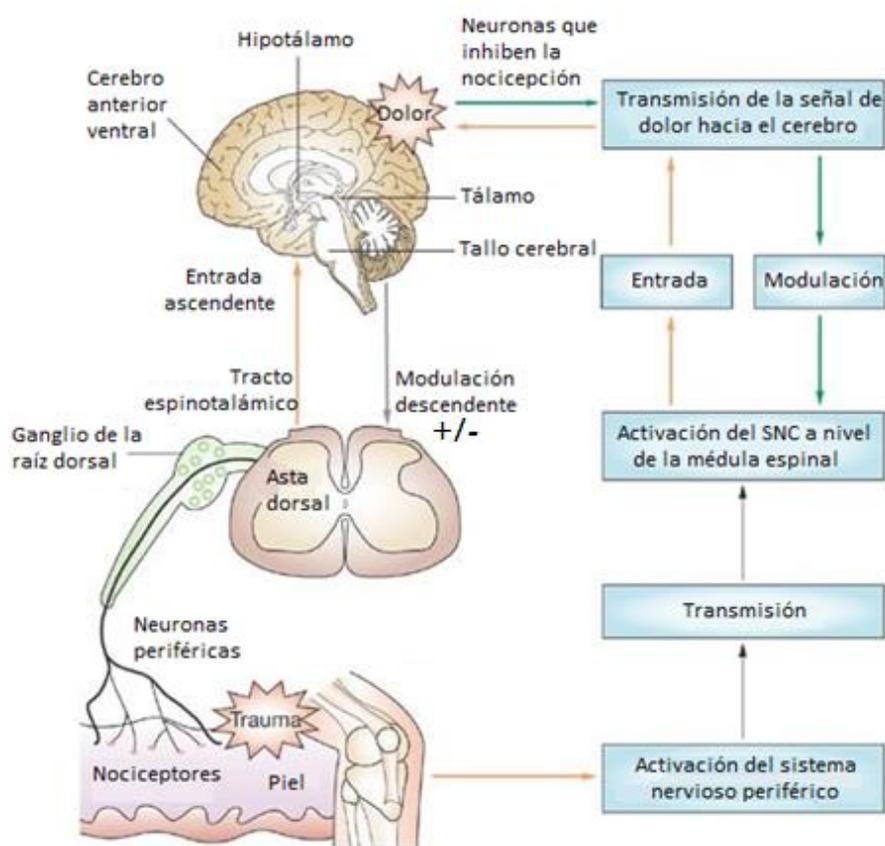


Figura 1. Transmisión nociceptiva ascendente y descendente.

La activación de los nociceptores genera señales eléctricas que se conducen hacia las neuronas del asta dorsal de la médula espinal. La información nociceptiva asciende al tallo cerebral y al encéfalo a través del tracto espinotalámico y activa las neuronas que integran la respuesta cognitiva y emocional del dolor. Las señales descendentes que se originan desde los circuitos supraespinales pueden inhibir o facilitar la transmisión del dolor en la médula espinal. SNC: sistema nervioso central. Modificado de Bingham et al., 2009.

1.1.2 Modulación endógena del dolor

La activación de las áreas cerebrales relacionadas con la percepción del dolor envía señales a través de circuitos descendentes, que proyectan hacia la médula espinal para regular el procesamiento nociceptivo en distintas circunstancias, ya sea inhibiéndolo o facilitándolo (**Figura 1**). En este circuito bidireccional participan dos estructuras principales que forman parte del mesencéfalo: la sustancia gris periacueductal y la médula ventromedial rostral. De esta forma, los impulsos generados en estructuras como el hipotálamo, tálamo, amígdala y corteza anterior del cíngulo se integran en la sustancia gris periacueductal, que envía proyecciones a la médula ventromedial rostral, que a su vez envía proyecciones a lo largo del funículo dorsolateral a la médula espinal (Millan, 2002; Porreca et al., 2002; Vanegas y Schaible, 2004; Pertovaara y Almeida, 2006; Ossipov et al., 2010; Ossipov et al., 2014). Una gran cantidad de mediadores participan en el control descendente del dolor, incluidos los péptidos opioides y las monoaminas (Millan, 2002). La médula ventromedial rostral se conforma por el núcleo magno de rafé y formaciones reticulares adyacentes serotoninérgicas (Ossipov et al., 2010), así como de poblaciones de neuronas GABAérgicas y glicinérgicas (Kato et al. 2006; Hossaini et al. 2012), todas con proyecciones hacia la médula espinal. La médula ventromedial rostral también recibe entradas del tálamo, la región parabraquial y el *locus coeruleus* a través de neuronas noradrenérgicas, las cuales comunican con la sustancia gris periacueductal (Ossipov et al., 2010; Ossipov et al., 2014). Por otro lado, la región periventricular posterior del hipotálamo (núcleo A11) es la fuente principal de proyecciones dopaminérgicas hacia la médula espinal (Skagerberg et al., 1982; Skagerberg y Lindvall, 1985).

Los mediadores liberados de las neuronas que proyectan a la médula espinal pueden promover o inhibir el dolor dependiendo de la activación de los distintos subtipos de receptores expresados en la membrana, así como de la señalización intracelular generada por los segundos mensajeros (Millan, 2002; Ossipov et al., 2014). De esta forma, la inhibición y facilitación funcionan en armonía para mantener un procesamiento sensorial equilibrado. No obstante, en condiciones de dolor crónico, el balance podría estar alterado debido a procesos de plasticidad dinámica en las neuronas sensoriales, favoreciendo la facilitación en la médula espinal mediante la activación sostenida de estos

circuitos y amplificando la señal dolorosa en el sistema nervioso central (Porreca et al., 2002; Vanegas y Schaible, 2004; Ossipov et al., 2014).

1.2 Clasificación del dolor

De acuerdo con las características fisiopatológicas que lo producen, el dolor se ha clasificado en cuatro tipos (**Figura 2**): nociceptivo, inflamatorio, neuropático y disfuncional (Woolf, 2004; Woolf, 2010). El dolor nociceptivo se produce por la activación de nociceptores de alto umbral y es esencial para detectar y minimizar el contacto con estímulos potencialmente dañinos. El dolor inflamatorio surge en presencia de daño tisular, lo que recluta a las células del sistema inmune que liberan citocinas y otros mediadores inflamatorios para reducir el umbral de activación de las neuronas aferentes primarias. El dolor neuropático se produce como respuesta al daño en el sistema somatosensorial central o periférico y puede persistir durante meses o años. En contraste, el dolor disfuncional se presenta en ausencia de inflamación o daño en los tejidos o neuronas, pero se cree que el aumento de la sensibilidad ocurre en respuesta a un procesamiento anormal del dolor en el sistema nervioso central (Woolf, 2004).

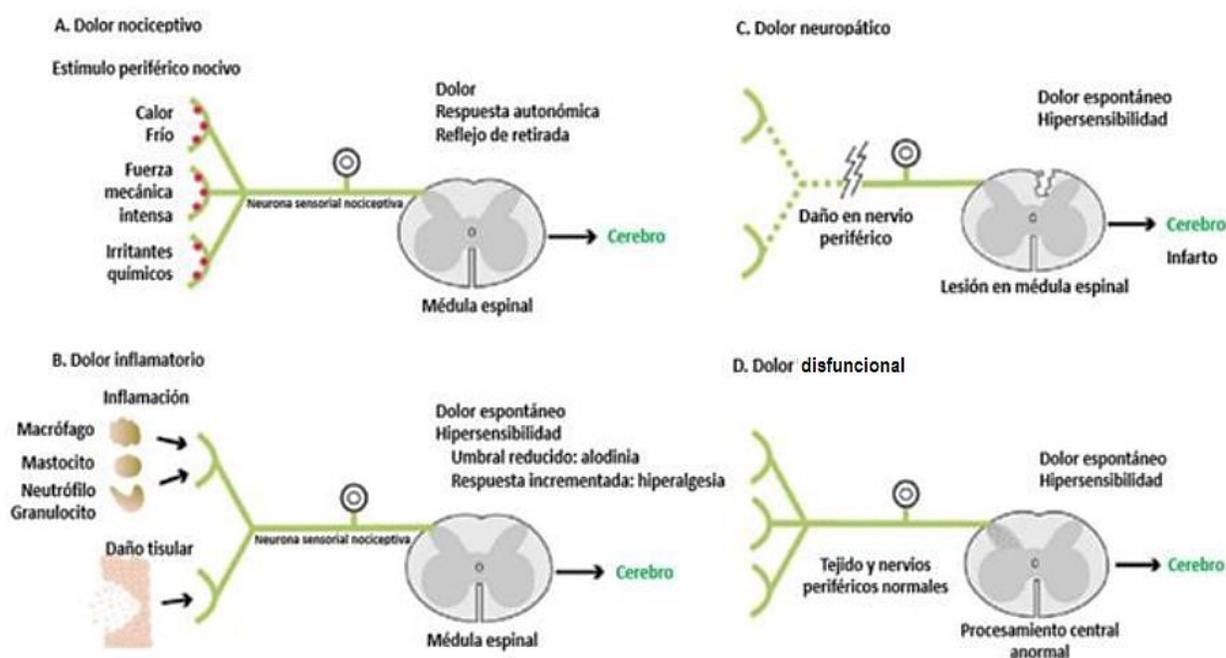


Figura 2. Clasificación del dolor de acuerdo con su origen neurobiológico.
 Modificado de Woolf, 2004.

1.2.1 Nueva clasificación de la IASP para el dolor

En los últimos años, la IASP y un gran número de investigadores a nivel internacional retomaron la clasificación del dolor considerando tres categorías principales: nociceptivo, neuropático y nociplástico (Kosek et al., 2016; Raja et al., 2020). Estas categorías se definieron considerando los mecanismos que contribuyen a la percepción individual del dolor y el manejo del dolor en pacientes, desde la perspectiva biopsicosocial del desarrollo de dolor crónico o dolor no adaptativo. De esta forma, la nueva clasificación toma en cuenta los factores psicológicos, sociales y culturales que modulan la percepción y el desarrollo del dolor (Murphy et al., 2023), y cómo estos influyen en los mecanismos neurobiológicos que subyacen al dolor (**Figura 3**).

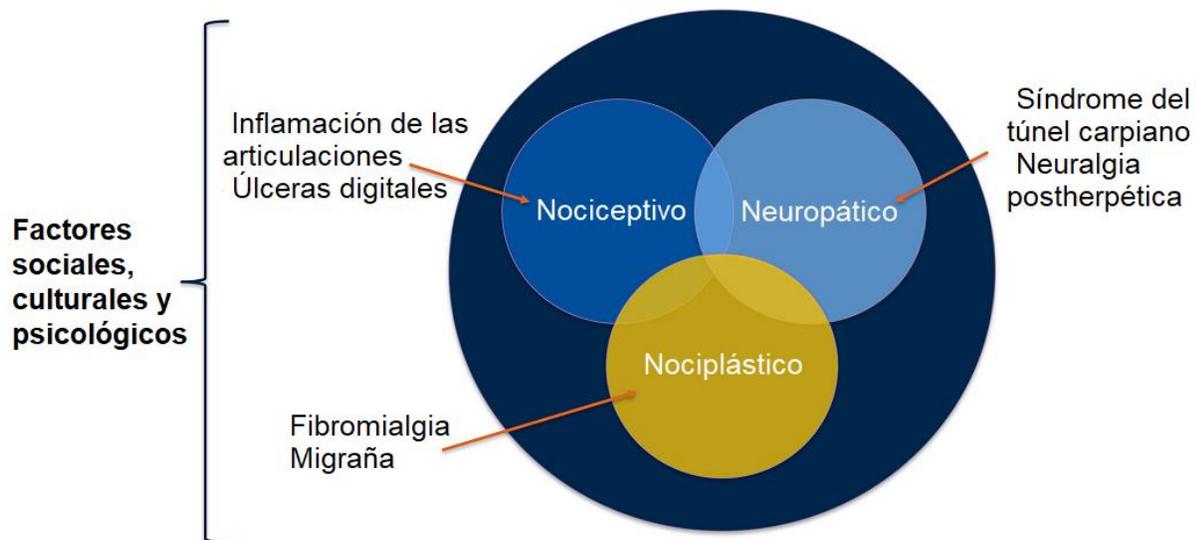


Figura 3. Clasificación del dolor en nociceptivo, neuropático y nociplástico.

La sensación de dolor en cada individuo puede incluir al menos una de estas clasificaciones, que están moduladas por factores psicológicos, culturales y sociales. Modificado de Murphy et al., 2023.

De acuerdo con la nueva clasificación, el dolor nociceptivo se refiere a una respuesta fisiológica normal ante el daño que resulta de un trauma, una herida que no ha sanado o de algún proceso inflamatorio. Este tipo de dolor puede ser bien localizado y descrito por los pacientes (Murphy et al., 2023). Algunos ejemplos son la artritis reumatoide y el dolor después de una intervención quirúrgica. Además, el tratamiento farmacológico con antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) u opioides suele ser efectivo en este tipo de dolor (Kosek et al., 2016; Murphy et al., 2023). Por otro lado, el dolor neuropático ocurre

como resultado de una lesión o enfermedad que afecta al sistema somatosensorial, ya sea a nivel periférico o central (Costigan et al., 2009; Raja et al., 2020). Este tipo de dolor se describe como lacerante y episódico, acompañado de parestesias, alodinia (hipersensibilidad ante estímulos inocuos) e hiperalgesia (sensibilidad exacerbada). El tratamiento del dolor neuropático suele ser complejo y se compone, principalmente, de fármacos cuyo blanco terapéutico se encuentra en el sistema nervioso central, como antiepilépticos y antidepresivos como primera línea de tratamiento (Finnerup et al., 2015). La propuesta de una tercera clasificación del dolor, el dolor nociplástico, surgió como una necesidad para describir las patologías dolorosas que se caracterizaban por la ausencia de daño aparente, y en las que no ocurría una activación obvia de los nociceptores que explicara el desarrollo del dolor (Kosek et al., 2016; Fitzcharles et al., 2021). Por lo tanto, el dolor nociplástico se define como el dolor que surge de una alteración del procesamiento nociceptivo, y que a su vez sugiere la desregulación de las vías de modulación del dolor en el sistema nervioso central (Kosek et al., 2016, 2021). Este término es, en esencia, un sinónimo de lo que conocíamos como dolor disfuncional o dolor centralizado, y es mecánica y clínicamente distinto a los otros dos tipos de dolor (Kosek et al., 2016, 2021). Aunque puede ser generalizado o localizado, el dolor nociplástico abarca la disfunción de múltiples circuitos del sistema nervioso que llevan a la amplificación de las señales dolorosas, la disminución de los mecanismos de la inhibición endógena del dolor, o ambas (Fitzcharles et al., 2021; Murphy et al., 2023). Asimismo, las condiciones de dolor nociplástico se asocian frecuentemente con fatiga, problemas cognitivos y trastornos del sueño, entre otros problemas de salud (Kosek et al., 2016, 2021; Nicholas et al., 2019).

Con base en las definiciones de dolor nociceptivo, neuropático y nociplástico, la IASP ha actualizado la categorización del dolor crónico en la versión más reciente de la Clasificación Internacional de Enfermedades (*ICD-11*, por sus siglas en inglés). Esta nueva clasificación también aborda a los síndromes de dolor nociplástico que antes se dejaban fuera de la clasificación del dolor crónico (Nicholas et al., 2019; Raja et al., 2020).

1.2.2 Dolor crónico primario

Muchas condiciones de dolor crónico tienen una fisiopatología y etiología poco claras, pero se caracterizan por una interacción compleja entre factores biológicos, psicológicos y sociales (Fitzcharles et al., 2021). El término de “dolor crónico primario” se asignó para evadir la terminología ambigua que trataba de diferenciar al dolor físico y el dolor psicológico, lo que afectaba el diagnóstico y la clasificación de enfermedades como la fibromialgia y el síndrome del colon irritable (Nicholas et al., 2019; Murphy et al., 2023).

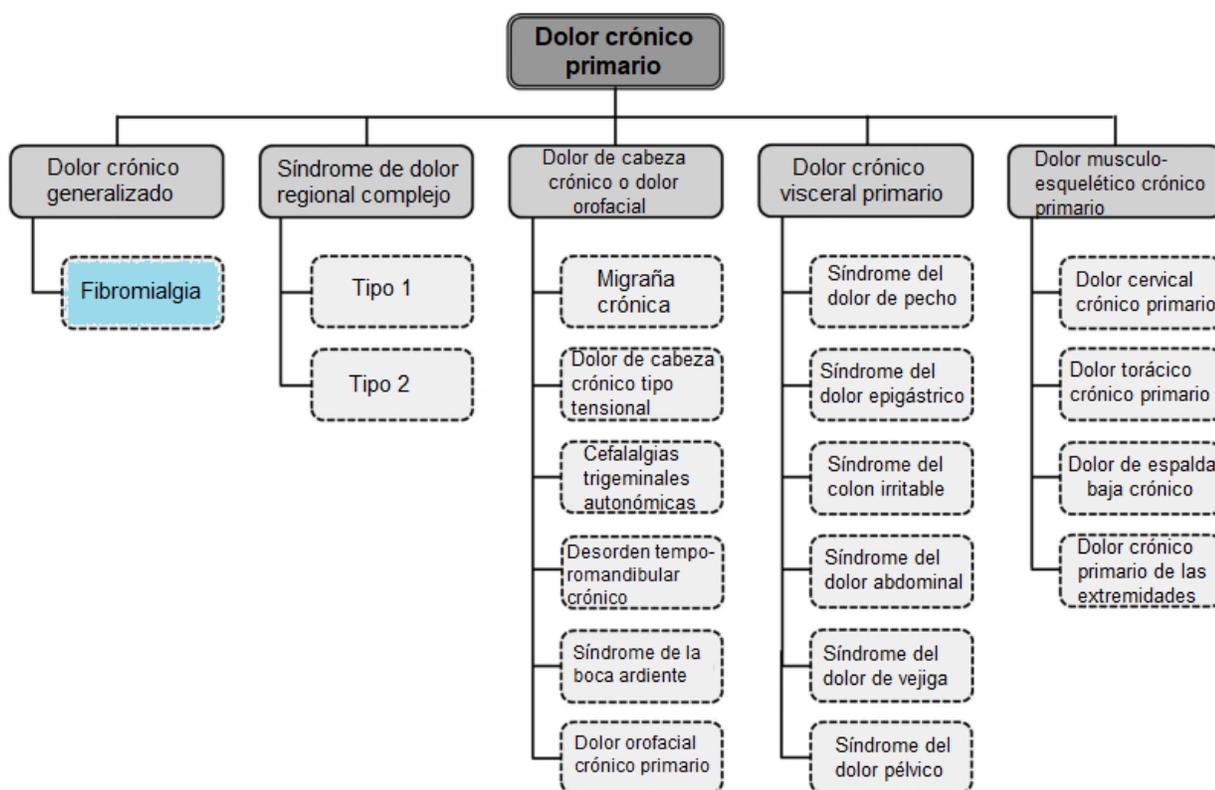


Figura 4. Clasificación del dolor crónico primario.

Las condiciones de dolor crónico primario responden a las características de dolor nociplástico. La fibromialgia es un síndrome de dolor generalizado. Modificado de Nicholas et al., 2019.

De esta manera, la *IASP* tomó la iniciativa de considerar al dolor crónico primario como una clasificación que engloba a las condiciones de dolor nociplástico que afectan seriamente la calidad de vida de quienes lo padecen (**Figura 4**). Se considera un diagnóstico de dolor crónico primario cuando (Nicholas et al., 2019):

- a) El dolor persiste por más de tres meses.

- b) Se asocia con estrés emocional (ansiedad, depresión, entre otros) y/o discapacidad funcional (interferencia con las actividades de la vida cotidiana).
- c) Los síntomas no se explican por algún otro diagnóstico.

Algunos mecanismos para explicar este tipo de dolor ya habían sido propuestos desde que se clasificaba como dolor disfuncional, incluyendo la sensibilización central, la desinhibición GABAérgica y la facilitación descendente (Ossipov et al., 2014). El dolor nociplástico se podría asociar con una reducción de la inhibición endógena de la vía del dolor y con la activación de nociceptores sensibilizados en combinación con procesos de sensibilización central (Staud, 2012), además de otros factores como la disfunción autoinmune, factores genéticos, inflamación y la activación del eje pituitaria-adrenal (Talotta et al., 2015). No obstante, la ausencia de un blanco terapéutico específico representa la problemática actual para hallar un tratamiento efectivo contra el dolor nociplástico. En este trabajo nos enfocamos en el estudio de la fibromialgia, un tipo de dolor crónico generalizado que forma parte de la clasificación descrita anteriormente.

1.3 Fibromialgia

La fibromialgia es un síndrome de dolor crónico que se caracteriza por una sensibilidad exagerada al tacto y varios síntomas concomitantes mediados por el sistema nervioso central, tales como fatiga, depresión, dificultades cognitivas y trastornos del sueño y del estado de ánimo (Clauw, 2014; Sluka y Clauw, 2016; Sarzi-Puttini et al; 2020). La fibromialgia tiene una prevalencia del 2 al 4.7% en la población mundial (Queiroz, 2013; Pasqual Marques et al., 2017). Afecta más a las mujeres que a los hombres con una proporción 2:1, y aunque afecta principalmente a mujeres posmenopáusicas, puede desarrollarse a cualquier edad, incluso en la niñez, y es independiente del grupo étnico (Vincent et al., 2013; Clauw, 2014; Wolfe et al., 2018). En México, se estima que entre el 0.7 y el 5% de la población padece esta enfermedad (Peláez-Ballestas et al., 2011; Covarrubias-Gómez y Carrillo-Torres, 2016).

El dolor generalizado es el síntoma principal, se presenta en las cuatro extremidades, así como en la espalda alta y baja. También se percibe como un dolor que no se puede ubicar anatómicamente, que se origina en los músculos o desde los huesos, y que se extiende hasta la piel e incluso a las articulaciones (Jain et al., 2003; Clauw, 2014). Los pacientes

reportan alodinia, hiperalgesia, dolor espontáneo, dolor persistente en forma de hormigueo o sensaciones quemantes/punzantes, y es común que aseguren sentirse como si estuvieran completamente golpeados (Jain et al., 2003; Staud et al., 2012). Además, la intensidad del dolor suele agravarse con el frío o en clima húmedo, durante episodios de ansiedad o estrés y con la falta de sueño (Yunus et al., 1991; Sarzi-Puttini et al., 2020).

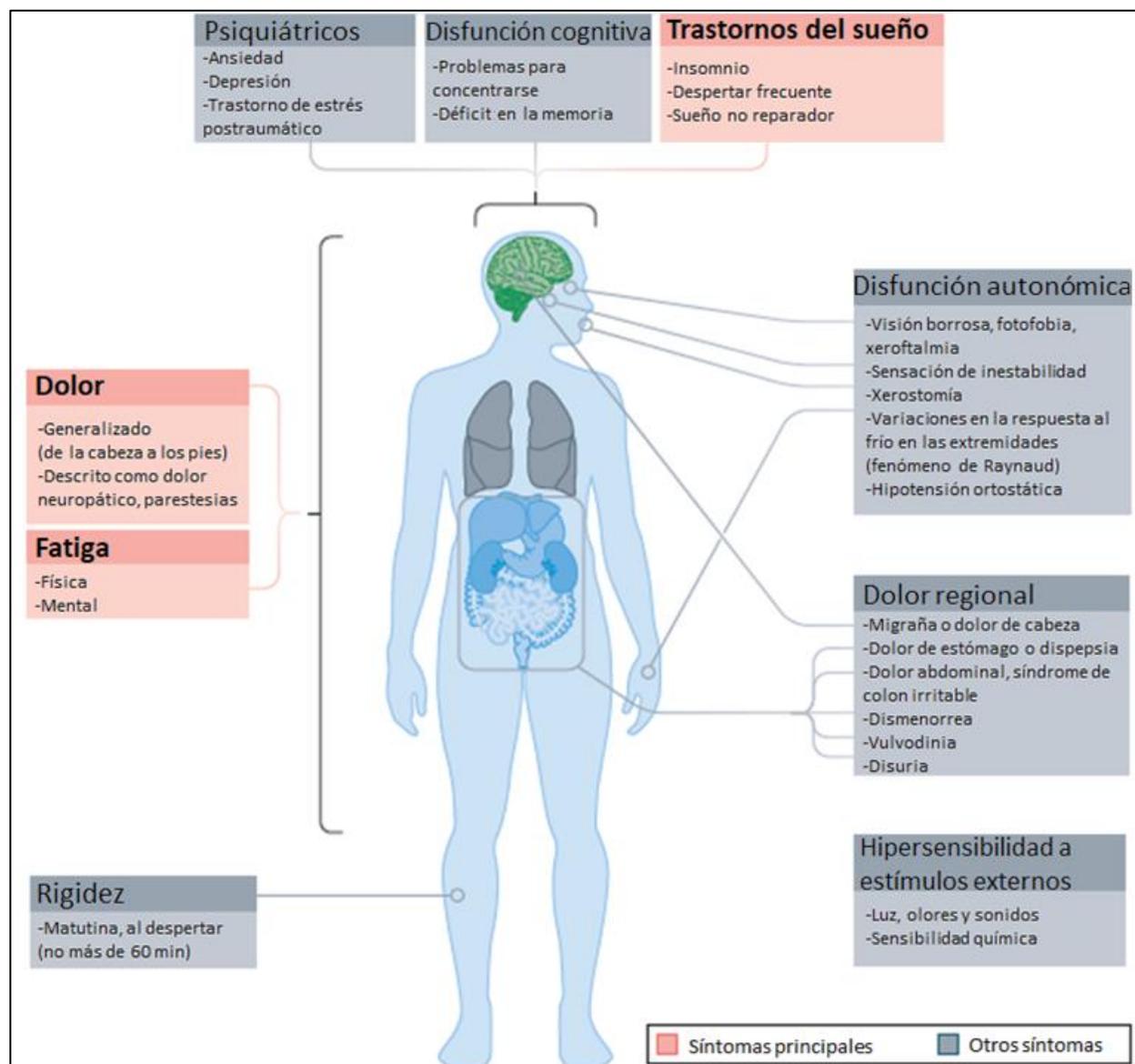


Figura 5. Signos y síntomas de la fibromialgia.

En los recuadros rojos se muestran los síntomas indispensables para el diagnóstico de la enfermedad. Modificado de Sarzi-Puttini et al., 2020.

Como hemos mencionado, se desconoce la etiología de la fibromialgia. El diagnóstico suele ser difícil debido a la ausencia aparente de inflamación y de daño al tejido o al sistema nervioso y a la ausencia de marcadores biológicos. El dolor y el resto de los síntomas son “invisibles” y pasan desapercibidos para el resto de las personas. Sin embargo, aunque los síntomas se presentan en la mayoría de los pacientes, suelen ser muy variables y tener cambios impredecibles día con día, o incluso durante el transcurso de un mismo día (Zautra et al., 2007; Bossema et al., 2013). Por lo tanto, el diagnóstico se basa en la historia clínica del paciente, apoyada de cuestionarios que evalúan la presencia de dolor crónico, sueño no reparador, fatiga física y/o mental, de acuerdo con los criterios establecidos por el Colegio Americano de Reumatología (ACR, por sus siglas en inglés) (Baron et al., 2014; Wolfe et al., 2016).

1.3.1 Fisiopatología de la fibromialgia

La presencia de fatiga, dificultades en la memoria, depresión, problemas para dormir y trastornos del estado de ánimo sugieren que el origen fundamental de la fibromialgia se encuentra a nivel del sistema nervioso central (Clauw, 2014; Sarzi-Puttini et al., 2020), aunque también se ha reportado disfunción autonómica y del sistema nervioso periférico en algunos pacientes, entre otras alteraciones fisiológicas (**Figura 5**) (Talotta et al., 2015; Sarzi-Puttini et al., 2020). De acuerdo con la evidencia en estudios clínicos y preclínicos, se han propuesto diversos mecanismos para explicar la etiología de la fibromialgia. El que compete a esta investigación hace referencia a la desregulación del sistema nervioso central y periférico (Sluka y Clauw, 2016; Sarzi-Puttini et al., 2020). Una de las causas subyacentes podría ser el desbalance en los niveles de neurotransmisores. Se sabe que las concentraciones de serotonina, noradrenalina y dopamina están reducidas en el líquido cefalorraquídeo y en el suero de los pacientes fibromiálgicos (Russell et al., 1992). Se cree que lo anterior puede desencadenar una alteración en los mecanismos de modulación descendente del dolor (Sluka y Clauw, 2016; Serrano et al., 2022), que a su vez promovería la amplificación en la transmisión del dolor y en su interpretación a nivel cortical, de acuerdo con lo que se ha observado en diversos estudios de neuroimagen de pacientes sometidos a estímulos térmicos y de presión mecánica ligera (Gracely et al., 2002; Cook et al., 2004; Jensen et al., 2009; Foerster et al., 2011; López-Solà et al.,

2017). Asimismo, los pacientes presentan un déficit en la actividad nociceptiva dependiente de opioides, con un aumento en los niveles de opioides en líquido cefalorraquídeo y una disminución paradójica de la disponibilidad de receptores a nivel central (Baraniuk et al., 2004; Harris et al., 2007). Lo anterior podría explicar por qué los analgésicos opioides no son eficaces contra el dolor de la fibromialgia. También se ha observado un aumento de la concentración de glutamato y una disminución del ácido gamma-aminobutírico (GABA) en el líquido cefalorraquídeo y en varias regiones cerebrales involucradas en el procesamiento del dolor, como la ínsula y la corteza posterior del cíngulo (Larson et al., 2000; Sarchielli et al., 2007; Harris et al., 2009; Harris, 2010; Foerster et al., 2012). La alteración de la estimulación nociceptiva en el sistema nervioso periférico también puede desempeñar un papel importante en la fisiopatología de la fibromialgia. Se ha reportado una reducción de las fibras nerviosas de la epidermis en biopsias de pacientes con fibromialgia, en comparación con controles sanos (Oaklander et al., 2013; Üceyler et al., 2013; Caro y Winter, 2014; Doppler et al., 2015). Además, se determinó que las fibras C que no responden a estímulos mecánicos tienen un aumento de la actividad espontánea y se vuelven hipersensibles a estos estímulos (Serra et al., 2014). Es posible que esta sensibilización se deba, en parte, a una acumulación de células *natural killer* en las fibras periféricas (Verma et al., 2021).

Para el presente trabajo únicamente abordaremos los mecanismos que afectan la modulación del dolor a nivel central y periférico. No obstante, se han descrito factores múltiples que contribuyen al desarrollo de la fibromialgia:

- 1) Disfunción neuroendocrina en respuesta al estrés mediado por el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal y el sistema nervioso autónomo (Elam et al., 1992; Griep et al., 1993; Raj et al., 2000; Torpy et al., 2000; Martínez-Lavin y Hermosillo, 2000; Martínez-Lavin et al., 2002; Martínez-Lavin, 2004; Adler y Geenen, 2005; Martínez-Lavin y Solano, 2009; Martínez-Martínez et al., 2014; Vincent et al., 2016).
- 2) Inflamación y alteración de las funciones del sistema inmune en el sistema nervioso (Salemi et al., 2003; Wang et al., 2008; Kadetoff et al., 2012; Kosek et al., 2015; Mendieta et al., 2016; Littlejohn y Guymer, 2018; Benlidayi, 2019; Meester et al., 2020; Goebel et al., 2021; Caxaria et al., 2023; Mueller et al., 2023).

- 3) Disfunción del metabolismo muscular producido por alteraciones del estrés oxidativo a nivel mitocondrial (Ozgoçmen et al., 2006; Akkus et al., 2009; Cordero et al., 2009; Cordero et al., 2014, Sánchez-Domínguez et al., 2015) y en el endotelio vascular (Mertoglu et al., 2018; Katz et al., 2021).
- 4) Factores genéticos y polimorfismos (Arnold et al., 2004, 2013; Buskila et al., 2004; Mergener et al., 2011; Lee et al., 2012; Vargas-Alarcon et al., 2012; Ciampi de Andrade et al., 2017; van Tilburg et al., 2020).

1.3.2 Tratamiento de la fibromialgia

El tratamiento farmacológico de la fibromialgia se concentra en controlar el dolor, la fatiga y los trastornos del sueño. Actualmente, la pregabalina, la duloxetina y el minalcipran son los únicos fármacos aprobados por la FDA para el tratamiento de la fibromialgia (Clauw, 2014; Sarzi-Puttini et al., 2020). Sin embargo, éstos no tienen eficacia en todos los pacientes y producen efectos secundarios importantes. Además, los antiinflamatorios no esteroideos, corticosteroides y opioides carecen de efecto en los pacientes fibromiálgicos (Clauw, 2014). La **Tabla 1** muestra los medicamentos que se utilizan para tratar el dolor de la fibromialgia, incluyendo aquellos no aprobados por la FDA. Esta terapia farmacológica está enfocada, principalmente, en incrementar la actividad de neurotransmisores como noradrenalina y serotonina, y disminuir la concentración de neuromoduladores excitadores en sistema nervioso central.

El tratamiento con antidepresivos inhibidores de la recaptura de serotonina y adrenalina, como la duloxetina y el minalcipran, tiene una eficacia moderada en el alivio del dolor y mejora la calidad del sueño (Clauw et al., 2008; Häuser et al., 2011). Los antiepilépticos como la gabapentina y la pregabalina se utilizan en el tratamiento del dolor neuropático, pero han demostrado un alivio moderado del dolor y una mejora del sueño en los pacientes con fibromialgia (Crofford et al., 2005; Arnold et al., 2007). La pregabalina reduce indirectamente la actividad glutamatérgica en la ínsula de los pacientes con dolor crónico (Harris et al., 2013), lo que podría contribuir a su efecto analgésico. Debido a la evidencia sobre los niveles de glutamato elevados en pacientes con fibromialgia, los antagonistas del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) también han sido utilizados en el tratamiento de los síntomas de la fibromialgia. La ketamina, la memantina y el

dextrometorfano han mostrado mejoría en el dolor de estos pacientes (Staud et al., 2005; Cohen et al., 2006; Olivan-Blázquez et al., 2014; Khalid et al., 2015). No obstante, su poca tolerabilidad, toxicidad y probabilidad de desarrollar dependencia los coloca en un lugar alejado de la primera línea de tratamiento del dolor crónico (Thompson et al., 2019).

Tabla 1. Tratamiento farmacológico de la fibromialgia.

Tipo de fármaco	Fármacos	Dosis	Efectos adversos
Antidepresivos	Amitriptilina	10-70 mg/día	Xerostomía, ganancia de peso, constipación, insomnio, sensación de estar “drogado”
	Duloxetina	30-120 mg/día	Dolor de cabeza, insomnio, taquicardia, síndrome serotoninérgico
	Minalcipran	100-200 mg/día	
Relajantes musculares	Ciclobenzaprina	5-20 mg/día	Náusea, palpitaciones, dolor de cabeza, fatiga, taquicardia, hipertensión
	Tizanidina	En investigación	Hipotensión, visión borrosa, bradicardia, mareo, xerostomía
Anticonvulsivantes	Gabapentina	800-2400 mg/día	Sedación, ganancia de peso, vértigo
	Pregabalina	+600 mg/día en dosis divididas	
Inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT	Fluoxetina	20-40 mg/día	Náusea, disfunción sexual, ganancia de peso, problemas de sueño
	Sertralina	50 mg/día	
	Paroxetina	20-40 mg/día	
Cannabinoides**	Nabilona	0.5 mg antes de dormir o 1 mg dos veces al día	Sedación, mareo, confusión, ansiedad, xerostomía
	Cannabis	En investigación	Somnolencia, mareo, náusea, ganancia o pérdida del apetito, hipotensión
Opioides***	Naltrexona	4.5 mg/día	Sedación, adicción, tolerancia, hiperalgesia
	Tramadol	Con o sin acetaminofén, 50-100 mg/6 horas	

Los fármacos en negritas y subrayados son los únicos aprobados por la FDA para el tratamiento del dolor y de los síntomas principales en pacientes con fibromialgia. Modificado de Clauw, 2014, y de Sarzi-Puttini et al., 2020. **Ningún cannabinoide sintético ha sido aprobado para el tratamiento de la fibromialgia. ***Los opioides son poco efectivos para tratar el dolor crónico. No hay evidencia de eficacia en opioides más fuertes.

Si bien los opioides no son eficaces en el tratamiento de la fibromialgia, las dosis bajas de naltrexona producen una mejora significativa en el dolor y la fatiga de estos pacientes (Younger et al., 2013). No obstante, se cree que estas dosis son demasiado bajas como para actuar sobre receptores a opioides, por lo que su efecto analgésico se asocia a la inhibición de la microglía y sus procesos inflamatorios en el sistema nervioso central (Mattioli et al., 2010). El tramadol, un opioide débil, también es capaz de aliviar moderadamente el dolor en pacientes fibromiálgicos, pero su efecto se asocia con su mecanismo inhibitor de la recaptura de serotonina y noradrenalina y no existe evidencia suficiente para utilizarlo como tratamiento en la clínica (da Rocha et al., 2020).

Por otro lado, la nabilona (un cannabinoide sintético) ha demostrado mejorar el sueño, pero sus efectos el alivio del dolor no se consideran significativos en todos los estudios (Skrabek et al., 2008; Ware et al., 2010). En la actualidad se ha considerado el tratamiento alternativo con cannabis o derivados del mismo, como el tetrahidrocannabinol y el cannabidiol (Khurshid et al., 2021). No obstante, aunque podría representar una opción segura, no se ha encontrado evidencia suficiente para promover su uso en el alivio del dolor tipo fibromialgia (Strand et al., 2023).

Las intervenciones no farmacológicas pueden producir una sensación de bienestar general que contribuye al alivio del dolor y a la mejora en la calidad de vida. Entre estas opciones se encuentra el ejercicio de bajo impacto, el yoga, los ejercicios en piscina, la terapia física, los masajes, la terapia cognitivo-conductual y la estimulación eléctrica transcutánea (Williams y Clauw, 2009; Ambrose y Golightly, 2015; Johnson et al., 2017; Sosa-Reina et al., 2017; Araújo y DeSantana, 2019). No obstante, los beneficios de estas alternativas no han sido demostrados a largo plazo (Majdoub et al., 2023).

1.3.3 Participación de las hormonas gonadales en la fibromialgia

Desde la identificación de la enfermedad, la fibromialgia se ha considerado como una condición más prevalente en mujeres que en hombres. Si bien los criterios de la ACR se han actualizado para evitar sesgos, las mujeres tienden mucho más a recibir un diagnóstico de fibromialgia en la clínica (Vincent et al., 2013; Arout et al., 2018). Al igual que en estudios preclínicos, se ha sugerido que esta prevalencia podría deberse a distintos mecanismos de modulación del sistema inmune (Meester et al., 2020; Mueller

et al., 2023). No obstante, es posible que en la fibromialgia existan mecanismos regulados por hormonas sexuales, como ocurre en la migraña (Pavlović et al., 2016; Szewczyk et al., 2023). Las hormonas gonadales tienen la habilidad de alterar los niveles de neurotransmisores excitadores (como la sustancia P y el glutamato) y de incrementar las sinapsis excitadoras en distintas áreas del sistema nervioso central que participan en la modulación del dolor, como el hipocampo y la corteza cerebral (Aloisi y Bonifazi, 2006). Además, se ha reportado que la severidad del dolor en la fibromialgia puede estar afectada por eventos hormonales como el periodo premenstrual, el embarazo o el postparto (Pamuk y Cakir, 2005), la edad de inicio de la menopausia (Martínez-Jauand et al., 2013) y las fluctuaciones de progesterona y testosterona en el ciclo menstrual (Schertzingler et al., 2018). Sin embargo, los mecanismos que relacionan estos cambios hormonales con el dolor de la fibromialgia no han sido esclarecidos.

1.4 Modelo de fibromialgia inducida por reserpina en ratas

Los modelos animales deben mimetizar los síntomas clínicos, las comorbilidades reportadas por los pacientes y la respuesta al tratamiento farmacológico. No obstante, la fibromialgia es una condición difícil de modelar debido a la complejidad de sus síntomas, a la falta de marcadores biológicos y a la relativamente poca comprensión de su etiología. Los modelos de fibromialgia en roedores más utilizados en la literatura son el modelo de fibromialgia inducida por salina ácida (Sluka et al., 2001), el modelo de fibromialgia inducida por reserpina (Nagakura et al., 2009) y los modelos de dolor generalizado inducido por estrés intermitente al frío (Nishiyori y Ueda, 2008), estrés al sonido (Khasar et al., 2005) y estrés por nado repetido (Quintero et al., 2000).

La administración de reserpina (1 mg/kg/3 días, s.c.) en ratas macho y hembra produce hiperalgesia muscular y alodinia táctil generalizadas que persisten por 10-14 días (Nagakura et al., 2009). La reserpina es un alcaloide derivado de la planta *Rauwolfia serpentina* que inhibe a los transportadores vesiculares de monoaminas, lo que produce una reducción en el contenido de aminas biogénicas (Guillot y Miller, 2009). Por tanto, se cree que las conductas nociceptivas generadas por la reserpina son consecuencia de la disminución de los niveles de monoaminas en el sistema nervioso central (Nagakura et al., 2009; DeSantana et al., 2013; Taguchi et al., 2015; Tamano et al., 2016). En apoyo a

esto, la concentración de serotonina, dopamina y noradrenalina se reduce en la médula espinal, tálamo y corteza prefrontal en las ratas tratadas con reserpina, lo que correlaciona con la reducción de los umbrales de alodinia táctil, hiperalgesia muscular, hiperalgesia térmica y alodinia al frío, sin alterar otras funciones como la presión arterial, la temperatura corporal o el control motor de los animales (Nagakura et al., 2009, 2012b; Oe et al., 2010; Ogino et al., 2013; Brum et al., 2020; Yao et al., 2020). Las ratas reserpinizadas muestran patrones de actividad cerebral aumentada ante estímulos nocivos e inoocuos cuando se realizan estudios de neuroimagen (Wells et al., 2017), similar a la amplificación de la respuesta nociceptiva observada en pacientes con fibromialgia (Gracely et al., 2002). Por otro lado, en el modelo de reserpina también se desarrollan conductas tipo depresivas (Nagakura et al., 2009; Arora y Chopra, 2013; Blasco-Serra et al., 2015) y tipo ansiedad (Wu et al., 2015; Oliveira et al., 2016), que representan las principales comorbilidades de la fibromialgia en la clínica. Otros síntomas de la fibromialgia que se desarrollan en el modelo de reserpina en ratas son la fatiga (Favero et al., 2017), el dolor espontáneo (Nagakura et al., 2019; Tanei et al., 2020), alteraciones en el sueño (Hernandez-Leon et al., 2019; Blasco-Serra et al., 2020) e incluso problemas gastrointestinales (Uchida et al., 2019). La reserpina también reduce el umbral de activación de los nociceptores sensibles a estímulos mecánicos a la vez que disminuye la proporción de estos nociceptores en ratas, sugiriendo una estimulación paradójica de la periferia que contribuye a la disfunción de la modulación nociceptiva (Taguchi et al., 2015). Este fenómeno imita la disfunción de las fibras C que presentan algunos pacientes con fibromialgia (Üceyler et al., 2013; Serra et al., 2014).

De igual modo, la reserpina induce la activación de la microglía y de los astrocitos en el asta dorsal de la médula espinal (Taguchi et al., 2015; De la Luz-Cuellar et al., 2019), sugiriendo que un estado de sensibilización central subyace, en parte, la hipersensibilidad generada en el modelo (Taguchi et al., 2015). Lo anterior resulta interesante, ya que la activación glial en el sistema nervioso central también se ha observado en pacientes con fibromialgia (Albrecht et al., 2019). En otros trabajos se ha reportado que la reserpina produce disfunción del endotelio vascular, estrés del retículo endoplásmico en corteza cerebral, aumento de procesos de autofagia e incremento en la expresión de caspasa-3 y TNF- α (Ghoneim et al., 2021), así como un aumento en la concentración de células

cebas, citocinas proinflamatorias como IL-1 β , bradicinina, factores de crecimiento y NF- κ B (Arora et al., 2011; Brusco et al., 2019; Fusco et al., 2019; Kaur et al., 2019). La reserpina también induce disfunción mitocondrial y estrés oxidante en el músculo gastrocnemio de los roedores (Favero et al., 2017, 2019; Dagnino et al., 2019; Kaur et al., 2019; Brum et al., 2020) sin causar daño estructural al músculo (Dagnino et al., 2019). Esto se relaciona directamente con la fatiga y la hiperalgesia muscular que se desarrollan en el modelo.

El modelo de fibromialgia inducida por reserpina presenta una fuerte validez predictiva, ya que la respuesta a los tratamientos es similar a la que se observa en pacientes. La hipersensibilidad en este modelo disminuye con pregabalina, duloxetina y tramadol, pero no con diclofenaco u otros AINEs (Nagakura et al., 2009; Ogino et al., 2013; Kaneko et al., 2014; Zhang et al., 2016; Nagakura et al., 2019). Con respecto a los enfoques no farmacológicos, se ha reportado que la electroacupuntura reduce la alodinia y la ansiedad en ratas reserpinizadas (Wu et al., 2015), mientras que el ejercicio reduce la nocicepción, el dolor espontáneo y las conductas tipo depresivas en ratones tratados con reserpina (Ferrarini et al., 2021). Recientemente, se demostró que el aceite de cannabis tiene un efecto antinociceptivo y reduce las conductas tipo depresivas en los roedores sometidos a este modelo de dolor (Ferrarini et al., 2022).

En la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, varios grupos de investigación han elucidado distintos mecanismos que subyacen a la nocicepción en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina (**Figura 6**). Por ejemplo, el tratamiento con reserpina aumenta la expresión del ARNm de los canales ASIC3 en los ganglios de la raíz dorsal de ratas, mientras que el bloqueo farmacológico de estos canales revierte la hipersensibilidad (Taguchi et al., 2015). Se ha descrito que la expresión del receptor tipo opioide ORL-1 y su péptido endógeno, la nociceptina/orfanina, también incrementa en los ganglios de la raíz dorsal de ratones reserpinizados (Dagnino et al., 2019). Nuestro laboratorio reportó previamente que la reserpina aumenta la expresión del receptor GABA_A- α_5 tanto en médula espinal como en los ganglios de la raíz dorsal de ratas, mientras que el co-transportador KCC2 disminuye su expresión en médula espinal, lo que explica un posible proceso de desinhibición GABAérgica que contribuye al mantenimiento de las conductas nociceptivas (De la Luz-Cuellar et al., 2019). En apoyo a esto, la

administración de L-655,708, un agonista inverso de los receptores $GABA_A-\alpha_5$, reduce la alodinia táctil y la hiperalgesia muscular inducidas por reserpina (De la Luz-Cuellar et al., 2019). También se ha reportado la participación de los receptores $GABA_A-\alpha_6$ espinales en este modelo, ya que la administración intratecal de PZ-II-029, un modulador alostérico positivo de estos receptores, revierte parcialmente la alodinia táctil en ratas reserpinizadas (Gutiérrez-Agredano, 2022). Asimismo, la administración oral de un agonista de los receptores $GABA_B$ revierte la hiperalgesia muscular en este modelo (Murai et al., 2019).

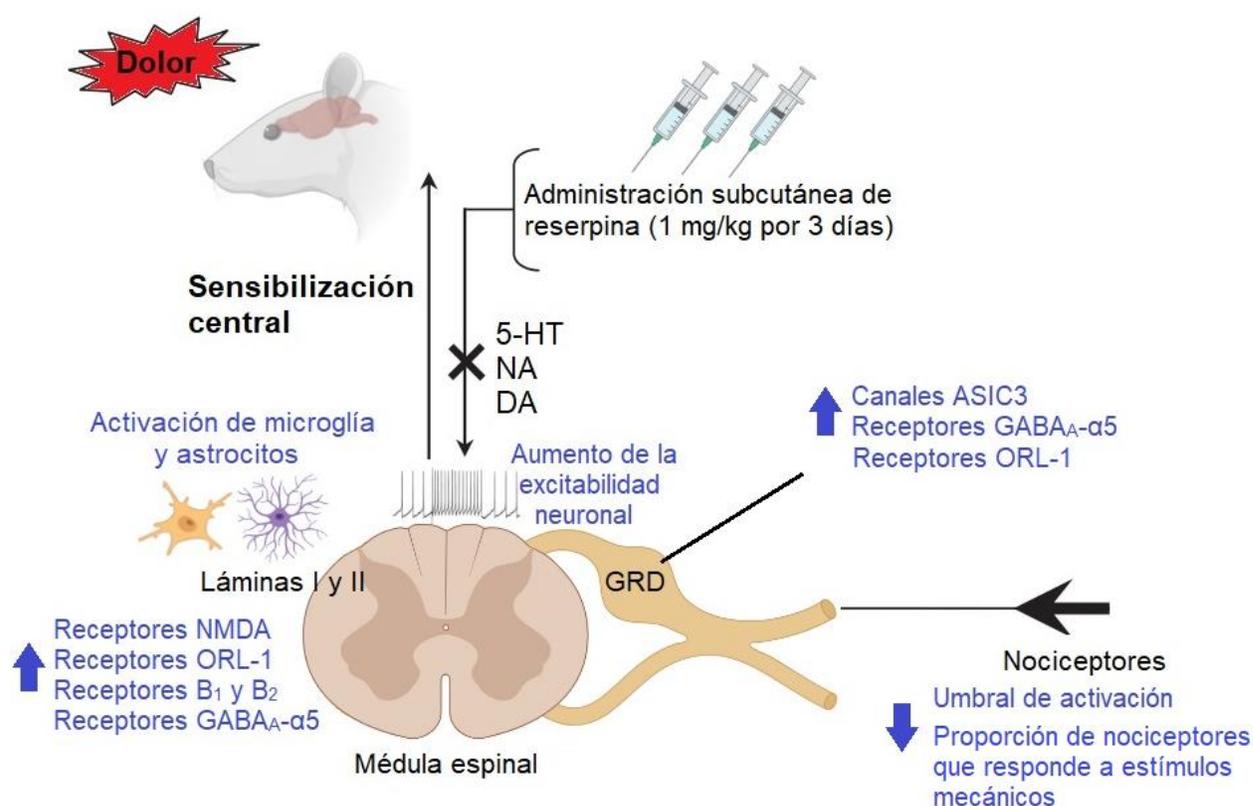


Figura 6. Mecanismos que subyacen las conductas nociceptivas del modelo de fibromialgia inducida por reserpina.

Se ha sugerido que el tratamiento con reserpina produce un desbalance en los niveles de monoaminas, que a su vez promueve el desarrollo de hipersensibilidad en roedores. Diversos reportes han demostrado la participación de numerosos sistemas, neurotransmisores y receptores en la nocicepción inducida por reserpina. GRD: ganglios de la raíz dorsal; 5-HT: serotonina; NA: noradrenalina; DA: dopamina. Figura realizada con BioRender (basada en el esquema de Taguchi et al., 2015).

Por otro lado, la reserpina aumenta la expresión de los receptores NMDA (Kaur et al., 2019) y de los receptores B₁ y B₂ de bradicinina (Brusco et al., 2019) en la médula espinal de ratones, lo que sugiere un incremento en la transmisión sináptica. En apoyo a esto, se reportó que la reserpina sensibiliza a las neuronas del asta dorsal de la médula espinal de ratas y aumenta su excitabilidad, lo que a su vez promueve la facilitación en la transmisión nociceptiva (Uta et al., 2021). Esto podría explicar parcialmente por qué los animales reserpinizados son más sensibles a estímulos químicos como formalina (Ejiri et al., 2022), capsaicina (Fischer et al., 2020), bradicinina y sustancia P (Brusco et al., 2021) cuando se administran en dosis subefectivas.

El cumplimiento de los criterios de validez predictivo, de apariencia y de constructo del modelo de fibromialgia inducido por reserpina sustenta su elección para la presente investigación.

2. ANTECEDENTES PARTICULARES

2.1 Dopamina y neuronas dopaminérgicas

La dopamina es un neurotransmisor que se sintetiza en las terminales axónicas de las neuronas mediante enzimas transportadas por el axón (Musaccio, 2013). La síntesis ocurre con la hidroxilación del aminoácido L-fenilalanina a L-tirosina y, posteriormente, a L-DOPA mediante la acción de las enzimas fenilalanina hidroxilasa y tirosina hidroxilasa, respectivamente, y después por la descarboxilación de la L-DOPA mediante la enzima dopa-descarboxilasa de ácidos aromáticos (DAAA) (**Figura 7A**). La dopamina se empaqueta en vesículas a través del transportador vesicular de monoaminas y, luego de la llegada del potencial de acción, el influjo de iones Ca^{2+} permite la fusión de estas vesículas con la membrana y la posterior liberación de su contenido al espacio extracelular (Beaulieu y Gainetdinov, 2011; Musaccio, 2013). El transportador de dopamina (DAT) puede captar a la dopamina y reciclarla a las terminales presinápticas, mientras que la catecol-O-metil transferasa (COMT) y la monoaminoxidasa (MAO) son enzimas que se encargan del metabolismo de este neurotransmisor (Beaulieu y Gainetdinov, 2011; Musaccio, 2013).

Estudios previos han reportado que la sinapsis dopaminérgica consta de una terminal presináptica que libera dopamina y una terminal postsináptica GABAérgica (Uchigashima et al., 2016). Por lo tanto, la dopamina lleva a cabo una transmisión por volumen, con lo que puede activar a sus receptores hasta 8 μm lejos del sitio de liberación (Sulzer et al., 2016). Esta transmisión por volumen puede facilitarse con la circulación del líquido cefalorraquídeo a través del espacio perivascular (Taber y Hurley, 2014). Las neuronas dopaminérgicas tienen dos patrones de actividad (**Figura 7B**): 1) fásica, que ocurre como respuesta a una ráfaga de potenciales de acción y produce la liberación rápida de dopamina; y 2) tónica, donde un patrón de disparo lento, espontáneo e irregular genera una liberación lenta de dopamina que mantiene un tono extrasináptico (Grace, 1991). La liberación fásica y tónica de dopamina ejercen funciones específicas que dependen de la ocupación de receptores: la liberación fásica incrementa la ocupación de receptores D_1 , mientras que las pausas entre ráfagas y la liberación tónica promueve la ocupación de receptores D_2 (Dreyer et al., 2010).

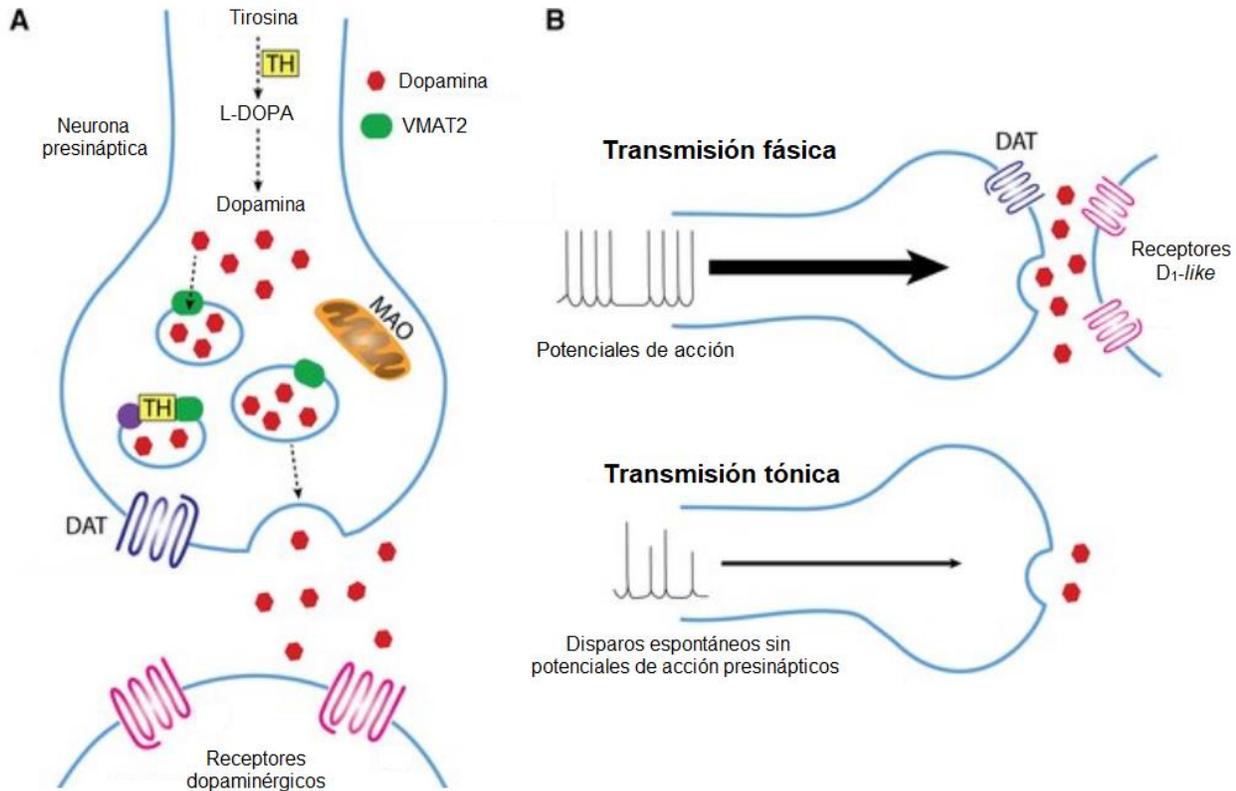


Figura 7. Síntesis y liberación de dopamina.

A) La dopamina se sintetiza en las terminales de neuronas que expresan tirosina hidroxilasa (TH). Al igual que otras monoaminas, la dopamina se empaqueta en vesículas a través del transportador vesicular de monoaminas y se libera de la terminal presináptica con la llegada del potencial de acción. La dopamina actúa sobre dos tipos de receptores en las neuronas postsinápticas y en sitios alejados de la sinapsis. La dopamina se recicla a la terminal presináptica a través del transportador de dopamina (DAT), donde enzimas como la monoamino-oxidasa (MAO) participan en su degradación. B) La transmisión fásica de dopamina se genera por potenciales de acción que alcanzan la terminal presináptica, lo que resulta en la liberación rápida y transitoria de dopamina. La transmisión tónica ocurre como consecuencia de disparos pausados e irregulares que mantienen el tono dopaminérgico. L-DOPA: levodopa; VMAT2: transportador vesicular de monoaminas 2. Modificado de Klein et al., 2019.

Las neuronas dopaminérgicas se originan ampliamente en la *substantia nigra*, el área tegmental ventral y el hipotálamo, las cuales proyectan a áreas separadas del cerebro que comprenden las vías nigroestriatal, mesocortical/mesolímbica y tuberoinfundibular, respectivamente (Björklund y Dunnett, 2007). Con base en estas proyecciones, la dopamina es el neurotransmisor mejor conocido por su participación en el movimiento, la cognición y el sistema de recompensa. Se ha establecido que las alteraciones en la neurotransmisión dopaminérgica juegan un papel importante en algunas patologías como

la enfermedad de Parkinson, la esquizofrenia, las adicciones, los trastornos cognitivos, los trastornos del estado de ánimo y el trastorno por déficit de atención e hiperactividad, entre otros (Wood, 2008). Por su parte, diversos estudios han demostrado que existe una disfunción dopaminérgica en enfermedades dolorosas como la fibromialgia (Wood et al., 2007; Albrecht et al., 2016; Ledermann et al., 2016;), el síndrome de boca ardiente (Jääskeläinen et al., 2001; Hagelberg et al., 2003) y el síndrome de piernas inquietas (Cervenka et al., 2006).

2.2 Receptores dopaminérgicos

El efecto de la dopamina en las neuronas depende del tipo de receptor que éstas expresen en la membrana y de la señalización de los segundos mensajeros. Existen cinco subtipos de receptores dopaminérgicos, nombrados del D₁ al D₅, todos ellos pertenecientes a los receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G (Beaulieu et al., 2015). Los receptores D₁ y D₅ son miembros de la subfamilia *D₁-like*, mientras que la subfamilia *D₂-like* está integrada por los receptores D₂, D₃ y D₄ (**Figura 8**).

La estimulación de los receptores *D₁-like* activa a la proteína G_s, que a su vez está acoplada a la activación de la adenilato ciclasa, la síntesis de AMP cíclico (AMPC) y la activación de la proteína cinasa A (Neve et al., 2004; Beaulieu y Gainetdinov, 2011). La fosforilación de múltiples canales iónicos ocurre mediante la combinación de la actividad de la proteína cinasa A y la inhibición de la proteína fosfatasa 1 (PP1) mediada por la proteína DARPP-32 (Greengard et al., 1999; Neve et al., 2004). La proteína cinasa A reduce las corrientes de los canales rectificadores de K⁺, mientras que aumenta la actividad de los canales de Ca²⁺ tipo L y de los receptores de glutamato NMDA (mediante la fosforilación de la subunidad NR1) y AMPA (Neve et al., 2004). Por otro lado, la activación de DARPP-32/PP1 reduce las corrientes de Na⁺ al disminuir la probabilidad de apertura del canal (Cantrell et al., 1997). La proteína cinasa A también modula la expresión génica a través de la fosforilación del factor de transcripción CREB (Dudman et al., 2003; Neve et al., 2004) y de las cinasas activadas por mitógeno (MAPK), incluyendo cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK), la cinasa p38 y cinasas c-Jun N-terminal (JNK) (Zhen et al., 1998; Gerfen et al., 2002).

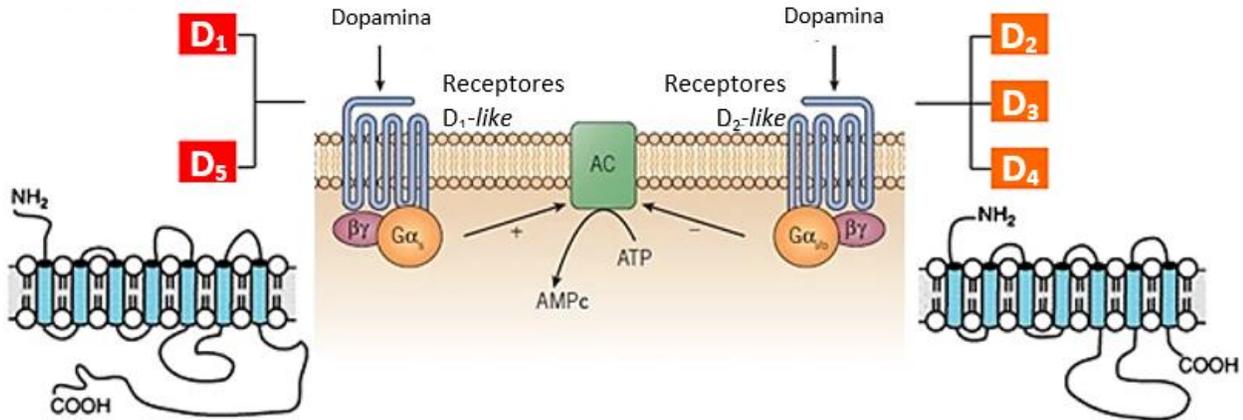


Figura 8. Receptores de dopamina.

Los receptores *D_{1-like}* y *D_{2-like}* son receptores acoplados a dos tipos de proteínas G y modulan la actividad celular a través de diferentes vías de señalización dependientes de segundos mensajeros. Los receptores *D_{1-like}* tienen un extremo carboxilo terminal intracelular más largo, mientras que el extremo de los receptores *D_{2-like}* forma un *loop*. Estos extremos les permiten interactuar con las proteínas y cinasas dentro de la célula. AC: adenilato ciclasa; AMPc: monofosfato de adenosina cíclico; ATP: trifosfato de adenosina. Modificado de Levite, 2017 y de la página oficial de Tocris Bioscience.

Los receptores *D_{2-like}* están ligados a la activación de proteínas G_{i/o}, lo que inhibe a la adenilato ciclasa y, por ende, la producción de AMPc y la activación de cinasas como proteína cinasa A (Neve et al., 2004; Beaulieu y Gainetdinov, 2011). No obstante, la subunidad βγ de la proteína G se encarga de promover la actividad de los canales rectificadores de K⁺ e inhibir las corrientes de Ca²⁺ a través de los canales tipo L, tipo N y tipo P/Q (Liu et al., 1994; Neve et al., 2004). Asimismo, la estimulación de receptores *D_{2-like}* se asocia con la señalización de MAPK (incluyendo ERK y JNK), lo que regula la transcripción de genes implicados en la supervivencia celular, la plasticidad sináptica y la respuesta a la estimulación de receptores dopaminérgicos (Luo et al., 1998). Otras proteínas de señalización asociadas a la activación de receptores *D_{2-like}* incluyen a las cinasas Akt/GS3K, las β-arrestinas y proteínas fosfatasas como PP2A, que regulan la transmisión sináptica lenta de dopamina (Beaulieu et al., 2005).

Los receptores D₂ presinápticos actúan como autorreceptores para disminuir la síntesis y liberación de dopamina. Los receptores D₁ están distribuidos a lo largo del cerebro en las terminales dopaminérgicas, principalmente en la *substantia nigra* y los ganglios basales (Wamsley et al., 1992). Los receptores D₅ se localizan predominantemente en la

substantia nigra, ganglios basales y corteza cerebral (Khan et al., 2000). Los receptores D₂ también se expresan ampliamente en el cerebro, pero se concentran en los ganglios basales, el globo pálido, la *substantia nigra* y el área tegmental ventral (Gurevich y Joyce, 1999). Los receptores D₃ no se expresan en el área tegmental ventral, pero son muy abundantes en el estriado límbico, la *substantia nigra*, el núcleo anterior del tálamo, la corteza límbica, el *locus coeruleus* y el núcleo magno de rafé (Suzuki et al., 1998). Los receptores D₄ son los menos abundantes en el sistema nervioso central (Beaulieu et al., 2015). No obstante, la distribución de los receptores dopaminérgicos también se extiende hacia áreas implicadas en la transmisión nociceptiva.

2.3 El sistema dopaminérgico en la modulación del dolor

En comparación con la noradrenalina y serotonina, se conoce relativamente poco sobre la influencia de la dopamina en la modulación del dolor. Sin embargo, existe evidencia de que las neuronas dopaminérgicas desempeñan un papel principal en la modulación del dolor en distintas áreas del sistema nervioso central, incluyendo la corteza anterior del cíngulo (López-Ávila et al., 2004), el núcleo accumbens (Chang et al., 2014) y la médula espinal (Yang et al., 2005; Wei et al., 2009). Se sabe que los niveles de dopamina y sus receptores se alteran en condiciones de dolor crónico, como en el dolor orofacial, el síndrome de la boca ardiente (Hagelberg et al., 2002, 2003a, 2003b), el dolor de espalda baja (Martikainen et al., 2005) y en modelos de dolor neuropático en roedores (Pais-Viera et al., 2009; Coffeen et al., 2010; Cardoso-Cruz et al., 2014). Por otro lado, y de manera particular, algunos estudios han demostrado que los pacientes con fibromialgia tienen una actividad dopaminérgica reducida en áreas como los ganglios basales (Wood et al., 2007b) y la corteza anterior del cíngulo (Albrecht et al., 2016), lo que podría asociarse con una percepción del dolor amplificadas y alteraciones en el procesamiento cognitivo (Wood et al., 2007a, 2008).

La dopamina y sus receptores se encuentran ampliamente distribuidos en áreas del sistema de recompensa, pero que también están relacionadas con el procesamiento cognitivo y emocional del dolor. Por lo tanto, la modulación de la transmisión dopaminérgica en estas áreas también ejerce un control de las conductas nociceptivas. La estimulación optogenética de las neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral

revierte la alodinia inducida por daño a los nervios o por cáncer de hueso en ratones (Watanabe et al., 2018). En otro estudio, la inactivación de estas neuronas produce hipoalgesia en ratas con dolor neuropático (Kami et al., 2018). Las neuronas que proyectan del área tegmental ventral hacia la corteza prefrontal media también modulan la nocicepción aguda y la hipersensibilidad inducida por la ligadura del nervio ciático en roedores (Dale et al., 2018; Huang et al., 2020). En el núcleo accumbens, la expresión de receptores D₁ y D₂ disminuye en condiciones de dolor inflamatorio y neuropático (Hakim et al., 2020; Selley et al., 2020), mientras que una baja concentración de dopamina en el estriado, junto con la sobreexpresión de receptores D₂ y D₃, se ha asociado a la hipersensibilidad que experimentan los pacientes con dolor crónico (Ledermann et al., 2016; Martikainen et al., 2018).

Se ha demostrado que la dopamina y la transmisión dopaminérgica en la médula espinal es importante en la nocicepción. Diversos estudios demuestran que todos los subtipos de los receptores dopaminérgicos, del D₁ al D₅, se expresan en el asta dorsal de la médula espinal y/o en las neuronas del ganglio de la raíz dorsal (Dubois et al., 1986; Schambra et al., 1994; Yokohama et al., 1994; Levant y McCarron, 2001; Zhao et al., 2007; Zhu et al., 2008; Barraud et al., 2010; Galbavy et al., 2013; Almanza et al., 2019). La expresión de los receptores D₁ está restringida a ciertas regiones de las láminas I y II, mientras que los receptores D₅ se expresan ampliamente en el asta dorsal y ventral de la médula espinal (Zhu et al., 2008). Los receptores D₂ también se expresan en áreas específicas de la médula espinal sacral (van Dijken et al., 1996).

Como ya se había mencionado, el núcleo A11 del hipotálamo es la fuente principal de proyecciones espinales dopaminérgicas (Swanson y Kuypers, 1980; Skagerber et al., 1982). Estas neuronas modulan el procesamiento nociceptivo en el asta dorsal de la médula espinal (Millan, 2002; Charbit et al., 2009, 2011; Wei et al., 2009; Taniguchi et al., 2011), donde se ha asociado a la activación de receptores *D₂-like* con mecanismos analgésicos (Taniguchi et al., 2011) y a los receptores *D₁-like* con los efectos pronociceptivos (Yang et al., 2005). Previamente se demostró que la depleción de neuronas dopaminérgicas del núcleo A11 con 6-hidroxidopamina, pero no la de neuronas serotoninérgicas o noradrenérgicas, impide el desarrollo del *priming* hiperalgésico inducido por prostaglandina E₂ e interleucina 6 en ratones (Kim et al., 2015; Megat et al.,

2018) y revierte las conductas nociceptivas en un modelo de dolor trigeminal (Abdallah et al., 2015). Además, se había reportado que la depleción de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia gris periacueductal reduce la antinocicepción inducida por opioides (Flores et al., 2004), mientras que el dolor neuropático en ratas incrementa la expresión de tirosina hidroxilasa en dichas neuronas (Mor et al., 2015). Estos hallazgos sugieren que la desregulación de la función dopaminérgica a diferentes niveles del sistema nervioso puede contribuir al desarrollo y al mantenimiento del dolor.

2.3.1 Receptores D₁-like en la nocicepción

Existe controversia sobre la participación selectiva de los receptores dopaminérgicos en la nocicepción. Aunque se ha demostrado que la influencia dopaminérgica en la sensibilidad al dolor se debe principalmente a la activación de los receptores D₂-like (Coffeen et al., 2010; Ortega-Legaspi et al., 2011; Viisanen et al., 2012; Cobacho et al., 2014; Ledermann et al., 2016), estudios recientes muestran que los receptores D₁-like son indispensables para el desarrollo y mantenimiento de la nocicepción en otras condiciones. Se sabe que la administración de dopamina en la pata trasera de ratas induce conductas nociceptivas a través de la activación de receptores D₁-like (Nakamura y Ferreira, 1987; Queiroz et al., 2022). A nivel supraespinal, la administración de SCH-23390 (antagonista de los receptores D₁-like) en el área tegmental ventral y en el núcleo accumbens revierte el efecto antinociceptivo del carbacol (un agonista colinérgico) administrado en el hipotálamo (Moradi et al., 2015a). Asimismo, la aplicación de SCH-23390 en la sustancia gris periacueductal revierte la analgesia inducida por heroína y morfina (Flores et al., 2004).

Por otro lado, la administración intratecal de SCH-23390 reduce la hiperalgesia térmica inducida por carragenina (Gao et al., 2001) y la alodinia inducida por prostaglandina E₂ e interleucina 6 o BDNF (*priming*) en ratones (Kim et al., 2015; Megat et al., 2018). Estudios previos han demostrado que los receptores D₁-like espinales contribuyen a la plasticidad sináptica produciendo potenciación a largo plazo (LTP) de potenciales evocados por fibras C, los cuales se revierten mediante la aplicación de SCH-23390 (Yang et al., 2005). De manera interesante, tanto los receptores D₁ como D₅ también modulan la nocicepción a través de interneuronas GABAérgicas localizadas en láminas profundas del asta dorsal

de la médula espinal (Megat et al., 2018). Recientemente se reportó que los receptores D₁ y D₅ modulan la potenciación a largo plazo a nivel de la médula espinal, lo que resulta en la amplificación de la transmisión nociceptiva (Li et al., 2022). Este fenómeno podría favorecer el desarrollo de plasticidad sináptica en la médula espinal, de manera similar a la que ocurre en el hipocampo en procesos de memoria y aprendizaje (Hansen y Manahan-Vaughan, 2014). En apoyo a esto, la ligadura de los nervios espinales incrementó la inmunoreactividad de los receptores D_{1-like}, y la estimulación de estos indujo la desensibilización de los receptores opioides (Aira et al., 2016a) y un aumento de la fosforilación de la subunidad NR1 del receptor NMDA en la médula espinal (Aira et al., 2016b), lo que sugiere que el dolor crónico conlleva a una pérdida de la inhibición mediada por opioides y el aumento de la excitabilidad neuronal, respectivamente. Además, la administración de otro antagonista de los receptores D_{1-like}, SCH-39166 (llamado también ecopipam), revierte las conductas nociceptivas inducidas por el daño a la médula espinal (Rodgers et al., 2019). Si bien este fármaco está aprobado por la FDA para el tratamiento de afecciones psiquiátricas (Gilbert et al., 2019; Maguire et al., 2019), su uso en condiciones de dolor no ha sido explorado.

La evidencia sugiere que la activación de los receptores D_{1-like} en el sistema nervioso periférico y central promueve la hipersensibilidad, por lo que podrían representar un blanco terapéutico para distintas condiciones de dolor.

2.3.2 Receptores D_{2-like} en la nocicepción

En comparación con los receptores D_{1-like}, la participación de receptores D_{2-like} en la nocicepción ha sido ampliamente explorada en distintos sitios del sistema nervioso y en varios modelos de dolor. La administración de quinpirol (agonista de los receptores D_{2-like}) en el estriado (Magnusson y Fisher, 2000) y en el núcleo accumbens inhibe las conductas nociceptivas inducidas por formalina (Taylor et al., 2003), mientras que la administración de sulpirida (antagonista D_{2-like}) en esta misma área atenúa el efecto antinociceptivo del estrés inducido por nado forzado (Faramarzi et al., 2016). El quinpirol administrado directamente en la corteza prefrontal de ratas también reduce la respuesta a estímulos mecánicos, mientras que la sulpirida revierte este efecto (Sogabe et al., 2013). De la misma forma, la inyección de sulpirida en el área tegmental ventral o en el

núcleo accumbens previene el efecto antinociceptivo del carbacol administrado en el hipotálamo y revierte las conductas inducidas por formalina (Moradi et al., 2015b; Siahposht-Khachaki et al., 2017).

Diversos estudios han demostrado la participación de los receptores *D₂-like* de la médula espinal en la nocicepción. La administración intratecal de apomorfina, un agonista de los receptores *D₂* y *D₃*, aumenta el umbral ante estímulos térmicos en ratas (Barasi y Dugal, 1985), mientras que la sulpirida revierte este efecto (Liu et al., 1992). Otro estudio demostró que la inyección espinal de quinpirol en ratas aumenta el umbral ante estímulos mecánicos, pero no térmicos. Además, este efecto se revierte con la co-administración de antagonistas selectivos de los receptores *D₂*, *D₃* y *D₄* (Almanza et al., 2015). Por su parte, la administración intratecal de LY171555, otro agonista *D₂-like*, revierte la hiperalgesia térmica inducida por carragenina en ratas (Gao et al., 2001). De forma similar, la administración intratecal de levodopa y de quinpirol revierten la alodinia táctil y la alodinia al frío inducidas por la constricción del nervio ciático, efecto que se revierte con sulpirida (Cobacho et al., 2010, 2014).

Estudios realizados *in vitro* apoyan el efecto antinociceptivo mediado por la activación de receptores *D₂-like*. La aplicación de dopamina y de quinpirol reduce la excitabilidad de las neuronas de la sustancia gelatinosa en la médula espinal (Tamae et al., 2005). Asimismo, la activación de receptores *D₂* en el asta dorsal medular inhibe los potenciales de acción evocados por fibras C en neuronas del ganglio trigeminal (Lapirot et al., 2011). Además, el quinpirol reduce las corrientes de los canales de calcio *Ca_v2.2* en neuronas del ganglio de la raíz dorsal a través del receptor *D₄* (Lu et al., 2018; Almanza et al., 2019; Segura-Chama et al., 2020).

A pesar de la evidencia anterior, los agonistas *D₂-like* no tienen un efecto superior al de otros fármacos utilizados en el tratamiento del dolor. No obstante, estudios sugieren que la activación de receptores *D₂-like* potencia el efecto de los agonistas μ -opioides y previene sus efectos adversos. La administración espinal de quinpirol potencia el efecto antinociceptivo del agonista μ -opioides DAMGO en modelos de dolor inflamatorio y neuropático en ratas (Aira et al., 2014; Mercado-Reyes et al., 2019). En apoyo a esto, la administración de racloprida (antagonista *D₂-like*) en la sustancia gris periacueductal reduce el efecto antinociceptivo mediado por la activación de receptores μ -opioides

(Tobaldini et al., 2018). Asimismo, la administración de R-VK4-40, un antagonista selectivo del receptor D₃, produce un efecto analgésico al tiempo que reduce la tolerancia y dependencia a la oxycodona en roedores (Jordan et al., 2019).

Estos hallazgos sugieren que la dopamina y los receptores dopaminérgicos son importantes en el mantenimiento del dolor crónico. Sin embargo, en la actualidad no existe una caracterización de los receptores dopaminérgicos, de los cambios en su expresión o de la participación de las neuronas dopaminérgicas en modelos de dolor nociplástico, particularmente en el modelo de dolor tipo fibromialgia inducido por reserpina.

2.4 Diferencias entre sexos en la nocicepción

Existe evidencia de que los mecanismos de modulación y percepción del dolor son dependientes del sexo tanto en humanos como en animales (Sorge y Totsch, 2016; Dance, 2019; Fillingim et al., 2019; Patil y Belugin et al., 2019; Mogil, 2020). La mayoría de las patologías dolorosas como el dolor de espalda baja crónico, la migraña y la fibromialgia son más prevalentes en mujeres que en hombres (Bartley y Fillingim, 2013; Avona et al., 2019). Además, previamente se ha demostrado que las mujeres requieren de dosis mayores de morfina para aliviar el dolor crónico (Cepeda y Carr, 2003). A nivel preclínico, se ha observado que el umbral de dolor ante estímulos térmicos es menor en ratas hembra que en machos (LaCroix-Fralish et al., 2006), mientras que la hipersensibilidad inducida por el daño a nervios es mayor en las hembras (Vacca et al., 2016). De hecho, el efecto antinociceptivo de fármacos opioides y anti-inflamatorios es mayor en machos que en hembras en modelos de dolor inflamatorio (Wang et al., 2006) o visceral (Ji et al., 2006). Con respecto al dolor tipo fibromialgia, nuestro grupo de investigación reportó previamente que la administración intratecal de L-655,708, un agonista inverso de los receptores GABA_A- α_5 , reduce la nocicepción inducida por reserpina de manera dependiente del sexo, teniendo un mayor efecto en las ratas hembra (De la Luz-Cuellar et al., 2019). Este efecto también se observó en el mismo modelo, pero con un modulador alostérico positivo de los receptores GABA_A- α_6 (Gutiérrez-Agredano, 2022).

Si bien los factores anatómicos, genéticos y psicosociales influyen en las diferencias entre sexos en el dolor, los mecanismos fisiológicos que subyacen estas diferencias pueden deberse a la acción de las células del sistema inmune y/o la participación de las hormonas gonadales (Pieretti et al., 2016). En el caso de las células del sistema inmune, se ha descrito que la activación de la microglía a través del receptor TLR4 induce el desarrollo de hipersensibilidad mecánica en ratones macho, pero no en hembras (Sorge et al., 2011, 2015). Asimismo, el daño a los nervios espinales induce la proliferación de células gliales durante los primeros días después de la lesión en ratas macho, pero no en ratas hembra (Vacca et al., 2016). En apoyo a esto, la administración de minociclina (un inhibidor de la microglía) redujo la alodinia táctil en ratones macho, pero no en hembras, al disminuir los niveles de interleucina 1β , factor de necrosis tumoral- α y BDNF liberados de la microglía (Kuzanwinska et al., 2014). En contraste, el desarrollo de alodinia táctil en un modelo de dolor neuropático está mediado por la activación de los linfocitos T en ratones hembra (Sorge et al., 2015), lo que se relaciona con un estudio donde se observa una mayor activación de linfocitos T y B en mujeres en la respuesta inmune, pero no en hombres (Abdullah et al., 2012).

En la presente tesis se abordará la función de las hormonas gonadales en la nocicepción.

2.4.1 Papel de las hormonas gonadales en la modulación del dolor

Las hormonas gonadales se sintetizan a partir del colesterol en las gónadas, en la glándula adrenal y en el sistema nervioso central (Maurer et al., 2016). Una vez en la membrana interna de la mitocondria, el colesterol se convierte a pregnenolona por la enzima CYP11A1, y después se convierte en progesterona o en dehidroepiandrosterona (DHEA) en el retículo endoplásmico liso. Estos últimos son los precursores de la estrona y testosterona, las cuales pueden ser transformadas en 17β -estradiol por acción de la enzima 17β -hidroxiesteroide-hidrogenasa y la aromatasa, respectivamente (London y Clayton, 2010). Si bien las hormonas sexuales son funcionales en ambos sexos, los andrógenos son un grupo de hormonas consideradas masculinas, mientras que los estrógenos y progestágenos son consideradas hormonas femeninas (Maurer et al., 2016). No obstante, los efectos de estas hormonas varían dependiendo de su

concentración y de la abundancia de sus receptores en los tejidos blanco (Kim et al., 2014).

Las hormonas son esenciales para un gran número de funciones fisiológicas (desarrollo embrionario, desarrollo de caracteres sexuales, reproducción), pero en años recientes la literatura ha acumulado una serie de reportes que analizan el papel de las hormonas ováricas en el procesamiento del dolor crónico (Bartley y Fillingim, 2013; Hassan et al., 2014; Athnaiel et al., 2023). En este trabajo abordaremos únicamente el rol de los estrógenos (17 β -estradiol) y la progesterona en la nocicepción.

Los estrógenos y la progesterona, así como sus receptores, se encuentran en neuronas del ganglio de la raíz dorsal (Papka y Storey-Workley, 2002) y en la lámina II del asta dorsal de la médula espinal (Amandusson et al., 1995; Vanderhorst et al., 2005), lo que sugiere que estas hormonas pueden modular directamente la transmisión de las señales dolorosas (Amandusson y Blomqvist, 2013; Traub y Ji, 2013; Rosen et al., 2017). En la periferia, los cambios en los niveles de estrógenos impactan en la concentración de varios neurotransmisores que participan en el procesamiento del dolor, incluyendo la serotonina y las β -endorfinas (Aleisi, 2003; Aleisi et al., 2006). Se ha reportado que tanto los estrógenos como la progesterona desempeñan roles antinociceptivos y pronociceptivos en diferentes circunstancias (Smith et al., 2006; Aloisi y Bonifazi, 2006). Mientras que el papel los estrógenos en la modulación del dolor es controvertido (Amandusson and Blomqvist, 2013; Chen et al., 2021), la progesterona se ha relacionado principalmente con efectos antinociceptivos (Kuba et al., 2016; Ferreyra y González, 2022).

2.4.1.1 17 β -estradiol y sus receptores

Los estrógenos son capaces de regular la transmisión nociceptiva y la percepción del dolor. Estudios de neuroimagen han mostrado que las mujeres que se encuentran en fase folicular del ciclo menstrual (donde hay menor concentración de estrógenos) tienen una menor activación de receptores μ -opioides en respuesta al dolor, en comparación con los hombres en regiones corticales relacionadas con la respuesta dolorosa en las mujeres (Zubieta et al., 2002). Los estímulos dolorosos suelen percibirse con mayor intensidad cuando hay una concentración de estrógenos baja durante el ciclo menstrual o durante la menopausia (LeResche et al., 2003). En apoyo a esto, la ovariectomía reduce

el umbral de estímulos mecánicos y térmicos en ratas hembra al reducir el contenido de 17 β -estradiol, el estrógeno más potente (DeLeo y Rutkowski, 2000; Garrido-Suárez et al., 2015; Hernandez-Leon et al., 2018; Li et al., 2014; Pajot et al., 2003; Vacca et al., 2016). El 17 β -estradiol ejerce sus efectos mediante la activación de los receptores a estrógenos α y β , principalmente (**Figura 9**). Estos receptores forman parte de la superfamilia de receptores nucleares y fungen como factores de transcripción (Russell y Grossman, 2019). La unión del 17 β -estradiol a sus receptores en el citoplasma produce dimerización para después translocarse al núcleo, donde se unen a elementos de respuesta a estrógenos y reclutan proteínas como la ARN polimerasa II para promover la expresión de genes (Vrtačnik et al., 2014; Chen et al., 2021). La activación del receptor de estrógenos α regula genes de crecimiento en líneas celulares de cáncer de mama, mientras que receptor de estrógenos β regula genes implicados en la transducción de señales, el control del ciclo celular y la apoptosis (Abba et al., 2005; Chang et al., 2006). Por su parte, el 17 β -estradiol también puede actuar sobre el receptor a estrógenos acoplado a proteínas G (GPER1), también conocido como GPR30, que no está genética ni estructuralmente relacionado con los receptores de estrógenos α y β (Chen et al., 2021). GPER1 se localiza en la membrana celular y su activación estimula a la adenilato ciclasa y moviliza las reservas intracelulares de Ca²⁺, lo que coordina la señalización de distintas cinasas como las MAPK (Wei et al., 2014). La activación de cinasas intracelulares puede conducir indirectamente a la regulación de la expresión génica mediante la fosforilación de proteínas (**Figura 9**).

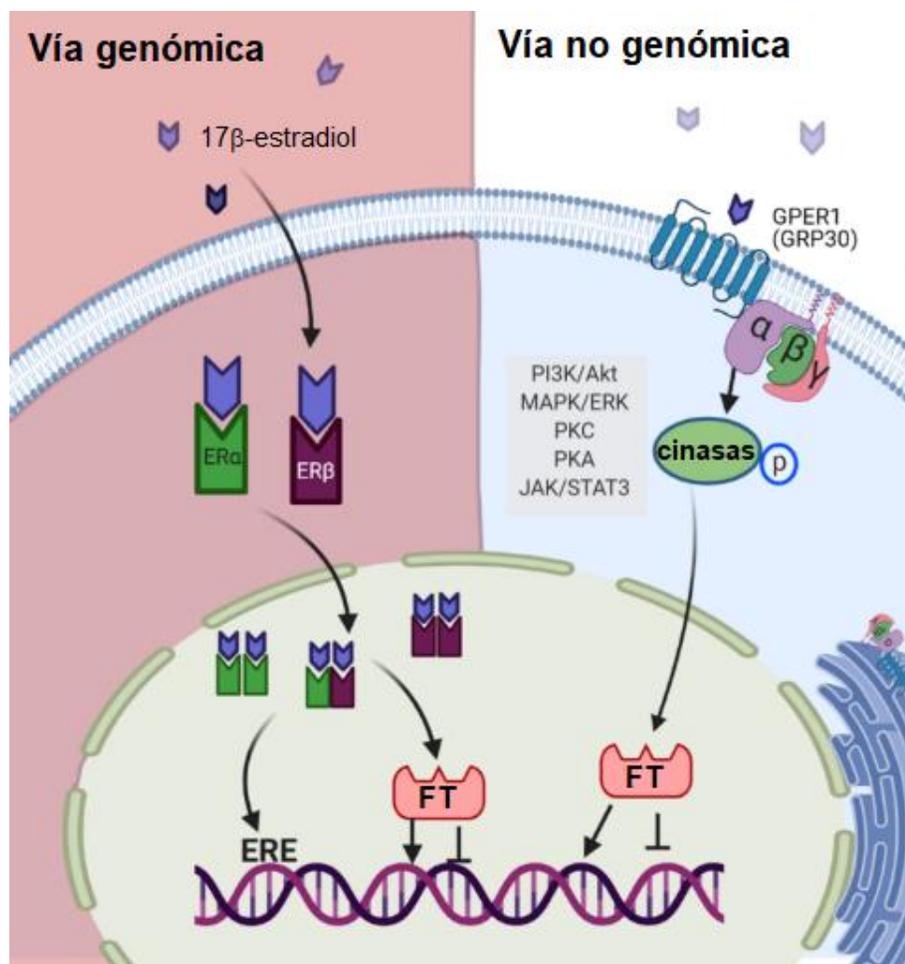


Figura 9. Receptores de estrógenos.

Las vías de señalización activadas por 17β-estradiol pueden ser tanto genómicas como no genómicas. El 17β-estradiol ingresa a la célula y se une a los receptores α y β (ER_{α} y ER_{β}) localizados en el citoplasma. La posterior fosforilación de estos receptores induce su translocación al núcleo, donde se dimerizan y activan la transcripción génica al unirse al elemento de respuesta a estrógenos (ERE) o a otros factores de transcripción. El 17β-estradiol también activa vías no genómicas a través de su interacción con receptores localizados en la membrana, lo que induce vías de señalización que involucran diferentes cinasas y cuya actividad también modifica la expresión génica. FT: factor de transcripción. Modificado de Lara-Castillo, 2021.

La literatura sugiere que el 17β-estradiol ejerce un efecto protector en diferentes condiciones de dolor experimental. En el caso del dolor neuropático, un estudio mostró que la administración de 17β-estradiol en ratas hembra con dolor neuropático induce la activación temprana de microglía y astrocitos, lo cual sólo ocurría en ratas macho (Vacca et al., 2016). Nuestro grupo reportó que el L-655,708, agonista inverso de los receptores

GABA_A- α_5 , ejerce un efecto antialodínico mayor en ratas y ratones hembra y, además, este efecto está regulado por el 17 β -estradiol mediante la activación del receptor de estrógenos α en la médula espinal (Franco-Enzástiga et al., 2020).

Nuestro grupo también observó que el efecto antinociceptivo mediado por los receptores GABA_A- α_6 en el dolor tipo fibromialgia depende del 17 β -estradiol (Gutiérrez-Agredano, 2022). Esto se relaciona con un reporte previo en el que se demuestra que el 17 β -estradiol modula la nocicepción inducida por reserpina de manera concentración-dependiente (Hernandez-Leon et al., 2018). No obstante, es importante seguir investigando los mecanismos que subyacen estas diferencias sexuales en la respuesta al dolor tipo fibromialgia.

2.4.1.1 Progesterona y su receptor

La progesterona actúa sobre su receptor (expresado en las isoformas A y B) que también pertenece a la familia de receptores nucleares, por lo que regula la transcripción génica de manera similar a los receptores de estrógenos (Grimm et al., 2016).

El incremento de los niveles de progesterona durante el embarazo puede potenciar la activación del sistema opioidérgico en la médula espinal e incrementar la liberación de opioides endógenos para reducir la sensibilidad al dolor (Gordon y Soliman, 1996). En apoyo a esto, un estudio reciente demostró que la administración sistémica de progesterona incrementa la expresión de los receptores δ -opioides en la médula espinal de ratas (Priyanto et al., 2022).

El potencial terapéutico de la progesterona se ha estudiado en el dolor neuropático. El tratamiento con progesterona previene la alodinia táctil y la alodinia al frío inducidas por el daño a la médula espinal (Coronel et al., 2011). En este sentido, la progesterona previene la sobreexpresión de las subunidades NR1, NR2A y NR2B del receptor NMDA, así como de la isoforma γ de la proteína cinasa C (Coronel et al., 2011; Ferreyra y González, 2022), además de reducir la expresión de la ciclooxigenasa 2, la activación de la microglía y los astrocitos (Coronel et al., 2014) y la expresión del ARNm del factor de necrosis tumoral α y de las interleucinas 1 β y 6 (Coronel et al., 2016).

Por otro lado, la administración de progesterona reduce las conductas nociceptivas inducidas por capsaicina al bloquear a la proteína chaperona Sig-1R y disminuir la expresión de los canales TRPV1 en ratones (Ortíz-Rentería et al., 2018). Sin embargo, no existen reportes sobre la modulación que ejerce la progesterona en otros tipos de dolor.

2.5 Modulación dependiente del sexo de los receptores dopaminérgicos y su papel en la nocicepción

Diversos estudios sugieren que los receptores dopaminérgicos también modulan la nocicepción de manera dependiente del sexo. En el dolor inducido por formalina y por CFA (adyuvante completo de Freund, un agente inflamatorio), la administración de SCH-23390 directamente en el núcleo del lecho de la estría terminal aumentó la respuesta nociceptiva sólo en ratas hembra (Hagiwara et al., 2013; Yu et al., 2021). Asimismo, la ausencia del receptor D₃ produce hipoalgesia en el modelo de formalina sólo en ratas hembra (Liu et al., 2017). Otro grupo de trabajo reportó que la nocicepción inducida por *priming* está mediada por los receptores D₁ en ratones hembra y por los receptores D₅ en ratones macho (Megat et al., 2018).

Es sabido que las hormonas gonadales modulan la función de los receptores dopaminérgicos en la conducta sexual, las conductas tipo psicosis, el aprendizaje y la respuesta al estrés (Graham et al., 2015; Sbisa et al., 2018; Malikowska-Racia et al., 2021; Joue et al., 2022). El precursor hormonal DHEA modula la transmisión dopaminérgica en el estriado y ejerce efectos protectores ante la depleción de dopamina con toxinas (D'Astous et al., 2003; Pérez-Neri et al., 2020). No obstante, se desconoce si las hormonas sexuales regulan la función de los receptores dopaminérgicos en la nocicepción.

De manera particular, no existen estudios que hayan abordado la caracterización farmacológica de los receptores dopaminérgicos, los cambios en su expresión, las posibles diferencias entre sexos, la influencia de las hormonas gonadales, así como la participación de las neuronas dopaminérgicas en el dolor tipo fibromialgia.

3. JUSTIFICACIÓN

La fibromialgia es un síndrome de dolor crónico que afecta severamente la calidad de vida de quienes la padecen. Los mecanismos fisiopatológicos de la fibromialgia no han sido del todo elucidados, lo que dificulta su diagnóstico y el desarrollo de tratamientos efectivos. Por su parte, el tratamiento actual, ya sea farmacológico o no farmacológico, es poco satisfactorio para la mayoría de los pacientes. Estudios previos sugieren que la función dopaminérgica y los niveles de dopamina están alterados en el sistema nervioso central de los pacientes con fibromialgia. No obstante, el papel de la dopamina en la modulación del dolor ha sido poco estudiado, especialmente en el dolor de tipo nociplástico.

Dado que la fibromialgia es más prevalente en mujeres que en hombres, y que la intensidad del dolor puede estar influenciada por procesos hormonales, como la menopausia y el ciclo menstrual, es importante investigar el efecto del sexo y las hormonas gonadales en el procesamiento de este tipo de dolor. Por lo tanto, demostrar la participación de los receptores dopaminérgicos en el dolor tipo fibromialgia, así como el papel que desempeñan las hormonas gonadales en la actividad de dichos receptores aportaría evidencia sobre los mecanismos dependientes del sexo que subyacen al dolor crónico y podría generar una alternativa terapéutica para el tratamiento de la fibromialgia y de otros síndromes de dolor similares.

4. HIPÓTESIS

- La lesión de las proyecciones dopaminérgicas espinales reduce la hipersensibilidad nociceptiva inducida por reserpina en ratas.
- Los receptores espinales *D₁-like* y *D₂-like* modulan la nocicepción en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina.
- El efecto de los receptores espinales *D₁-like* y *D₂-like* en la hipersensibilidad inducida por reserpina es dependiente del sexo y de las hormonas gonadales.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Investigar la participación de los receptores dopaminérgicos espinales en el desarrollo y mantenimiento de la hipersensibilidad nociceptiva inducida por reserpina en las ratas.

5.2. Objetivos particulares

1. Determinar la participación de las proyecciones descendentes dopaminérgicas en el inicio y el mantenimiento de las conductas nociceptivas inducida por reserpina en ratas.
2. Evaluar farmacológicamente la contribución de los receptores dopaminérgicos espinales en la alodinia táctil e hiperalgesia muscular inducidas por reserpina en ratas.
3. Evaluar el efecto del sexo en la función de los fármacos dopaminérgicos espinales en la hipersensibilidad nociceptiva inducida por reserpina, así como la influencia del 17 β -estradiol y la progesterona en estas diferencias.
4. Determinar, mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa, la expresión de los receptores dopaminérgicos en los ganglios de la raíz dorsal y la médula espinal de ratas reserpinizadas.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Animales

Se utilizaron ratas Wistar hembra y macho con un peso corporal de 200-220 g al inicio de los experimentos (a excepción de las ratas que fueron sometidas a ovariectomía bilateral, cuyo peso inicial fue de 180 g). Los animales se mantuvieron a temperatura ambiente en ciclos de luz-oscuridad de 12 horas con libre acceso a agua y alimento, y fueron habituados a la manipulación y a las técnicas de evaluación antes de cada procedimiento. Todos los experimentos se llevaron a cabo siguiendo los lineamientos éticos para la investigación del dolor experimental en animales (Zimmermann, 1983) y de acuerdo con los criterios de la Norma Oficial Mexicana para el uso y cuidado de animales de laboratorio (NOM-069-ZOO-1999). El presente trabajo está sustentado por el Protocolo 0042-13, aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales del Cinvestav.

6.2 Modelo de dolor tipo fibromialgia inducido por reserpina

El dolor tipo fibromialgia se indujo con el procedimiento descrito por Nagakura et al. (2009). La reserpina (Cat. R0875, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) se disolvió en 0.5% de ácido acético glacial (Cat. 320099, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) en solución salina al 0.9%. Posteriormente, se administró vía subcutánea en dosis de 1 mg/kg una vez al día durante tres días consecutivos. El grupo control recibió una inyección subcutánea de 0.5% de ácido acético en solución salina al 0.9%, en un volumen de 1 ml/kg, una vez al día durante tres días consecutivos.

6.3 Administración intratecal

La inyección intratecal de los fármacos, vehículos y ARNs de interferencia pequeños (siRNAs), descritos en secciones posteriores, se realizó siguiendo una técnica reportada previamente (Mestre et al., 1994) con algunas modificaciones. Bajo anestesia con isoflurano, las ratas recibieron una punción lumbar directa en el espacio entre las vértebras L4 y L5 utilizando una aguja calibre 30 G conectada a una jeringa. Después de corroborar el acceso al espacio subaracnoideo mediante el reflejo de sacudida de la cola,

se inyectó un volumen de 10 µl para cada tratamiento o vehículo (12 µl en el caso de los siRNAs) y se permitió a los animales recuperarse de la anestesia durante unos minutos.

6.4 Lesión de las proyecciones espinales dopaminérgicas

La lesión de las neuronas dopaminérgicas espinales se realizó mediante la administración intratecal de 50 µg de 6-hidroxidopamina (6-OHDA, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Se realizó un pre-tratamiento con desipramina (DES, 20 mg/kg i.p., Tocris Bioscience, Ellisville, MO) 40 min antes de la inyección de la toxina para proteger a las neuronas noradrenérgicas (Sawynok et al., 1991; Kim et al., 2015).

6.5 Ovariectomía

La ovariectomía bilateral se llevó a cabo siguiendo un método descrito previamente (Hernandez-Leon et al., 2018). Las ratas se anestesiaron con ketamina/xilazina (50/10 mg/kg, i.p.) y ambos ovarios fueron removidos quirúrgicamente de la cavidad abdominal baja. Después de suturar el músculo y la piel, la herida fue tratada con cloruro de benzalconio al 50% como antiséptico. El cese del ciclo estral se comprobó mediante la observación de leucocitos (fase de diestro) en el frotis vaginal.

6.6 Evaluación de las conductas nociceptivas

6.6.1 Determinación de la alodinia táctil

Las ratas se colocaron de forma individual en cajas de acrílico transparente sobre una malla metálica durante 30 min para habituarse. Los animales se estimularon en la parte media de la pata con los filamentos de von Frey (Stoelting Co., Wood Dale, IL). El 50% de umbral de retiro se determinó empleando el método *up-down* (Dixon, 1980; Chaplan et al., 1994). Se inició con el filamento de 2 g y se ascendió o descendió con incrementos logarítmicos de rigidez (1.65-6.65 g) en función de la respuesta del animal. Una respuesta positiva provoca el retiro de la pata estimulada en un lapso de 7-8 segundos, mientras que una respuesta negativa es aquella donde el estímulo no genera el retiro de la pata en el mismo lapso. Después de la primera respuesta positiva, la pata se estimuló cuatro veces más tomando en total una serie de seis patrones de respuestas positivas y negativas. El 50% del umbral de retiro de la pata se calculó con la siguiente fórmula:

$$50\% \text{ umbral de retiro (g)} = \left(10^{[Xf+k\delta]}\right) / 10000$$

Donde Xf es el valor del último filamento de von Frey utilizado (en unidades logarítmicas); k es el factor de corrección basado en los patrones de respuesta de la tabla de calibración y al valor tabulado con base al número de respuestas positivas y negativas; y δ se refiere a las diferencias de promedio entre estímulos (unidades logarítmicas).

6.6.2 Evaluación del umbral de presión muscular

El umbral de presión muscular se midió de acuerdo con el método reportado por Schäfers et al. (2003). Las ratas se envolvieron en un paño de franela y la extremidad posterior derecha se posicionó en el aparato de Randall-Selitto (UGO BASILE 37215 Analgesy-meter, Comerio, VA, Italia) para aplicar una fuerza mecánica que incrementó linealmente (máximo 250 g) sobre el músculo gastrocnemio. La respuesta se midió como la presión en gramos necesaria para que la rata retirara la extremidad o vocalizara. Cada prueba se repitió tres veces con intervalos de al menos un minuto entre cada estímulo. El promedio de umbral de presión muscular se calculó con base en las tres mediciones.

6.7 Evaluación de la coordinación motora

La evaluación de la coordinación motora se llevó a cabo utilizando la prueba del Rotarod. Los distintos grupos de ratas se habituaron al equipo durante 10 min a 14 rpm, por dos días consecutivos. Al día siguiente (día de la prueba), los animales se colocaron nuevamente en el equipo a la misma velocidad y se registró el número de caídas de cada rata durante 5 min.

6.8 Fármacos

La caracterización farmacológica de los receptores dopaminérgicos en la nocicepción inducida por reserpina, así como la determinación de la participación de los receptores a estrógenos y progesterona en ratas ovariectomizadas, se realizó mediante el tratamiento y co-tratamiento con agonistas y antagonistas selectivos para cada subtipo de receptor, respectivamente (**Tabla 2**, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Éstos se disolvieron en solución salina o DMSO (dependiendo de su solubilidad) y se administraron por vía intratecal en

las ratas reserpinizadas. La elección de las dosis para cada fármaco se basó en estudios previos y en experimentos piloto realizados en el laboratorio.

Tabla 2. Agonistas y antagonistas selectivos utilizados en este trabajo.

Fármaco	Función	Receptor	Afinidad	Afinidad por otros
Quinpirol	Agonista	D ₂ -like	pKi 8.3	D ₂ > D ₃ > D ₄ (pKi 8.3 – 7.5)
Pramipexol	Agonista	D ₂ -like	pKi 9.3	D ₃ > D ₂ > D ₄ (pKi 9.3 – 8.4)
SKF-38393	Agonista parcial	D ₁ -like	pKi 9.3	D ₅ > D ₁ (pKi 9.3 – 9.0)
SCH-23390	Antagonista	D ₁ -like	pKi 9.7	D ₁ > D ₅ (pKi 9.7 – 9.5)
L-741,626	Antagonista	D ₂	pKi 8.6	D ₂ > D ₃ > D ₄ (pKi 8.6 – 6.6)
PG01037	Antagonista	D ₃	pKi 9.1	D ₃ > D ₂ > D ₄ (pKi 9.1 – 6.4)
L-745,870	Antagonista	D ₄	pKi 9.4	D ₄ > D ₂ (pKi 9.4 – 6.0)
ICI-182,780	Antagonista no selectivo	ER _{α/β}	Cl ₅₀ 0.29 nM	-
MPP	Antagonista	ER _α	pKi 8.5	ER _β pKi 5.7
PPT	Agonista	ER _α	CE ₅₀ 200 pM	-
DPN	Agonista	ER _β	CE ₅₀ 0.85 nM	ER _α CE ₅₀ 66 nM
Mifepristona	Antagonista no selectivo	PR	Cl ₅₀ 0.2 nM	GR Cl ₅₀ 2.6 nM

Seeman y Van Tol, 1994; Mierau et al., 1995; Kulagowski et al., 1996; Howell et al., 2000; Bourne, 2001; Meyers et al., 2001; Sun et al., 2002; Zhi et al., 2003; Grundt et al., 2005; Leung et al., 2009.

pKi: logaritmo negativo de la constante de inhibición (Ki); Cl₅₀: Concentración media necesaria para alcanzar el efecto máximo inhibitor; CE₅₀: Concentración media necesaria para alcanzar el efecto máximo; MPP: metil-piperidino-pirazol; PPT: protopanaxatriol; DPN: diaril-propionitrilo; ER: receptor a estrógenos; PR: receptor a progesterona; GR: receptor a glucocorticoides.

6.9 *Knockdown* de los receptores dopaminérgicos D₁ y D₅ espinales

Se realizó el tratamiento intratecal con ARN de interferencia pequeños (siRNAs) dirigidos a los receptores D₁ y D₅. El esquema de administración se basó en estudios previos (Doré-Savard et al., 2008; Njoo et al., 2014), con algunas modificaciones. La preparación de los siRNAs se llevó a cabo inmediatamente antes de su administración bajo una cabina

de flujo laminar. Las secuencias del siRNA del receptor D₁ (*Drd1* Rat siRNA Oligo Duplex, Cat. SR502135) como las del D₅ (*Drd5* Rat siRNA Oligo Duplex, Cat. SR502866) y sus respectivos controles (*scrambled*) se reconstituyeron con 200 µl de solución amortiguadora libre de ARNasas. Posteriormente, cada secuencia se calentó durante 2 min a 94°C y se dejó enfriar a temperatura ambiente, de acuerdo con las recomendaciones del fabricante (OriGene Technologies, Inc., Rockville, MD). En tubos Eppendorf pequeños, se mezclaron 8 µl de siRNA y 4 µl del reactivo de transfección (Lipofectamine 2000 Transfection Reagent, Cat. 11668019, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA), se incubaron durante 20 min a temperatura ambiente y se administraron por vía intratecal en un volumen de 12 µl (correspondiente a 1 µg de siRNA) a cada rata. El procedimiento se repitió hasta completar un esquema de 1 µg de siRNA cada 24 h durante tres días consecutivos.

6.10 Determinación de la expresión de los receptores de dopamina por reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa

Las ratas se sacrificaron por decapitación y se extrajeron los ganglios de la raíz dorsal (L4-L6) y la parte lumbar de la médula espinal (L1-S1) en su porción dorsal, retirando todo el tejido circundante. Inmediatamente se sumergieron en nitrógeno líquido y se almacenaron en tubos de centrifugación a -70°C hasta su uso. Para extraer el ARN total mediante el método de guanidina-tiocianato, las muestras se homogenizaron con reactivo Trizol de acuerdo con las especificaciones del fabricante (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA). La concentración y pureza del ARN se determinaron mediante espectrofotometría a una densidad óptica de 260/280 nm. Posteriormente, se sintetizó el ADN complementario (ADNc) a partir de 5 µg de ARN total empleando hexanucléotidos (Oligo dT) y transcriptasa reversa M-MLV (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA), incubando la reacción durante 1 h a 37°C.

La reacción de PCR cuantitativa se llevó a cabo utilizando 0.1 µM de las sondas prediseñadas (**Tabla 3**) de cada uno de los genes de los receptores dopaminérgicos (*Taqman Gene Expression Assay*, Cat. 4331182, Applied Biosystems, Carlsbad, CA) y 2 µl de ADNc, en un volumen total de 10 µl de Master Mix (*Taqman Universal PCR Master Mix*, Cat. 4364338, Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA). La amplificación se

realizó en el equipo PikoReal 96 Real-Time PCR Detection System (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA), en donde previamente se establecieron las condiciones óptimas de temperatura y número de ciclos mediante curvas de estandarización. La expresión del ARN mensajero se cuantificó por el método $2^{\Delta\Delta Ct}$ (Livak y Schmittgen, 2001) y se normalizó utilizando la sonda prediseñada del gen *Actb* (beta-actina, *Taqman Gene Expression Assay*, Cat. 4331182, Applied Biosystems) como control interno.

Tabla 3. Secuencias *Taqman* utilizadas en este trabajo.

Gen	No. de acceso GenBank	Tamaño del amplicón (bp)	Ubicación del ensayo	ID del ensayo (Applied Biosystems)
<i>Drd1</i>	M35077.1	83	1361	Rn03062203_s1
<i>Drd2</i>	M36831.1	85	1179	Rn01418275_m1
<i>Drd3</i>	X53944.1	63	465	Rn00567568_m1
<i>Drd5</i>	NM_012768	65	1359	Rn01640412_s1
<i>Actb</i>	NM_031144	91	881	Rn00667869_m1

6.11 Análisis de datos y estadística

Todos los análisis y gráficos se realizaron con el programa estadístico Graphpad Prism 6.01 (GraphPad Inc. San Diego, CA). Los resultados conductuales se expresan como la media \pm el error estándar (EE) de seis u ocho animales por grupo, graficando el umbral de retiro o el umbral de presión muscular en función del tiempo. Además, se determinó el área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales mediante el método de los trapecoides y se graficó la media \pm EE de las unidades de área para cada grupo. Los resultados de qPCR se expresan como la media \pm EE de 3-4 animales.

Para determinar las diferencias entre grupos, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de una o dos vías seguido por las pruebas de Bonferroni o Dunnett. Las diferencias estadísticas entre dos grupos se probaron mediante la prueba t de *Student*. Para todos los casos, un valor de P menor a 0.05 se consideró significativo.

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

7.1 Lesión de las neuronas dopaminérgicas espinales con 6-hidroxidopamina

La lesión de las proyecciones dopaminérgicas espinales se realizó con la administración de 6-hidroxidopamina en dos paradigmas experimentales. En el primero, se administró un tratamiento de desipramina (25 mg/kg, i.p.; para proteger a las neuronas noradrenérgicas) con 6-hidroxidopamina (50 µg/10 µl, i.t.) 7 días antes de la inducción del modelo con reserpina (pretratamiento, **Figura 10**). En el segundo, el tratamiento con desipramina y 6-hidroxidopamina se realizó 24 h después de la última inyección de reserpina (postratamiento, **Figura 11**). Se utilizó como control un grupo de ratas reserpinizadas a las que sólo se administró desipramina y salina estéril (10 µl, i.t.) y otro que únicamente recibió salina (1 ml/kg, i.p., y 10 µl, i.t.).

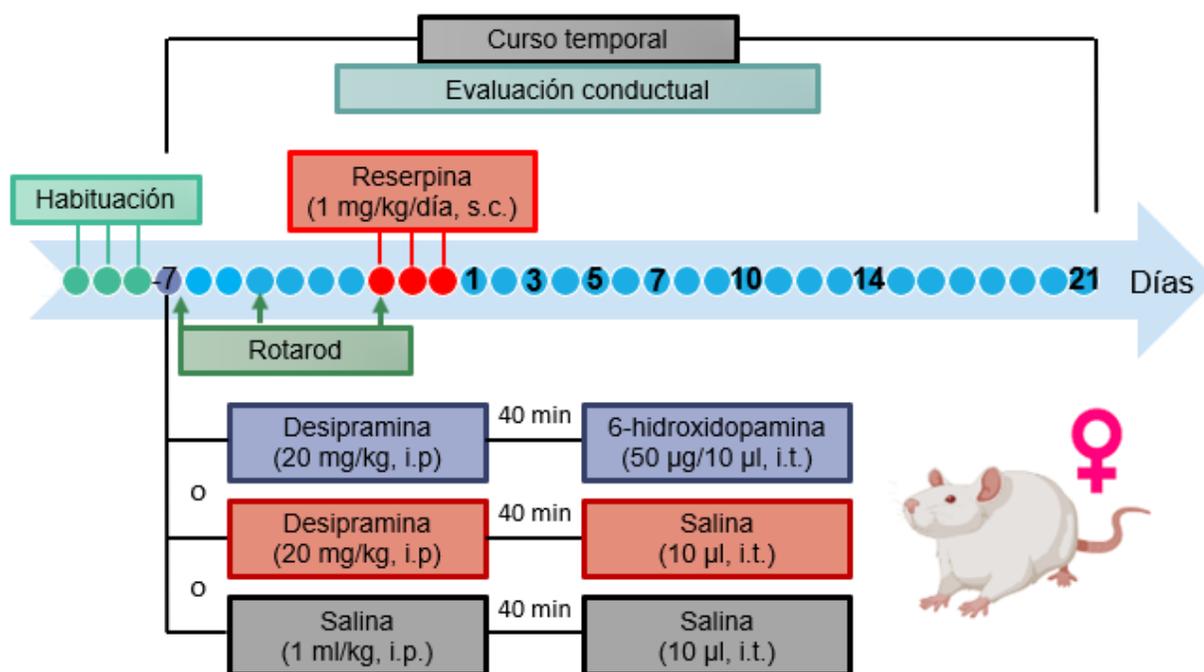


Figura 10. Diseño experimental del pretratamiento con 6-hidroxidopamina y los tratamientos control.

Grupos independientes, n=8. s.c.: vía subcutánea; i.p.: vía intraperitoneal; i.t.: vía intratecal.

La evaluación de las conductas nociceptivas, alodinia e hiperalgesia muscular, se llevó a cabo siguiendo el curso temporal del modelo hasta el día 21 post-reserpina. Asimismo, los animales se sometieron a la prueba del rotarod antes y después del tratamiento con

6-hidroxidopamina para descartar posibles alteraciones en el control motor asociadas a la lesión de las neuronas dopaminérgicas.

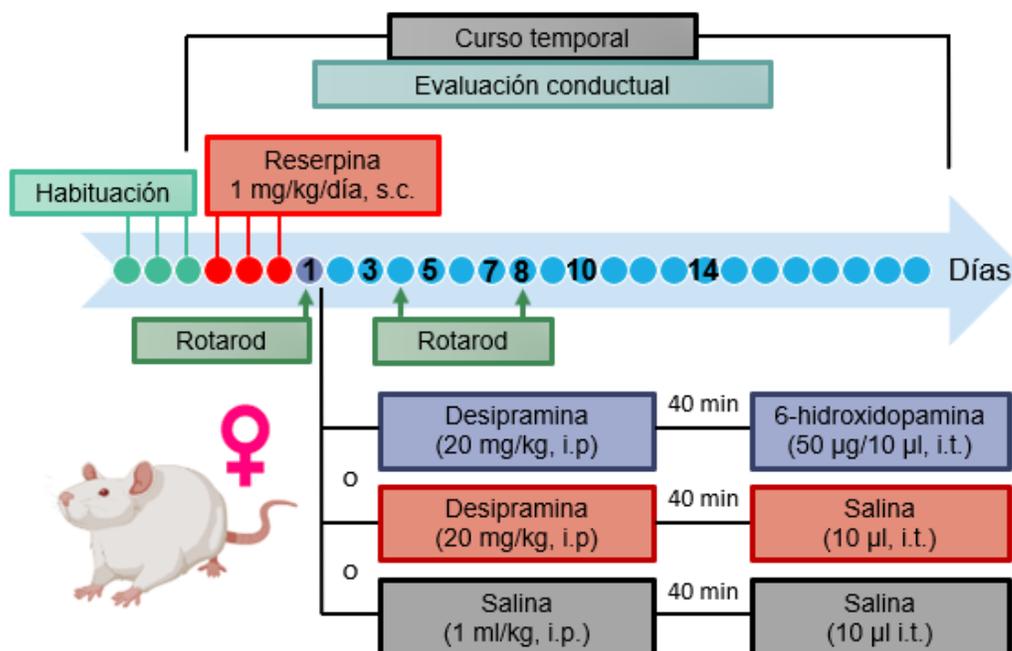


Figura 11. Diseño experimental del postratamiento con 6-hidroxidopamina y los tratamientos control.

Grupos independientes, n=8. s.c.: vía subcutánea; i.p.: vía intraperitoneal; i.t.: vía intratecal.

7.2 Farmacología de los receptores dopaminérgicos

Para determinar la participación de los receptores dopaminérgicos D_1 -like espinales en condiciones no patológicas, se administró dopamina o SKF-38393 por vía intratecal en hembras *naïve* (solos o en combinación con SCH-23390) y se evaluó su efecto en el umbral de retiro de la pata hasta por 8 horas (**Figura 12**).

La caracterización farmacológica de la contribución de los receptores dopaminérgicos en la nocicepción inducida por reserpina se realizó mediante la administración intratecal de agonistas y antagonistas selectivos para las familias de receptores D_1 - y D_2 -like en ratas hembra reserpinizadas, 5 o 7 días después de la inducción del modelo, siguiendo el curso temporal del efecto antialodínico o antihiperálgésico hasta por 8 horas, respectivamente (**Figura 13**). En el caso de los machos, únicamente se evaluó el efecto antialodínico de estos fármacos.

En un subgrupo de experimentos realizados únicamente en ratas hembra, se administraron co-tratamientos utilizando antagonistas selectivos para de cada subtipo de receptor (D_2 , D_3 y D_4) de la familia D_2 -like con el fin de determinar su participación individual en la nocicepción inducida por reserpina.

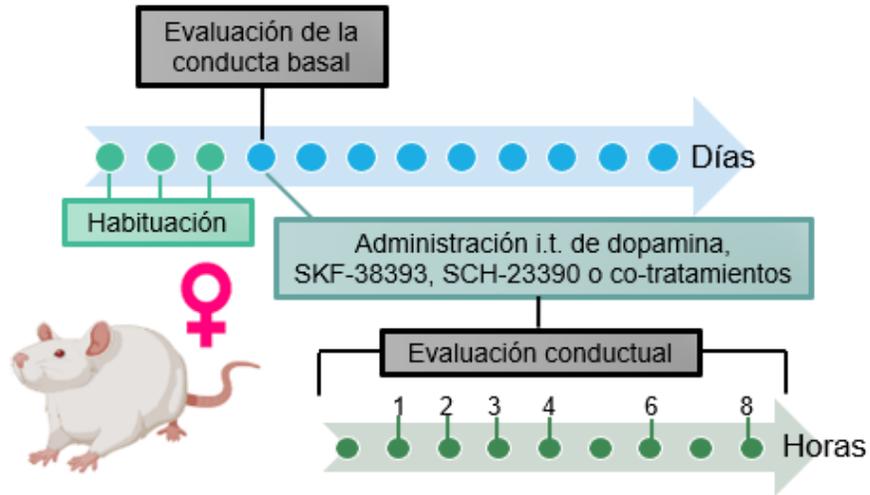


Figura 12. Diseño experimental de la administración de fármacos en ratas *naíve*. Se utilizaron grupos independientes para evaluar cada tratamiento o co-tratamiento, n=6. i.t.: intratecal.

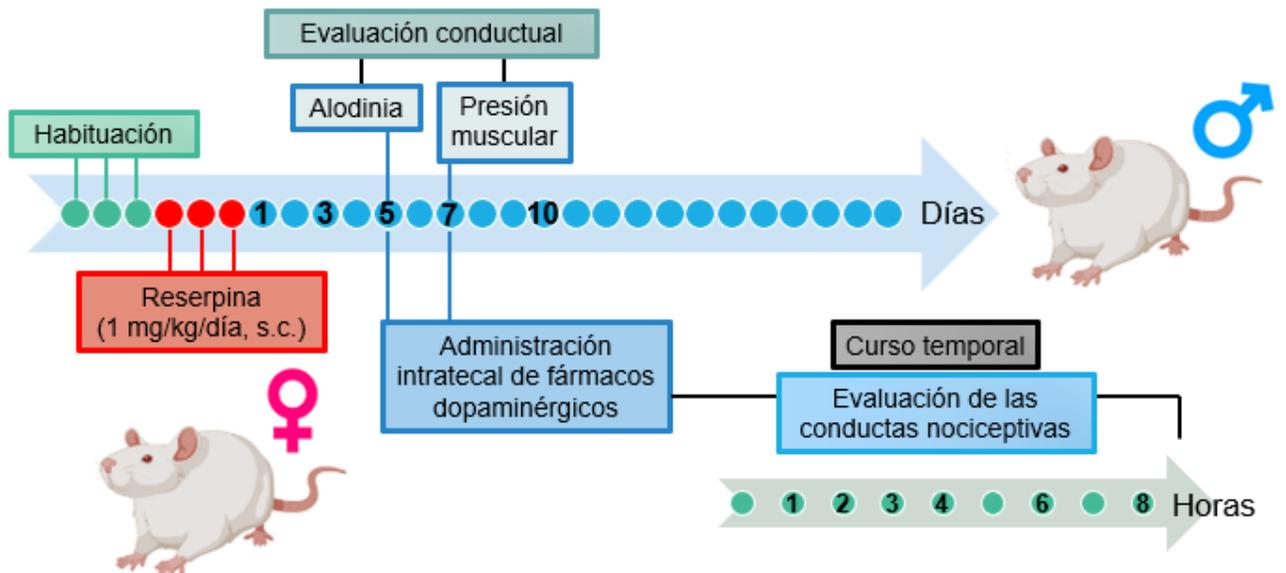


Figura 13. Diseño experimental de la caracterización farmacológica. Se utilizaron grupos independientes para evaluar cada tratamiento o co-tratamiento, n=6. s.c.: vía subcutánea.

7.3 Esquema de administración de los siRNAs

Ante la ausencia de antagonistas selectivos para los receptores de la familia *D₁-like*, se realizó un tratamiento intratecal con siRNAs dirigidos a los receptores *D₁* y *D₅* (1 µg de siRNA cada 24 h durante tres días consecutivos, **Figura 14**). Cada grupo de ratas reserpinizadas (n=8) se dividió en dos: una parte del grupo (n=3) se utilizó para extraer la porción dorsal de la médula espinal 24 horas después de la última inyección de siRNA (tejido que se procesó para cuantificar la expresión de los receptores), mientras que el grupo restante (n=5) continuó con la evaluación conductual para determinar la duración del efecto de cada siRNA. Asimismo, los animales se sometieron a la prueba del rotarod para descartar posibles alteraciones en el control motor.

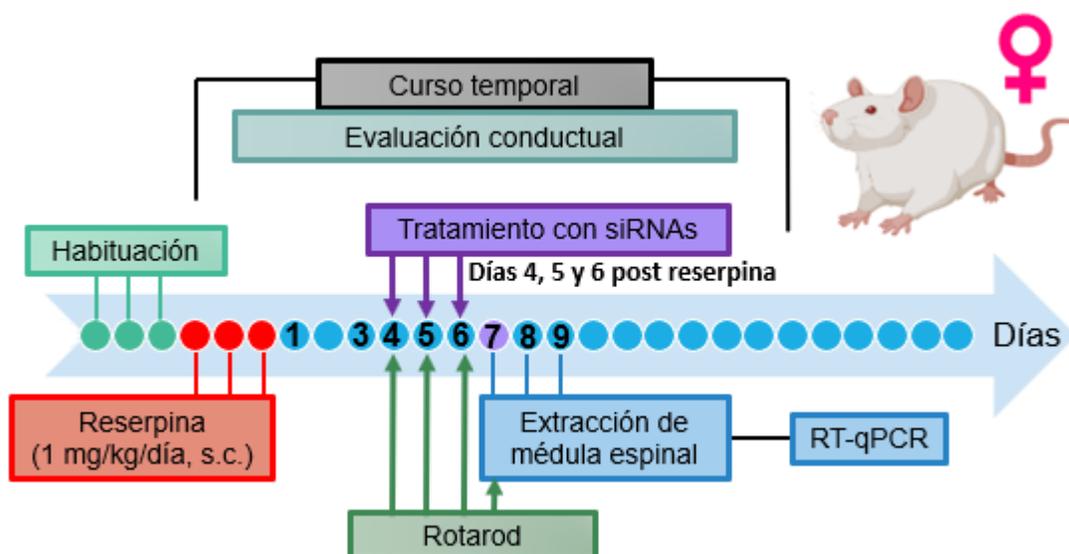


Figura 14. Diseño experimental del tratamiento intratecal con siRNAs dirigidos a los genes de los receptores *D₁* y *D₅*.

n=8, RT-qPCR: reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa con transcripción inversa; s.c.: vía subcutánea.

7.4 Ovariectomía, reconstitución con estradiol y farmacología de los receptores a estrógenos

Después de observar diferencias dependientes del sexo en el efecto de los fármacos dopaminérgicos (**Figura 36**), se evaluó si este fenómeno estaba mediado por hormonas gonadales. Para ello, se realizó una ovariectomía bilateral en diferentes grupos de ratas. Luego, los animales fueron tratados con reserpina 20 días después de su recuperación.

Posteriormente, recibieron un tratamiento con 17β -estradiol ($10 \mu\text{g}/\text{kg}$, s.c.) o su vehículo (aceite de sésamo, s.c.) 24 h antes de la administración intratecal de los fármacos dopaminérgicos SCH-23390, pramipexol y quinpirol (**Figura 15**). La dosis de 17β -estradiol utilizada se basó en experimentos piloto y en estudios previos (Hernandez-Leon et al., 2018). Se observó que esta dosis no modifica el umbral de retiro de la pata en las ratas reserpinizadas.

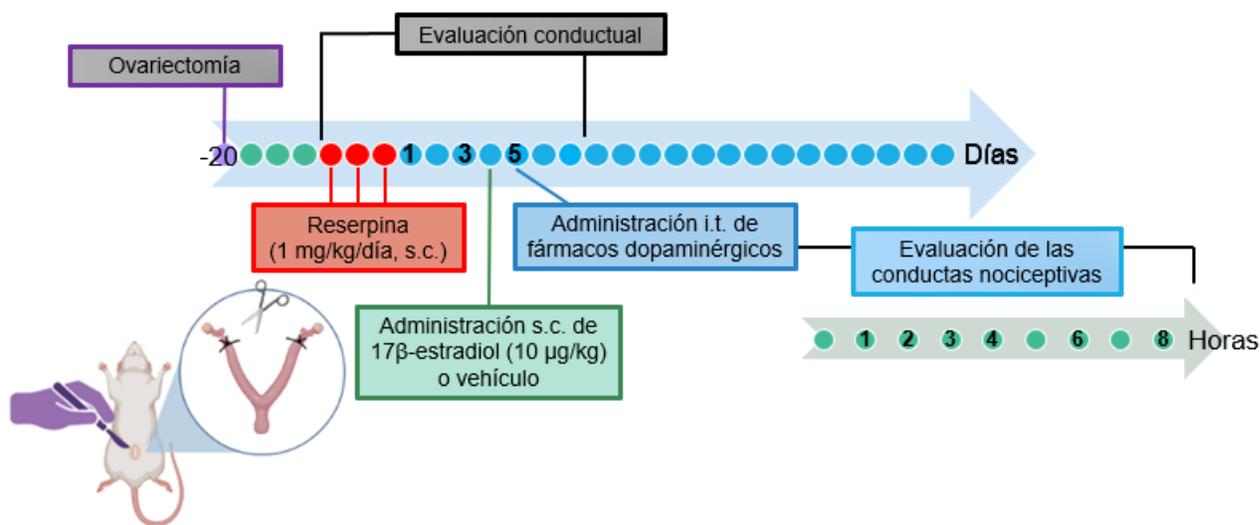


Figura 15. Diseño experimental del tratamiento agudo con 17β -estradiol previo a la administración intratecal de los fármacos dopaminérgicos.

Se utilizaron grupos independientes para evaluar la influencia de la ovariectomía en el efecto antinociceptivo de los fármacos dopaminérgicos, así como el resultado de la reconstitución con 17β -estradiol en dicho efecto, $n=5-6$. i.t.: intratecal, s.c.: vía subcutánea.

Para corroborar que el efecto de los fármacos estuviera ligado a la señalización del 17β -estradiol, se administró un pretratamiento intratecal con los antagonistas ICI-182,780 ($10 \mu\text{g}$ por 3 días, que actúa sobre los receptores a estrógenos α/β) o metil-piperidino-pirazol ($0.5 \mu\text{g}$ por 3 días, selectivo para los receptores a estrógenos α) del día 2 al 4 después de la última inyección de reserpina en ratas ovariectomizadas. En el día 4, los animales también fueron reconstituidos por vía sistémica con 17β -estradiol, y se les administró SCH-23390 (30 nmol , i.t.) 24 h después (**Figura 16**). En otro grupo de experimentos, las ratas ovariectomizadas reserpinizadas (sin reconstituir con 17β -estradiol) recibieron propilpirazoletiol ($2.4 \mu\text{g}$, i.t.; agonista de los receptores a estrógenos α) o diarilpropionitrilo ($4 \mu\text{g}$, i.t.; agonista de los receptores a estrógenos β) 4 h antes de ser

tratadas con SCH-23390 intratecal (**Figura 17**). Las dosis y concentraciones de los agonistas y antagonistas de los receptores a estrógenos fueron seleccionadas con base en estudios previos (Nag y Mokha, 2004; Ji et al., 2011; Franco-Enzástiga et al., 2020).

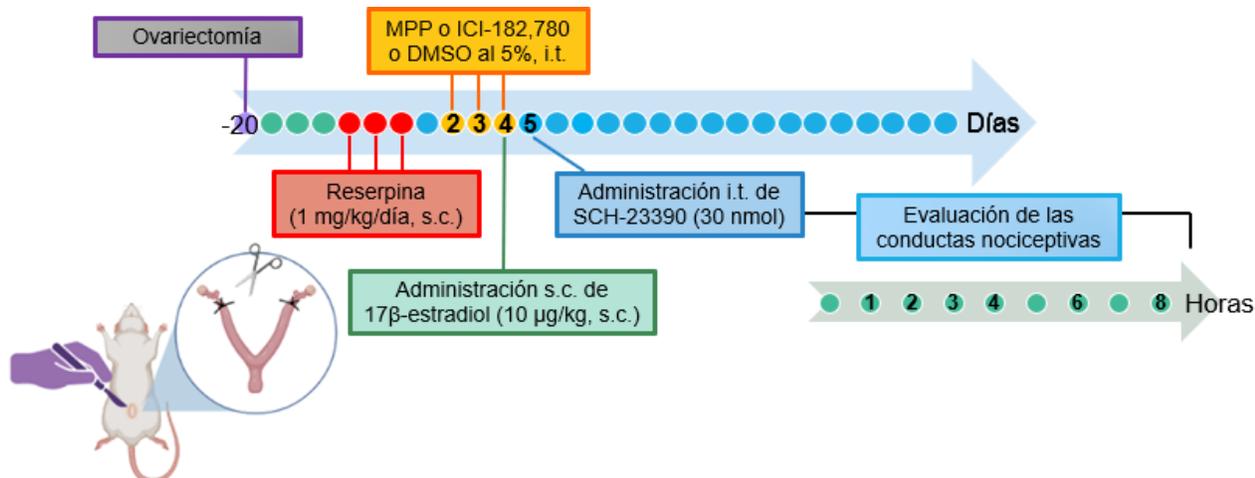


Figura 16. Diseño experimental del tratamiento con antagonistas de los receptores a estrógenos α y β y la reconstitución con 17β -estradiol previo a la administración intratecal del antagonista de los receptores D_1 -like.

Se utilizaron grupos independientes para cada antagonista del receptor a estrógenos y el vehículo, $n=6$. MPP: metil-piperidino-pirazol; DMSO: dimetil sulfóxido; s.c.: vía subcutánea; i.t.: intratecal.

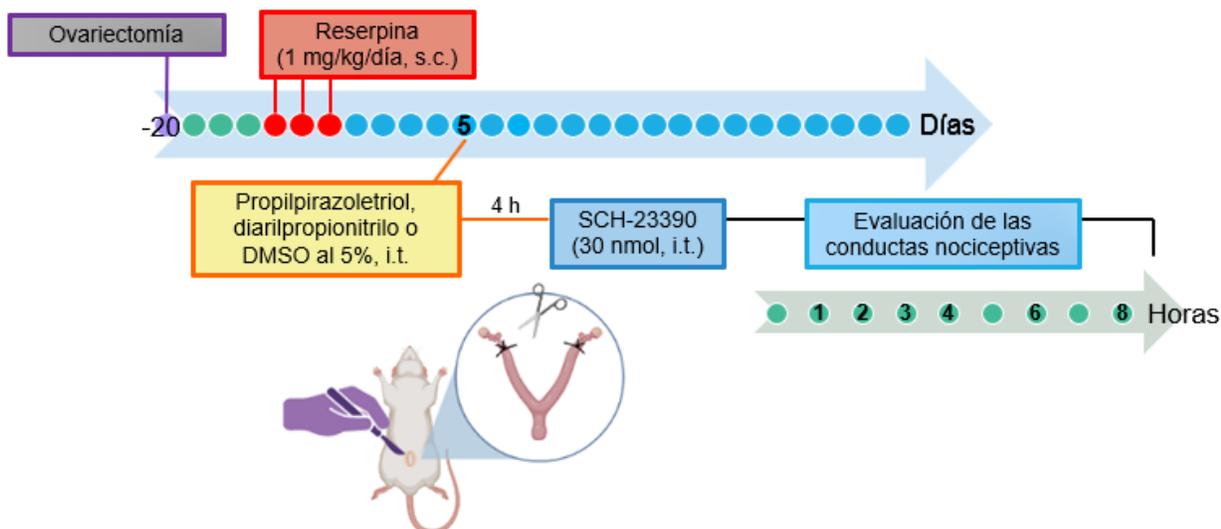


Figura 17. Diseño experimental del tratamiento con agonistas de los receptores estrógenos α y β antes de la administración intratecal del antagonista de los receptores D_1 -like.

Se utilizaron grupos independientes para cada tratamiento, $n=6$. DMSO: dimetil sulfóxido; s.c.: vía subcutánea; i.t.: vía intratecal.

7.5 Reconstitución con progesterona y farmacología del receptor a progesterona

Para investigar la participación de la progesterona en el efecto antialodínico de los agonistas de los receptores D_2 -like, se realizó una reconstitución con 17β -estradiol ($10 \mu\text{g}/\text{kg}$, s.c.) con progesterona (3 mg , s.c.) o sus vehículos (aceite de sésamo o aceite de maíz, respectivamente). La progesterona fue administrada 22 h después del 17β -estradiol y dos horas antes del tratamiento con quinpirol o pramipexol (**Figura 18**). La dosis de progesterona se eligió con base en estudios previos de proceptividad sexual en ratas (Becker, 2005).

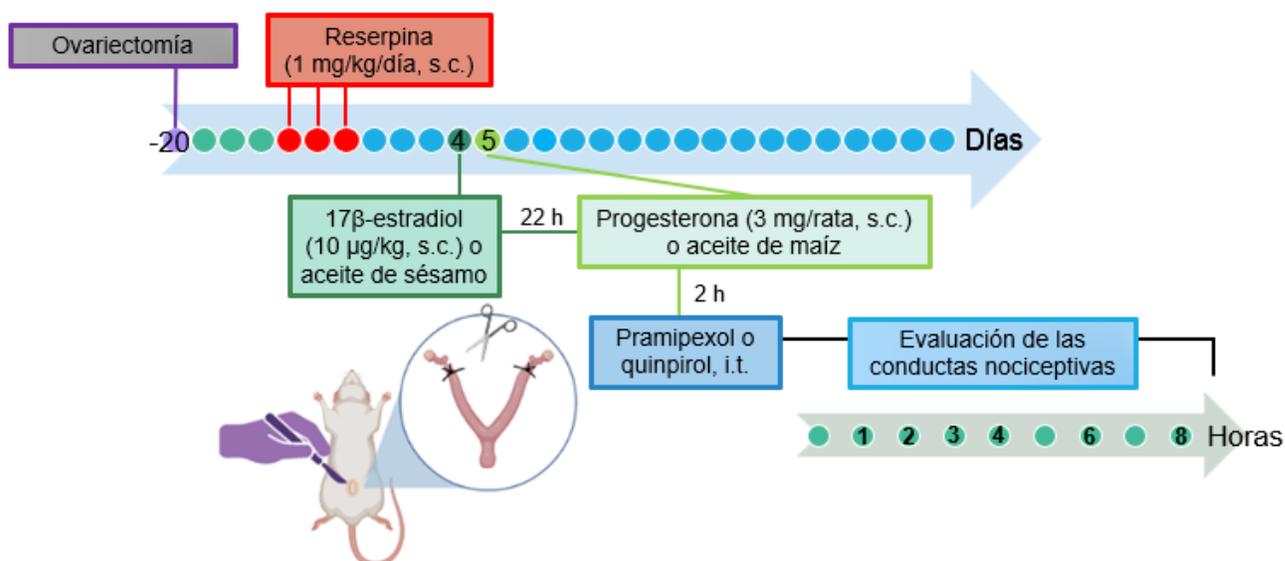


Figura 18. Diseño experimental de la reconstitución con 17β -estradiol y progesterona previo a la administración intratecal de los agonistas de los receptores D_2 -like.

Se utilizaron grupos independientes para evaluar el efecto de cada tratamiento, $n=6$. s.c.: vía subcutánea; i.t.: vía intratecal.

Para corroborar la especificidad del efecto de la progesterona, se administró mifepristona (antagonista del receptor a progesterona, $5 \mu\text{g}$, i.t.) o su vehículo (DMSO, $10 \mu\text{l}$) 30 min antes de la reconstitución con progesterona, para después evaluar el efecto antialodínico del pramipexol (**Figura 19**). La dosis de mifepristona se eligió con base en estudios previos (Peng et al., 2009; Shoab et al., 2021).

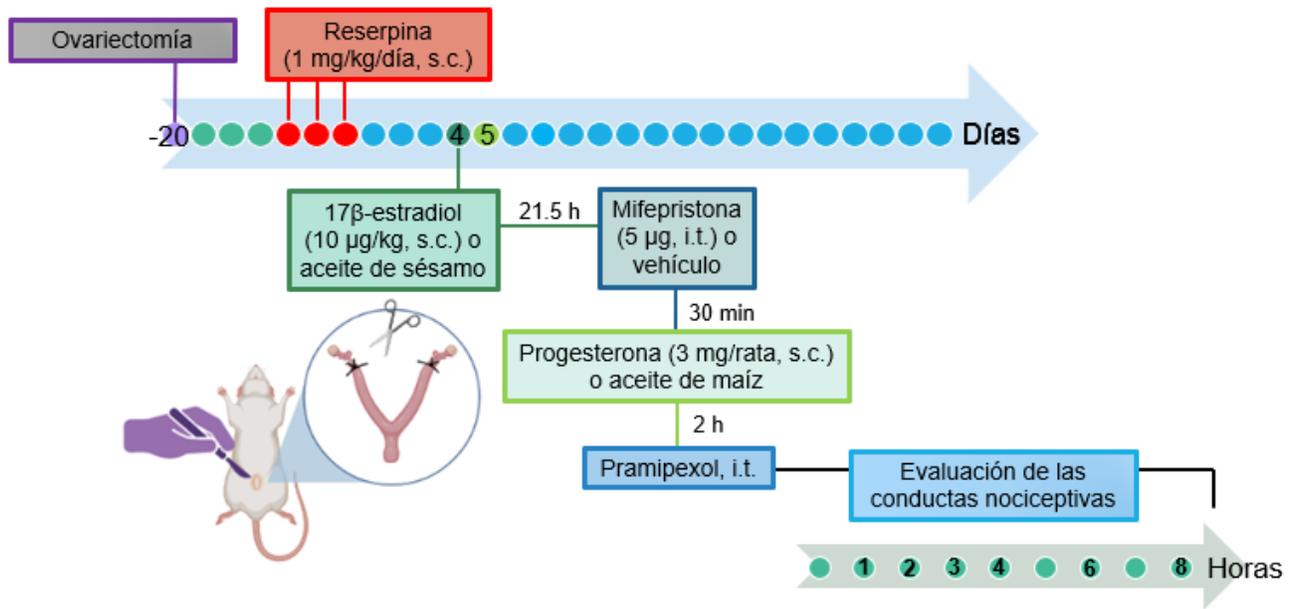


Figura 19. Diseño experimental de la reconstitución con 17β-estradiol, el bloqueo del receptor a progesterona previo a la reconstitución con progesterona, así como el tratamiento intratecal con pramipexol.

Se utilizaron grupos independientes para evaluar el efecto de cada tratamiento, n=6. s.c.: vía subcutánea; i.t.: vía intratecal.

7.6 Efecto de la reconstitución hormonal en ratas reserpinizadas

Para reafirmar que el 17β-estradiol y la progesterona modulan el efecto antialodínico de los fármacos dopaminérgicos en ratas hembra reserpinizadas, grupos independientes de animales (sin ovariectomía) se reconstituyeron con 17β-estradiol o con la combinación de 17β-estradiol y progesterona, o sus respectivos vehículos, de la misma forma en que se describió previamente. Después, los animales recibieron un tratamiento i.t. con concentraciones subefectivas de SCH-23390 (3 nmol) o pramipexol (0.15 nmol) (**Figura 20**).

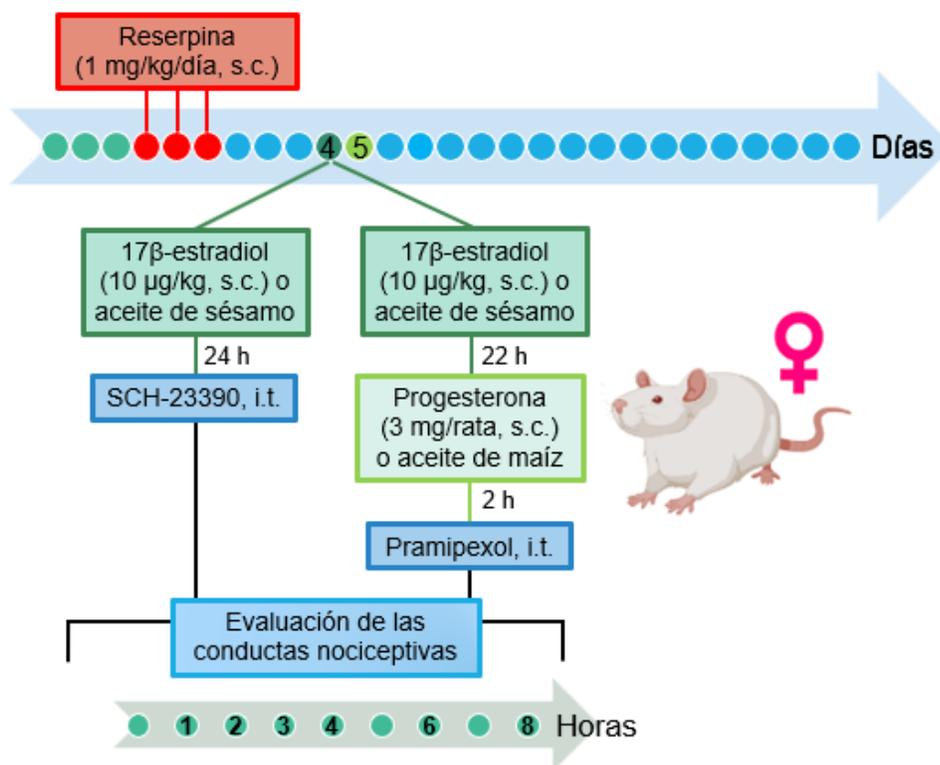


Figura 20. Diseño experimental de la reconstitución con 17β -estradiol y progesterona en hembras reserpinizadas sin ovariectomía previo al tratamiento intratecal con SCH-23390 o pramipexol.

Se utilizaron grupos independientes para evaluar el efecto de cada tratamiento, $n=6$. s.c.: vía subcutánea; i.t.: vía intratecal.

7.7 Expresión de los receptores dopaminérgicos en médula espinal y ganglios de la raíz dorsal

Se realizó un curso temporal de la expresión del ARN mensajero (ARNm) de los receptores dopaminérgicos en ratas reserpinizadas de ambos sexos, utilizando animales tratados con ácido acético al 0.5% como control y animales *naïve* como control negativo. Para ello, se extrajo la porción dorsal de la médula espinal lumbar y los ganglios de la raíz dorsal (L4 a L6), a partir de los cuales se obtuvo el ARN total con el método del Trizol. Posteriormente, se sintetizó el ADN complementario (ADNc) mediante una reacción con transcriptasa reversa. La expresión de los diferentes subtipos de receptores dopaminérgicos se determinó mediante PCR cuantitativa con *primers* y sondas *Taqman* específicos para cada uno (**Tabla 3; Figura 21**). La expresión del ARNm se cuantificó por

el método $2^{\Delta\Delta Ct}$ (Livak y Schmittgen, 2001) utilizando el gen de β -actina como de expresión constitutiva.

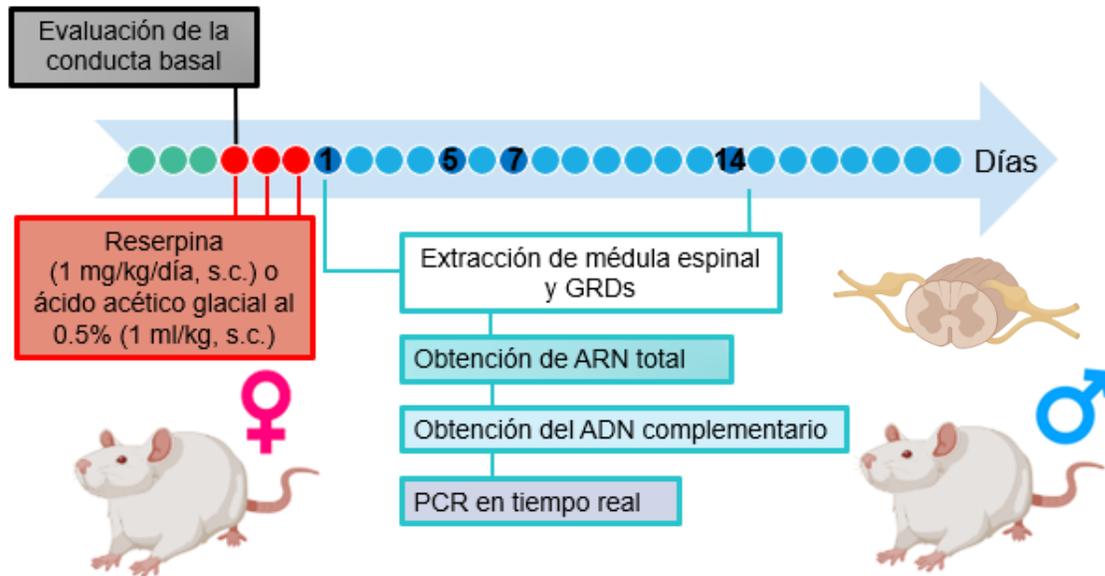


Figura 21. Diseño experimental de la determinación de la expresión de los receptores dopaminérgicos en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina.

Se utilizaron grupos independientes de ratas de ambos sexos para evaluar la expresión de cada uno de los días del curso temporal, y se determinó la expresión de los subtipos de receptores D_1 , D_2 , D_3 y D_5 en médula espinal y en ganglios de la raíz dorsal, $n=3-4$. ARN: ácido ribonucleico; ADN: ácido desoxirribonucleico; GRDs: ganglios de la raíz dorsal; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; s.c.: vía subcutánea.

8. RESULTADOS

8.1 Lesión de las neuronas dopaminérgicas espinales

8.1.1 El pretratamiento con 6-hidroxidopamina previene el desarrollo de la hipersensibilidad inducida por reserpina

La inyección subcutánea de reserpina (1 mg/kg por 3 días) redujo el umbral de retiro y el umbral de presión muscular en ambas patas, lo que se interpretó como alodinia táctil e hiperalgesia muscular, respectivamente. La administración intratecal de 6-hidroxidopamina (50 μ g) 7 días antes de la inducción del modelo de reserpina previno el desarrollo de alodinia táctil e hiperalgesia muscular (**Figura 22**), manteniendo los umbrales en valores más cercanos a los de los grupos control. Esto sugiere que las proyecciones espinales dopaminérgicas son necesarias para el inicio de la hipersensibilidad producida por la reserpina. En contraste, los grupos que sólo recibieron tratamientos con desipramina y salina estéril desarrollaron ambas conductas nociceptivas de manera habitual. Este dato sugiere que el bloqueo del transportador de noradrenalina y la administración del vehículo no afectan la inducción del modelo.

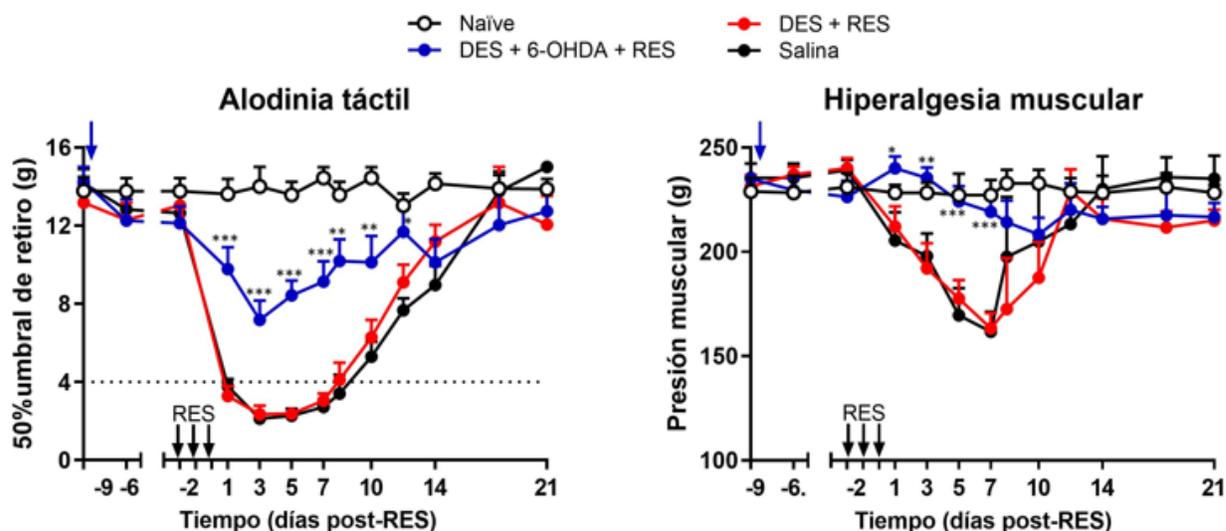


Figura 22. Efecto del pretratamiento con 6-hidroxidopamina en la hipersensibilidad inducida por reserpina.

Cursos temporales del desarrollo de la alodinia táctil (izquierda) y de la hiperalgesia muscular (derecha) inducidas por reserpina (RES). La flecha azul indica el tiempo del tratamiento con 6-hidroxidopamina (6-OHDA), desipramina (DES) o salina, mientras que las flechas negras indican los tiempos de administración de reserpina (1 mg/kg/día). Cada punto representa el promedio de 8 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus salina, por ANOVA de dos vías, seguido de la prueba de Bonferroni.

8.1.2 El postratamiento con 6-hidroxidopamina revierte las conductas nociceptivas inducidas por reserpina

La lesión de las proyecciones dopaminérgicas espinales con 6-hidroxidopamina (50 μ g), pero no la administración de desipramina o salina estéril, revirtió la hipersensibilidad inducida por reserpina una vez que ya estaban establecidas las conductas en el modelo (**Figura 23**). Esto sugiere que las proyecciones espinales dopaminérgicas también son necesarias para el mantenimiento de la alodinia táctil y la hiperalgesia muscular producidas por la reserpina. Cabe mencionar que la toxina no aumentó el número de caídas en la prueba del rotarod (**Figura 24**), demostrando que el esquema de administración con 6-hidroxidopamina no afecta la coordinación motora de los animales. Estos resultados sugieren que la dopamina liberada por las neuronas hipotalámicas de proyección espinal promueve la nocicepción en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina en ratas.

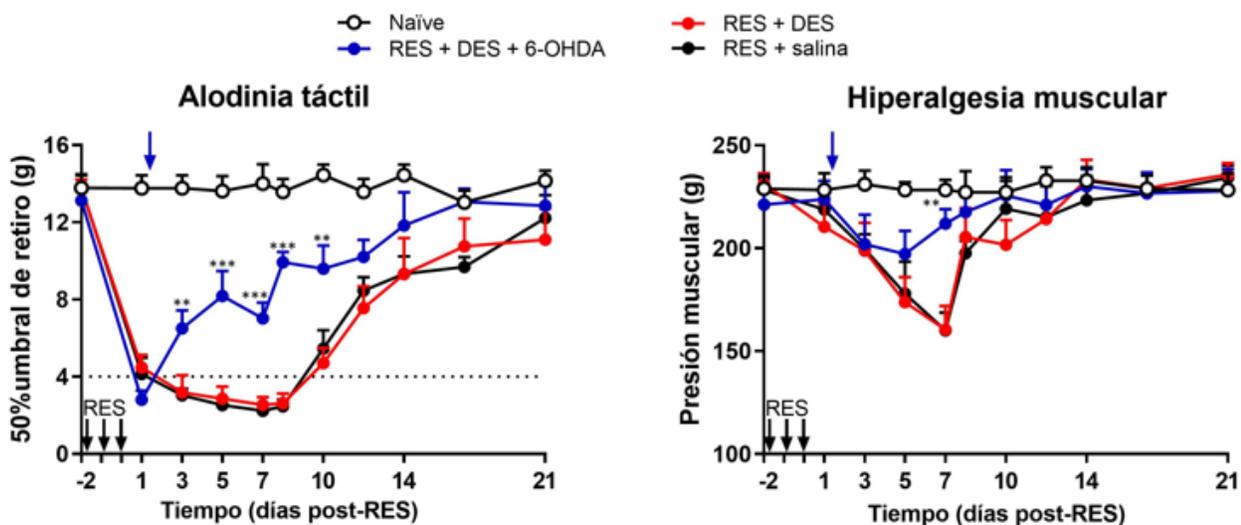


Figura 23. Efecto del post-tratamiento con 6-hidroxidopamina en la hipersensibilidad inducida por reserpina.

Cursos temporales del desarrollo de la alodinia táctil (izquierda) y de la hiperalgesia muscular (derecha) inducidas por reserpina (RES). La flecha azul indica el tiempo del tratamiento con 6-hidroxidopamina (6-OHDA), desipramina (DES) o salina, mientras que las flechas negras indican los tiempos de administración de reserpina (1 mg/kg/día). Cada punto representa el promedio de 8 ratas \pm EE. *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 versus salina, por ANOVA de dos vías, seguido de la prueba de Bonferroni.

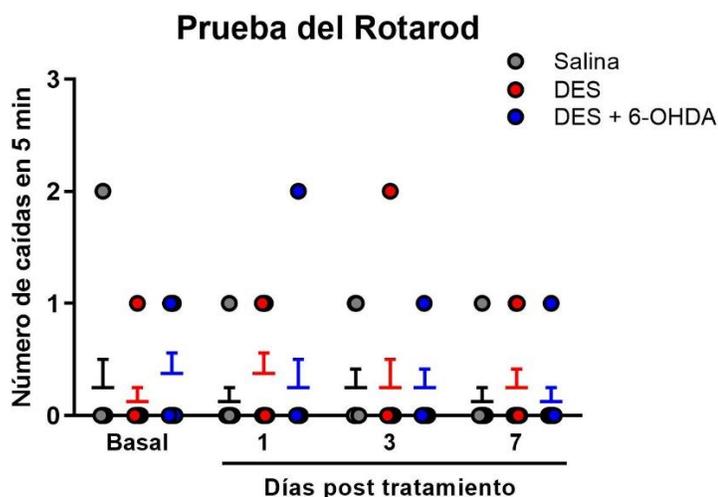


Figura 24. Efecto del tratamiento con 6-hidroxidopamina sobre la coordinación motora.

Registro del número de caídas durante cinco minutos en la prueba del Rotarod. Cada punto representa a las 8 ratas de cada uno de los tratamientos y el EE está representado con barras de colores. No se observaron diferencias significativas entre grupos, por ANOVA de dos vías, seguido de la prueba de Bonferroni. DES: desipramina; 6-OHDA: 6-hidroxidopamina.

8.2 Farmacología de los receptores dopaminérgicos *D₁-like*

8.2.1 La activación de los receptores *D₁-like* espinales promueve la nocicepción en animales intactos

Una vez que observamos que la eliminación de las proyecciones dopaminérgicas espinales previno y revirtió la hipersensibilidad inducida por reserpina, investigamos la participación de los receptores *D₁-like* en la nocicepción en condiciones no patológicas. La administración i.t. de dopamina redujo el umbral de retiro de la pata en ratas intactas de manera concentración dependiente (**Figura 25A y B**). Asimismo, la inyección i.t. de SKF-38393 (agonista *D₁-like*, 30 nmol) replicó el efecto de la dopamina, mientras que el tratamiento con SCH-23390 (antagonista *D₁-like*, 30 nmol) abolió el efecto pronociceptivo de la dopamina (**Figura 25C y D**). El SCH-23390 no produjo efecto *per se*. Estos resultados sugieren que la dopamina produce hipersensibilidad mecánica mediante la activación de los receptores dopaminérgicos *D₁-like* espinales.

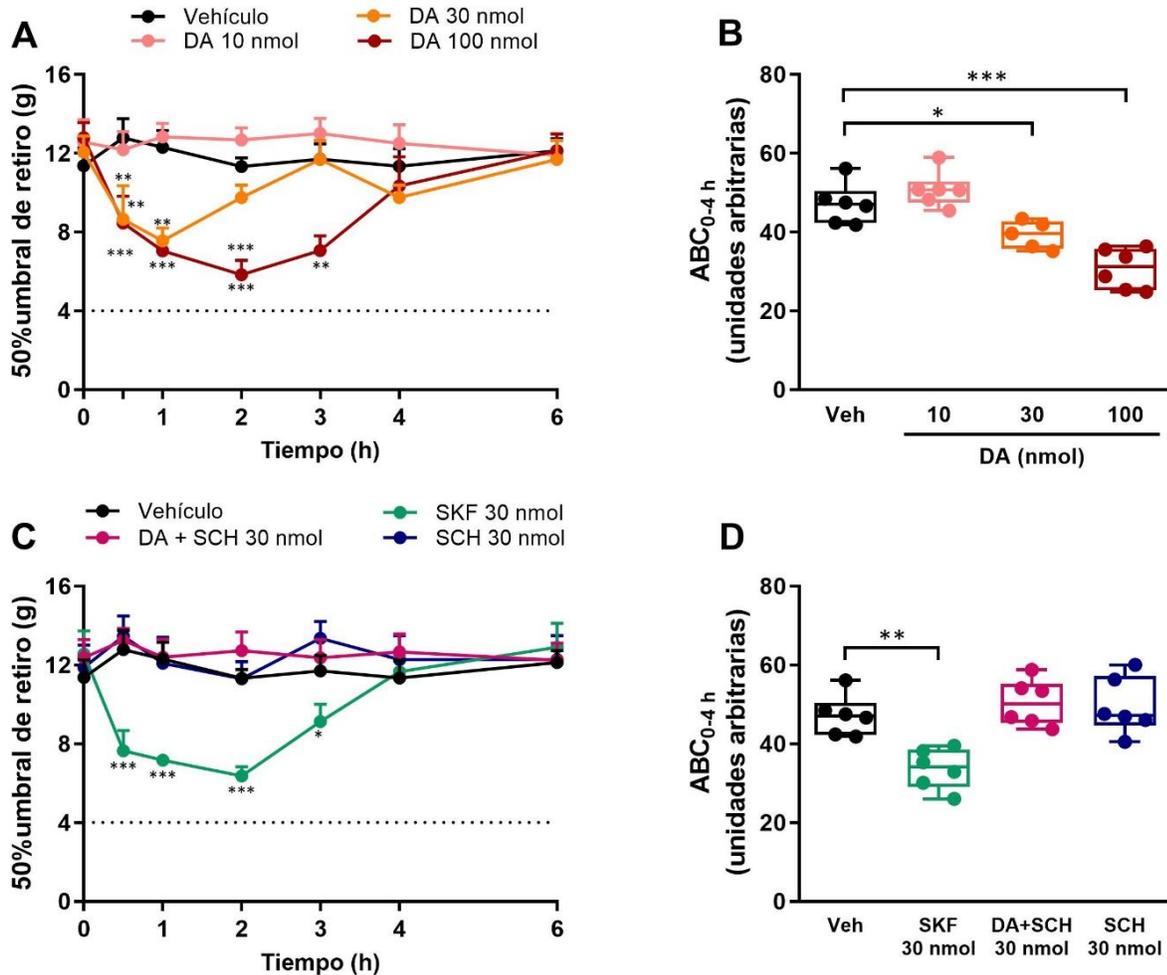


Figura 25. Efecto del tratamiento intratecal con dopamina, SCH-23390 y SKF-38393. A) y C) Cursos temporales del umbral de retiro en ratas intactas después de la administración de dopamina (DA), SCH-23390 (SCH), SKF-38393 (SKF) o sus combinaciones. Cada punto representa el promedio de 8 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus vehículo, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) del curso temporal. Representación de 5-6 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus vehículo, por ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Dunnett.

8.2.2 El bloqueo de los receptores D_1 -like revierte la alodinia inducida por reserpina

Una vez que se estableció el papel pronociceptivo de la dopamina en ratas *naïve* y en el modelo de fibromialgia, se determinó el efecto de los receptores D_1 -like (acoplados a una proteína G_s) en las conductas nociceptivas inducidas por reserpina. La administración intratecal de SCH-23390, pero no del vehículo, revirtió tanto la alodinia como el umbral de presión muscular (**Figura 26**). En el caso de la alodinia, el efecto máximo se alcanzó

1 hora después de su inyección, fue dependiente de la concentración y se mantuvo durante 6 horas, mientras que en la hiperalgesia muscular el efecto fue menos duradero.

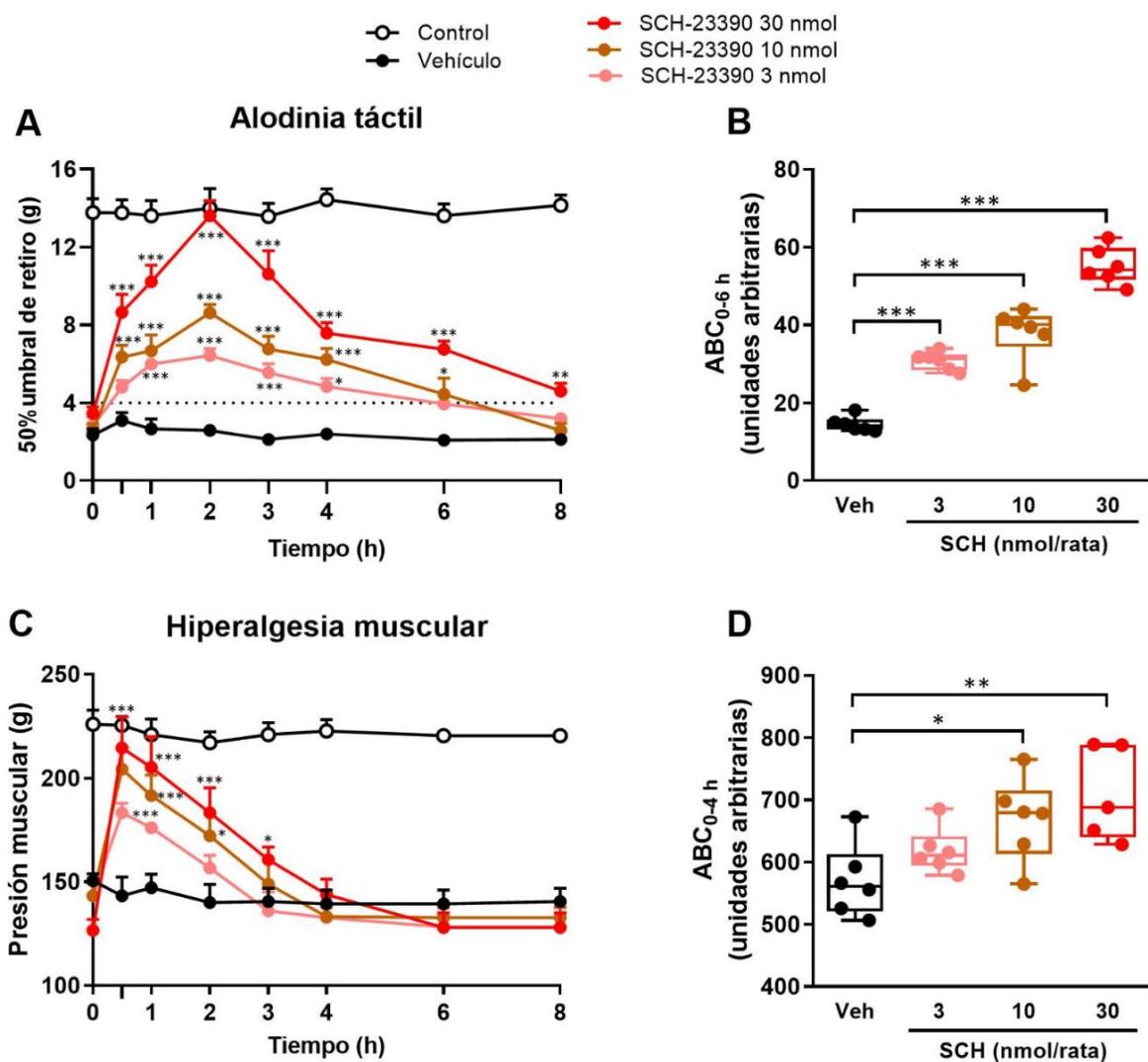


Figura 26. Efecto de la administración intratecal de SCH-23390 en las conductas nociceptivas inducidas por reserpina.

A) y C) Cursos temporales del efecto de SCH-23390 (SCH) en la alodinia táctil y en la hiperalgesia muscular, respectivamente. Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus vehículo, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus vehículo, por ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Dunnett.

En apoyo a esto, la administración espinal de SKF-38393 (agonista D_1 -like) en una dosis equimolar revirtió por completo el efecto antinociceptivo del SCH-23390, mientras que

una concentración 10 veces menor no tuvo efecto (**Figura 27**). Estos resultados sugieren que la activación de los receptores dopaminérgicos D₁-like tiene un papel pronociceptivo en el modelo de fibromialgia inducido por reserpina en ratas.

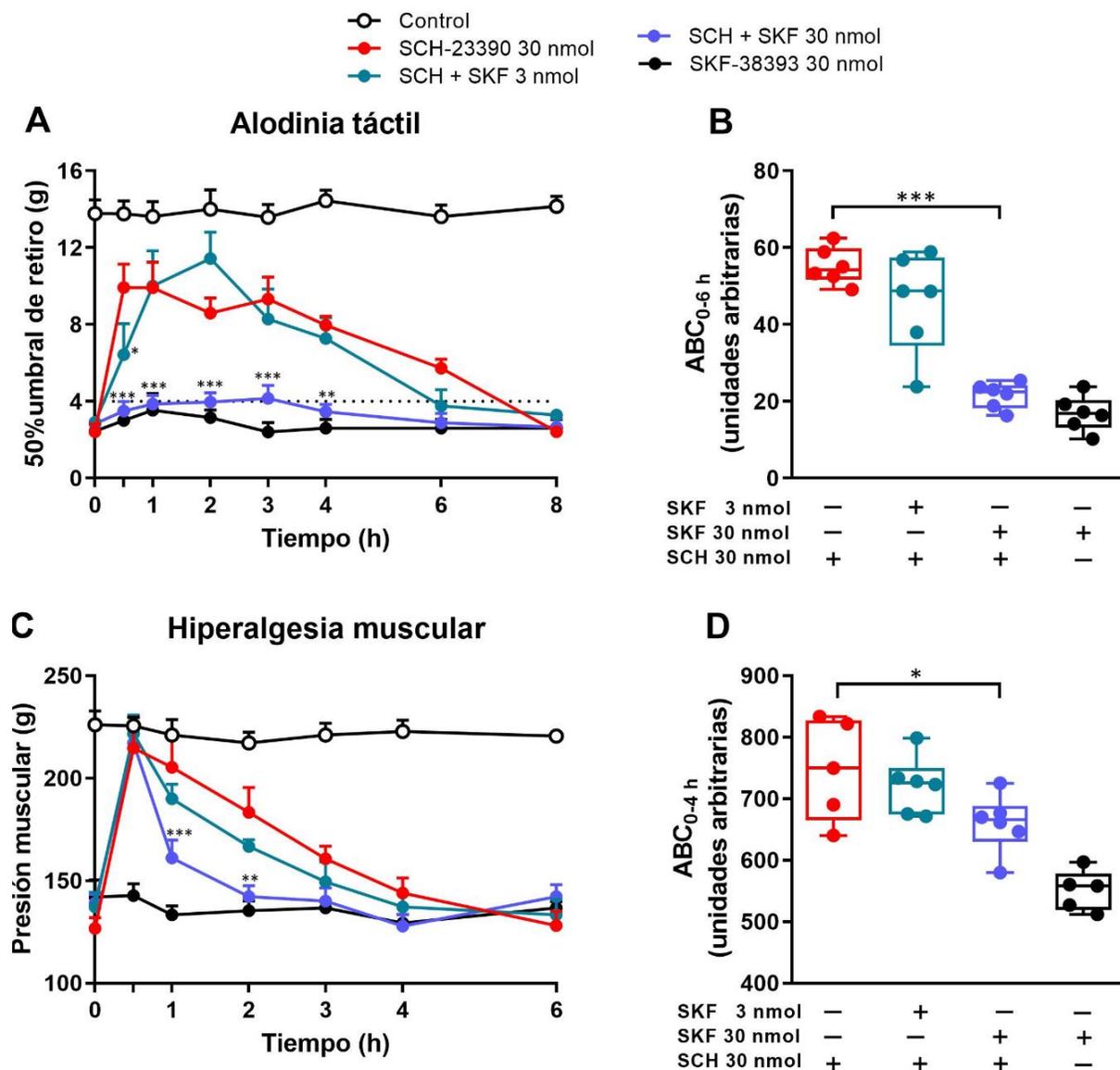


Figura 27. Efecto de la administración de SKF-38393 sobre el efecto del SCH-23390. A) y C) Cursos temporales de la alodinia táctil y la hiperalgnesia muscular, respectivamente, observados después de la administración de SKF-38393 (SKF) y SCH-23390 (SCH). Cada punto representa el promedio de 5-6 ratas ± EE. *p < 0.05, **p < 0.01; ***p < 0.001 *versus* SCH-23390 30 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación del promedio de 5-6 ratas ± EE. *p < 0.05, ***p < 0.001 *versus* SCH-23390 30 nmol, por ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett.

8.2.3 El tratamiento con siRNAs dirigidos a los receptores D₁ y D₅ revierten la alodinia táctil y la hiperalgesia muscular inducidas por reserpina

Debido a que no existen fármacos selectivos para los subtipos D₁ y D₅, no fue posible determinar la participación de cada uno de estos receptores mediante un enfoque farmacológico. Por lo tanto, realizamos un tratamiento con siRNAs dirigidos de manera específica a los genes del receptor D₁ y D₅. El tratamiento con el siRNA dirigido al receptor D₁ (1 µg/día durante tres días consecutivos), pero no con la secuencia inespecífica (*scrambled*), aumentó el umbral de retiro y el umbral de presión muscular de ratas reserpinizadas (**Figura 28**). Esto sugiere que los receptores D₁ participan en el mantenimiento de las conductas nociceptivas inducidas por el modelo de reserpina. El efecto del siRNA decayó 48 h después de la última administración.

Por su parte, el tratamiento con el siRNA dirigido a los receptores D₅ tuvo un efecto antialodínico ligeramente mayor en comparación con el siRNA de los receptores D₁ (**Figura 28A y B**). Esto sugiere que los receptores D₅ también participan en el mantenimiento de las conductas nociceptivas inducidas por el modelo de reserpina, principalmente en la alodinia táctil. El efecto de este siRNA decayó 72 h después de la última administración. Asimismo, se determinó que el esquema de tratamiento de los siRNAs no afectó la coordinación motora de los animales en la prueba del rotarod, que se evaluó 24 h después de cada inyección (**Figura 29A**). La **Figura 29B** muestra experimentos de qPCR donde se observa la reducción en la expresión de ambos receptores en la médula espinal lumbar por acción de los siRNAs, lo que confirma que el efecto antinociceptivo de las secuencias se debe a la inducción de un *knockdown* transitorio a nivel de la médula espinal.

En conjunto, los datos sugieren que la activación de los receptores dopaminérgicos D₁-*like* tienen un papel pronociceptivo en el modelo de fibromialgia inducido por reserpina, ya que el bloqueo o la disminución de la expresión de estos receptores atenúa las conductas nociceptivas que fueron evaluadas.

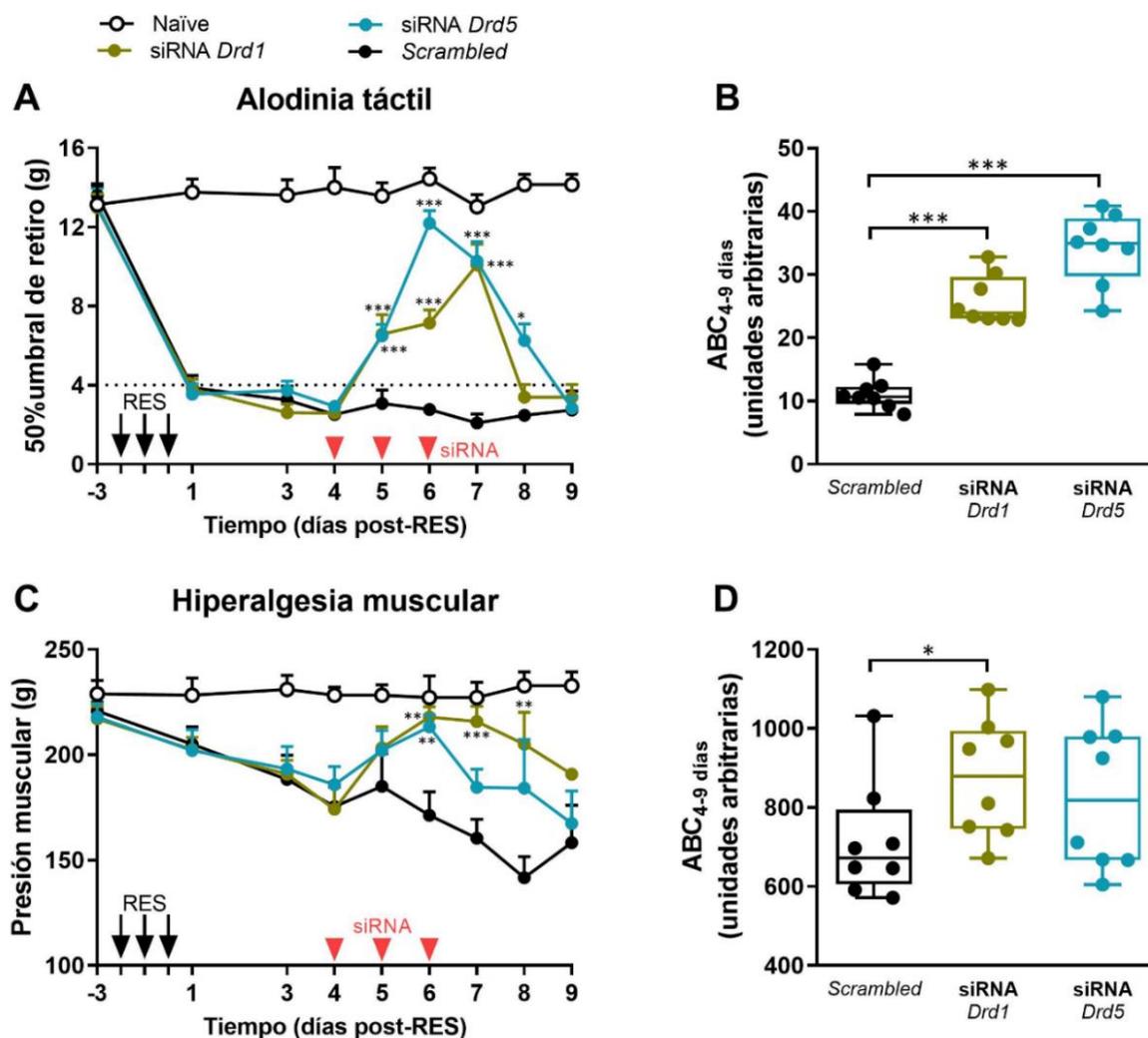


Figura 28. Efecto del *knockdown* inducido por el siRNA dirigido a los receptores D₁ y D₅.

A) y C) Cursos temporales de la alodinia táctil y la hiperalgesia muscular, respectivamente, observados luego de la administración espinal del siRNA contra los receptores D₁ y D₅. Cada punto representa el promedio de 8 ratas ± EE. *p < 0.05, **p < 0.01; ***p < 0.001 *versus scrambled*, por ANOVA de dos vías, seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación del promedio de 8 ratas ± EE. *p < 0.05, ***p < 0.001 *versus scrambled*, por ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Dunnett.

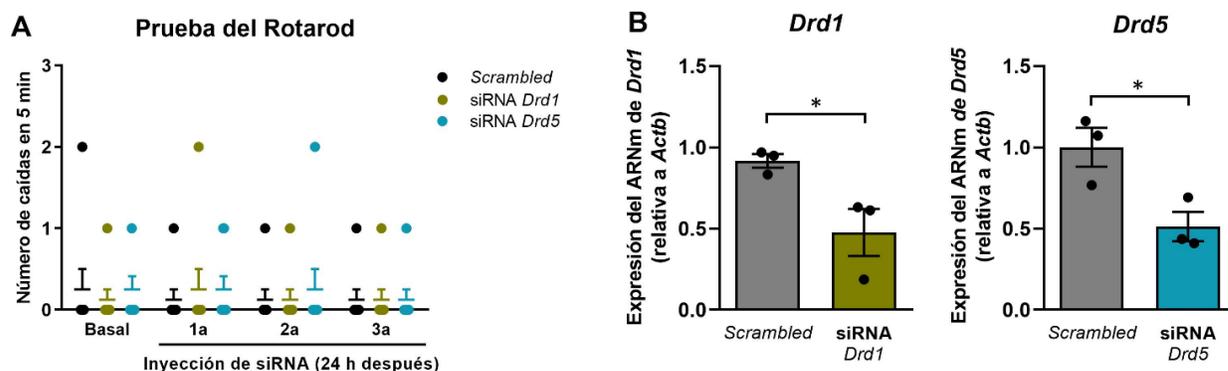


Figura 29. Efecto del tratamiento con los siRNAs sobre la coordinación motora y la expresión del ARNm de los receptores D₁ y D₅.

A) Registro del número de caídas durante cinco minutos en la prueba del rotarod. Cada punto representa a las 8 ratas de cada uno de los tratamientos y el EE está representado con barras de colores. No se observaron diferencias significativas entre grupos, por ANOVA de dos vías, seguido de la prueba de Bonferroni. B) Expresión del ARNm de los genes de los receptores a dopamina D₁ (*Drd1*) y D₅ (*Drd5*) en la médula espinal. Cada barra representa el promedio de 3 ratas \pm EE. * $p < 0.05$ versus scrambled, por prueba de *t* de Student.

8.3 Farmacología de los receptores dopaminérgicos D₂-like

8.3.1 Los agonistas de los receptores D₂-like revierten parcialmente la alodinia táctil y la hiperalgesia muscular inducidas por reserpina

La administración intratecal de quinpirol (agonista D₂-like), pero no del vehículo, revirtió parcialmente la alodinia y la hiperalgesia muscular inducidas por reserpina (**Figura 30**). En el caso de la concentración más alta (10 nmol), el efecto máximo se observó a los 30 min. El efecto del quinpirol fue dependiente de la concentración y tuvo una duración menor a 4 horas.

Por su parte, la inyección intratecal de pramipexol (otro agonista D₂-like), pero no del vehículo, redujo significativamente la alodinia y la hiperalgesia muscular inducidas por reserpina (**Figura 31**). El efecto antialodínico máximo se alcanzó a las 2 horas y se mantuvo durante 4 horas (15 nmol, concentración más alta), mismo que fue dependiente de la concentración. Por su parte, el efecto sobre la hiperalgesia muscular fue más modesto y tuvo una duración menor. Estos resultados sugieren que los receptores D₂-like desempeñan un papel antinociceptivo en el modelo de fibromialgia inducido por reserpina.

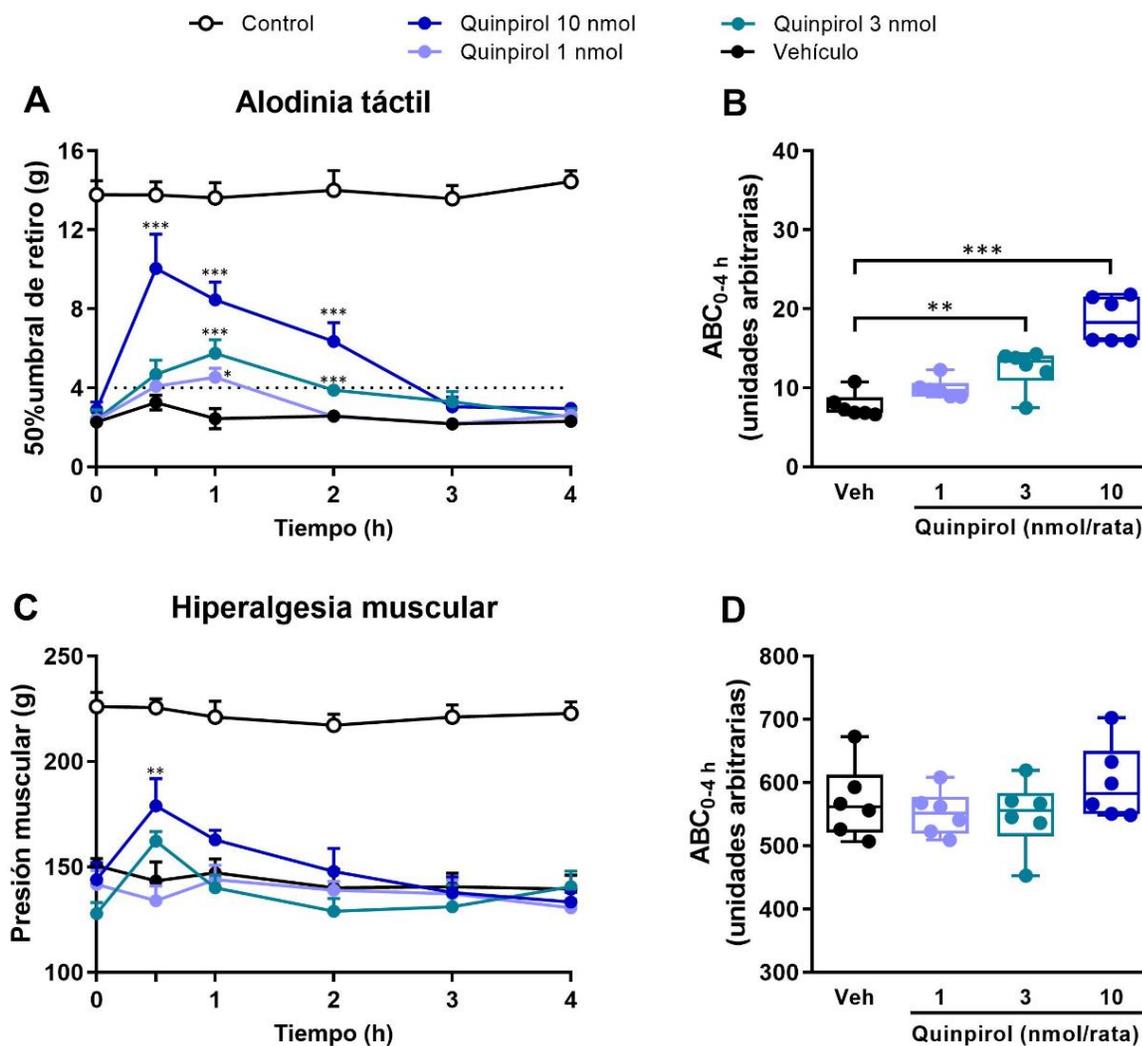


Figura 30. Efecto de la administración intratecal de quinpirol en la hipersensibilidad inducida por reserpina.

A) y C) Cursos temporales del efecto observado sobre la alodinia táctil y la hiperalgnesia muscular después de la administración de quinpirol. Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ *versus* vehículo, por ANOVA de dos vías, seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación de 6 ratas \pm EE. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ *versus* vehículo, por ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Dunnett.

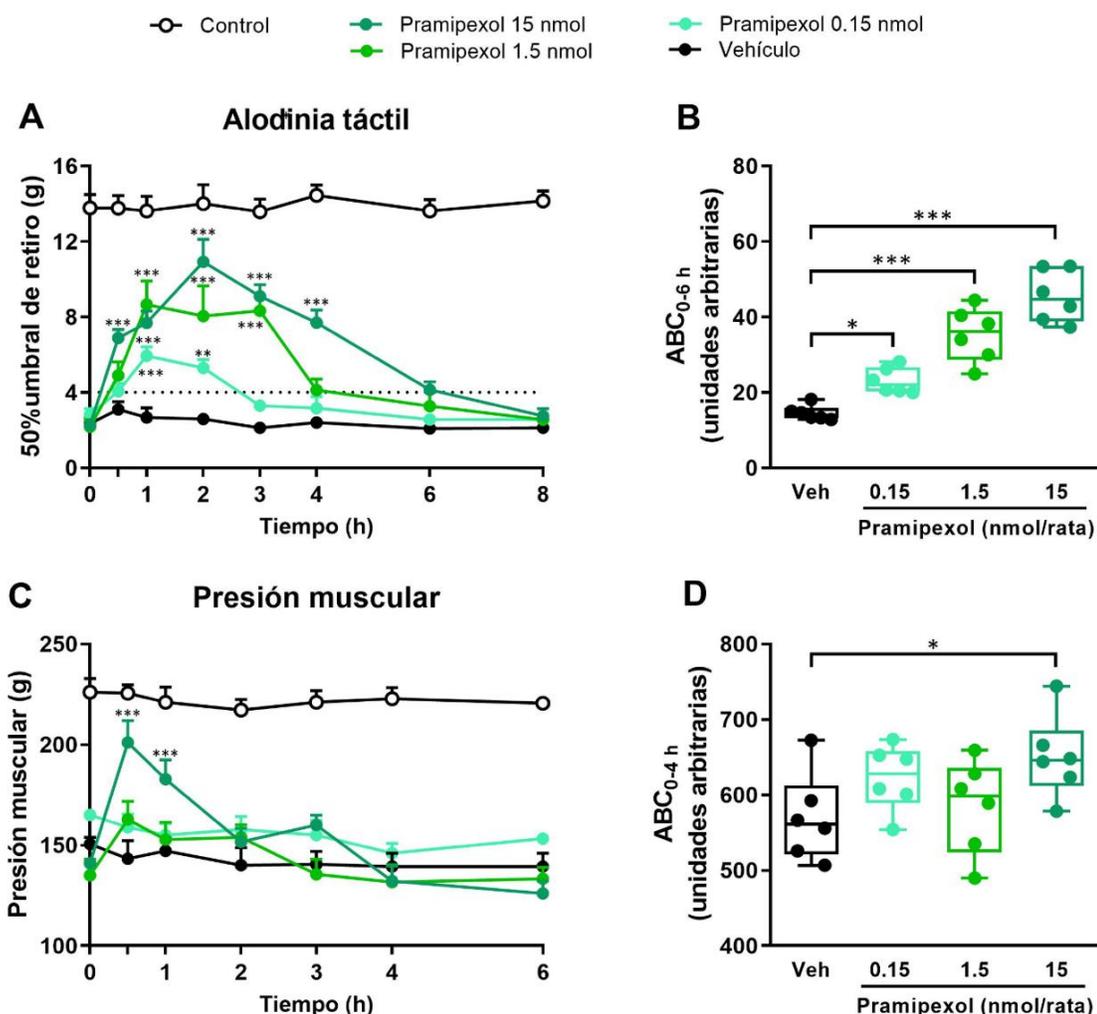


Figura 31. Efecto de la administración intratecal de pramipexol en la hipersensibilidad inducida por reserpina.

A) y C) Cursos temporales del umbral de retiro y del umbral de presión muscular, respectivamente, después del tratamiento con pramipexol. Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus vehículo, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus vehículo, por ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett.

8.3.2 Los receptores D₂, D₃ y D₄ participan en diferente medida en la hipersensibilidad inducida por reserpina

Dado que el quinpirol y el pramipexol ejercen sus efectos sobre los receptores D₂-like de forma no selectiva, realizamos co-tratamientos con antagonistas que tienen una gran afinidad para cada subtipo de receptor con el fin de determinar su participación individual. En la **Figura 32** se muestra el efecto de distintos antagonistas sobre el efecto

antialodínico del quinpirol: L-741,626 (antagonista D₂), PG01037 (antagonista D₃) y L-745,870 (antagonista D₄). En una primera serie de experimentos, cada antagonista y el quinpirol se administraron de manera conjunta en concentraciones equimolares. Como se puede observar, el bloqueo de los receptores D₂ con L-741,626 revirtió completamente el efecto antialodínico producido por el quinpirol (**Figura 32A y B**), mientras que el bloqueo de los receptores D₃ (**Figura 32C y D**) y de los receptores D₄ (**Figura 32E y F**) redujo moderadamente el efecto del quinpirol. Posteriormente, se co-administró el quinpirol con una concentración menor de cada antagonista, lo que permitió observar un efecto dependiente de ésta en todos los casos. Ninguno de los antagonistas tuvo un efecto *per se*. Estos resultados sugieren que los receptores espinales D₂ son los responsables principales del efecto antialodínico ejercido por el quinpirol en ratas reserpinizadas, mientras que los receptores D₃ y D₄ contribuyen parcialmente.

La **Figura 33** muestra el efecto de los mismos co-tratamientos de quinpirol con cada uno de los antagonistas selectivos en la hiperalgesia muscular. Como se puede observar, la respuesta farmacológica en esta conducta es muy similar a lo observado en la alodinia táctil, siendo predominante la participación del subtipo D₂ en el mantenimiento de las conductas nociceptivas inducidas por reserpina.

De la misma forma, la **Figura 34** muestra el efecto de los distintos antagonistas sobre el efecto antialodínico del pramipexol. En este caso, tanto el bloqueo de los receptores D₂ (**Figura 34A y B**) como el bloqueo de los D₄ (**Figura 34E y F**) abolieron casi por completo el efecto analgésico del pramipexol y se observó un efecto dependiente de la concentración. En cambio, el bloqueo de los receptores D₃ con la concentración de 1.5 nmol de PG01037 disminuyó el efecto del pramipexol de forma modesta (**Figura 34C y D**). Ninguno de los antagonistas tuvo un efecto *per se*. Estos resultados sugieren que los receptores D₂ y D₄ son responsables del efecto antialodínico del pramipexol en ratas reserpinizadas. Por último, la **Figura 35** muestra el efecto de los mismos co-tratamientos sobre la hiperalgesia muscular, que son consistentes con lo mostrado en la alodinia táctil y sugieren una mayor participación del subtipo D₂ en el mantenimiento de las conductas nociceptivas.

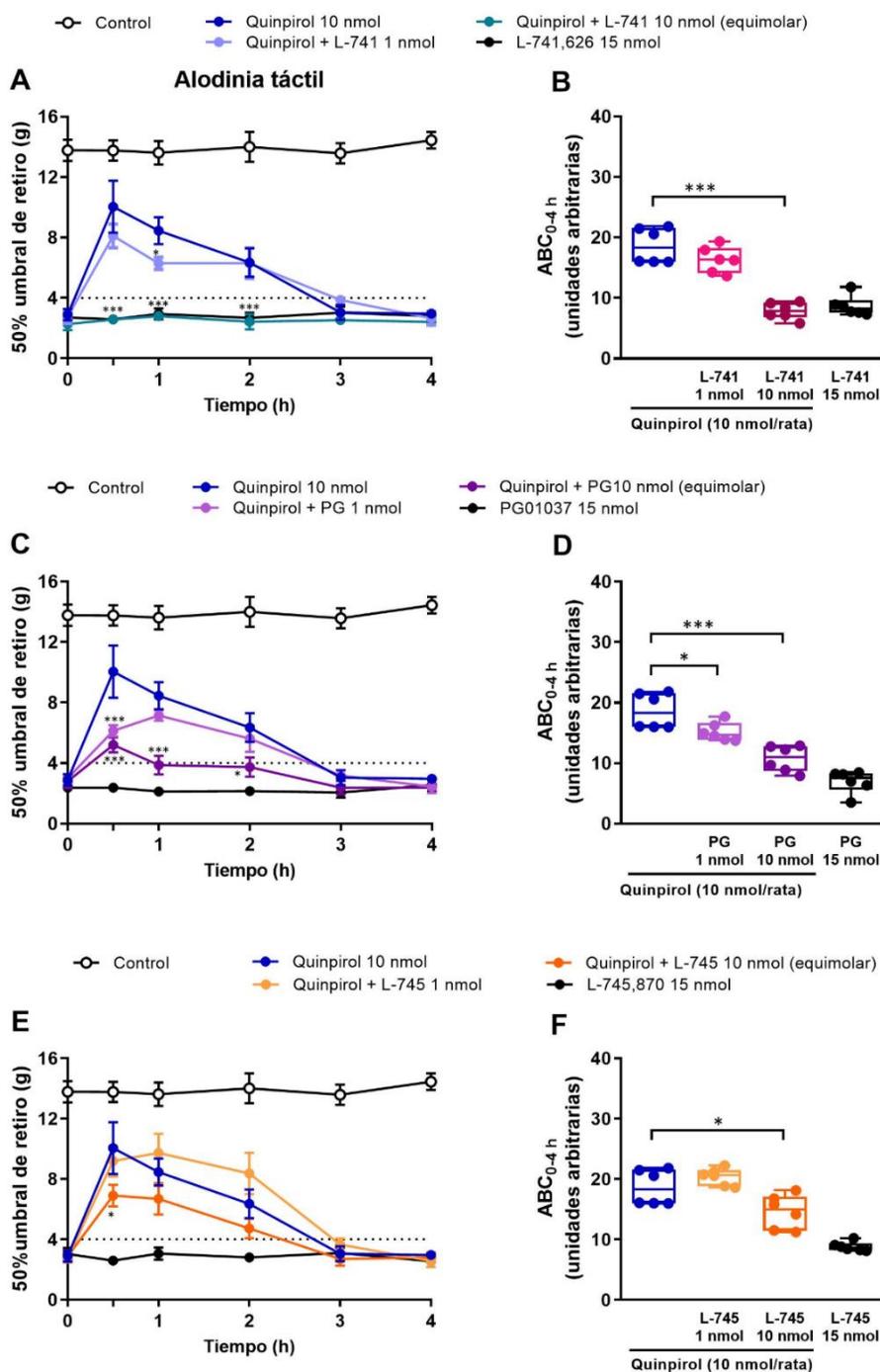


Figura 32. Efecto de la administración de antagonistas selectivos de los receptores D₂, D₃ y D₄ sobre el efecto antialodínico del quinpirol.

A), C), E) Cursos temporales de los co-tratamientos de quinpirol con L-741,626 (L-741), PG01037 (PG) y L-745,870 (L-745). Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ versus quinpirol 10 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B), D), F) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación del promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ versus quinpirol 10 nmol, por ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett.

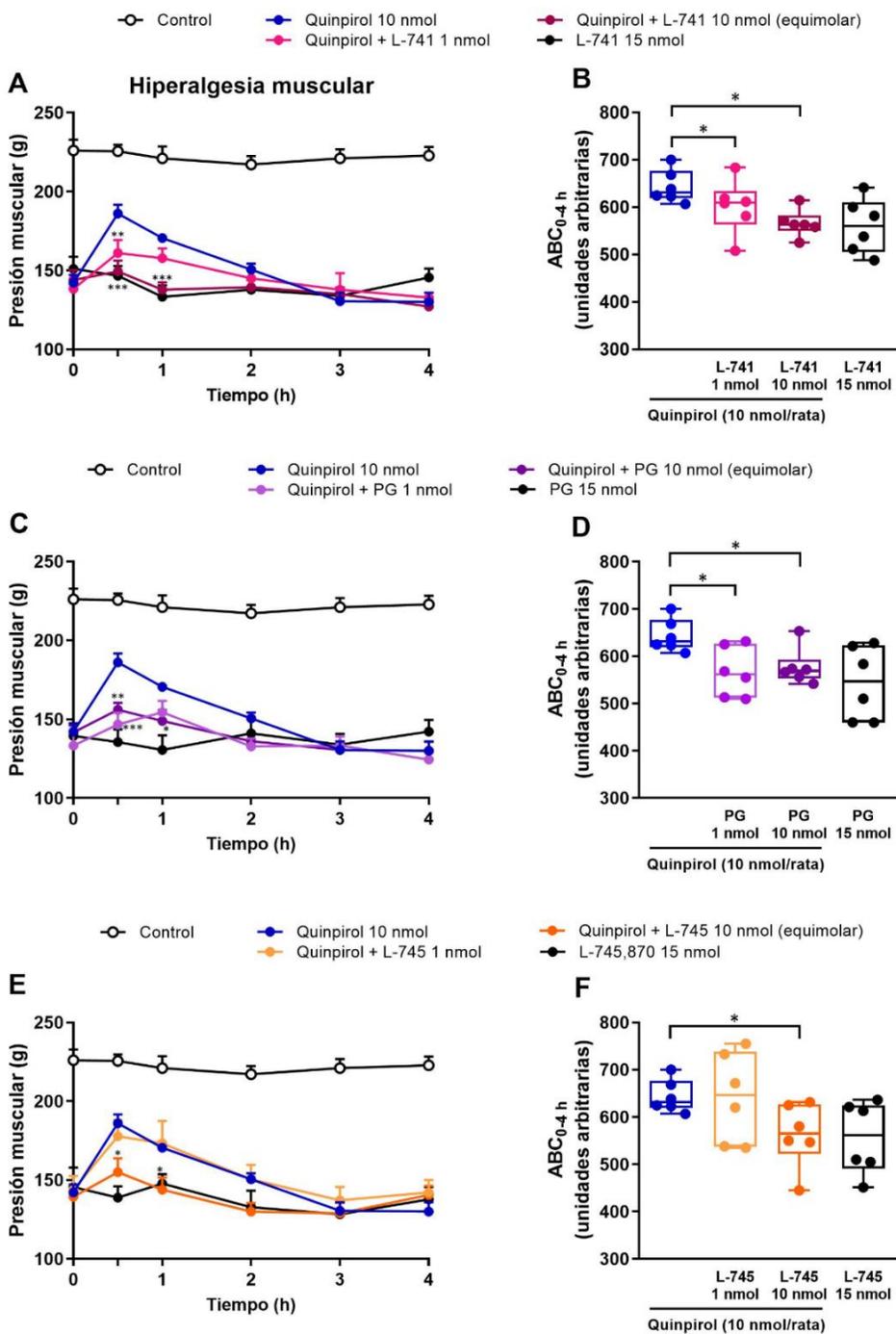


Figura 33. Efecto de la administración de los antagonistas selectivos de los receptores D₂, D₃ y D₄ sobre el efecto antihiperalgésico del quinpirol.

A), C), E) Cursos temporales del umbral de presión muscular después de la administración de quinpirol con L-741,626, PG01037 y L-745.870. Cada punto representa el promedio de 6 ratas ± EE. *p < 0.05, ***p < 0.001 versus quinpirol 10 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B), D), F) Área bajo la curva de los cursos temporales. Representación del promedio de 6 ratas ± EE. *p < 0.05, ***p < 0.001 versus quinpirol 10 nmol, por ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett.

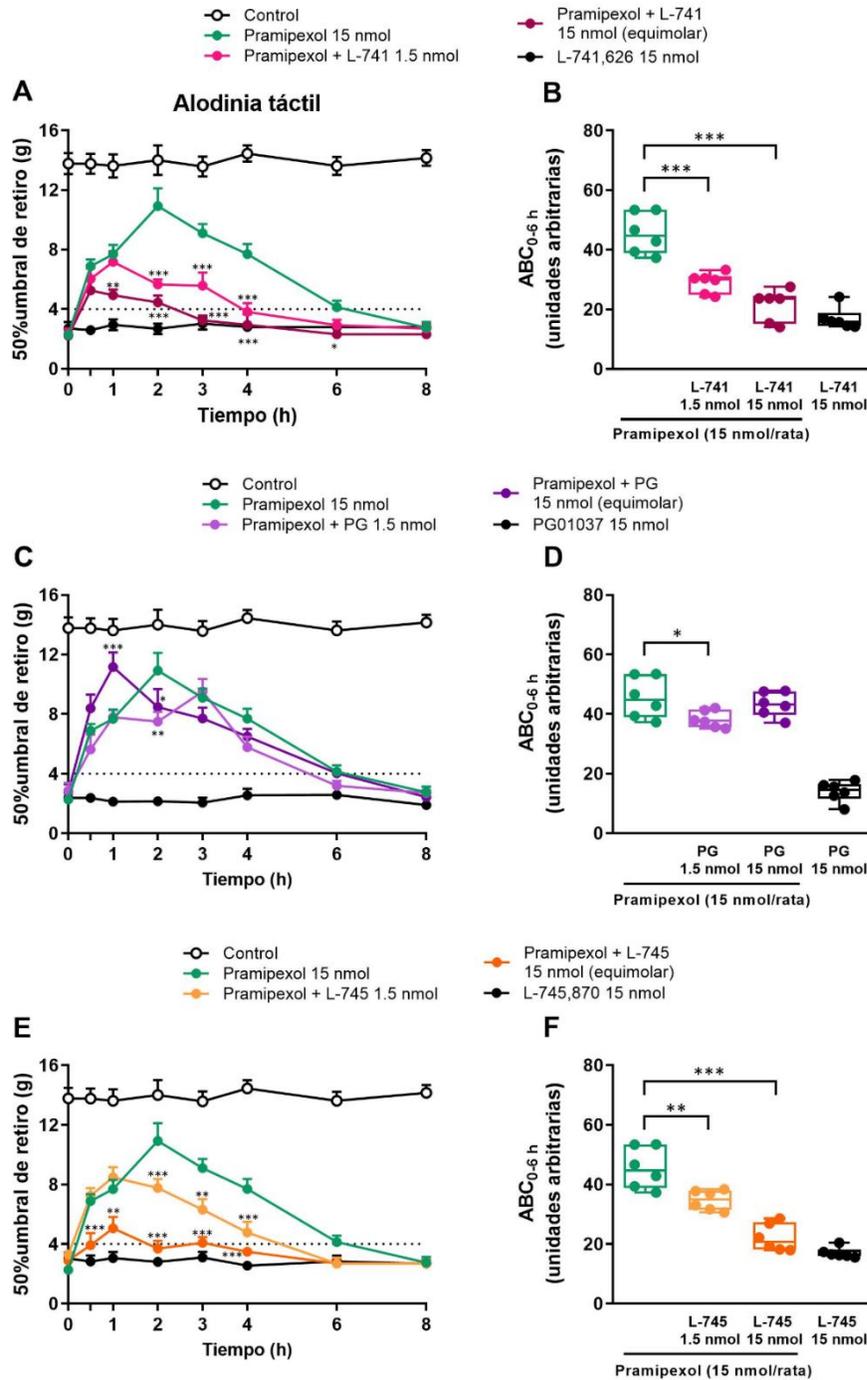


Figura 34. Efecto de la administración de antagonistas selectivos de los receptores D₂, D₃ y D₄ sobre el efecto antialodínico del pramipexol.

A), C), E) Cursos temporales del umbral de retiro después de la co-administración de pramipexol con L-741,626, PG01037 y L-745.870. Cada punto representa el promedio de 6 ratas ± EE. **p* < 0.01, ****p* < 0.001 *versus* pramipexol 15 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B), D), F) Área bajo la curva de los cursos temporales. Representación del promedio de 6 ratas ± EE. **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001 *versus* pramipexol 15 nmol, por ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett.

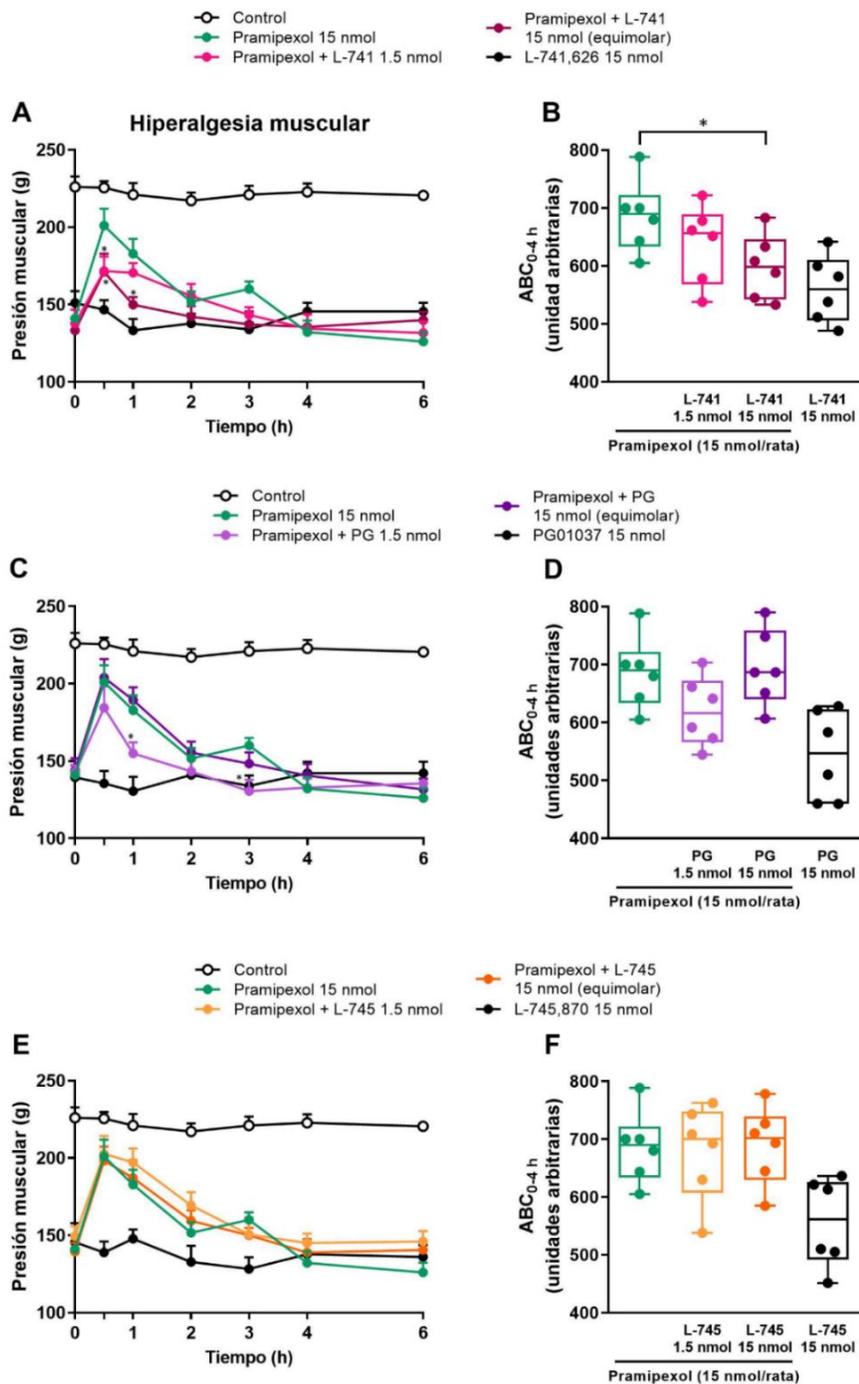


Figura 35. Efecto de la administración de antagonistas selectivos de los receptores D₂, D₃ y D₄ sobre el efecto antihiperalgésico del pramipexol.

A), C), E) Cursos temporales del umbral de presión muscular después de la coadministración de pramipexol con L-741,626 (L-741), PG01037 (PG) y L-745.870 (L-745). Cada punto representa el promedio de 6 ratas ± EE. *p < 0.01 versus pramipexol 15 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B), D), F) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación del promedio de 6 ratas ± EE. *p < 0.05 versus pramipexol 15 nmol, por ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett.

8.4 El efecto antinociceptivo de los fármacos dopaminérgicos es dependiente del sexo en ratas reserpinizadas

Está demostrado que la hipersensibilidad inducida por reserpina se desarrolla de la misma forma en ratas macho y hembra (Nagakura et al., 2009; De la Luz-Cuellar et al., 2019). No obstante, la fibromialgia es más prevalente en mujeres que en hombres, y los mecanismos que subyacen estas diferencias y su impacto en el tratamiento de la enfermedad no han sido esclarecidos. Para determinar si los fármacos dopaminérgicos tenían un efecto dependiente del sexo en ratas con dolor tipo fibromialgia, se administraron las concentraciones más altas del antagonista *D₁-like* (SCH-23390) y de los agonistas *D₂-like* (quinpirol y pramipexol) en machos reserpinizados y se evaluó su efecto en el umbral de retiro. Como se muestra en la **Figura 36**, todos los fármacos tuvieron un efecto antialodínico menor en los machos en comparación con el efecto en las hembras. Para el caso del antagonista *D₁-like* (**Figura 36A y B**) se observó un efecto tardío pero significativo en los machos reserpinizados, mientras que los efectos del pramipexol (**Figura 36C y D**) y del quinpirol (**Figura 36E y F**) fueron más reducidos. Estos resultados sugieren que tanto los receptores *D₁-like* como los *D₂-like* participan de manera dependiente del sexo en la modulación de la hipersensibilidad inducida por reserpina en ratas Wistar.

Para investigar si este efecto dependiente del sexo era exclusivo del modelo de dolor tipo fibromialgia, otros grupos de animales con dolor neuropático inducido por la ligadura de los nervios espinales L5-L6 también recibieron SCH-23390 (30 nmol, i.t.) y pramipexol (15 nmol, i.t.). La **Figura 37** muestra que ambos fármacos inducen un mayor efecto antialodínico en las hembras en comparación con los machos. Esto sugiere que los receptores dopaminérgicos espinales modulan la nocicepción de manera dependiente del sexo tanto en el dolor nociplástico como en el neuropático.

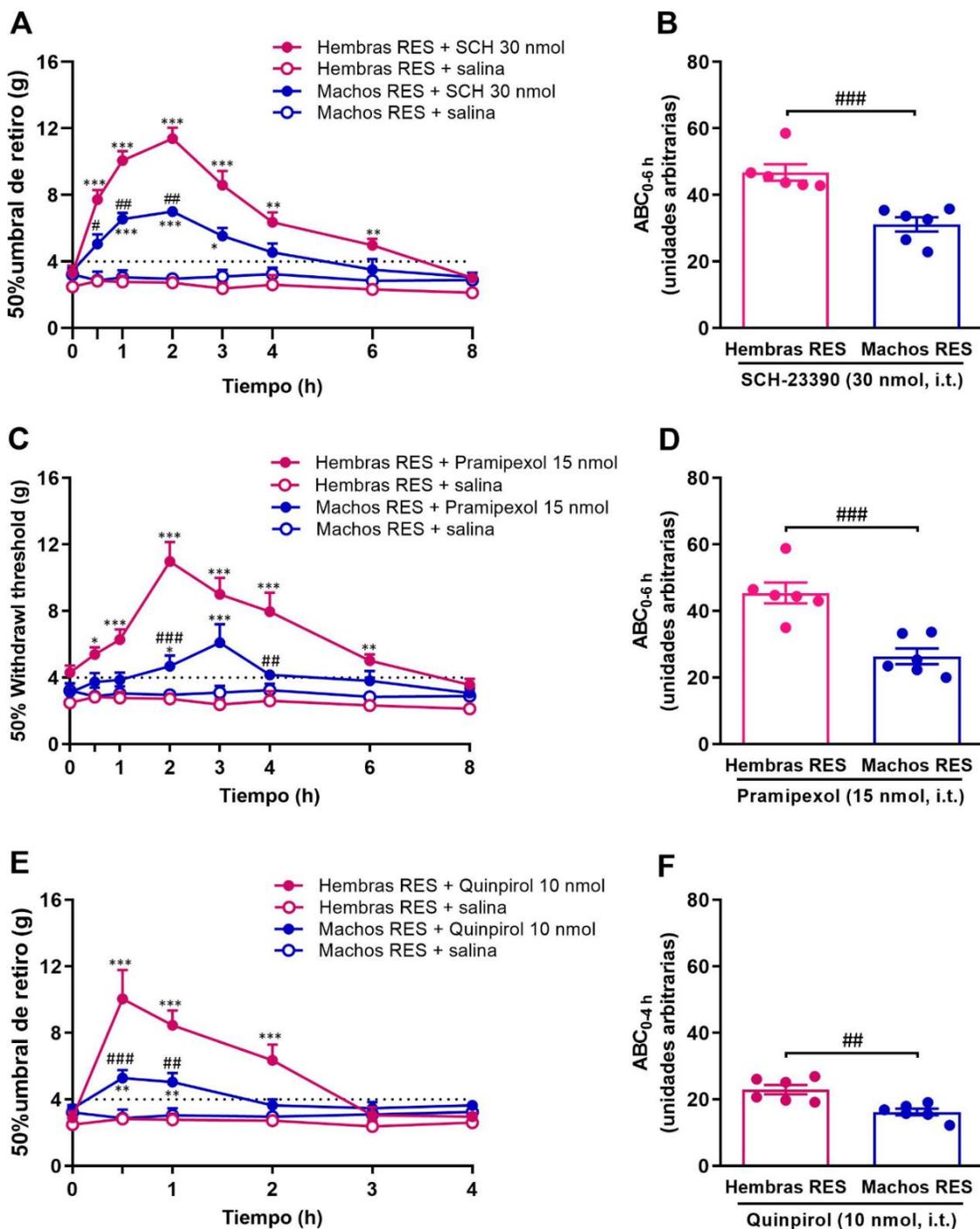


Figura 36. Efecto de la administración de SCH-23390, pramipexol y quinpirol sobre la alodinia táctil inducida por reserpina en ratas hembra y macho.

A), C), E) Cursos temporales. Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.01$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. vehículo para cada sexo; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ versus hembras RES, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B), D), F) Área bajo la curva de los cursos temporales. Representación del promedio de 6 ratas \pm EE. ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$, por la prueba de t de Student. RES: reserpina.

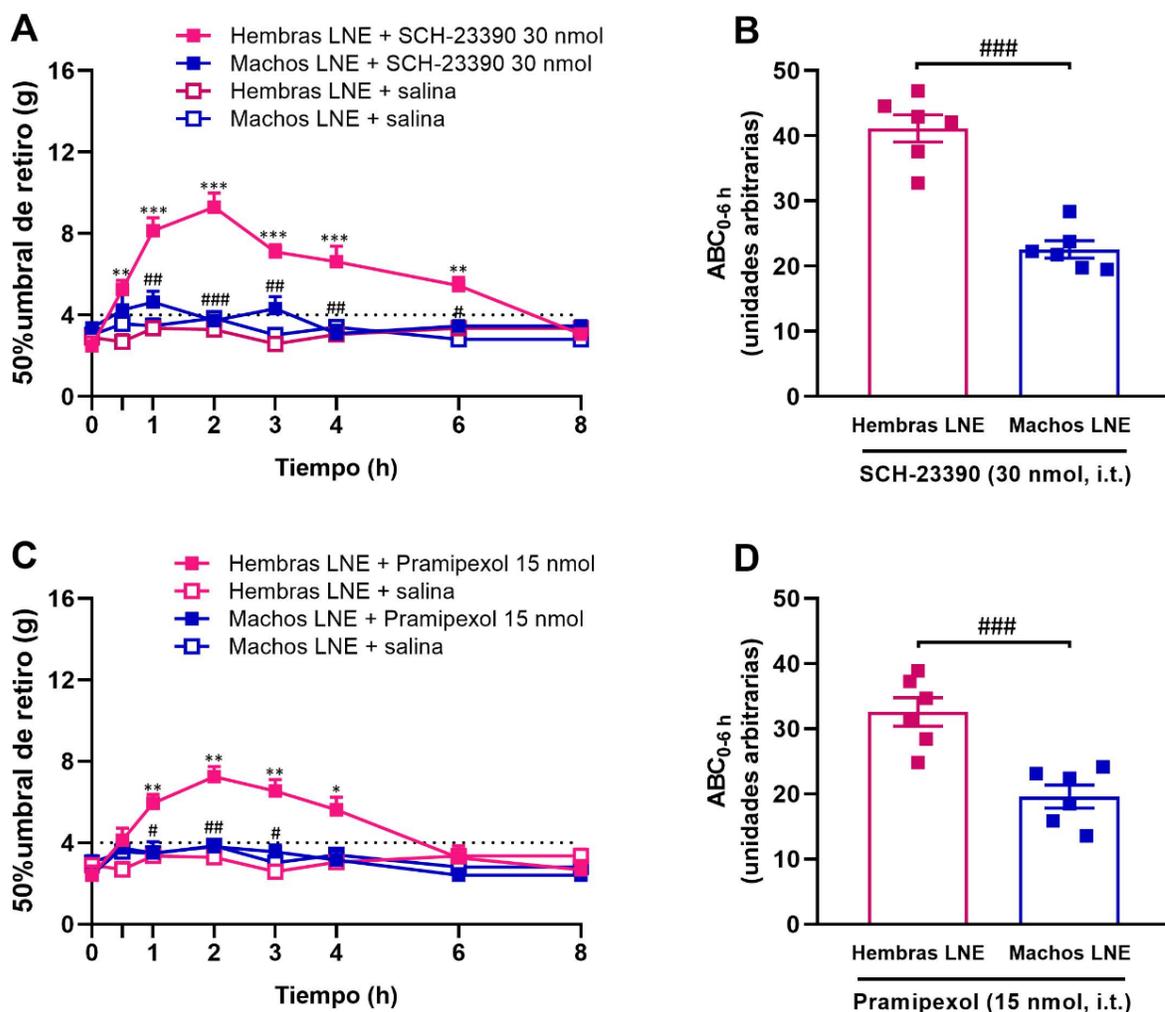


Figura 37. Efecto de la administración de SCH-23390 y pramipexol en el dolor neuropático.

A) y C) Cursos temporales del umbral de retiro después de la inyección de SCH-23390 y pramipexol, respectivamente, en ratas con dolor neuropático. Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.01$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. vehículo para cada sexo; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ versus Hembras LNE, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación del promedio de 6 ratas \pm EE. ### $p < 0.001$, por la prueba de *t* de Student. LNE: ligadura de nervios espinales.

8.4.1 El 17β -estradiol y la activación de los receptores a estrógenos α modulan la actividad antinociceptiva de los receptores D_1 -like

Con base en las diferencias entre sexos observadas en el efecto antialodínico de los fármacos anteriores, se utilizaron ratas ovariectomizadas para depletar el contenido de estrógenos y así evaluar la participación del estradiol como hormona reguladora de la

actividad de los receptores dopaminérgicos en la nocicepción. Como se observa en la **Figura 38A y B**, el efecto antialodínico de SCH-23390 (antagonista *D₁-like*) se abate por completo en ratas ovariectomizadas tratadas con reserpina, mientras que este efecto se recuperó en las ratas ovariectomizadas que fueron reconstituidas con 17 β -estradiol (10 μ g/kg, s.c.) 24 horas antes del tratamiento con el antagonista. Esto sugiere que el 17 β -estradiol modula la actividad antinociceptiva de los receptores *D₁-like* en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina.

Para confirmar que el efecto antialodínico del antagonista *D₁-like* depende de la señalización del 17 β -estradiol, se administró el SCH-23390 (30 nmol, i.t.) en ratas ovariectomizadas tratadas con reserpina que fueron reconstituidas con 17 β -estradiol y que fueron inyectadas con el inhibidor no selectivo de los receptores a estrógenos α y β (ER $_{\alpha/\beta}$) ICI-182,780 (50 μ g/día/3 días, i.t.) o con el inhibidor selectivo de los receptores a estrógenos α (ER $_{\alpha}$) metil-piperidino-pirazol (0.5 μ g/día/3 días, i.t.). En estas condiciones, el tratamiento con los inhibidores abolió por completo el efecto antialodínico del SCH-23390 que había sido restaurado por el 17 β -estradiol en las ratas ovariectomizadas-reserpinizadas (**Figura 38C y D**). Además, para corroborar la participación de los receptores ER $_{\alpha/\beta}$ espinales en este fenómeno, se administró propilpirazoletriol (2.4 μ g, i.t.; agonista selectivo de ER $_{\alpha}$) o diarilpropionitrilo (4 μ g, i.t.; agonista selectivo de ER $_{\beta}$) 4 h antes del tratamiento con SCH-23390.

En la **Figura 39** se observa que la inyección de propilpirazoletriol, pero no del diarilpropionitrilo o del vehículo, imitó el efecto del 17 β -estradiol y restauró el efecto antialodínico del SCH-23390 en las ratas ovariectomizadas-reserpinizadas. Estos datos sugieren que el 17 β -estradiol modula el efecto antinociceptivo que resulta del bloqueo de los receptores *D₁-like* a través de la activación de los receptores a estrógenos α .

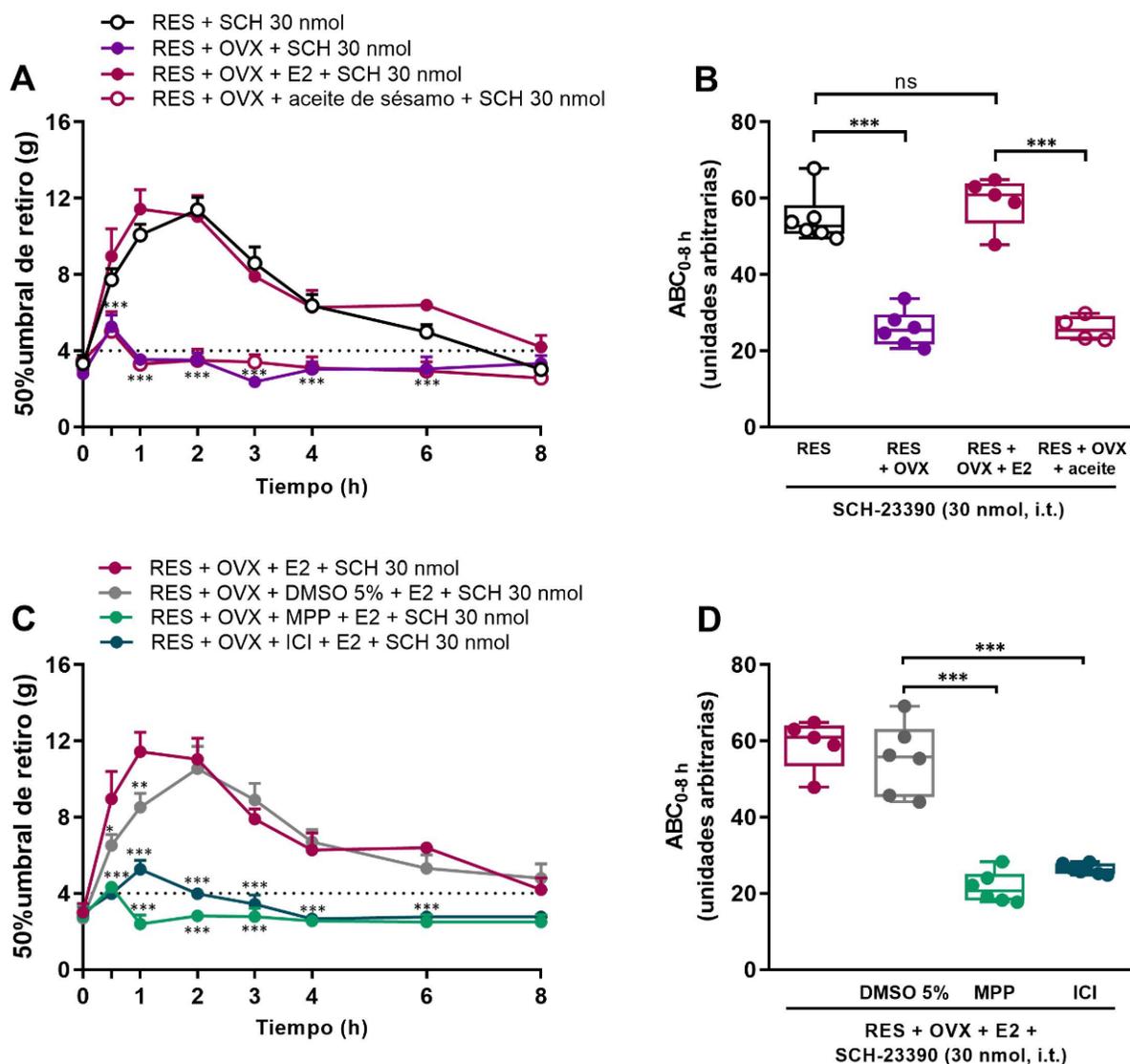


Figura 38. El efecto antialodínico de SCH-23390 requiere de la participación del 17β -estradiol y del receptor α a estrógenos.

A) Curso temporal del umbral de retiro después de la reconstitución con 17β -estradiol (E2) y la inyección de SCH-23390 (SCH). Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. *** $p < 0.001$ versus RES + SCH 30 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. C) Curso temporal del tratamiento con metil-piperidino-pirazol (MPP) o ICI-182,780 (ICI), inhibidores selectivos del receptor α a estrógenos (ER_{α}) y β (ER_{β}), respectivamente, antes de la reconstitución con 17β -estradiol y la inyección de SCH-23390. Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.01$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus RES + OVX + E2 + SCH 30 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación del promedio de 6 ratas \pm EE. *** $p < 0.001$, ns = no significativo, por la prueba de t de Student. RES: reserpina; OVX: ovariectomía; MPP: metil-piperidino-pirazol; DMSO: dimetil sulfóxido; i.t.: intratecal.

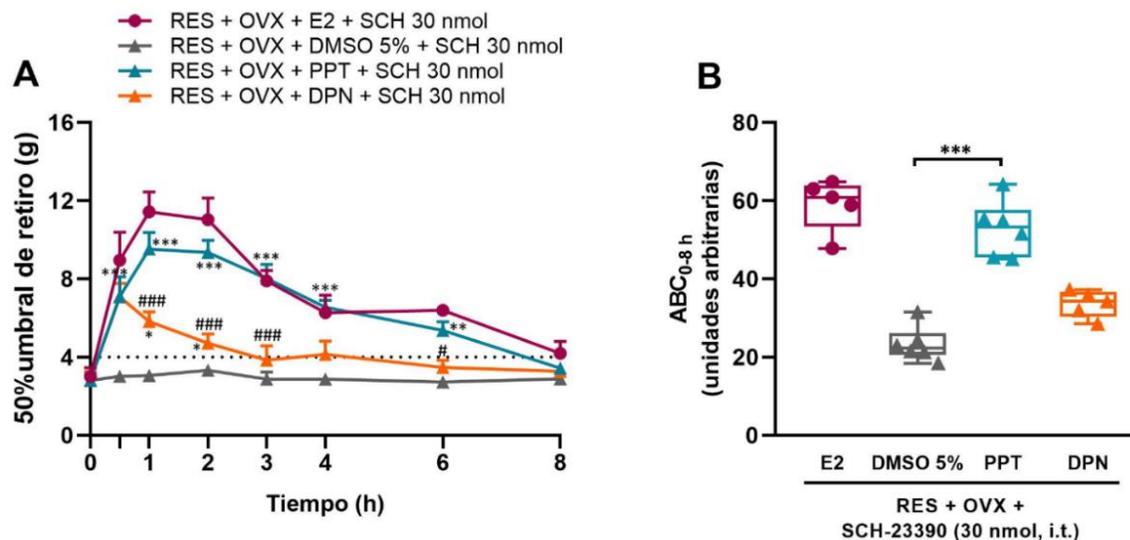


Figura 39. Efecto de la administración de agonistas selectivos del receptor a estrógenos α y β en el efecto antialodínico de SCH-23390 en ratas ovariectomizadas y reserpinizadas.

A) Curso temporal del tratamiento con propilpirazoletriol (PPT) o diarilpropionitrilo (DPN), agonistas selectivos del receptor ER_{α} y ER_{β} , respectivamente, antes de la administración de SCH-23390 (SCH). Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.01$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus RES + OVX + DMSO 5% + SCH 30 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. #### $p < 0.001$ versus RES + OVX + E2 + SCH 30 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B) Área bajo la curva (ABC) del curso temporal. Representación del promedio de 6 ratas \pm EE. *** $p < 0.001$, por la prueba de t de Student. RES: reserpina; OVX: ovariectomía; E2: 17β -estradiol; DMSO: dimetil sulfóxido; i.t.: intratecal.

8.4.2 El efecto antialodínico de los receptores D_2 -like depende de la progesterona y del receptor a progesterona

En contraste con los resultados del tratamiento con SCH-23390, la ovariectomía redujo parcialmente el efecto antialodínico de los agonistas D_2 -like pramipexol (15 nmol, i.t.) y quinpirol (10 nmol, i.t.), pero la reconstitución con 17β -estradiol un día antes del tratamiento no restableció dicho efecto (**Figura 40**). Este resultado sugirió la posible participación de otras hormonas en la modulación de los receptores D_2 -like. Para ello, las ratas ovariectomizadas y tratadas con reserpina fueron reconstituidas con 17β -estradiol (10 μ g/kg, s.c.) y progesterona (3 μ g/rata, 3 h antes de la administración de los agonistas D_2 -like, s.c.). De manera interesante, la combinación de 17β -estradiol y progesterona restauró el efecto antialodínico del pramipexol (**Figura 41A y B**) y del quinpirol (**Figura**

41C y D), pero esto no ocurrió cuando se administró sólo el 17β -estradiol, la progesterona, o sus vehículos.

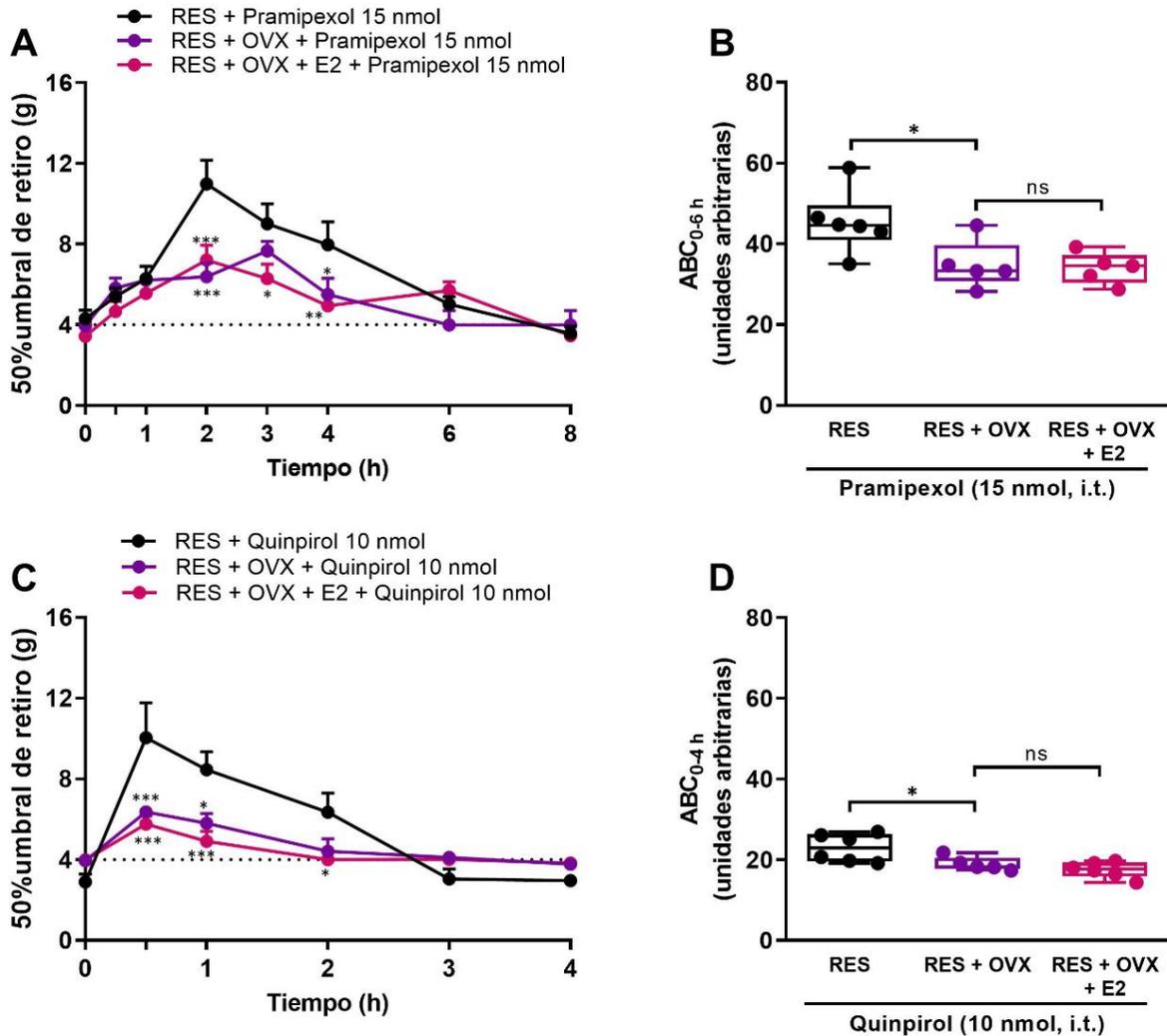


Figura 40. La reconstitución con 17β -estradiol no restablece el efecto antialodínico de los agonistas D_2 -like.

A) y C) Cursos temporales del umbral de retiro después de la reconstitución con 17β -estradiol (E2) y la inyección de pramipexol y quinpirol, respectivamente. Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus RES + pramipexol 30 nmol o versus RES + quinpirol 10 nmol, por ANOVA de dos vías, seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación del promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, ns = no significativo, por ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Dunnett. RES: reserpina; OVX: ovariectomía; DMSO: dimetil sulfóxido; i.t.: intratecal.

Para corroborar que el efecto del pramipexol y del quinpirol depende de la progesterona, se administraron estos agonistas *D₂-like* en ratas ovariectomizadas-reserpinizadas que fueron reconstituidas con la combinación de 17 β -estradiol y progesterona, y que además recibieron mifepristona (5 μ g/rata, 0.5 h antes de la progesterona, i.t.), un antagonista del receptor a progesterona. Como se observa en la **Figura 42**, la administración de mifepristona, pero no del vehículo (DMSO), abolió por completo la recuperación del efecto antialodínico del pramipexol y el quinpirol en ratas reconstituidas con 17 β -estradiol y progesterona.

Para apoyar la participación del 17 β -estradiol y la progesterona en la modulación de los receptores dopaminérgicos *D₁-* y *D₂-like* espinales, respectivamente, exploramos el efecto de estas hormonas en ratas reserpinizadas sin ovariectomía. Como se observa en la **Figura 43A y B**, el tratamiento con 17 β -estradiol, pero no el vehículo, aumentó el efecto antialodínico de una concentración subefectiva del SCH-23390 (3 nmol, i.t.). Por otro lado, la combinación de 17 β -estradiol y progesterona, pero no el 17 β -estradiol por sí solo, potenció el efecto antialodínico de una concentración subefectiva de pramipexol (0.15 nmol, i.t.) (**Figura 43C y D**) en estos animales.

En conjunto, estos resultados sostienen que las hormonas gonadales ejercen una modulación diferencial en la nocicepción relacionada con los receptores *D₁-* y *D₂-like* espinales en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina en ratas.

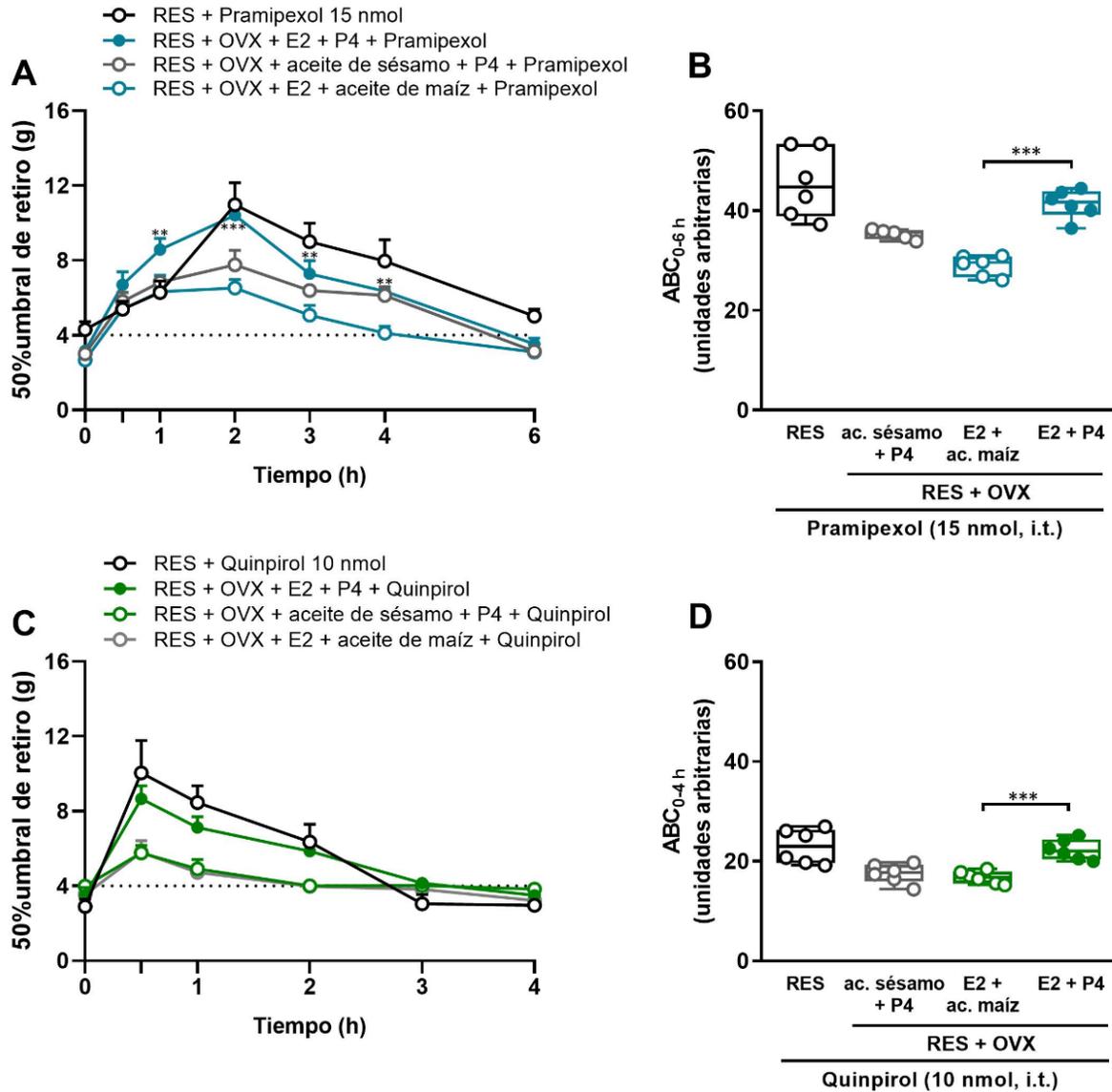


Figura 41. El efecto antialodínico de pramipexol y quinpirol requiere de la participación del 17β-estradiol y progesterona.

A) y C) Cursos temporales del umbral de retiro después de la inyección de pramipexol y quinpirol, respectivamente, en ratas ovariectomizadas (OVX) tratadas con reserpina (RES) y reconstituidas con 17β-estradiol (E2) y progesterona (P4). Cada punto representa el promedio de 6 ratas ± EE. **p < 0.01, ***p < 0.001 *versus* RES + OVX + E2 + aceite de maíz + Pramipexol 15 nmol y *versus* RES + OVX + E2 + aceite de maíz + Quinpirol 10 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación del promedio de 6 ratas ± EE. ***p < 0.001, por la prueba de *t* de Student. RES: reserpina; ac.: aceite; i.t.: intratecal.

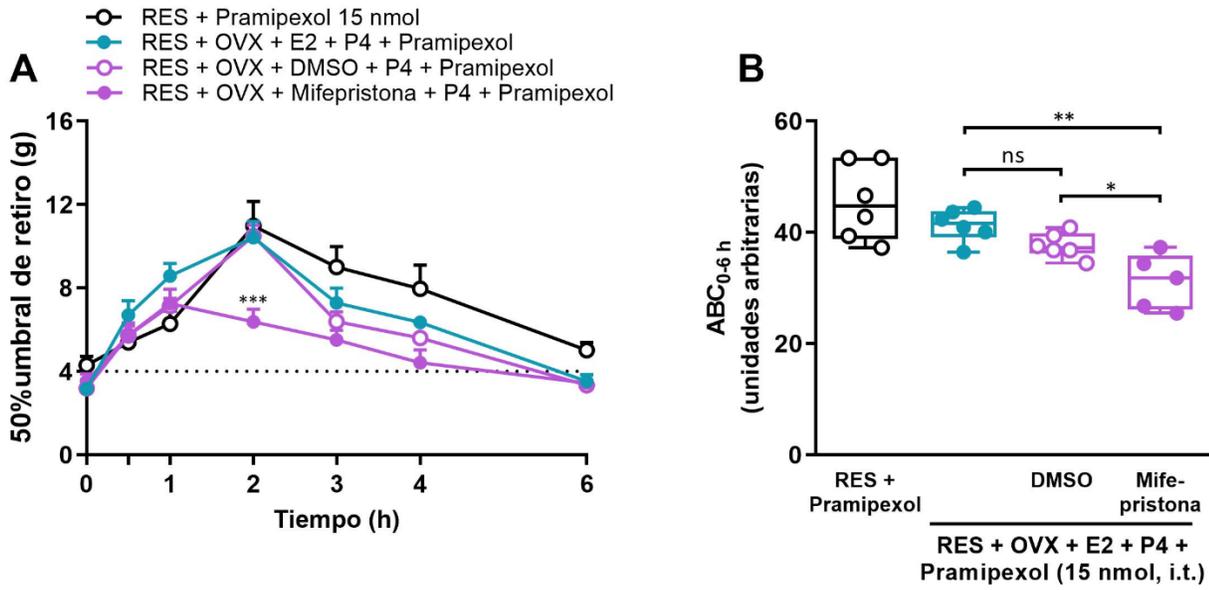


Figura 42. El efecto del pramipexol requiere de la señalización del receptor de progesterona.

A) Curso temporal del umbral de retiro después de la administración de pramipexol en ratas ovariectomizadas (OVX) y reserpinizadas (RES) reconstituidas con 17β -estradiol (E2) y progesterona (P4) que fueron previamente tratadas con mifepristona, un antagonista del receptor a progesterona. Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. *** $p < 0.001$ versus RES + OVX + DMSO + P4 + Pramipexol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B) Área bajo la curva (ABC) del curso temporal. Representación del promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ns = no significativo, por la prueba de *t* de Student. DMSO: dimetil sulfóxido; i.t.: intratecal.

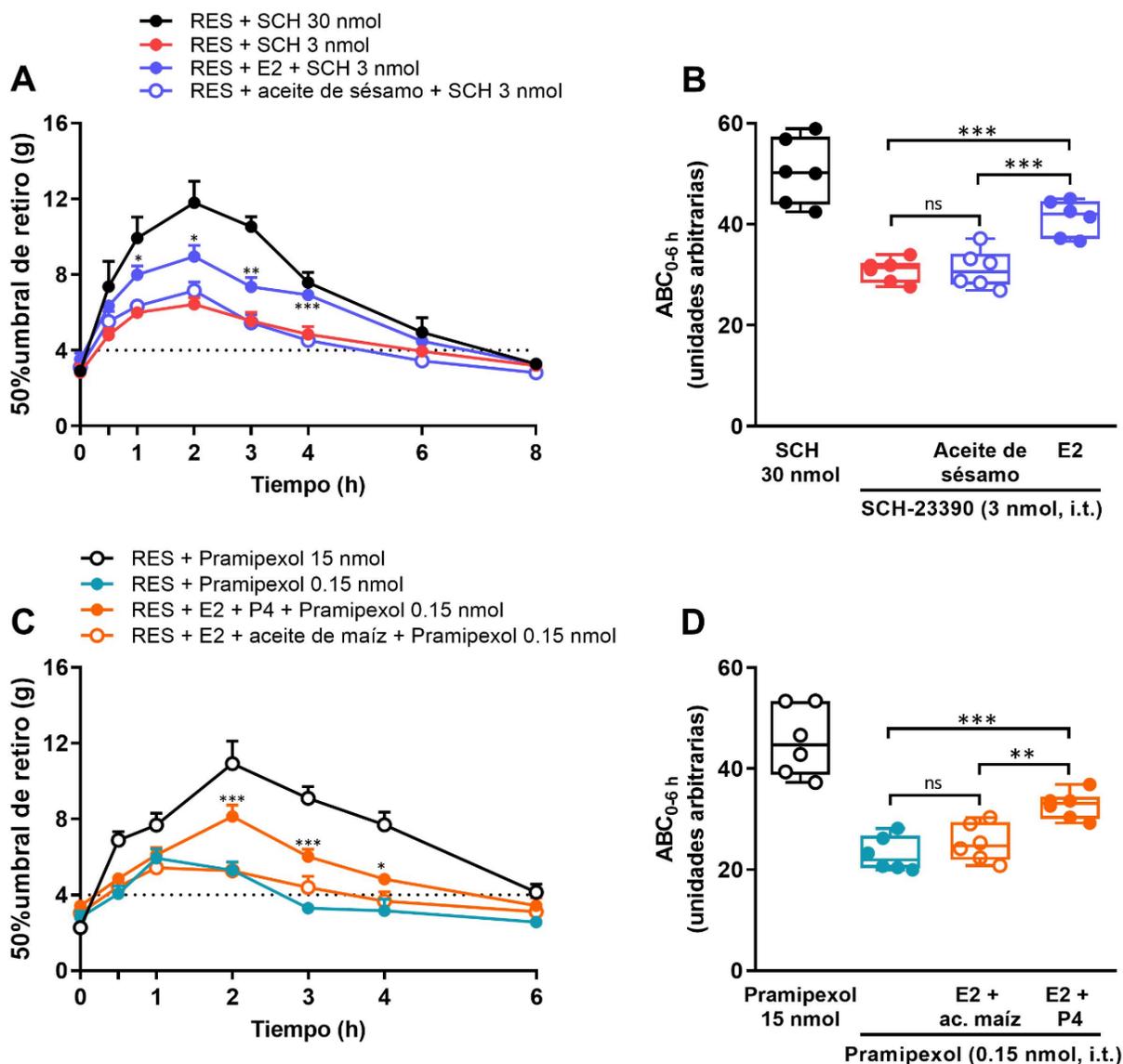


Figura 43. El tratamiento hormonal potencia el efecto de los fármacos dopaminérgicos en ratas reserpinizadas.

A) y C) Cursos temporales del umbral de retiro después de la inyección de una concentración subefectiva de SCH-23390 (SCH) y de pramipexol, respectivamente, en ratas reserpinizadas (RES) tratadas con 17β -estradiol (E2) y progesterona (P4). Cada punto representa el promedio de 6 ratas \pm EE. * $p < 0.01$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus RES + aceite de sésamo + SCH 3 nmol y versus RES + E2 + aceite de maíz + Pramipexol 0.15 nmol, por ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni. B) y D) Área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales. Representación del promedio de 6 ratas \pm EE. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ns = no significativo, por la prueba de t de Student. ac.: aceite; i.t.: intratecal.

8.5 La administración de reserpina modifica la expresión de los receptores dopaminérgicos en la médula espinal y los ganglios de la raíz dorsal

8.5.1 Expresión del ARN mensajero de los receptores dopaminérgicos en hembras reserpinizadas

La **Figura 44** muestra los datos de la expresión del ARNm de los distintos receptores dopaminérgicos en el asta dorsal de la médula espinal y en los ganglios de la raíz dorsal de ratas hembra tratadas con reserpina. La reserpina aumentó la expresión del ARNm de los receptores D₂ y D₅ en la médula espinal, particularmente en los primeros días posteriores a su administración, mientras que el ARNm de los receptores D₁ y D₃ sólo mostró una tendencia a incrementar. El receptor D₃ no se expresó en los ganglios de la raíz dorsal. De manera interesante, se observó una disminución de la expresión del receptor D₂ en los ganglios de la raíz dorsal 5 días después de la última inyección de reserpina. Los datos sugieren que la reserpina modifica ligeramente la expresión del ARNm de los receptores dopaminérgicos tanto a nivel central como periférico en ratas Wistar hembras.

8.5.2 Expresión del ARN mensajero de receptores dopaminérgicos en machos reserpinizados

Como se muestra en la **Figura 45**, la reserpina disminuyó la expresión del ARNm de los receptores D₂ al mismo tiempo que incrementó la expresión de D₃ en el asta dorsal de la médula espinal de ratas macho. Asimismo, se observó que el ARNm del receptor D₁ tiende a incrementar en los ganglios de la raíz dorsal, mientras que la expresión del receptor D₅ no presentó cambios con respecto al grupo control administrado con el vehículo de la reserpina. Los datos sugieren que la reserpina modifica la expresión del ARNm de los receptores dopaminérgicos sólo a nivel central en ratas Wistar macho. Si bien el patrón de expresión de receptores entre machos y hembras podría explicar parcialmente las diferencias en el efecto antialodínico de los agonistas D₂-like, las diferencias entre sexos tienen un fundamento sólido con respecto a la modulación de la función de los receptores dopaminérgicos por hormonas gonadales.

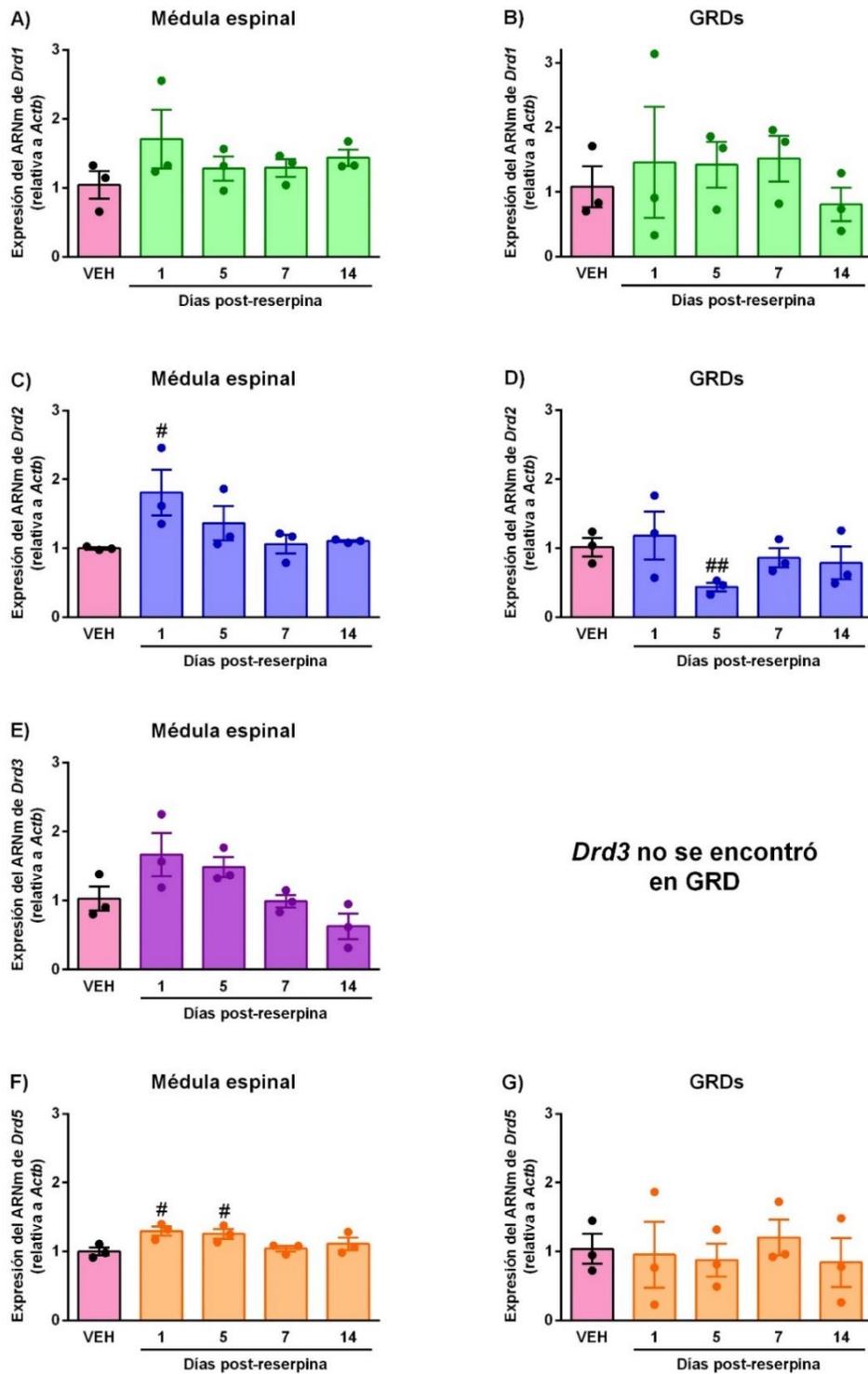


Figura 44. Curso temporal de la expresión del ARNm de los receptores D₁, D₂, D₃ y D₅ en ratas hembras tratadas con reserpina.

Cada barra representa el promedio de 3 ratas ± EE. ^{##}p < 0.01, ^{###}p < 0.001 vs. VEH, por ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett. GRDs: ganglios de la raíz dorsal.

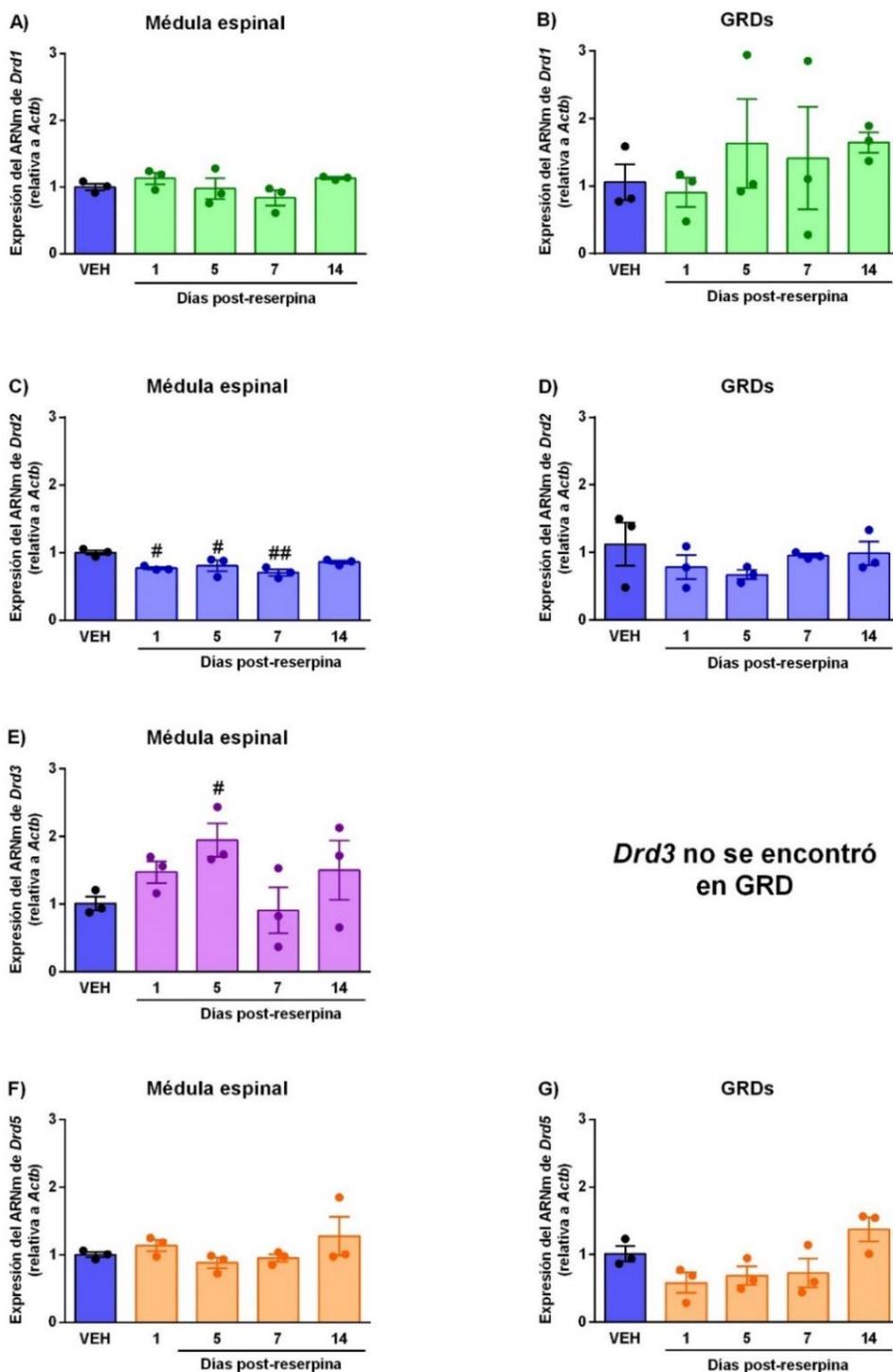


Figura 45. Curso temporal de la expresión del ARNm de los receptores D₁, D₂, D₃ y D₅ en ratas macho tratados con reserpina.

Cada barra representa el promedio de 3 ratas ± EE. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. VEH, por ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett.

9. DISCUSIÓN

9.1 Las proyecciones dopaminérgicas espinales son necesarias para el desarrollo y el mantenimiento de la hipersensibilidad inducida por reserpina

A pesar de que no se conoce con precisión la fisiopatología de la fibromialgia, estudios previos han observado que los pacientes presentan anormalidades en la respuesta a dopamina en áreas cerebrales relacionadas con la percepción del dolor (Wood et al., 2007a, 2007b; Albrecht et al., 2016; Ledermann et al., 2017). Esto apoya la hipótesis de que el dolor de la fibromialgia se explica, en parte, por un desbalance de los niveles de monoaminas (incluyendo a la dopamina) en el líquido cefalorraquídeo (Russell et al., 1992) y en el plasma (Rus et al., 2018).

Nuestros resultados sugieren que la lesión de las proyecciones dopaminérgicas espinales con el tratamiento de 6-hidroxidopamina y desipramina, pero no la desipramina sola o los vehículos, previene y revierte la alodinia táctil y la hiperalgesia muscular inducidas por reserpina en ratas Wistar hembra. Un estudio previo demostró que la cantidad de 6-hidroxidopamina utilizada en este trabajo (50 µg, i.t.) es suficiente para inducir la pérdida de las neuronas que proyectan del núcleo A11 del hipotálamo hacia la médula espinal al reducir la inmunorreactividad del transportador de dopamina y de la tirosina hidroxilasa (la enzima limitante en la síntesis de dopamina) en esta área (Kim et al., 2015). Por lo tanto, la 6-hidroxidopamina reduce el contenido de dopamina en la médula espinal, como se había reportado previamente (Zhao et al., 2007). En conjunto, los datos sugieren que las neuronas del núcleo A11 y la dopamina que liberan son necesarias para establecer y mantener las conductas nociceptivas inducidas por reserpina. A nuestro conocimiento, este es el primer trabajo que evalúa la participación de las proyecciones dopaminérgicas en un modelo de dolor nociplástico. No obstante, nuestros datos concuerdan con estudios anteriores donde se evidencia el papel pronociceptivo de las neuronas del núcleo A11 en la neuralgia del trigémino (Abdallah et al., 2015) y en la hipersensibilidad inducida por *priming* (Kim et al., 2015; Megat et al., 2018).

Una posibilidad para explicar los datos anteriores es que el dolor inducido en el modelo de reserpina se debe a que la liberación de dopamina no se reduce, lo que contrasta con lo reportado en la literatura (Nagakura et al., 2009; Martins et al., 2022). El hecho de que

la 6-hidroxi-dopamina prevenga y revierta la hipersensibilidad inducida por reserpina sugiere que la dopamina tiene un papel pronociceptivo en este modelo. Las neuronas de la médula espinal y del ganglio de la raíz dorsal expresan tirosina hidroxilasa (Brumovsky, 2016; Hou et al., 2016) y podrían contribuir al mantenimiento de un tono dopaminérgico en condiciones no patológicas. Las proyecciones del núcleo A11 del hipotálamo son la principal fuente de dopamina en la médula espinal (Skagerberg y Lindvall, 1985). Las ratas tienen tres tipos de neuronas hipotálamo-espinales con diferentes perfiles neuroquímicos que podrían modular el dolor de distinta forma (Ozawa et al., 2017). Asimismo, se sabe que las neuronas del núcleo A10 del mesencéfalo pueden liberar dopamina en la médula espinal (Qu et al., 2006). No obstante, si tanto la reserpina como la 6-hidroxi-dopamina reducen los niveles de dopamina en la médula espinal (Zhao et al., 2007, Nagakura et al., 2009; Martins et al., 2022), ¿cómo es posible que esta baja concentración de dopamina siga induciendo un efecto pronociceptivo?

Previamente se había demostrado que la aplicación de capsaicina en la córnea de ratas disminuye el tono dopaminérgico en el núcleo accumbens, lo que a su vez amplifica la magnitud de los eventos fásicos de la dopamina de una manera dependiente de la activación de los receptores *D₁-like* (Gee et al., 2020). Por consiguiente, una baja cantidad de dopamina se podría relacionar con eventos nociceptivos. Asimismo, estudios previos sugieren que el dolor neuropático podría considerarse un estado hipodopaminérgico crónico, ya que el tratamiento a largo plazo con L-DOPA (que se convierte en dopamina en el sistema nervioso) aumenta la concentración de dopamina en la corteza anterior del cíngulo y alivia la hipersensibilidad inducida por la ligadura del nervio ciático en ratones (Lançon et al., 2021). Un fenómeno similar podría ocurrir en el dolor que experimentan los pacientes con enfermedad de Parkinson (Blanchet y Brefel-Courbon, 2018), donde el tratamiento con L-DOPA y otros fármacos que restauran la función dopaminérgica tienen un efecto antinociceptivo (Rukavina et al., 2019).

Si bien en nuestras condiciones no pudimos determinar el contenido de dopamina, es posible que un proceso similar sustente la transmisión del dolor en la médula espinal. Nuestros resultados sugieren que la dopamina desempeña un papel pronociceptivo en el modelo de fibromialgia, por lo que evaluamos la participación de la dopamina en animales intactos. Encontramos que la dopamina produce hipersensibilidad nociceptiva a través

de la activación de los receptores *D₁-like* espinales. Por un lado, observamos que la administración intratecal de dopamina y de SKF-38393 (agonista del receptor *D₁-like*) en ratas *naïve* reduce el umbral de retiro de la pata de manera dependiente de la concentración. En apoyo a esto, la inyección espinal de SCH-23390 (antagonista del receptor *D₁-like*) evitó por completo el efecto proalodínico de la dopamina. Estos datos apoyan la idea de que las proyecciones dopaminérgicas y la liberación de dopamina juegan un papel pronociceptivo en condiciones normales, lo que contrasta con el rol clásico que se le asigna a la dopamina en la inhibición descendente. Nuestros datos concuerdan con estudios donde se observó que la administración de dopamina en la pata trasera de ratas (Nakamura y Ferreira, 1987) y ratones (Queiroz et al., 2022) produce hipersensibilidad a través de los receptores *D₁-like*. La inyección espinal de SCH-23390 no modificó el umbral de retiro en ratas *naïve*, por lo que la existencia de un tono dopaminérgico antialodínico es poco probable en condiciones no patológicas. De esta forma, el papel pronociceptivo de la dopamina y de los receptores *D₁-like* espinales sólo estaría evidenciado en condiciones patológicas, donde podría contribuir al inicio y mantenimiento de la hipersensibilidad. De manera interesante, la dopamina liberada en la médula espinal se puede cuantificar en cantidades significativas (Nagakura et al., 2009; Martins et al., 2022), pero no parece activar a los receptores *D₁-like* en condiciones basales. Este aspecto de la fisiología de los receptores a dopamina en la médula espinal y la modulación de la vía del dolor requiere de una mayor investigación.

9.2 Los receptores dopaminérgicos *D₁-like* espinales promueven la nocicepción en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina

En apoyo a nuestra hipótesis anterior, nuestros datos sugieren que los receptores dopaminérgicos *D₁-like* de la médula espinal modulan el efecto pronociceptivo de la dopamina en la hipersensibilidad inducida por reserpina. Esto se basa en la siguiente evidencia: 1) la administración intratecal de SCH-23390 (antagonista selectivo de los receptores *D₁-like*), pero no del vehículo, reduce la alodinia táctil y la hiperalgesia muscular inducidas por la reserpina de manera dependiente de la concentración; 2) la inyección de SKF-38393 (agonista selectivo de los receptores *D₁-like*) impide el efecto antialodínico y antihiperalgésico de SCH-23390; y 3) el SKF-38393, por sí solo, no modifica el umbral de retiro ni el umbral de presión muscular. Cabe mencionar que el

SKF-38393 redujo por completo el efecto antialodínico de SCH-23390, mientras que solo afectó parcialmente el efecto antihiperalgésico. Esto implica que la alodinia táctil depende completamente de los receptores tipo *D₁-like* en el modelo de reserpina, mientras que la hiperalgia muscular depende tanto de los receptores *D₁-like* como de otros mecanismos. Hay evidencia de que la reserpina aumenta la expresión de los canales ASIC3 en los ganglios de la raíz dorsal, y la hiperalgia muscular inducida por reserpina es sensible a los bloqueadores de ASIC3 (Taguchi et al., 2015) y por eventos mediados por estrés oxidante en los músculos (Favero et al., 2017). Aunque no podemos descartar otros mecanismos (Uta et al., 2021), esto podría explicar las diferencias observadas en los mecanismos de alodinia táctil e hiperalgia muscular. En conjunto, nuestros datos sugieren que la dopamina en la médula espinal activa a los receptores *D₁-like* para inducir hipersensibilidad.

Existe evidencia de que los receptores *D₁-like* espinales inducen la fase tardía de la potenciación a largo plazo de los potenciales de campo evocados por la activación de las fibras C (Yang et al., 2005; Li et al., 2022). Dado que la LTP en la médula espinal se considera un modelo de dolor patológico (Sandkühler, 2000; Willis, 2002), es probable que la activación de los receptores *D₁-like* espinales induzca alodinia táctil e hiperalgia muscular a través de este mecanismo en ratas tratadas con reserpina. En apoyo de esto, la reserpina induce la sensibilización (aumento de la frecuencia y la amplitud de las corrientes postsinápticas excitatorias espontáneas) de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal (Uta et al., 2021). Otro mecanismo que podría contribuir a la sensibilización central inducida por reserpina es la activación de la microglía (Taguchi et al., 2015; De la Luz-Cuellar et al., 2019), tal y como se ha informado en pacientes con fibromialgia (Albrecht et al., 2019), así como la activación de los receptores *D₁-like* en astrocitos (Corkrum et al., 2020).

El silenciamiento transitorio de los genes de los receptores *D₁* y *D₅* utilizando siRNAs selectivos revirtió la hipersensibilidad nociceptiva inducida por reserpina. Cabe destacar que el siRNA de *Drd1* fue más efectivo en la hiperalgia muscular que en la alodinia táctil, mientras que el siRNA de *Drd5* fue más efectivo en la alodinia táctil que en la hiperalgia muscular. Estos datos sugieren que los receptores *D₁* y *D₅* son los responsables de la hipersensibilidad nociceptiva inducida por la reserpina. Existe

evidencia de que la tasa de recambio de los receptores tipo D₁ es de 34 h en el estriado, 22 h en el núcleo accumbens, 24.5 h en el *tuberculum olfactorium* y 42.6 h en el *claustrum* (Fuxe et al., 1987). No hay datos para la médula espinal. Por lo tanto, la media es de 31 h, que se correlaciona con el momento en que se pierden los efectos antialodínicos y antihiperálgicos de los siRNA (1-2 días). Hasta donde sabemos, este es el primer informe que muestra la participación de los receptores espinales D₁ y D₅ en la hipersensibilidad nociceptiva inducida por la reserpina en ratas (modelo de dolor nociplástico). Sin embargo, nuestros datos concuerdan con otras observaciones que demuestran que los receptores espinales D₁ y D₅ participan en la hipersensibilidad nociceptiva inducida por el *priming* de prostaglandina E₂ e interleucina 6 (Kim et al., 2015; Megat et al., 2018). En conjunto, los resultados sugieren que la dopamina espinal induce hipersensibilidad nociceptiva a través de la activación de los receptores D₁ y D₅ en el modelo de fibromialgia producido por la reserpina.

9.3 Los receptores dopaminérgicos D₂-like espinales tienen un papel antinociceptivo en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina

Nuestros datos muestran que los receptores D₂-like en la médula espinal pueden modular la nocicepción inducida por reserpina en ratas, principalmente a través del subtipo D₂. Por un lado, observamos que el efecto antialodínico del quinpirol se revierte por completo por L-741,626 (antagonista selectivo del receptor D₂) y parcialmente por PG01037 (antagonista selectivo del receptor D₃), pero no por el L-745,870 (antagonista selectivo del receptor D₄). En contraste, el efecto antihiperálgico del quinpirol se revierte por completo por L-741,626 y L-745,870 y parcialmente por PG01037. Estos datos sugieren que los receptores D₂, y en menor grado los D₃, participan en el efecto antialodínico del quinpirol, mientras que los receptores D₂, D₄ y parcialmente los D₃ participan en el efecto antihiperálgico del quinpirol. A nuestro conocimiento, este es el primer trabajo que estudia el efecto de quinpirol espinal en un modelo de dolor tipo fibromialgia. Sin embargo, el quinpirol administrado por diferentes vías reduce la nocicepción en modelos de dolor nociceptivo (Sheng et al., 2009; Almanza et al., 2015), inflamatorio (Ohtani y Masaki, 2016; Mercado-Reyes et al., 2019) y neuropático (Wei et al., 2009; Cobacho et al., 2014; Mercado-Reyes et al., 2019; Maegawa et al., 2020). Asimismo, se ha reportado

que el quinpirol produce antinocicepción de manera presináptica al inhibir la liberación de neurotransmisores, ya que reduce las corrientes de los canales de calcio $Ca_v2.2$ en neuronas del ganglio de la raíz dorsal a través del receptor D_4 (Lu et al., 2018; Almanza et al., 2019; Segura-Chama et al., 2020). Se sabe que el quinpirol tiene una mayor afinidad por el receptor D_2 , seguido del D_3 y baja afinidad por el receptor D_4 (Sokoloff et al., 1990; Van Tol et al., 1991; Burris et al., 1995; Patel et al., 1996; Alexander et al., 2011), por lo que nuestros datos concuerdan con lo establecido para la afinidad reportada de este compuesto.

Nuestro trabajo extiende el conocimiento acerca de los efectos del quinpirol a un modelo de dolor nociplástico. Los efectos del quinpirol se pueden deber a la reducción de la expresión de la cinasa regulada por señales extracelulares (pERK) en el núcleo del trigémino (Maegawa et al., 2020), la inducción de una corriente saliente mediante la activación de canales de K^+ a través de la activación de receptores *D₂-like* (Tamae et al., 2005) y a sus efectos a nivel presináptico y postsináptico en la transmisión nociceptiva de las neuronas espinales de la sustancia gris (Taniguchi et al., 2011).

Pese a que tanto el quinpirol como el pramipexol se consideran agonistas selectivos de los receptores *D₂-like* (Mireau et al., 1995), nuestros datos indican que tienen un perfil distinto sobre los diferentes subtipos de receptores de esta familia. Los receptores D_2 y D_3 participan en el efecto antialodínico del quinpirol, mientras que los receptores D_2 y D_4 modulan el efecto antialodínico del pramipexol. En el caso del pramipexol, tanto el L-741,626 como el L-745,870, pero no el PG01037, abatieron el efecto antialodínico. Por lo tanto, los datos sugieren que el receptor D_2 y D_4 , pero no los receptores D_3 , participan en el efecto antialodínico del pramipexol en este modelo de dolor tipo fibromialgia.

Está reportado que el pramipexol tiene afinidad por los receptores D_2 , D_3 y D_4 (Mierau et al., 1995), aunque otros autores reportan mayor afinidad por los receptores D_3 seguido de los receptores D_2 , pero no por los D_4 (Sautel et al., 1995; Alexander et al., 2011). Esto sugiere que el pramipexol no es del todo selectivo por alguno de los receptores de la familia *D₂-like*. No obstante, el pramipexol tuvo un efecto antinociceptivo significativo en nuestras condiciones experimentales, lo que concuerda con estudios previos donde se reportó que la administración sistémica de pramipexol revierte la hiperalgesia muscular inducida por reserpina en ratas (Nagakura et al., 2009). Asimismo, el pramipexol atenúa

la alodinia inducida por reserpina en ratones, a la vez que favorece el aumento de las concentraciones de dopamina en la médula espinal (Martins et al., 2022).

El pramipexol también reduce la hipersensibilidad en ratas con enfermedad de Parkinson (Cao et al., 2016; Romero-Sánchez et al., 2020), el dolor inflamatorio crónico inducido por CFA (Edwards et al., 2022) y la nocicepción inducida por formalina aguda y crónica (Santamaria-Anzures et al., 2023). La disminución de las conductas nociceptivas podría explicarse a través de los mismos mecanismos del quinpirol que implican la reducción de la excitabilidad neuronal.

Si bien el pramipexol ya había demostrado reducir el dolor en un subgrupo de pacientes con fibromialgia (Holman y Myers, 2005), la participación de los receptores *D₁-like* podría tener un mayor impacto sobre la modulación de este tipo de dolor y explicaría, en parte, la baja efectividad de los agonistas de los receptores *D₂-like* en varios tipos y modelos de dolor crónico. El presente trabajo podría marcar la pauta para estudiar a los receptores *D₁-like* como blanco terapéutico para el tratamiento del dolor. De hecho, el antagonista de los receptores *D₁-like* SCH-39166 (ecopipam) ha mostrado eficacia antinociceptiva en un modelo de dolor neuropático inducido por el daño a la médula espinal (Rodgers et al., 2019), así como una mejora de los síntomas en pacientes con síndrome de piernas inquietas (Ondo y Olubajo, 2022). En la actualidad, este fármaco está aprobado por la FDA para el tratamiento de afecciones psiquiátricas como el síndrome de Tourette (Gilbert et al., 2019) y la tartamudez (Maguire et al., 2019), por lo que la disponibilidad del ecopipam en la clínica representaría una alternativa para el tratamiento de síndromes de dolor crónico.

9.4 Los receptores dopaminérgicos modulan la nocicepción inducida por reserpina de manera dependiente del sexo

Previamente demostramos que el tratamiento con reserpina induce un patrón similar de alodinia táctil en ratas macho y hembra (De la Luz-Cuellar et al., 2019), lo que concuerda con observaciones previas (Nagakura et al., 2009; Hernandez-Leon et al., 2018). En esta investigación, encontramos que la administración espinal de SCH-23390 (antagonista selectivo de los receptores *D₁-like*, Sunahara et al., 1991; Bourne, 2001) indujo un mayor efecto antialodínico en ratas hembra que en machos. Hasta donde sabemos, este es el

primer reporte sobre las diferencias sexuales en el papel de los receptores *D_{1-like}* espinales en un modelo de dolor nociplástico en ratas. Nuestros datos concuerdan con observaciones previas donde se muestra que el SCH-23390 induce un mayor efecto antinociceptivo en hembras que en machos en la prueba de formalina (Hagiwara et al., 2013). Además, el SCH-23390 espinal bloquea el *priming* hiperalgésico inducido por la inyección de prostaglandina *E₂* a través del receptor *D₅* (miembro de los receptores *D_{1-like}*) en ratones hembra, pero no en macho (Megat et al., 2018). Otros autores han mostrado que existe una mayor despolarización dependiente de los receptores *D_{1-like}* en el núcleo del lecho de la estría terminal de ratones macho que en el de las hembras (Yu et al., 2021). Los autores sugieren la posibilidad de que este efecto dependiente del sexo resulte de la entrada de dopamina de una fuente específica (Glangetas y Georges, 2016; Yu et al., 2021). En conjunto, nuestros datos se suman a la literatura sobre el papel dependiente del sexo de los receptores *D_{1-like}* espinales en la prueba de formalina, el *priming* por prostaglandina *E₂* y el dolor nociplástico (este estudio). De manera interesante, la administración sistémica de agonistas de los receptores *D_{1-like}* induce mayores cambios en la actividad locomotora en ratas hembra en comparación con los machos (Heijtz et al., 2002) y este efecto se atenúa mejor con el antagonista SCH-23390 en ratas hembra (Schindler y Carmona, 2002) y en dolor neuropático (Bao et al., 2022). Se han observado efectos dependientes del sexo similares en la función de los receptores *D_{1-like}* en la interacción y el aprendizaje social (Choleris et al., 2011; Campi et al., 2013; Matta et al., 2017).

Con respecto a los receptores espinales *D_{2-like}*, encontramos que el pramipexol y el quinpirol (agonistas selectivos de los receptores *D_{2-like}*, Mierau et al., 1995) también indujeron un mayor efecto antialodínico en ratas hembra que en el macho. En apoyo de la validez de constructo (Sumpton y Moulin, 2014), encontramos que la administración sistémica de pramipexol también induce un efecto antialodínico dependiente del sexo en ratas. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio sobre el papel del sexo en el efecto antialodínico de los receptores espinales *D_{2-like}* en un modelo de dolor tipo fibromialgia en ratas. Es de destacar que la ausencia del receptor *D₃* (miembro de la familia de los receptores *D_{2-like}*) induce una mayor antinocicepción en modelos de dolor agudo (prueba de placa caliente) e inflamatorio (prueba de formalina) en ratones hembra

que macho (Liu et al., 2017). También se han observado diferencias de sexo en otra clase de efectos. Por ejemplo, las hembras de ratones *knockout* para el receptor D₃ muestran una mayor actividad en una rueda para correr que los machos (Klinker et al., 2017), mientras que la administración de quinpirol aumenta la liberación de dopamina después de la estimulación de alta frecuencia sólo en el cuerpo estriado de las ratas hembra (Walker et al., 2006). Además, la clozapina (un antagonista del receptor D₄ de alta afinidad, miembro de la familia D_{2-like}), aumenta la expresión del receptor D₄ en el hipotálamo en mayor medida en mujeres que en hombres (Bouvier et al., 2020) y en ratones hembra que en macho (Liu et al., 2017).

Encontramos que el efecto del sexo no es exclusivo para el dolor nociplástico (fibromialgia), ya que la administración espinal de SCH-23390 y pramipexol indujo un efecto antialodínico mayor en ratas hembra con dolor neuropático. En contraste con los resultados en el modelo de fibromialgia, el SCH-23390 y el pramipexol no alteraron la alodinia táctil en ratas neuropáticas macho. Esto concuerda con estudios previos donde la inyección de agonistas D_{2-like} es poco efectiva en ratas macho con dolor neuropático (Mercado-Reyes et al., 2019). La diferencia podría deberse al modelo o a la intensidad del dolor, aunque no se pueden descartar otros mecanismos. Cabe destacar que la gabapentina no mostró un efecto antialodínico distinto entre machos y hembras reserpinizados (datos no mostrados), lo que resalta el efecto específico dependiente del sexo modulado por receptores dopaminérgicos espinales.

Una vez que observamos un efecto antialodínico dependiente del sexo de los receptores dopaminérgicos D₁ y D₂, buscamos determinar si las hormonas gonadales tenían un papel en estas diferencias. Nuestros datos respaldan la hipótesis de que el efecto antialodínico espinal del SCH-23390 en el dolor de tipo fibromialgia en ratas hembra depende de los niveles de 17 β -estradiol, así como de la función del receptor de estrógenos α/β . Esta sugerencia se basa en la siguiente evidencia: 1) La ovariectomía eliminó por completo el efecto antialodínico de SCH-23390 en ratas hembra tratadas con reserpina; 2) la reconstitución sistémica de los niveles de 17 β -estradiol en hembras ovariectomizadas tratadas con reserpina restauró el efecto antialodínico del SCH-23390; 3) el tratamiento intratecal con el agonista selectivo del receptor de estrógenos α protopanaxatriol, pero no el agonista selectivo del receptor de estrógenos β 2,3-bis(4-

hidroxifenil)-propionitrilo, restauró, de manera similar al 17β -estradiol, el efecto antialodínico de SCH-23390 en ratas ovariectomizadas tratadas con reserpina; 4) la administración intratecal del inhibidor del receptor de estrógenos α/β ICI-182,780 (Howell et al., 2000) y el inhibidor selectivo del receptor de estrógenos α metil-piperidino-pirazol (Sun et al., 2002) bloqueó totalmente el efecto antialodínico de SCH-23390 previamente restaurado con 17β -estradiol en ratas ovariectomizadas tratadas con reserpina.

Por el contrario, aunque la ovariectomía disminuyó parcialmente los efectos antialodínicos de pramipexol y quinpirol en ratas tratadas con reserpina, la reconstitución con 17β -estradiol no modificó este efecto, lo que sugiere que el 17β -estradiol no es relevante para el efecto antialodínico de los receptores D_2 -like en este modelo. Por lo tanto, probamos el efecto de la progesterona. Nuestros resultados sugieren que los efectos antialodínicos de los agonistas de los receptores D_2 -like espinales en ratas hembra dependen de la combinación de 17β -estradiol y progesterona, así como de los receptores de progesterona. En apoyo de esto, la combinación de 17β -estradiol y progesterona, pero no el 17β -estradiol ni la progesterona sola, restauró el efecto antialodínico de los agonistas de los receptores D_2 -like en el modelo. Estos datos concuerdan con estudios previos que muestran que la combinación de ambas hormonas es esencial para facilitar la receptividad sexual durante el ciclo estral y para la culminación de las conductas sexuales en ratas (Powers, 1970; Blaustein y Erskine, 2002; Becker et al., 2005). Además, la mifepristona (antagonista del receptor de progesterona, Baird, 1993; Zhi et al., 2003) previno el efecto antialodínico del pramipexol y el quinpirol restaurado con 17β -estradiol/progesterona en ratas ovariectomizadas tratadas con reserpina. Por último, el 17β -estradiol y la combinación de 17β -estradiol y progesterona potenciaron el efecto antialodínico de una dosis subefectiva de SCH-23390 y pramipexol, respectivamente, en ratas tratadas con reserpina sin ovariectomía. Estos resultados sugieren que las diferencias de sexo de los receptores espinales D_1 -like y D_2 -like dependen del 17β -estradiol y de la combinación de 17β -estradiol y progesterona, respectivamente. Además, nuestros resultados indican que el receptor de estrógenos α y el receptor de progesterona, respectivamente, son necesarios para expresar estas diferencias en las ratas hembra sometidas al tratamiento con reserpina. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio sobre la interacción entre los receptores de dopamina

y las hormonas femeninas para explicar las diferencias sexuales en un modelo de dolor. Los mecanismos de esta interacción son actualmente desconocidos. Existe evidencia de que la administración *in vivo* de 17β -estradiol aumenta la densidad de los receptores de dopamina del estriado (Bédard et al., 1979; Di Paolo et al., 1979; Hruska et al., 1982). Sin embargo, actualmente se desconocen los efectos del 17β -estradiol o la progesterona sobre la densidad de los receptores de dopamina en la médula espinal y justifica una mayor investigación. Cabe mencionar que no se estudió la menor eficacia de los receptores espinales de dopamina D_1 y D_2 en los machos tratados con reserpina, y eso representa una limitación de nuestro estudio.

9.5 Efecto de la reserpina en la expresión de los receptores dopaminérgicos en médula espinal y ganglios de la raíz dorsal

Estudios previos ya habían reportado la expresión del ARNm y de la proteína de cada uno de los subtipos de receptores dopaminérgicos en la médula espinal (Zhu et al., 2007, 2008; Kawamoto et al., 2012). Nuestros datos concuerdan con dichas observaciones, ya que el ARNm de los receptores dopaminérgicos D_1 , D_2 , D_3 y D_5 se amplificó en la médula espinal y los ganglios de la raíz dorsal de ratas (a excepción del subtipo D_3 , que no se expresó en los ganglios de la raíz dorsal). De manera interesante, nuestros resultados muestran que el tratamiento con reserpina aumentó ligeramente la expresión de *Drd5* y *Drd2* en la médula espinal, pero no en los ganglios de la raíz dorsal de ratas hembra. También se observó una tendencia a incrementar en la expresión de *Drd1* y *Drd3*. Por otro lado, la reserpina produjo cambios modestos en la expresión de *Drd2* y *Drd3* en la médula espinal de ratas macho, con una tendencia en el aumento de la expresión de *Drd1* en ganglios de la raíz dorsal.

A nuestro conocimiento, este es el primer trabajo que determina la expresión de los receptores dopaminérgicos espinales en un modelo de dolor tipo fibromialgia. Estudios previos ya habían reportado cambios dependientes del sexo en la expresión de los receptores dopaminérgicos en distintas áreas relevantes para el procesamiento nociceptivo, incluyendo la médula espinal (Megat et al., 2018) y la corteza cerebral (Orendain-Jaime et al., 2016). Sin embargo, no observamos cambios en los niveles de los receptores dopaminérgicos al realizar una comparación entre machos y hembras

reserpinizados (datos no mostrados). Esto se puede deber a las técnicas utilizadas para la determinación de la expresión, así como a la especie y las cepas.

A *grosso modo*, podemos concluir que entre las ratas controles y las reserpinizadas hay cambios modestos en la expresión de los receptores, por lo que el efecto antinociceptivo del antagonista *D₁-like* y de los agonistas *D₂-like* no se pueden explicar simplemente por una mayor o menor expresión de receptores. Sería interesante profundizar en los mecanismos de cómo los fármacos llevan a cabo su efecto antinociceptivo en este modelo, considerando que la explicación es algún tipo de plasticidad en la inervación de las fibras dopaminérgicas en la médula espinal, que cambian su blanco a sitios con mayor expresión de receptores *D₁-like* que *D₂-like* en condiciones patológicas, o que las neuronas inervadas cambian la disponibilidad de los receptores *D₁-like* o *D₂-like* en la membrana, sin cambiar sus niveles relativos de expresión.

10. CONCLUSIONES

- Las proyecciones dopaminérgicas espinales son necesarias para el desarrollo y el mantenimiento de la hipersensibilidad inducida por reserpina.
- Los receptores *D₁-like* espinales son pronociceptivos en el dolor tipo fibromialgia. Los receptores *D₁* contribuyen tanto al mantenimiento de la alodinia táctil como de la hiperalgesia muscular, mientras que los receptores *D₅* desempeñan un papel más importante en la modulación de la alodinia táctil que induce el modelo de reserpina.
- Los receptores *D₂-like* espinales son antinociceptivos en el modelo de fibromialgia. El efecto antialodínico de los agonistas *D₂-like* está mediado, principalmente, por el subtipo *D₂*.
- El estradiol modula las conductas nociceptivas a través de la activación de receptores *D₁-like*, pero no de los *D₂-like*, en el modelo de fibromialgia mediante la señalización del receptor de estrógenos α .
- La reserpina modifica ligeramente el patrón de expresión del ARNm de los receptores *D₂* y *D₅* en ratas hembra, y de los receptores *D₂* y *D₃* en los machos, tanto en el asta dorsal de la médula espinal como en los ganglios de la raíz dorsal.

11. PERSPECTIVAS

Este trabajo nos permite proponer nuevos experimentos que podrían contribuir al conocimiento de los receptores dopaminérgicos en la modulación de distintos tipos de dolor, así como su dimorfismo sexual.

- Los experimentos conductuales mostraron una función dependiente del sexo de los receptores *D₁-like* y *D₂-like* tanto en el dolor tipo fibromialgia como en el dolor neuropático. Por lo tanto, sería importante determinar la participación de las hormonas gonadales en otros modelos de dolor crónico y nociplástico.
- Evaluar, mediante co-precipitación de proteínas, la formación de dímeros de receptores dopaminérgicos en condiciones de dolor.
- Determinar la concentración de dopamina en la médula espinal y en otras áreas importantes para el procesamiento del dolor en animales con dolor tipo fibromialgia, dolor inflamatorio crónico y dolor neuropático.
- Determinar la expresión de los receptores dopaminérgicos por inmunohistoquímica.
- Determinar la co-localización, mediante inmunohistoquímica, de los receptores dopaminérgicos y los receptores a estrógenos y progesterona en médula espinal, ganglios de la raíz dorsal y otras áreas relevantes para el procesamiento del dolor en éste y otros modelos de dolor.
- Evaluar la participación de otras hormonas gonadales y hormonas del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal en el modelo de fibromialgia inducida por reserpina y en otros modelos de dolor.

12. REFERENCIAS

- Abba, M. C., Hu, Y., Sun, H., Drake, J. A., Gaddis, S., Baggerly, K., Sahin, A., Aldaz, C. M. (2005). Gene expression signature of estrogen receptor α status in breast cancer. *Biomedicine and Central Genomics*, 6, 37.
- Abdallah, K., Monconduit, L., Artola, A., Luccarini, P., Dallel, R. (2015). GABAergic inhibition or dopamine denervation of the A11 hypothalamic nucleus induces trigeminal analgesia. *Pain*, 156(4), 644-655.
- Abdullah, M., Chai, P. S., Chong, M. Y., Tohit, E. R., Ramasamy, R., Pei, C. P., Vidyadaran, S. (2012). Gender effect on in vitro lymphocyte subset levels of healthy individuals. *Cellular Immunology*, 272(2), 214–219.
- Adler, G. K., Geenen, R. (2005). Hypothalamic-pituitary-adrenal and autonomic nervous system functioning in fibromyalgia. *Rheumatic Diseases Clinics in North America*, 31(1), 187-202.
- Aira, Z., Barrenetxea, T., Buesa, I., García del Caño, G., Azkue, J. J. (2016a). Dopamine D₁-like receptors regulate constitutive, μ -opioid receptor-mediated repression of use-dependent synaptic plasticity in dorsal horn neurons: more harm than good? *The Journal of Neuroscience*, 36(20), 5661-5673.
- Aira, Z., Barrenetxea, T., Buesa, I., Gomez-Esteban, J. C., Azkue, J. J. (2014). Synaptic upregulation and superadditive interaction of dopamine D₂- and μ -opioid receptors after peripheral nerve injury. *Pain*, 155(12), 2526–2533.
- Aira, Z., Barrenetxea, T., Buesa, I., Martínez, E., Azkue, J. J. (2016b). Spinal D₁-like dopamine receptors modulate NMDA receptor-induced hyperexcitability and NR1 phosphorylation at serine 889. *Neuroscience Letters*, 618, 152-158.
- Akkuş, S., Naziroğlu, M., Eriş, S., Yalman, K., Yılmaz, N., Yener, M. (2009). Levels of lipid peroxidation, nitric oxide, and antioxidant vitamins in plasma of patients with fibromyalgia. *Cell Biochemistry and Function*, 27, 181-185.
- Albrecht, D. S., Forsberg, A., Sandström, A., Bergan, C., Kadetoff, D., Protsenko, E., Lampa, J., Lee, Y. C., Höglund, C. O., Catana, C., Cervenka, S., Akeju, O., Lekander, M., Cohen, G, Halldin, C., Taylor, N., Kim, M., Hooker, J. M., Edwards, R. R., Napadow, V., Kosek, E., Loggia, M. L. (2019). Brain glial activation in fibromyalgia - A multi-site positron emission tomography investigation. *Brain, Behavior, and Immunity*, 75, 72-83.

Albrecht, D. S., MacKie, P. J., Kareken, D. A., Hutchins, G. D., Chumin, E. J., Christian, B. T., Yoder, K. K. (2016). Differential dopamine function in fibromyalgia. *Brain Imaging and Behavior*, 10(3), 829-839.

Alexander, S. P. H., Mathie, A., Peters, J. A. (2011). Guide to receptors and channels (GRAC), 5th edition. *British Journal of Pharmacology*, 164(Suppl. 1), S1-S324.

Almanza, A., Segura-Chama, P., León-Olea, M., Luis, E., Garduño-Gutiérrez, R., Mercado-Reyes, J., Simón-Arceo, K., Coffeen, U., Hernández-Cruz, A., Pellicer, F., Mercado, F. (2019) Cellular mechanism for specific mechanical antinociception by D₂-like receptor at the spinal cord level. *Neuroscience*, 417, 81-94.

Almanza, A., Simón-Arceo, K., Coffeen, U., Fuentes-García, R., Contreras, B., Pellicer, F., Mercado, F. (2015). A D₂-like receptor family agonist produces analgesia in mechanonociception but not in thermonociception at the spinal cord level in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 137, 119-125.

Aloisi, A. M., Bonifazi, M. (2006). Sex hormones, central nervous system and pain. *Hormones and Behavior*, 50(1), 1-7.

Amandusson, A., Blomqvist, A. (2013). Estrogenic influences in pain processing. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 34(4), 329-349.

Ambrose, K. R., Golightly, Y. M. (2015). Physical exercise as non-pharmacological treatment of chronic pain: Why and when. *Best Practice and Research, Clinical Rheumatology*, 29(1), 120-130.

Araújo, F. M., DeSantana, J. M. (2019). Physical therapy modalities for treating fibromyalgia. *F1000Research*, 8, F1000 Faculty Rev-2030.

Arnold, L. M., Fan, J., Russell, I. J., Yunus, M. B., Khan, M. A., Kushner, I., Olson, J. M., Iyengar, S. K. (2013). The fibromyalgia family study: A genome-wide linkage scan study. *Arthritis and Rheumatology*, 65, 1122-1128.

Arnold, L. M., Goldenberg, D. L., Stanford, S. B., Lalonde, J. K., Sandhu, H. S., Keck, P. E. Jr., Welge, J. A., Bishop, F., Stanford, K. E., Hess, E. V., Hudson, J. I. (2007) Gabapentin in the treatment of fibromyalgia: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Arthritis and Rheumatism*, 56(4),1336-1344.

Arnold, L. M., Hudson, J. I., Hess, E. V., Ware, A. E., Fritz, D. A., Auchenbach, M. B., Starck, L. O., Keck, P. E. Jr. (2004). Family study of fibromyalgia. *Arthritis and Rheumatism*, 50(3), 944-952

Arora, V., Chopra, K. (2013). Possible involvement of oxido-nitrosative stress induced neuro-inflammatory cascade and monoaminergic pathway: Underpinning the correlation between nociceptive and depressive behaviour in a rodent model. *Journal of Affective Disorders*, 151(3), 1041–1052.

Arora, V., Kuhad, A., Tiwari, V., Chopra, K. (2011). Curcumin ameliorates reserpine-induced pain-depression dyad: Behavioural, biochemical, neurochemical and molecular evidences. *Psychoneuroendocrinology*, 36(10), 1570–1581.

Arout, C. A., Sofuoglu, M., Bastian, L. A., Rosenheck, R. A. (2018). Gender differences in the prevalence of fibromyalgia and in concomitant medical and psychiatric disorders: a National Veterans Health Administration study. *Journal of Women's Health*, 27(8), 1035-1044.

Athnaiel, O., Cantillo, S., Paredes, S., Knezevic, N. N. (2023). The role of sex hormones in pain-related conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1866.

Baird, D. T. (1993). Antigestogens. *British Medical Bulletin*, 49(1), 73-87.

Bao, Y. N., Dai, W. L., Fan, J. F., Ma, B., Li, S. S., Zhao, W. L., Yu, B. O., Liu, J. H. (2021). The dopamine D₁-D₂DR complex in the rat spinal cord promotes neuropathic pain by increasing neuronal excitability after chronic constriction injury. *Experimental and Molecular Medicine*, 53, 235–249.

Baraniuk, J. N., Whalen, G., Cunningham, J., Clauw, D. J. (2004). Cerebrospinal fluid levels of opioid peptides in fibromyalgia and chronic low back pain. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 5, 48.

Barasi, S., Duggal, K. N. (1985). The effect of local and systemic application of dopaminergic agents on tail flick latency in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 117(3), 287-294.

Baron, R., Perrot, S., Guillermin, I., Alegre, C., Dias-Barbosa, C., Choy, E., Gilet, H., Cruccu, G., Desmeules, J., Margaux, J., Richards, S., Serra, E., Spaeth, M., Arnould, B. (2014). Improving the primary care physicians' decision making for fibromyalgia in clinical practice: development and validation of the fibromyalgia detection (FibroDetect®) screening tool. *Health and Quality of Life Outcomes*, 12, 128.

Barraud, Q., Obeid, I., Aubert, I., Barrière, G., Contamin, H., McGuire, S., Ravenscroft, P., Porras, G., Tison Bezar, E., Ghorayeb, I. (2010). Neuroanatomical study of the A11 diencephalospinal pathway in the non-human primate. *PLoS One*, 5(10), e13306.

Barry, P. H. (1994). JPCalc, a software package for calculating liquid junction potential corrections in patch-clamp, intracellular, epithelial and bilayer measurements and for correcting junction potential measurements. *Journal of Neuroscience Methods*, 51, 107-116.

Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139(2), 267-284.

Beaulieu, J. M., Espinoza, S., Gainetdinov, R. R. (2015). Dopamine receptors – IUPHAR Review 13. *British Journal of Pharmacology*, 172, 1-23.

Beaulieu, J. M., Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacological Reviews*, 63(1), 182-217.

Beaulieu, J. M., Sotnikova, T. D., Marion, S., Lefkowitz, R. J., Gainetdinov R. R., Caron, M. G. (2005). An Akt/beta-arrestin 2/PP2A signaling complex mediates dopaminergic neurotransmission and behavior. *Cell*, 122, 261-273.

Becker, J. B., Arnold, A. P., Berkley, K. J., Blaustein, J. D., Eckel, L. A., Hampson, E., Herman, J. P., Marts, S., Sadee, W., Steiner, M., Taylor, J., Young, E. (2005). Strategies and methods for research on sex differences in brain and behavior. *Endocrinology*, 146(4), 1650-1673.

Bédard, P. J., Malouin, F., Dipaolo, T., Labrie, F. (1979). Estradiol, TRH and striatal dopaminergic mechanisms. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 6(4-6), 555-561.

Benlidayi, I. C. (2019). Role of inflammation in the pathogenesis and treatment of fibromyalgia. *Rheumatology International*, 39(5), 781-791.

Bingham, B., Ajit, S. K., Blake, D. R., Samad, T. A. (2009). The molecular basis of pain and its clinical implications in rheumatology. *Nature Clinical Practice Rheumatology*, 5, 28-37.

Björklund, A., Dunnett, S. B. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in Neurosciences*, 30(5), 194-202.

Blanchet, P. J., Brefel-Courbon, C. (2018). Chronic pain and pain processing in Parkinson's disease. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 87(B), 200-206.

Blasco-Serra, A., Alfosea-Cuadrado, G., Cervera-Ferri, A., González-Soler, E. M., Lloret, A., Martínez-Ricós, J., Teruel-Martí, V., Valverde-Navarro, A. A. (2020). Hippocampal

oscillatory dynamics and sleep atonia are altered in an animal model of fibromyalgia: Implications in the search for biomarkers. *Journal of Comparative Neurology*, 528(8), 1367–1391.

Blasco-Serra, A., Escrihuela-Vidal, F., González-Soler, E. M., Martínez-Expósito, F., Blasco Ausina, M. C., Martínez-Bellver, S., Cervera-Ferri, A. (2015). Depressive-like symptoms in a reserpine-induced model of fibromyalgia. *Physiology and Behavior*, 15, 456-462.

Blaustein, J. D., Erskine, M. S. (2002). Feminine sexual behavior: cellular integration of hormonal and afferent information in the rodent forebrain. En: Pfaff, D. W., Arnold, A. P., Etgen, A. M., Fahrbach, S. E., Rubin, R.T. (Eds.), *Hormones, brain and behavior*. New York: Academic Press, pp. 139–214.

Bossema, E. R., vanMiddenhorp, H., Jacobs, J. W., Bijlsma, J. W., Geenen, R. (2013). Influence of weather on daily symptoms of pain and fatigue in female patients with fibromyalgia: a multilevel regression analysis. *Arthritis and Care Research*, 65, 1019-1025.

Bourne, J. A. (2001). SCH 23390: the first selective dopamine D1-like receptor antagonist. *CNS Drug Reviews*, 7(4), 399-414.

Bouvier, M. L., Fehsel, K., Schmitt, E., Mesenzahl-Lechner, E., Gaebel, W., von Wilmsdorff, M. (2020). Sex-dependent alterations of dopamine receptor and glucosa transporter density in rat hypothalamus under long-term clozapine and haloperidol medication. *Brain Behavior*, 10(8), e01694.

Brodin, E., Ernberg, M., Olgart, L. (2016). Neurobiology: General considerations – from acute to chronic pain. *Den Norske Tannlegeforenings Tidende*, 126, 28-33.

Brum, E. S., Fialho, M. F. P., Fischer, S. P. M., Hartmann, D. D., Gonçalves, D. F., Scussel, R., Machado-de-Ávila, R. A., Corte, C. L. D., Soares, F. A. A., Oliveira, S. M. (2020). Relevance of mitochondrial dysfunction in the reserpine-induced experimental fibromyalgia model. *Molecular Neurobiology*, 57, 4202–4217.

Brumovsky, P. R. (2016). Dorsal root ganglion neurons and tyrosine hydroxylase--an intriguing association with implications for sensation and pain. *Pain*, 157(2), 314-320.

Brusco, I., Justino, A. B., Silva, C. R., Fischer, S., Cunha, T. M., Scussel, R., Machado-de-Ávila, R. A., Ferreira, J., Oliveira, S. M. (2019). Kinins and their B₁ and B₂ receptors are involved in fibromyalgia-like pain symptoms in mice. *Biochemical Pharmacology*, 168, 119–132.

Brusco, I., Justino, A. B., Silva, C. R., Scussel, R., Machado-de-Ávila, R. A., Oliveira, S. M. (2021). Inhibitors of angiotensin I converting enzyme potentiate fibromyalgia-like pain symptoms via kinin receptors in mice. *European Journal of Pharmacology*, 895, 173870.

Burris, K. D., Pacheco, M. A., Filtz, T. M., Kung, M. P., Kung, H. F., Molinoff, P. B. (1995). Lack of discrimination by agonists for D₂ and D₃ dopamine receptors. *Neuropsychopharmacology*, 12(4), 335-345.

Buskila, D., Cohen, H., Neumann, L., Ebstein, R. (2004). An association between fibromyalgia and the dopamine D₄ receptor exon III repeat polymorphism and relationship to novelty seeking personality traits. *Molecular Psychiatry*, 9(8), 730-731.

Campi, K. L., Greenberg, G. D., Kapoor, A., Ziegler, T. E., Trainor, B. C. (2013). Sex differences in effects of dopamine D₁ receptors on social withdrawal. *Neuropharmacology*, 77, 218-216.

Cantrell, A. R., Smith, R. D., Goldin, A. L., Scheuer, T., Catterall, W. A. (1997). Dopaminergic modulation of sodium current in hippocampal neurons via cAMP-dependent phosphorylation of specific sites in the sodium channel α subunit. *The Journal of Neuroscience*, 17, 7330–7338.

Cao, L. F., Peng, X. Y., Huang, Y., Wang, B., Zhou, F. M., Cheng, R. X., Chen, L. H., Luo, W. F., Liu, T. (2016). Restoring spinal noradrenergic inhibitory tone attenuates pain hypersensitivity in a rat model of Parkinson's disease. *Neural Plasticity*, 2016, 6383240.

Cardoso-Cruz, H., Dourado, M., Monteiro, C., Matos, M. R., Galhardo, V. (2014). Activation of dopaminergic D₂/D₃ receptors modulates dorsoventral connectivity in the hippocampus and reverses the impairment of working memory after nerve injury. *The Journal of Neuroscience*, 34, 5861-6873.

Caro, X. J., Winter, E. F. (2014). Evidence of abnormal epidermal nerve fiber density in fibromyalgia: clinical and immunologic implications. *Arthritis and Rheumatology*, 66(7), 1945-1954.

Caxaria, S., Bharde, S., Fuller, A. M., Evans, R., Thomas, B., Celik, P., Dell'Accio, F., Yona, S., Gilroy, D., Voisin, M. B., Wood, J. N., Sikandar, S. (2023). Neutrophils infiltrate sensory ganglia and mediate chronic widespread pain in fibromyalgia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120(17), e2211631120.

Cervenka, S., Pålhagen, S. E., Comley, R. A., Panagiotidis, G., Cselenyi, Z., Matthews, J. C., Lai, R. Y., Halldin, C., Farde, L. (2006). Support for dopaminergic hypoactivity in restless legs syndrome: a PET study on D₂-receptor binding. *Brain*, 129, 2017-2028.

- Chakraborty, S., Rebecchi, M., Kaczocha, M., Puopolo, M. (2016). Dopamine modulation of transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) receptor in dorsal root ganglia neurons. *The Journal of Physiology*, 594(6), 1627-1642.
- Chang, E. C., Frasor, J., Komm, B., Katzenellenbogen, B. S. (2006). Impact of estrogen receptor beta on gene networks regulated by estrogen receptor alpha in breast cancer cells. *Endocrinology*, 147(10), 4831–4842.
- Chang, P. C., Pollema-Mays, S. L., Centeno, M. V., Procissi, D., Contini, M., Baria, A. T., Martina, M., Apkarian, A. V. (2014). Role of nucleus accumbens in neuropathic pain: linked multi-scale evidence in the rat transitioning to neuropathic pain. *Pain*, 155, 1128-1139.
- Chaplan, S. R., Bach, F. W., Chung, J. M., Yaksh, T. L. (1994). Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *The Journal of Neuroscience Methods*, 53, 55-63.
- Charbit, A. R., Akerman, S., Goadsby, P. J. (2009). Comparison of the effects of central and peripheral dopamine receptor activation on evoked firing in the trigeminocervical complex. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 331, 752-763.
- Charbit, A. R., Akerman, S., Goadsby, P. J. (2011). Trigemino-cervical complex responses after lesioning dopaminergic A11 nucleus are modified by dopamine and serotonin mechanisms. *Pain*, 152, 2365-2376.
- Chen, Q., Zhang, W., Sadana, N., Chen, X. (2021). Estrogen receptors in pain modulation: cellular signaling. *Biology of Sex Differences*, 12(1), 22.
- Choleris, E., Clipperton-Allen, A. E., Gray, D. G., Diaz-Gonzalez, S., Welsman, R. G. (2011). Differential effects of dopamine receptor D₁-type and D₂-type antagonists and phase of the estrous cycle on social learning of food preferences, feeding, and social interactions in mice. *Neuropsychopharmacology*, 36(8), 1689-1702.
- Ciampi de Andrade, D., Maschietto, M., Galhardoni, R., Gouveia, G., Chile, T., Victorino-Krepischi, A. C., Dale, C. S., Brunoni, A. R., Parravano, D. C., Cueva-Moscoso, A. S., Raicher, I., Kaziyama, H. H. S., Teixeira, M. J., Brentani, H. P. (2017). Epigenetics insights into chronic pain: DNA hypomethylation in fibromyalgia—a controlled pilot-study. *Pain*, 158(8), 1473-1480.
- Clauw, D. J. (2014). Fibromyalgia: A clinical review. *Journal of the American Medical Association*, 311(15), 1547-1555.
- Clauw, D. J., Mease, P., Palmer, R. H., Gendreau, R. M., Wang, Y. (2008). Milnacipran for the treatment of fibromyalgia in adults: a 15-week, multicenter, randomized, double-

blind, placebo-controlled, multiple-dose clinical trial. *Clinical Therapeutics*, 30(11), 1988–2004.

Cobacho, N., De la Calle, J. L., González-Escalada, J. R., Paíno, C. L. (2010). Levodopa analgesia in experimental neuropathic pain. *Brain Research Bulletin*, 83, 304-309.

Cobacho, N., De la Calle, J. L., Paíno, C. L. (2014). Dopaminergic modulation of neuropathic pain: Analgesia in rats by a D2-type receptor agonist. *Brain Research Bulletin*, 106, 62-71.

Coffeen, U., Ortega-Legaspi, J. M., de Gortari, P., Simón-Arceo, K., Jaimes, O., Amaya, M. I., Pellicer, F. (2010). Inflammatory nociception diminishes dopamine release and increases dopamine D₂ receptor mRNA in the rat's insular cortex. *Molecular Pain*, 6, 75.

Cohen, S. P., Verdolin, M. H., Chang, A. S., Kurihara, C., Morlando, B. J., Mao, J. (2006). The intravenous ketamine test predicts subsequent response to an oral dextromethorphan treatment regimen in fibromyalgia patients. *The Journal of Pain*, 7(6), 398–391.

Cook, D. B., Lange, G., Ciccone, D. S., Liu, W.-C., Steffener, J., Natelson, B. H. (2004). Functional imaging of pain in patients with primary fibromyalgia. *The Journal of Rheumatology*, 31(2), 364-378.

Cordero, M. D., Alcocer-Gómez, E., Culic, O., Carrión, A. M., de Miguel, M., Díaz-Parrado, E., Pérez-Villegas, E. M., Bullón, P., Battino, M., Sánchez-Alcazar, J. A. (2014). NLRP3 inflammasome is activated in fibromyalgia: the effect of coenzyme Q10. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(8), 1169-1180.

Cordero, M. D., Moreno-Fernández, A. M., deMiguel, M., Bonal, P., Campa, F., Jiménez-Jiménez, L. M., Ruiz-Losada, A., Sánchez-Domínguez, B., Sánchez Alcázar, J. A., Salviati, L., Navas, P. (2009). Coenzyme Q10 distribution in blood is altered in patients with fibromyalgia. *Clinical Biochemistry*, 42(7-8), 732-735.

Corkrum, M., Covelo, A., Lines, J., Bellocchio, L., Pisansky, M., Loke, K., Quintana, R., Rothwell, P. E., Lujan, R., Marsicano, G., Martin, E. D., Thomas, M. J., Kofuji, P., Araque, A. (2020). Dopamine-evoked synaptic regulation in the nucleus accumbens requires astrocyte activity. *Neuron*, 105(6), 1036-1047.

Costigan, M., Scholz, J., Woolf, C. J. (2009). Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annual Review of Neuroscience*, 32, 1-32.

Covarrubias-Gómez, A., Carrillo-Torres, O. (2016). Actualidades conceptuales sobre fibromialgia. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 39(1), 58-63.

- Covarrubias-Gómez, A., Guevara-López, U., Guitiérrez-Salmerón, C., Betancourt-Sandoval, J. A., Córdova-Domínguez, J. A. (2010). Epidemiología del dolor crónico en México. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 33(4), 207-213.
- Crofford, L. J., Rowbotham, M. C., Mease, P. J., Russell, I. J., Dworkin, R. H., Corbin, A. E., Young, J. P. Jr., LaMoreaux, L. K., Martin, S. A., Sharma, U., Pregabalin 1008-105 Study Group. (2005). Pregabalin for the treatment of fibromyalgia syndrome: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis and Rheumatism*, 52(4), 1264-1273.
- da Rocha, A. P., Mizzaci, C. C., Nunes Pinto, A. C. P., da Silva Vieira, A. G., Civile, V., Trevisani, V. F. M. (2020). Tramadol for management of fibromyalgia pain and symptoms: Systematic review. *International Journal of Clinical Practice*, 74(3), e13455.
- Dagnino, A. P. A., da Silva, R. B. M., Chagastelles, P. C., Pereira, T. C. B., Venturin, G. T., Greggio, S., Costa da Costa, J., Bogo, M. R., Campos, M. M. (2019). Nociceptin/orphanin FQ receptor modulates painful and fatigue symptoms in a mouse model of fibromyalgia. *Pain*, 160(6), 1383-1401.
- Dale, J., Zhou, H., Zhang, Q., Martinez, E., Hu, S., Liu, K., Urien, L., Chen, Z., Wang, J. (2018). Scaling up cortical control inhibits pain. *Cell Reports*, 23(5), 1301-1313.
- D'Astous, M., Morissette, M., Tanguay, B., Callier, S., Di Paolo, T. (2003). Dehydroepiandrosterone (DHEA) such as 17beta-estradiol prevents MPTP-induced dopamine depletion in mice. *Synapse*, 47(1), 10-14.
- De la Luz-Cuellar, Y. E., Rodríguez-Palma, E. J., Franco-Enzástiga, Ú., Salinas-Abarca, A. B., Delgado-Lezama, R., Granados-Soto, V. (2019). Blockade of spinal α_5 -GABA_A receptors differentially reduces reserpine-induced fibromyalgia-type pain in female rats. *European Journal of Pharmacology*, 858, 172443.
- DeSantana, J. M., da Cruz, K., Sluka, K. A. (2013). Animal models of fibromyalgia. *Arthritis Research and Therapy*, 15, 222.
- Di Paolo, T., Carmichael, R., Labrie, F., Raynaud, J. P. (1979). Effects of estrogens on the characteristics of [³H]spiroperidol and [³H]RU24213 binding in rat anterior pituitary gland and brain. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 16(2), 99-112.
- Dixon, W. J. (1980). Efficient analysis of experimental observations. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 20, 441-462.
- Doppler, K., Rittner, H. L., Deckart, M., Sommer, C. (2015). Reduced dermal nerve fiber diameter in skin biopsies of patients with fibromyalgia. *Pain*, 156(11), 2319-2325.

Dreyer, J. K., Herrik, K. F., Berg, R. W., Hounsgaard, J. D. (2010). Influence of phasic and tonic dopamine release on receptor activation. *The Journal of Neuroscience*, 30(42), 14273-14283.

Dubin, A. E., Patapoutian, A. (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3760-3772.

Dubois, A., Savasta, M., Curet, O., Scatton, B. (1986). Autoradiographic distribution of the D1 agonist [³H]SKF 38393, in the rat brain and spinal cord: comparison with the distribution of D2 dopamine receptors. *Neuroscience*, 19, 125-137.

Dudman, J. T., Eaton, M. E., Rajadhyaksha, A., Macías, W., Taher, M., Barczak, A., Kameyama, K., Haganir, R., Konradi, C. (2003). Dopamine D₁ receptors mediate CREB phosphorylation via phosphorylation of the NMDA receptor at Ser897-NR1. *Journal of Neurochemistry*, 87(4), 922-934.

Edwards, S., Callicotatte, C. N., Barattini, A. E., Cucinello-Ragland, J. A., Melain, A., Edwards, K. N., Gilpin, N. W., Avegno, E. M., Pahng, A. R. (2022). Pramipexole treatment attenuates mechanical hypersensitivity in male rats experiencing chronic inflammatory pain. *Neuropharmacology*, 208, 108976.

Egloff, N., Cámara, R. J. A., von Känel, R., Klingler, N., Marti, E., Ferrari, M. G. (2014). Hypersensitivity and hyperalgesia in somatoform pain disorders. *General Hospital Psychiatry*, 36, 284-290.

Ejiri, Y., Uta, D., Ota, H., Mizumura, K., Taguchi, T. (2022). Nociceptive chemical hypersensitivity in the spinal cord of a rat reserpine-induced fibromyalgia model. *Neuroscience Research*, 181, 87-94.

Elam, M., Johansson, G., Wallin, B. G. (1992). Do patients with primary fibromyalgia have an altered muscle sympathetic nerve activity? *Pain*, 48, 371-375.

Faramarzi G, Zendehtdel M, Haghparast A. (2016). D1- and D2-like dopamine receptors within the nucleus accumbens contribute to stress-induced analgesia in formalin-related pain behaviours in rats. *European Journal of Pain*, 20(9), 1423-1432.

Favero, G., Trapletti, V., Bonomini, F., Stacchiotti, A., Lavazza, A., Rodella, L. F., Rezzani, R. (2017). Oral supplementation of melatonin protects against fibromyalgia-related skeletal muscle alterations in reserpine-induced myalgia rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1389.

Ferrarini, E. G., Gonçalves, E. C. D., Ferrareis Menegasso, J., Rabelo, B. D., Felipetti, F. A., Dutra, R. C. (2021). Exercise reduces pain and deleterious histological effects in fibromyalgia-like model. *Neuroscience*, 465, 46-59.

Ferrarini, E. G., Paes, R. S., Baldasso, G. M., Mendonça de Assis, P., Gouvea, M. C., De Cicco, P., Barbosa Raposo, N. R., Capasso, R., Gasnhar Moreira, E. L., Dutra, R. C. (2022). Broad-spectrum cannabis oil ameliorates reserpine-induced fibromyalgia model in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 154, 113552.

Ferreira, S., González, S. (2022). Therapeutic potential of progesterone in spinal cord injury-induced neuropathic pain: At the crossroads between neuroinflammation and N-methyl-D-aspartate receptor. *Journal of Neuroendocrinology*, 35(2), e13181.

Finnerup, N. B., Attal, N., Haroutounian, S., McNicol, E., Baron, E., Dworkin, R. H., Gilron, I., Haanpää, M., Hansson, P., Jensen, T. S., Kamerman, P. R., Lund, K., Moore, A., Raja, S. N., Rice, A. S. C., Rowbotham, M., Sena, E., Siddall, P., Smith, B. H., Wallace, M. (2015). Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*, 14(2), 162-173.

Fischer, S. P. M., Brusco, I., Brum, E. S., Fialho, M. F. P., Camponogara, C., Scussel, R., Oliveira, S. M. (2020). Involvement of TRPV1 and the efficacy of α -spinasterol on experimental fibromyalgia symptoms in mice. *Neurochemistry International*, 134, 104673.

Fitzcharles, M. A., Cohen, S. P., Clauw, D. J., Littlejohn, G., Usui, C., Häuser, W. (2021). Nociceptive pain: towards an understanding of prevalent pain conditions. *The Lancet*, 397, 2098-2110.

Fleetwood-Walker, S. M., Hope, P. J., Mitchell, R. (1988). Antinociceptive actions of descending dopaminergic tracts on cat and rat dorsal horn somatosensory neurons. *Journal of Physiology*, 399(5), 335-348.

Flores, J. A., El Banoua, F., Galán-Rodríguez, B., Fernandez-Espejo, E. (2004). Opiate anti-nociception is attenuated following lesion of large dopamine neurons of the periaqueductal grey: critical role for D1 (not D2) dopamine receptors. *Pain*, 110(1-2), 205-214.

Foerster, B. R., Petrou, M., Edden, R. A. E., Sundgren, P. C., Schmidt-Wilcke, T., Lowe, S. E., Harte, S. E., Clauw, D. J., Harris, R. E. (2012). Reduced insular γ -aminobutyric acid in fibromyalgia. *Arthritis and Rheumatism*, 64(2), 579-583.

Foerster, B. R., Petrou, M., Harris, R. E., Barker, P. B., Hoeffner, E. G., Clauw, D. J., Sundgren, P. C. (2011). Cerebral blood flow alterations in pain-processing regions of

patients with fibromyalgia using perfusion MR imaging. *AJNR American Journal of Neuroradiology*, 32(10), 1873-1878.

Freeman, M. E., Kanyicska, B., Lerant, A., Nagy, G. (2000). Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiological Reviews*, 80(4), 1524-1631.

Fusco, R., Siracusa, R., D'Amico, R., Peritore, A. F., Cordaro, M., Gugliandolo, E., Crupi, R., Impellizzeri, D., Cuzzocrea, S., Di Paola, R. (2019). Melatonin plus folic acid treatment ameliorates reserpine-induced fibromyalgia: An evaluation of pain, oxidative stress, and inflammation. *Antioxidants (Basel)*, 8(12), 628.

Fuxe, K., Agnati, L. F., Merlo Pich, E., Meller, E., Goldstein, M. (1987). Evidence for a fast receptor turnover of D₁ dopamine receptors in various forebrain regions of the rat. *Neuroscience Letters*, 81(1-2), 183-187.

Galbavy, W., Safaie, E., Rebecchi, M. J., Puopolo M. (2013). Inhibition of tetrodotoxin-resistant sodium current in dorsal root ganglia neurons mediated by D₁/D₅ dopamine receptors. *Molecular Pain*, 9, 60.

Gao, X., Zhang, Y., Wu, G. (2001). Effects of dopaminergic agents on carrageenan hyperalgesia after intrathecal administration to rats. *European Journal of Pharmacology*, 418, 73-77.

Gee, T. A., Weintraub, N. C., Lu, D., Phelps, C. E., Navratilova, E., Heien, M. L., Porreca, F. (2020). A pain-induced tonic hypodopaminergic state augments phasic dopamine release in the nucleus accumbens. *Pain*, 161(10), 2376-2384.

Gerfen, C. R., Miyachi, S., Paletzki, R., Brown, P. (2002). D₁ dopamine receptor supersensitivity in the dopamine-depleted striatum results from a switch in the regulation of ERK1/2/MAP kinase. *The Journal of Neuroscience*, 22, 5042–5054.

Ghoneim, F. M., Abo-Elkhair, S. M., Elsamanoudy, A. Z., Shabaan, D. A. (2021). Evaluation of endothelial dysfunction and autophagy in fibromyalgia-related vascular and cerebral cortical changes and the ameliorative effect of fisetin. *Cells*, 11(1), 48.

Gilbert, D. L., Murphy, T. K., Jankovic, J., Budman, C. L., Black, K. J., Kurlan, R. M., Coffman, K. A., McCracken, J. T., Juncos, J., Grant, J. E., Chipkin, R. E. (2018). Ecopipam, a D₁ receptor antagonist, for treatment of tourette syndrome in children: A randomized, placebo-controlled crossover study. *Movement Disorders*, 33(8), 1272-1280.

Glangetas, C., Georges, F. (2016). Pharmacology of the bed nucleus of the stria terminalis. *Current Pharmacology Reports*, 2, 262-270.

- Goebel, A., Krock, E., Gentry, C., Israel, M. R., Jurczak, A., Urbina, C. M., Sandor, K., Vastani, N., Maurer, M., Cuhadar, U., Sensi, S., Nomura, Y., Menezes, J., Baharpoor, A., Brieskorn, L., Sandström, A., Tour, J., Kadetoff, D., Haglund, L., Kosek, E., Bevan, S., Svensson, C. I., Andersson, D. A. (2021). Passive transfer of fibromyalgia symptoms from patients to mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 131(13), e144201.
- Gold, M. S., Stucky, C. L. (2020). Molecular Biology of the Nociceptor/Transduction. En B. Fritsch (ed.), *The Senses: A Comprehensive Reference* (2da edición, pp. 88-119). Elsevier.
- Goldberg, D. S., McGee, S. J. (2011). Pain as a global public health priority. *BMC Public Health*, 11, 770.
- Gordon, F. T., Soliman, M. R. (1996). The effects of estradiol and progesterone on pain sensitivity and brain opioid receptors in ovariectomized rats. *Hormones and Behavior*, 30(3), 244-250.
- Grace, A. A. (1991). Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience*, 41, 1–24.
- Gracely, R. H., Petzke, F., Wolf, J. M., Clauw, D. J. (2002). Functional magnetic resonance imaging evidence of augmented pain processing in fibromyalgia. *Arthritis and Rheumatism*, 46(5), 1333-1343.
- Greengard, P., Allen, P. B., Nairn, A. C. (1999). Beyond the dopamine receptor: the DARPP-32/protein phosphatase-1 cascade. *Neuron*, 23, 435-447.
- Griep, E. N., Boersma, J. W., Kloet, E. R. (1993). Altered activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the primary fibromyalgia syndrome. *The Journal of Rheumatology*, 20, 469-474.
- Grimm, S. L., Hartig, S. M., Edwards, D. P. (2016). Progesterone Receptor Signaling Mechanisms. *Journal of Molecular Biology*, 428(19), 3831-3849.
- Grundt, P., Carlson, E. E., Cao, J., Bennett, C. J., McElveen, E., Taylor, M., Luedtke, R. R., Newman, A. H. (2005). Novel heterocyclic trans olefin analogues of N-{4-[4-(2,3-dichlorophenyl)piperazin-1-yl]butyl}arylcaboxamides as selective probes with high affinity for the dopamine D3 receptor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(3), 839-848.
- Guillot, T. S., Miller, G. W. (2009). Protective actions of the vesicular monoamine transporter 2 (VMAT2) in monoaminergic neurons. *Molecular Neurobiology*, 39(2), 149–170.

Gurevich, E. V., Joyce, J. N. (1999). Distribution of dopamine D₃ receptor expressing neurons in the human forebrain: comparison with D₂ receptors expressing neurons. *Neuropsychopharmacology*, 20(1), 60-80.

Gutiérrez-Agredano, M. (2022). *Efecto del 17β-estradiol sobre la función de los receptores GABA_A-α6 en un modelo de fibromialgia en ratas*. Tesis de maestría del Departamento de Farmacobiología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav), Sede Sur.

Hagelberg, N., Forssell, H., Aalto, S., Rinne, J. O., Scheinin, H., Taiminen, T., Nagren, K., Eskola, O., Jääskeläinen, S. K. (2003a). Altered dopamine D₂ receptor binding in atypical facial pain. *Pain*, 106(1), 43–48.

Hagelberg, N., Forssell, H., Rinne, J. O., Scheinin, H., Taiminen, T., Aalto, S., Luutonen, S., Nägren, K., Jääskeläinen, S. (2003b). Striatal dopamine D₁ and D₂ receptors in burning mouth syndrome. *Pain*, 101(1-2), 149-154.

Hagelberg, N., Martikainen, I. K., Mansikka, H., Hinkka, S., Nagren, K., Hietala, J., Scheinin, H., Pertovaara, A. (2002). Dopamine D₂ receptor binding in the human brain is associated with the response to painful stimulation and pain modulatory capacity. *Pain*, 99(1), 273–279.

Hagiwara, H., Funabashi, T., Akema, T., Kimura, F. (2013). Sex-specific differences in pain response by dopamine in the bed nucleus of the stria terminalis in rats. *Neuroreport*, 24(4), 181-185.

Hakim, J. D., Chami, J., Keay, K. A. (2020). μ-Opioid and dopamine-D₂ receptor expression in the nucleus accumbens of male Sprague-Dawley rats whose sucrose consumption, but not preference, decreases after nerve injury. *Behavioural Brain Research*, 381, 112416.

Harris, R. E. (2010). Elevated excitatory neurotransmitter levels in the fibromyalgia brain. *Arthritis Research and Therapy*, 12(5), 141.

Harris, R. E., Clauw, D. J., Scott, D. J., McLean, S. A., Gracely, R. H., Zubieta, J. K. (2007). Decreased central mu-opioid receptor availability in fibromyalgia. *The Journal of Neuroscience*, 27(37), 10000-10006.

Harris, R. E., Napadow, V., Huggins, J. P., Pauer, L., Kim, J., Hampson, J., Sundgren, P. C., Foerster, B., Petrou, M., Schmidt-Wilcke, T., Clauw, D. J. (2013). Pregabalin rectifies aberrant brain chemistry, connectivity, and functional response in chronic pain patients. *Anesthesiology*, 119(6), 1453-1464.

- Harris, R. E., Sundgren, P. C., Craig, A. D., Kirshenbaum, E., Sen, A., Napadow, V., Clauw, D. J. (2009). Elevated insular glutamate in fibromyalgia is associated with experimental pain. *Arthritis and Rheumatism*, 60(10), 3146-3152.
- Häuser, W., Petzke, F., Üçeyler, N., Sommer, C. (2011). Comparative efficacy and acceptability of amitriptyline, duloxetine and milnacipran in fibromyalgia syndrome: a systematic review with meta-analysis. *Rheumatology*, 50(3), 532–543.
- Heijtz, R. D., Beraki, S., Scott, L., Aperia, A., Forssberg, H. (2002). Sex differences in the motor inhibitory and stimulatory role of dopamine D₁ receptors in rats. *European Journal of Pharmacology*, 445(1-2), 97-104.
- Heinricher, M. M., Tavares, I., Leith, J. L., Lumb, B. M. (2009). Descending control of nociception: specificity, recruitment, and plasticity. *Behavioural Brain Research*, 195(1), 214-225.
- Henningsen, P., Zipfel, S., Herzog, W. (2007). Management of functional somatic syndromes. *The Lancet*, 369, 946-955.
- Hernandez-Leon, A., De la Luz-Cuellar, Y. E., Granados-Soto, V., González-Trujano, M. E., Fernández-Guasti, A. (2018). Sex differences and estradiol involvement in hiperalgesia and allodynia in an experimental model of fibromyalgia. *Hormones and Behavior*, 97, 39-46.
- Hernandez-Leon, A., Fernández-Guasti, A., Martínez, A., Pellicer, F., González-Trujano, M. E. (2019). Sleep architecture is altered in the reserpine-induced fibromyalgia model in ovariectomized rats. *Behavioral Brain Research*, 364, 383-392.
- Holman, A. J. (2003). Ropinirole, open preliminary observations of a dopamine agonist for refractory fibromyalgia. *Journal of Clinical Rheumatology*, 9(4), 277–279.
- Holman, A. J., Myers, R. R. (2005). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of pramipexole, a dopamine agonist, in patients with fibromyalgia receiving concomitant medications. *Arthritis and Rheumatism*, 52(8), 2495–2505.
- Hossaini, M., Goos, J. A. C., Kohli, S. K., Holstege, J. C. (2012). Distribution of glycine/GABA neurons in the ventromedial medulla with descending spinal projections and evidence for an ascending glycine/GABA projection. *PLoS One*, 7(4), e35293.
- Hou, S., Carson, D. M., Wu, D., Klaw, M. C., Houlé, J. D., Tom, V. J. (2016). Dopamine is produced in the rat spinal cord and regulates micturition reflex after spinal cord injury. *Experimental Neurology*, 285(B), 136-146.

Howell, A., Osborne, C. K., Morris, C., Wakeling, A. E. (2000). ICI 182,780 (Faslodex): development of a novel, “pure” antiestrogen. *Cancer*, 89(4), 817-825.

Hruska, R. E., Ludmer, L. M., Pitman, K. T., De Ryck, M., Silbergeld, E. K. (1982). Effects of estrogen on striatal dopamine receptor function in male and female rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 16(2), 285-291.

Huang, S., Zhang, Z., Gambeta, E., Xu, S. C., Thomas, C., Godfrey, N., Chen, L., M'Dahoma, S., Borgland, S. L., Zamponi, G. W. (2020). Dopamine inputs from the ventral tegmental area into the medial prefrontal cortex modulate neuropathic pain-associated behaviors in mice. *Cell Reports*, 31(12), 107812.

Jääskeläinen, S. K., Rinne, J. O., Forssell, H., Tenovuo, O., Kaasinen, V., Sonninen, P., Bergman, J. (2001). Role of the dopaminergic system in chronic pain – a fluorodopa-PET study. *Pain*, 90(3), 257-260.

Jacobsen, B. M., Horwitz, K. B. (2012). Progesterone receptors, their isoforms and progesterone regulated transcription. *Molecular and Cell Endocrinology*, 357(1-2), 18-29.

Jain, K. A., Carruthers, M., Van de Sande, M. I., Barron, R., Donaldson, S., Dunne, J. V. (2003). Fibromyalgia syndrome: Canadian clinical working case definition, diagnostic and treatment protocols – a consensus document. *Journal of Musculoskeletal Pain*, 11, 3-107.

Jensen, K. B., Kosek, E., Petzke, F., Carville, S., Fransson, P., Marcus, H., Williams, S. C. R., Choy, E., Giesecke, T., Mainguy, Y., Gracely, R., Ingvar, M. (2009). Evidence of dysfunctional pain inhibition in fibromyalgia reflected in rACC during provoked pain. *Pain*, 144, 95-100.

Ji, Y., Murphy, A. Z., Traub, R. J. (2006). Sex differences in morphine-induced analgesia of visceral pain are supraspinally and peripherally mediated. *Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 291(2), R307–R314.

Ji, Y., Tang, B., Traub, R. J. (2011). Spinal estrogen receptor alpha mediates estradiol-induced pronociception in a visceral pain model in the rat. *Pain*, 152(5), 1182-1191.

Johnson, M. I., Claydon, L. S., Herbison, G. P., Jones, G., Paley, C. A. (2017). Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for fibromyalgia in adults. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 10(10), CD012172.

Jordan, C. J., Humburg, B., Rice, M., Bi, G. H., You, Z. B., Shaik, A. B., Cao, J., Bonifazi, A., Gadiano, A., Rais, R., Slusher, B., Newman, A. H., Xi, Z. X. (2019). The highly selective dopamine D3R antagonist, R-VK4-40 attenuates oxycodone reward and augments analgesia in rodents. *Neuropharmacology*, 158, 107597.

- Joue, G., Chakroun, K., Bayer, J., Gläscher, J., Zhang, L., Fuss, J., Hennies, N., Sommer, T. (2022). Sex differences and exogenous estrogen influence learning and brain responses to prediction errors. *Cerebral Cortex*, 32(9), 2022-2036.
- Julius, D., Basbaum, A. I. (2001). Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, 413(6852), 203-210.
- Kadetoff, D., Lampa, J., Westman, M., Andersson, M., Kosek, E. (2012). Evidence of central inflammation in fibromyalgia-increased cerebrospinal fluid interleukin-8 levels. *Journal of Neuroimmunology*, 242, 33-38.
- Kami, K., Tajima, F., Senba, E. (2018). Activation of mesolimbic reward system via laterodorsal tegmental nucleus and hypothalamus in exercise-induced hypoalgesia. *Scientific Reports*, 8(1), 11540.
- Kaneko, K., Umehara, M., Homan, T., Okamoto, K., Oka, M., Oyama, T. (2014). The analgesic effect of tramadol in animal models of neuropathic pain and fibromyalgia. *Neuroscience Letters*, 562, 28-33.
- Kato, G., Yasaka, T., Katafuchi, T., Furue, H., Mizuno, M., Iwamoto, Y., Yoshimura, M. (2006). Direct GABAergic and glycinergic inhibition of the substantia gelatinosa from the rostral ventromedial medulla revealed by in vivo patch-clamp analysis in rats. *The Journal of Neuroscience*, 26(6), 1787-1794.
- Katz, R. S., Leavitt, F., Small, A. K., Small, B. J. (2021). Intramuscular pressure is almost three times higher in fibromyalgia patients: a possible mechanism for understanding the muscle pain and tenderness. *The Journal of Rheumatology*, 48(4), 598-602.
- Kaur, A., Singh, L., Singh, N., Bhatti, M. S., Bhatti, R. (2019). Ameliorative effect of imperatorin in chemically induced fibromyalgia: Role of NMDA/NFκB mediated downstream signaling. *Biochemical Pharmacology*, 166, 56–69.
- Kawamoto, K., Otsuguro, K., Ishizuka, M., Ito, S. (2012). Inhibitory effects of dopamine on spinal synaptic transmission via dopamine D1-like receptors in neonatal rats. *British Journal of Pharmacology*, 166(2), 788-800.
- Khalid, S., Soomro, B. A., Mahmood, Z. (2015). Efficacy of memantine in treating patients with fibromyalgia. *Pakistan Journal of Neurological Sciences*, 10(3), 31–36.
- Khan, Z. U., Gutiérrez, A., Martín, R., Peñafiel, A., Rivera, A., De la Calle, A. (2000). Dopamine D₅ receptors of rat and human brain. *Synapse*, 37(2), 125-145.

Khasar, S. G., Green, P. G., Levine, J. D. (2005). Repeated sound stress enhances inflammatory pain in the rat. *Pain*, 116(1–2), 79–86.

Khurshid, H., Qureshi, I. A., Jahan, N., Went, T. R., Waleed, S., Sapkota, A., Alfonso, M. (2021). A systematic review of fibromyalgia and recent advancements in treatment: is medicinal cannabis a new hope? *Cureus*, 13(8), e17332.

Kim, J. Y. V., Tillu, D. V., Quinn, T. L., Mejía, G. L., Shy, A., Asiedu, M. N. K., Murad, E., Schumann, A. P., Totsch, S. K., Sorge, R. E., Mantyh, P. W., Dussor, G., Price, T. J. (2015). Spinal dopaminergic projections control the transition to pathological pain plasticity via a D₁/D₅-mediated mechanism. *The Journal of Neuroscience*, 35(16), 6307–6317.

Kim, S. W., Choi, J. W., Lee, D. S., Yun, J. W. (2014). Sex hormones regulate hepatic fetuin expression in male and female rats. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 34(2), 554–564.

Klein, M. O., Battagello, D. S., Cardoso, A.R., Hauser, D. N., Bittencourt, J. C., Correa, R. G. (2019). Dopamine: Functions, signaling, and association with neurological diseases. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 39, 31–59.

Klinker, F., Köhnemann, K., Paulus, W., Liebetanz, D. (2017). Dopamine D3 receptor status modulates sexual dimorphism in voluntary wheel running behavior in mice. *Behavioral Brain Research*, 333, 235–241.

Kosek, E., Altawil, R., Kadetoff, D., Finn, A., Westman, M., Le Maitre, E., Andersson, M., Jensen Urstad, M., Lampa, J. (2015). Evidence of different mediators of central inflammation in dysfunctional and inflammatory pain – Interleukin-8 in fibromyalgia and interleukin-1 β in rheumatoid arthritis. *Journal of Neuroimmunology*, 280, 49–55.

Kosek, E., Clauw, D., Nijs, J., Baron, R., Gilron, I., Harris, R. E., Mico, J. A., Rice, A. S. C., Sterling, M. (2021). Chronic nociplastic pain affecting the musculoskeletal system: clinical criterion and grading system. *Pain*, 162(11), 2629–2634.

Kosek, E., Cohen, M., Baron, R., Gebhart, G. F., Mico, J. A., Rice, A. S. C., Rief, W., Sluka, K. A. (2016). Do we need a third mechanistic descriptor for chronic pain states? *Pain*, 157(7), 1382–1386.

Kuba, T., Wu, H. B. K., Nazarian, A., Festa, E. D., Barr, G. A., Jenab, S., Inturrisi, C. E., Quinones-Jenab, V. (2016). Estradiol and progesterone differentially regulate formalin-induced nociception in ovariectomized female rats. *Hormones and Behavior*, 49(4), 441–449.

- Kulagowski, J. J., Broughton, H. B., Curtis, N. R., Mawer, I. M., Ridgill, M. P., Baker, R., Emms, F., Freedman, S. B., Marwood, R., Patel, S., Patel, S., Ragan, C. I., Leeson, P. D. (1996). 3-[[4-(4-Chlorophenyl)piperazin-1-yl]methyl]-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine: an antagonist with high affinity and selectivity for the human dopamine D₄ receptor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 39(10), 1941-1942.
- LaCroix-Fralish, M. L., Tawfik, V. L., Nutile-McMenemy, N., DeLeo, J. A. (2006). Progesterone mediates gonadal hormone differences in tactile and thermal hypersensitivity following L5 nerve root ligation in female rats. *Neuroscience*, 138(2), 601–608.
- Lançon, K., Qu, C., Navratilova, E., Porreca, F., Séguéla, P. (2021). Decreased dopaminergic inhibition of pyramidal neurons in anterior cingulate cortex maintains chronic neuropathic pain. *Cell Reports*, 37(9), 109933.
- Lapirot, O., Melin, C., Modolo, A., Nicolas, C., Messaoudi, Y., Monconduit, L., Artola, A., Luccarini, P., Dallel, R. (2011). Tonic and phasic descending dopaminergic controls of nociceptive transmission in the medullary dorsal horn. *Pain*, 152, 1821-1831.
- Lara-Castillo, N. (2021). Estrogen signaling in bone. *Applied Sciences*, 11(10), 4439.
- Larson, A., Giovengo, S. L., Russell, I. J., Michalek, J. E. (2000). Changes in the concentrations of amino acids in the cerebrospinal fluid that correlate with pain in patients with fibromyalgia: implications for nitric oxide pathways. *Pain*, 87, 201-211.
- Ledermann, K., Jenewein, J., Sprott, H., Hasler, G., Schnyder, U. (2016). Relation of dopamine receptor 2 binding to pain perception in female fibromyalgia patients with and without depression – A [¹¹C] raclopride PET-study. *European Neuropsychopharmacology*, 26, 320-330.
- Lee, Y. H., Choi, S. J., Ji, J. D., Song, G. G. (2012) Candidate gene studies of fibromyalgia: A systematic review and meta-analysis. *Rheumatology International*, 32, 417-426.
- Levant, B., McCarson, K. E. (2001). D₃ dopamine receptors in rat spinal cord: implications for sensory and motor function. *Neuroscience Letters*, 303, 9-12.
- Levite, M. (2016). Dopamine and T cells: dopamine receptors and potent effects on T cells, dopamine production in T cells, and abnormalities in the dopaminergic system in T cells in autoimmune, neurological and psychiatric diseases. *Acta Physiologica*, 216, 42-89.

Li, J., Price, T. J., Baccei, M. L. (2022). D₁/D₅ dopamine receptors and mGluR5 jointly enable non-hebbian long-term potentiation at sensory synapses onto lamina I spinoparabrachial neurons. *The Journal of Neuroscience*, 42(3), 350-361.

Littlejohn, G., Guymer, E. (2018). Neurogenic inflammation in fibromyalgia. *Seminars in Immunopathology*, 40(3), 291-300.

Liu, L., Shen, R-Y., Kapatos, G., Chiodo, L. A. (1994). Dopamine neuron membrane physiology: characterization of the transient outward current (I_A) and demonstration of a common signal transduction pathway for I_A and I_K. *Synapse*, 17, 230–240.

Liu, P., Xing, B., Chu, Z., Liu, F., Lei, G., Zhu, L., Gao, Y., Chen, T., Dang, Y-H. (2017). Dopamine D3 receptor knockout mice exhibit abnormal nociception in a sex-different manner. *Journal of Neuroscience Research*, 95(7), 1438-1445.

Liu, Q. S., Qiao, J. T., Dafny, N. (1992). D2 dopamine receptor involvement in spinal dopamine-produced antinociception. *Life Sciences*, 51(19), 1485-1492.

Livak, K. J., Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods*, 25(4), 402-408.

London, S. E., Clayton, D. F. (2010). Genomic and neural analysis of the estradiol synthetic pathway in the zebra finch. *BMC Neuroscience*, 11, 46.

López-Ávila, A., Coffeen, U., Ortega-Legaspi, J. M., del Angel, R., Pellicer, F. (2004). Dopamine and NMDA system modulate long term-nociception in the rat anterior cingulate cortex. *Pain*, 111, 136-143.

López-Solà, M., Woo, C. W., Pujol, J., Deus, J., Harrison, B. J., Monfort, J., Wager, T. D. (2017). Towards a neurophysiological signature for fibromyalgia. *Pain*, 158, 34-47.

Lu, Y., Doroshenko, M., Lauzadis, J., Kanjiya, M. P., Rebecchi, M. J., Kaczocha, M., Puopolo, M. (2018). Presynaptic inhibition of primary nociceptive signals to dorsal horn lamina I neurons by dopamine. *The Journal of Neuroscience*, 38(41), 8809-8821.

Luo, Y. Q., Kokkonen, G. C., Wang, X. T., Neve, K. A., Roth, G. S. (1998). D2 dopamine receptors stimulate mitogenesis through pertussis toxin-sensitive G proteins and ras-involved ERK and SAP/JNK pathways in rat C6-D2L glioma cells. *Journal of Neurochemistry*, 71, 980–990.

Maegawa, H., Usami, N., Kudo, C., Hanamoto, H., Niwa, H. (2020). Dopaminergic modulation of orofacial mechanical hypersensitivity induced by infraorbital nerve injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 1945.

- Magnusson, J. E., Fisher, K. (2000). The involvement of dopamine in nociception: the role of D(1) and D(2) receptors in the dorsolateral striatum. *Brain Research*, 855(2), 260-266.
- Maguire, G. A., LaSalle, L., Hoffmeyer, D., Nelson, M., Lochhead, J. D., Davis, K., Burris, A., Yaruss, J. S. (2019). Ecopipam as a pharmacologic treatment of stuttering. *Annals of Clinical Psychiatry*, 31(3), 164-168.
- Majdoub, F., Nessib, D. B., Ferjani, H. L., Kaffel, D., Triki, W., Maatallah, K., Hamdi, W. (2023). Non-pharmacological therapies in fibromyalgia: new horizons for physicians, new hopes for patients. *Musculoskeletal Care*, en prensa.
- Malikowska-Racia, N., Salat, K., Gdula-Argasinska, J., Popik, P. (2021). Sex, pramipexole and tiagabine affect behavioral and hormonal response to traumatic stress in a mouse model of PTSD. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 691598.
- Martikainen, I. K., Hagelberg, N., Jääskeläinen, S. K., Hietala, J., Pertovaara, A. (2018). Dopaminergic and serotonergic mechanisms in the modulation of pain: In vivo studies in human brain. *European Journal of Pharmacology*, 834, 337-345.
- Martikainen, I. K., Nuechterlein, E. B., Pecina, M., Love, T. M., Cummiford, C. M., Green, C. R., Stohler, C. S., Zubieta, J.-K. (2015). Chronic back pain is associated with alterations in dopamine neurotransmission in the ventral striatum. *The Journal of Neuroscience*, 35(27), 9957-9965.
- Martínez-Jauand, M., Sitges, C., Femenia, J., González, S., Chialvo, D., Montoya, P. (2013). Age-of-onset of menopause is associated with enhanced painful and non-painful sensitivity in fibromyalgia. *Clinical Rheumatology*, 32(7), 975-981.
- Martinez-Lavin, M. (2004). Fibromyalgia as a sympathetically maintained pain syndrome. *Current Pain and Headache Reports*, 8(5), 385-389.
- Martinez-Lavin, M., Hermosillo, A. G. (2000). Autonomic nervous system dysfunction may explain the multisystem features of fibromyalgia. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 29(4), 197-199.
- Martinez-Lavin, M., Solano, C. (2009). Dorsal root ganglia, sodium channels, and fibromyalgia sympathetic pain. *Medical Hypothesis*, 72(1), 64-66.
- Martinez-Lavin, M., Vidal, M., Barbosa, R. E., Pineda, C., Casanova, J. M., Nava, A. (2002). Norepinephrine-evoked pain in fibromyalgia. A randomized pilot study [ISRCTN70707830]. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 3, 2.

Martínez-Martínez, L. A., Mora, T., Vargas, A., Fuentes-Iniestra, M., Martínez-Lavin, M. (2014). Sympathetic nervous system dysfunction in fibromyalgia, chronic fatigue syndrome, irritable bowel syndrome, and interstitial cystitis: a review of case-control studies. *Journal of Clinical Rheumatology: practical reports on rheumatic and musculoskeletal diseases*, 20(3), 146-150.

Martins, C. P., Paes, R. S., Baldasso, G. M., Ferrarini, E. G., Scussel, R., Zaccaron, R. P., Machado-de-Ávila, R. A., Lock Silveira, P. C., Dutra, R. C. (2022). Pramipexole, a dopamine D3/D2 receptor-preferring agonist, attenuates reserpine-induced fibromyalgia-like model in mice. *Neural Regeneration Research*, 17(2), 450-458.

Matta, R., Tiessen, A. N., Choleris, E. (2017). The role of dorsal hippocampal dopamine D1-type receptors in social learning, social interactions, and food intake in male and female mice. *Neuropsychopharmacology*, 42(12), 2344-2353.

Mattioli, T. A. M., Milne, B., Cahill, C. M. (2010). Ultra-low dose naltrexone attenuates chronic morphine-induced gliosis in rats. *Molecular Pain*, 6(1), 22.

Maurer, A. J., Lissounov, A., Knezevic, I., Candido, K. D., Knezevic, N. N. (2016). Pain and sex hormones: a review of current understanding. *Pain Management*, 6(3), 285–296.

Mayer, E. A., Bushnell, M. C. (2009). Functional pain disorders: time for a paradigm shift? En: *Functional pain syndromes: presentation and pathophysiology*. IASP Press, 531-565.

Meester, I., Rivera-Silva, G. F., González-Salazar. (2020). Immune system sex differences may bridge the gap between sex and gender in fibromyalgia. *Frontiers in Neuroscience*, 13, 1414.

Megat, S., Shiers, S., Moy, J. K., Barragan-Iglesias, P., Pradhan, G., Seal, R. P., Dussor, G., Price, T. J. (2018). A critical role for dopamine D₅ receptors in pain chronicity in male mice. *The Journal of Neuroscience*, 38(2), 379-397.

Mendieta, D., De la Cruz-Aguilera, D. L., Barrera-Villalpando, M. I., Becerril-Villanueva, E., Arreola, R., Hernández-Ferreira, E., Pérez-Tapia, S. M., Pérez-Sánchez, G., Garcés-Alvarez, M. E., Aguirre-Cruz, L., Velasco-Velázquez, M. A., Pavón, L. (2016). IL-8 and IL-6 primarily mediate the inflammatory response in fibromyalgia patients. *The Journal of Neuroimmunology*, 290, 22-25.

Mercado-Reyes, J., Almanza, A., Segura-Chama, P., Pellicer, F., Mercado, F. (2019). D2-like receptor agonist synergizes the μ -opioid agonist spinal antinociception in nociceptive, inflammatory and neuropathic models of pain in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 853, 56–64.

- Mergener, M., Becker, R. M., dos Santos, A. F., dos Santos, G. A., de Andrade, F. M. (2011). Influence of the interaction between environmental quality and T102C SNP in the HTR2A gene on fibromyalgia susceptibility. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 51, 594-602.
- Mertoglu, C., Gunay, M., Yerligok, O. (2018). Could endocan, a marker of inflammation and endothelial dysfunction, be a new diagnostic marker for fibromyalgia? *Clinical Laboratory*, 64(3), 405-410.
- Mierau, J., Schneider, F. J., Ensinger, H. A., Chio, C. L., Lajiness, M. E., Huff, R. M. (1995). Pramipexole binding and activation of cloned and expressed dopamine D₂, D₃ and D₄ receptors. *European Journal of Pharmacology*, 290(1), 29-36.
- Millan, M. J. (2002). Descending control of pain. *Progress in Neurobiology*, 66, 355-474.
- Mor, D., Kang, J. W., Wyllie, P., Thirunavukarasu, V., Houlton, H., Austin, P. J., Keay, K. A. (2015). Recruitment of dorsal midbrain catecholaminergic pathways in the recovery from nerve injury evoked disabilities. *Molecular Pain*, 11, 50.
- Moradi, M., Fatahi, Z., Haghparast, A. (2015a). Blockade of D₁-like dopamine receptors within the ventral tegmental area and nucleus accumbens attenuates antinociceptive responses induced by chemical stimulation of the lateral hypothalamus. *Neuroscience Letters*, 599, 61-66.
- Moradi, M., Yazdanian, M., Haghparast, A. (2015b). Role of dopamine D₂-like receptors within the ventral tegmental area and nucleus accumbens in antinociception induced by lateral hypothalamus stimulation. *Behavioural Brain Research*, 292, 508–514.
- Mueller, C., Jordan, I., Jones, C., Lawson, P., Younger, J. W. (2023). Abnormal immune system response in the brain of women with fibromyalgia after experimental endotoxin challenge. *Brain, Behavior, and Immunity – Health*, 30, 100624.
- Murai, N., Kondo, Y., Akuzawa, S., Mihara, T., Shiraishi, N., Kakimoto, S., Matsumoto, M. (2019). A novel GABA_B receptor positive allosteric modulator, ASP8062, exerts analgesic effects in a rat model of fibromyalgia. *European Journal of Pharmacology*, 865, 172750.
- Murphy, A. E., Minhas, D., Clauw, D. J., Lee, Y. C. (2023). Identifying and managing nociplastic pain in individuals with rheumatic diseases: a narrative review. *Arthritis Care and Research*, en prensa.
- Musacchio, J. M. (2013). Chapter 1: Enzymes involved in the biosynthesis and degradation of catecholamines. En: Iverson L. *Biochemistry of Biogenic Amines*. Springer, pp. 1-35.

Nag, S., Mokha, S. S. (2004). Estrogen attenuates antinociception produced by stimulation of Kölliker-Fuse nucleus in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 20(11), 3203-3207.

Nagakura, Y., Miwa, M., Yoshida, M., Miura, R., Tanei, S., Tsuji, M., Takeda, H. (2019). Spontaneous pain-associated facial expression and efficacy of clinically used drugs in the reserpine-induced rat model of fibromyalgia. *European Journal of Pharmacology*, 864, 172716.

Nagakura, Y., Oe, T., Aoki, T., Matsuoka, N. (2009). Biogenic amine depletion causes chronic muscular pain and tactile allodynia accompanied by depression: A putative animal model of fibromyalgia. *Pain*, 146, 26-33.

Nagakura, Y., Takahashi, M., Noto, T., Sekizawa, T., Oe, T., Yoshimi, E., Tamaki, K., Shimizu, Y. (2012). Different pathophysiology underlying animal models of fibromyalgia and neuropathic pain: Comparison of reserpine-induced myalgia and chronic constriction injury rats. *Behavioural Brain Research*, 226, 242-249.

Nagi, S. S., Marshall, A. G., Makdani, A., Jarocka, E., Liljencrantz, J., Ridderström, M., Shaikh, S., O'Neill, F., Saade, D., Donkervoort, S., Foley, A. R., Minde, J., Trulsson, M., Cole, J., Bönnemann, C. G., Chesler, A. T., Bushnell, M. C., McGlone, F., Olausson, H. (2019). An ultrafast system for signaling mechanical pain in human skin. *Science Advances*, 5(7), eaaw1297.

Nakamura, M., Ferreira, S. H. (1987). A peripheral sympathetic component in inflammatory hyperalgesia. *European Journal of Pharmacology*, 135(2), 145-153.

Neve, K. A., Seamans, J. K., Trantham-Davidson, H. (2004). Dopamine receptor signaling. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 24(3), 165-205.

Nicholas, M., Vlaeyen, J. W. S., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Benoliel, R., Cohen, M., Evers, S., Giamberardino, M. A., Goebel, A., Korwisi, B., Perrot, S., Svensson, P., Wang, S. J., Treede, R. D., The IASP Taskforce for the Classification of Chronic Pain. (2021). The IASP classification of chronic pain for *ICD-11*: chronic primary pain. *Pain*, 160, 28-37.

Nishiyori, M., Ueda, H. (2008). Prolonged gabapentin analgesia in an experimental mouse model of fibromyalgia. *Molecular Pain*, 4(52), 475-476.

Oaklander, A. L., Herzog, Z. D., Downs, H. M., Klein, M. M. (2013). Objective evidence that smallfiber polyneuropathy underlies some illnesses currently labeled as fibromyalgia. *Pain*, 154(11), 2310-2316.

- Oe, T., Tsukamoto, Y., Nagakura, Y. (2010). Reserpine causes biphasic nociceptive sensitivity alteration in conjunction with brain biogenic amine tones in rats. *Neuroscience*, 169, 1860-1871.
- Ogino, S., Nagakura, Y., Tsukamoto, M., Watabiki, T., Ozawa, T., Oe, T., Shimizu, Y., Ito, H. (2013). Systemic administration of 5-HT_{2C} receptor agonists attenuates muscular hyperalgesia in reserpine-induced myalgia model. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 108, 8-15.
- Ohtani, N., Masaki, E. (2016). D₂-like receptors in the descending dopaminergic pathway are not involved in the decreased postoperative nociceptive threshold induced by plantar incision in adult rats. *Journal of Pain Research*, 9, 865-869.
- Olivan-Blázquez, B., Herrera-Mercadal, P., Puebla-Guedea, M., Pérez-Yus, M. C., Andrés, E., Fayed, N., López-Del-Hoyo, Y., Magallon, R., Roca, M., Garcia-Campayo, J. (2014). Efficacy of memantine in the treatment of fibromyalgia: a double-blind, randomised, controlled trial with 6-month follow-up. *Pain*, 155(12), 2517–2525.
- Oliveira, C. E. S., Marcondes Sari, M. H. M., Zborowski, V. A., Prado, V. C., Nogueira, C. W., Zeni, G. (2016). Pain-depression dyad induced by reserpine is relieved by p,p'-methoxyl-diphenyl diselenide in rats. *European Journal of Pharmacology*, 791, 794-802.
- Ondo, W. G., Olubajo, T. (2022). Exploratory cross-over, trial of augmented RLS with the dopamine receptor 1/5 antagonist ecopipam D₁/D₅ antagonist ecopipam for augmented RLS. *The International Journal of Neuroscience*, 132(8), 778-782.
- Orendain-Jaime, E. N., Ortega-Ibarra, J. M., López-Pérez, S. J. (2016). Evidence of sexual dimorphism in D₁ and D₂ dopaminergic receptors expression in frontal cortex and striatum of young rats. *Neurochemistry International*, 100, 62-66.
- Ortega-Legaspi, J. M., de Gortari, P., Garduño-Gutiérrez, R., Amaya, M. I., León-Olea, M., Coffeen, U., Pellicer, F. (2011). Expression of the dopaminergic D₁ and D₂ receptors in the anterior cingulate cortex in a model of neuropathic pain. *Molecular Pain*, 7, 97.
- Ortiz-Rentería, M., Juárez-Contreras, R., González-Ramírez, R., Islas, L. D., Sierra-Ramírez, F., Llorente, I., Simon, S. A., Hiriart, M., Rosenbaum, T., Morales-Lázaro, S. L. (2018). TRPV1 channels and the progesterone receptor Sig-1R interact to regulate pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(7), E1657-E1666.
- Ossipov, M. H., Dussor, G. O., Porreca, F. (2010). Central modulation of pain. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3779-3787.

Ossipov, M. H., Morimura, K., Porreca, F. (2014). Descending pain modulation and chronification of pain. *Current Opinion in Supportive and Palliative Care*, 8(2), 143-151.

Ozawa, H., Yamaguchi, T., Hamaguchi, S., Yamaguchi, S., Ueda, S. (2017). Three types of A11 neurons project to the rat spinal cord. *Neurochemical Research*, 42, 2142–2153.

Ozgoçmen, S., Ozyurt, H., Sogut, S., Akyol, O. (2006). Current concepts in the pathophysiology of fibromyalgia: the potential role of oxidative stress and nitric oxide. *Rheumatology International*, 26(7), 585-597.

Pais-Vieira, M., Mendes-Pinto, M. M., Lima, D., Galhardo, V. (2009). Cognitive impairment of prefrontal-dependent decision-making in rats after the onset of chronic pain. *Neuroscience*, 161(3), 671-679.

Pamuk, O. N., Cakir, N. (2005). The variation in chronic widespread pain and other symptoms in fibromyalgia patients. The effects of menses and menopause. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 23(6), 778-782.

Papka, R. E., Storey-Workley, M. (2002). Estrogen receptor- α and - β coexist in a subpopulation of sensory neurons of female rat dorsal root ganglia. *Neuroscience Letters*, 319(2), 71–74.

Pasqual Marques, A., de Sousa do Espírito Santo, A., Assumpção Berssaneti, A., Akemi Matsutani, L., King Yuan, S. L. (2017). Prevalence of fibromyalgia: literature review update. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 57(4), 356-363.

Patel, S., Patel, S., Marwood, R., Emms, F., Marston, D., Leeson, P. D., Curtis, N. R., Kulagowski, J. J., Freedman, S. B. (1996). Identification and pharmacological characterization of [125I]L-750,667, a novel radioligand for the dopamine D₄ receptor. *Molecular Pharmacology*, 50(6), 1658-1664.

Pavlović, J. M., Allshouse, A. A., Santoro, N. F., Crawford, S. L., Thurston, R. C., Neal-Perry, G. S., Lipton, R. B., Derby, C. A. (2016). Sex hormones in women with and without migraine. Evidence of migraine-specific hormone profiles. *Neurology*, 87(1), 49-56.

Peláez-Ballestas, I., Sanin, L. H., Moreno-Montoya, J., Alvarez-Nemegyei, J., Burgos-Vargas, R., Garza-Elizondo, M., Rodríguez-Amado, J., Goycochea-Robles, M. V., Madariaga, M., Zamudio, J., Santana, N., Cardiel, M. H., Grupo de Estudio Epidemiológico de Enfermedades Músculo Articulares (GEEMA). (2011). Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology. *Journal of Rheumatology (Supplemental)*, 86, 3-8.

- Pérez-Neri, I., Parra, D., Aquino-Miranda, G., Coffeen, U., Ríos, C. (2020). Dehydroepiandrosterone increases tonic and phasic dopamine release in the striatum. *Neuroscience Letters*, 734, 135095.
- Pertovaara, A., Almeida, A. (2006). Chapter 13: Descending Inhibitory Systems. En Cervero F., Jensen T. S. (eds). *Handbook of Clinical Neurology*, 81, 179-192.
- Pieretti, S., Di Giannuario, A., Di Giovannandrea, R., Marzoli, F., Piccaro, G., Minosi, P., Aloisi, A. M. (2016). Gender differences in pain and its relief. *Annali dell'Istituto Superior di Sanita*, 52(2), 184–189.
- Porreca, F., Ossipov, M. H., Gebhart, G. F. (2002). Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends in Neurosciences*, 25(6), 319-325.
- Powers, J. B. (1970). Hormonal control of sexual receptivity during the estrous cycle of the rat. *Physiology and Behavior*, 5, 831–835.
- Priyanto, B., Rosyidi, R. M., Islam, A. A., Turchan, A., Pintaningrum, Y. (2022). The effect of progesterone for expression delta (δ) opioid receptor spinal cord through peripheral nerve injury. *Annals of Medicine and Surgery (London)*, 75, 103376.
- Qu, S., Ondo, W. G., Zhang, X., Xie, W. J., Pan, T. H., Le, W. D. (2006). Projections of diencephalic dopamine neurons into the spinal cord in mice. *Experimental Brain Research*, 168(1-2), 152-156.
- Queiroz, B. F. G., Fonseca, F. C. S., Ferreira, R. C. M., Romero, T. R. L., Perez, A. C., Duarte, I. D. G. (2022). Analgesia and pain: Dual effect of dopamine on the peripheral nociceptive system is dependent on D₂- or D₁-like receptor activation. *European Journal of Pharmacology*, 922, 174872.
- Queiroz, L. P. (2013). Worldwide epidemiology of fibromyalgia. *Current Pain and Headache Reports*, 17(8), 356.
- 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.
- Raffaelli, W., Arnaudo, E. (2017). Pain as a disease: an overview. *Journal of Pain Research*, 10, 2003-2008.
- Raj, R. R., Brouillard, D., Simpson, C. S., Hopman, W. M., Abdollah, H. (2000). Dysautonomia among patients with fibromyalgia: A noninvasive assessment. *The Journal of Rheumatology*, 27(11), 2660-2665.

Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F. J., Mogil, J. S., Ringkamp, M., Sluka, K. A., Song, X. J., Stevens, B., Sullivan, M. D., Tutelman, P. R., Ushida, T., Vader, K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 161(9), 1976-1982.

Rodgers, H. M., Yow, J., Evans, E., Clemens, S., Brewer, K. L. (2019). Dopamine D₁ and D₃ receptor modulators restore morphine analgesia and prevent opioid preference in a model of neuropathic pain. *Neuroscience*, 406, 376-388.

Romero-Sánchez, H. A., Mendieta, L., Austrich-Olivares, A. M., Garza-Mouriño, G., Benitez-Diaz Mirón, M., Coen, A., Godínez-Chaparro, B. (2020). Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway with 6-OHDA induced allodynia and hyperalgesia reverted by pramipexol in rats. *European Journal of Pharmacology*, 869, 172814.

Rukavina, K., Leta, V., Sportelli, C., Buhidma, Y., Duty, S., Malcangio, M., Ray Chaudhuri, K. (2019). Pain in Parkinson's disease: new concepts in pathogenesis and treatment. *Current Opinion in Neurology*, 32(4), 579-588.

Rus, A., Molina, F., Del Moral, M. L., Ramírez-Expósito, M. J., Martínez-Martos, J. M. (2018). Catecholamine and Indolamine Pathway: A Case-Control Study in Fibromyalgia. *Biological Research for Nursing*, 20(5), 577-586.

Russell, I. J., Vaeroy, H., Javors, M., Nyberg, F. (1992). Cerebrospinal fluid biogenic amine metabolites in fibromyalgia/fibrositis syndrome and rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 35(5), 550-556.

Russell, N., Grossmann, M. (2019). Mechanisms in endocrinology: Estradiol as a male hormone. *European Journal of Endocrinology*, 181(1), R23–R43.

Salemi, S., Rethage, J., Wollina, U., Michel, B. A., Gay, R. E., Gay, S., Sprott, H. (2003). Detection of interleukin 1beta (IL-1beta), IL-6, and tumor necrosis factor-alpha in skin of patients with fibromyalgia. *The Journal of Rheumatology*, 30(1), 146-150.

Sánchez-Domínguez, B., Bullón, P., Román-Malo, L., Marín-Aguilar, F., Alcocer-Gómez, E., Carrión, A. M., Sánchez-Alcazar, J. A., Cordero, M. D. (2015). Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and, inflammation common events in skin of patients with Fibromyalgia. *Mitochondrion*, 21, 69-75.

Sandkühler, J. (2000). Learning and memory in pain pathways. *Pain*, 88(2), 113-118.

- Santamaria-Anzures, J., Pérez-Ramos, J., Mendoza-Pérez, F., Godínez-Chaparro, B. (2023). Pramipexole inhibits formalin- induce acute and long-lasting mechanical hypersensitivity via NF-kB pathway in rats. *Drug Development Research*, 84(2), 253-261.
- Sarchielli, P., Di Filippo, M., Nardi, K., Calabresi, P. (2007). Sensitization, glutamate, and the link between migraine and fibromyalgia. *Current Pain and Headache Reports*, 11(5), 343-351.
- Sarzi-Puttini, P., Giorgi, V., Marotto, D., Atzeni, F. (2020). Fibromyalgia: an update on clinical characteristics, aetiopathogenesis and treatment. *Nature Reviews: Rheumatology*, 16(11), 645-660.
- Sautel, F., Griffon, N., Lévesque, D., Pilon, C., Schwartz, J. C., Sokoloff, P. (1995). A functional test identifies dopamine agonists selective for D₃ versus D₂ receptors. *Neuroreport*, 6(2), 329-32.
- Sawynok, J., Reid, A., Nance, D. (1991). Spinal antinociception by adenosine analogs and morphine after intrathecal administration of the neurotoxins capsaicin, 6-hydroxydopamine and 5,7-dihydroxytryptamine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 258(1), 370-380.
- Sbisa, A., van den Buuse, M., Gogos, A. (2018). The effect of estrogenic compounds on psychosis-like behaviour in female rats. *PLoS One*, 13(3), e0193853.
- Schäfers, M., Sorkin, L. S., Sommer, C. (2003). Intramuscular injection of tumor necrosis factor-alpha induces muscle hyperalgesia in rats. *Pain*, 104, 579-588.
- Schambra, U. B., Duncan, G. E., Breese, G. R., Fornaretto, M. G., Caron, M. G., Fremeau, R. T. Jr. (1994). Ontogeny of D1a and D2 dopamine receptor subtypes in rat brain using in situ hybridization and receptor binding. *Neuroscience*, 62, 65-85.
- Schertzing, M., Wesson-Sides, K., Partinky, L., Younger, J. (2018). Daily fluctuations of progesterone and testosterone are associated with fibromyalgia pain severity. *The Journal of Pain*, 19(4), 410-417.
- Schindler, C. W., Carmona, G. N. (2002). Effects of dopamine agonists and antagonists on locomotor activity in male and female rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 72(4), 857-863.
- Seeman, P., Van Tol, H. H. (1994). Dopamine receptor pharmacology. *Trends in Pharmacological Sciences*, 15(7), 264-270.
- Segura-Chama, P., Luis, E., Almanza, A., Pellicer, F., Hernández-Cruz, A., Mercado, F. (2020). Modulation of intracellular calcium concentration by D2-like DA receptor agonists

in non-peptidergic DRG neurons is mediated mainly by D4 receptor activation. *Neuroscience Letters*, 736, 135267.

Selley, D. E., Lazenka, M. F., Sim-Selley, L. J., Secor McVoy, J. R., Potter, D. N., Chartoff, E. H., Carlezon, W. A. Jr., Negus, S. S. (2020). Attenuated dopamine receptor signaling in nucleus accumbens core in a rat model of chemically-induced neuropathy. *Neuropharmacology*, 166, 107935.

Serra, J., Collado, A., Solà, R., Antonelli, F., Torres, X., Salqueiro, M., Quiles, C., Bostock, H. (2014). Hyperexcitable C nociceptors in fibromyalgia. *Annals of Neurology*, 75(2), 196-208.

Serrano, P. V., Zortea, M., Lopes Alves, R., Beltran, G., Deliberali, C. B., Maule, A., Torres, I. L. S., Fregni, F., Caumo, W. (2022). Association between descending pain modulatory system and cognitive impairment in fibromyalgia: A cross-sectional exploratory study. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 16, 917554.

Sheng, H. Y., Qu, C. L., Huo, F. Q., Du, J. Q., Tang, J. S. (2009). D₂-like but not D₁-like dopamine receptors are involved in the ventrolateral orbital cortex-induced antinociception: a GABAergic modulation mechanism. *Experimental Neurology*, 215, 128–134.

Siahposht-Khachaki, A., Pourreza, P., Ezzatpanah, S., Haghparast A. (2017). Nucleus accumbens dopamine receptors mediate hypothalamus-induced antinociception in the rat formalin test. *European Journal of Pain*, 21(7), 1285-1294.

Skagerberg, G., Björklund, A., Lindvall, O., Schmidt, R. H. (1982). Origin and termination of the diencephalon-spinal dopamine system in the rat. *Brain Research Bulletin*, 9, 237-244.

Skagerberg, G., Lindvall, O. (1985). Organization of diencephalic dopamine neurons projecting to the spinal cord in the rat. *Brain Research*, 342, 340-351.

Skrabek, R. Q., Galimova, L., Ethans, K., Perry, D. (2008). Nabilone for the treatment of pain in fibromyalgia. *The Journal of Pain*, 9(2), 164–173.

Sluka, K. A., Clauw, D. J. (2016). Neurobiology of fibromyalgia and chronic widespread pain. *Neuroscience*, 338, 114-129

Sluka, K. A., Kalra, A., Moore, S. A. (2001). Unilateral intramuscular injections of acidic saline produce a bilateral, long-lasting hyperalgesia. *Muscle Nerve*, 24(1), 37-46.

- Sogabe, S., Yagasaki, Y., Onozawa, K., Kawakami, Y. (2013). Mesocortical dopamine system modulates mechanical nociceptive responses recorded in the rat prefrontal cortex. *BMC Neuroscience*, 14, 65.
- Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M. P., Bouthenet, M. L., Schwartz, J. C. (1990). Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D₃) as a target for neuroleptics. *Nature*, 347(6289), 146-151.
- Sorge, R. E., LaCroix-Fralish, M. L., Tuttle, A. H., Sotocinal, S. G., Austin, J. S., Ritchie, J., Chanda, M. L., Graham, A. C., Topham, L., Beggs, S., Salter, M. W., Mogil, J. S. (2011). Spinal cord Toll-like receptor 4 mediates inflammatory and neuropathic hypersensitivity in male but not female mice. *The Journal of Neuroscience*, 31(43), 15450-15454.
- Sorge, R. E., Mapplebeck, J. C., Rosen, S., Beggs, S., Taves, S., Alexander, J. K., Martin, L. J., Austin, J. S., Sotocinal, S. G., Chen, D., Yang, M., Shi, X. Q., Huang, H., Pillon, N. J., Bilan, P. J., Tu, Y., Klip, A., Ji, R. R., Zhang, J., Salter, M. W., Mogil, J. S. (2015). Different immune cells mediate mechanical pain hypersensitivity in male and female mice. *Nature Neuroscience*, 18(8), 1081-1083.
- Sosa-Reina, M. D., Nunez-Nagy, S., Gallego-Izquierdo, T., Pecos-Martín, D., Monserrat, J., Álvarez-Mon, M. (2017). Effectiveness of therapeutic exercise in fibromyalgia syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *BioMed Research International*, 2017, 2356346.
- Staud, R. (2012). Abnormal endogenous pain modulation is a shared characteristic of many chronic pain conditions. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 12(5), 577-585.
- Staud, R., Vierck, C. J., Robinson, M. E., Price, D. D. (2005). Effects of the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist dextromethorphan on temporal summation of pain are similar in fibromyalgia patients and normal control subjects. *The Journal of Pain*, 6(5), 323-332.
- Staud, R., Weyl, E. E., Price, D. D., Robinson, M. E. (2012). Mechanical and heat hyperalgesia highly predict clinical pain intensity in patients with chronic musculoskeletal pain syndromes. *The Journal of Pain*, 13(8), 725-735.
- Strand, N. H., Maloney, J., Kraus, M., Wie, C., Turkiewicz, M., Gomez, D. A., Adeleye, O., Harbell, M. W. (2023). Cannabis for the treatment of fibromyalgia: a systematic review. *Biomedicines*, 11(6), 1621.
- Stucky, C. L., Lewin, G. R. (1999). Isolectin B4-positive and -negative nociceptors are functionally distinct. *The Journal of Neuroscience*, 19(15), 6497-6505.

Sulzer, D., Cragg, S. J., Rice, M. E. (2016). Striatal dopamine neurotransmission: regulation of release and uptake. *Basal Ganglia*, 6, 123-148.

Sumpton, J. E., Moulin, D. E. (2014). Fibromyalgia. *Handbook of Clinical Neurology*, 119, 513-527.

Sun, J., Huang, Y. R., Harrington, W. R., Sheng, S., Katzenellenbogen, J. A., Katzenellenbogen, B. S. (2002). Antagonists selective for estrogen receptor α . *Endocrinology*, 143(3), 941-947.

Sunahara, R. K., Guan, H. C., O'Dowd, B. F., Seeman, P., Laurier, L. G., Ng, G., George, S. R., Torchia, J., Van Tol, H. H., Niznik, H. B. (1991). Cloning of the gene for a human dopamine D₅ receptor with higher affinity for dopamine than D₁. *Nature*, 350(6319), 614-619.

Suzuki, M., Hurd, Y. L., Sokoloff, P., Schwartz, J. C., Sedvall, G. (1998). D₃ dopamine receptor mRNA is widely expressed in the human brain. *Brain Research*, 779(1-2), 58-74.

Swanson, L. W., Kuypers, H. G. (1980). The paraventricular nucleus of the hypothalamus cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods. *Journal of Computational Chemistry*, 194, 555-570.

Szewczyk, A. K., Ulutas, S., Aktürk, T., Al-Hassany, L., Börner, C., Cernigliaro, F., Kodounis, M., Lo Cascio, S., Mikolajek, D., Onan, D., Ragaglini, C., Ratti, S., Rivera-Mancilla, E., Tsanoula, S., Villino, R., Messlinger, K., Maassen Van Den Brink, A., de Vries, T. European Headache Federation School of Advanced Studies (EHF-SAS). (2023). Prolactin and oxytocin: potential targets for migraine treatment. *The Journal of Headache and Pain*, 24(1), 31.

Taber, K. H., Hurley, R. A. (2014). Volume transmission in the brain: beyond the synapse. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 26, 1-4.

Taguchi, T., Katanosaka, K., Yasui, M., Hayashi, K., Yamashita, M., Wakatsuki, K., Kiyama, H., Yamanaka, A., Mizumura, K. (2015). Peripheral and spinal mechanisms of nociception in a rat reserpine-induced pain model. *Pain*, 156, 415-427.

Talotta, R., Atzeni, F., Bazzichi, L., Giacomelli, C., Di Franco, M., Salaffi, F., Sarzi-Puttini, P. (2015). Algo-dysfunctional syndromes: a critical digest of the recent literature. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 33(1 Suppl. 88), S102-S108.

- Tamae, A., Nakatsuka, T., Koga, K., Kato, G., Furue, H., Katafuchi, T., Yoshimura, M. (2005). Direct inhibition of substantia gelatinosa neurons in the rat spinal cord by activation of dopamine D2-like receptors. *Journal of Physiology*, 568(1), 243-253.
- Tamano, R., Ishida, M., Asaki, T., Hasegawa, M., Shinohara, S. (2016). Effect of spinal monoaminergic neuronal system dysfunction on pain threshold in rats, and the analgesic effect of serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors. *Neuroscience Letters*, 615, 78-82.
- Tanei, S., Miwa, M., Yoshida, M., Miura, R., Nagakura, Y. (2020). The method simulating spontaneous pain in patients with nociplastic pain using rats with fibromyalgia-like condition. *MethodsX*, 7, 100826.
- Taniguchi, W., Nakatsuka, T., Miyazaki, N., Yamada, H., Takeda, D., Fujita, T., Kumamoto, E., Yoshida, M. (2011). *In vivo* patch-clamp analysis of dopaminergic antinociceptive actions on substantia gelatinosa neurons in the spinal cord. *Pain*, 152, 95-105.
- Taylor, B. K., Joshi, C., Uppal, H. (2003). Stimulation of dopamine D₂ receptors in the nucleus accumbens inhibits inflammatory pain. *Brain Research*, 987(2), 135-143.
- Thompson, T., Whiter, F., Gallop, K., Veronese, N., Solmi, M., Newton, P., Stubbs, B. (2019). NMDA receptor antagonists and pain relief: A meta-analysis of experimental trials. *Neurology*, 92(14), e1652-e1662.
- Tobaldini, G., Reis, R. A., Sardi, N. F., Lazzarim, M. K., Tomim, D. H., Lima, M. M. S., Fischer, L. (2018) Dopaminergic mechanisms in periaqueductal gray-mediated antinociception. *Behavioral Pharmacology*, 29(2 and 3-Special Issue), 225-233.
- Torpy, D. J., Papanicolaou, D. A., Lotsikas, A. J., Wilder, R. L., Chrousos, G. P., Pillemer, S. R. (2000). Responses of the sympathetic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to interleukin-6: a pilot study in fibromyalgia. *Arthritis and Rheumatology*, 43, 872-880.
- Tracey, I., Mantyh, P. W. (2007). The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron*, 55, 377-391.
- Traub, R. J., Ji, Y. (2013). Sex differences and hormonal modulation of deep tissue pain. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 34, 350-366.
- Üceyler, N., Zeller, D., Kahn, A. K., Kewenig, S., Kittel-Schneider, S., Schmid, A., Casanova-Molla, J., Reiners, K., Sommer, C. (2013). Small fiber pathology in patients with fibromyalgia syndrome. *Brain*, 136(6), 1857-1867.

Uchida, M., Kobayashi, O., Yoshida, M., Miwa, M., Miura, R., Saito, H., Nagakura, Y. (2019). Coexistence of alterations of gastrointestinal function and mechanical allodynia in the reserpine-induced animal model of fibromyalgia. *Digestive Diseases and Sciences*, 64(9), 2538-2547.

Uchigashima, M., Ohtsuka, T., Kobayashi, K., Watanabe, M. (2016). Dopamine synapse is a neuroligin-2-mediated contact between dopaminergic presynaptic and GABAergic postsynaptic structures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(15), 4206-4211.

Uta, D., Tsuboshima, K., Nishijo, H., Mizumura, K., Taguchi, T. (2021). Neuronal sensitization and synaptic facilitation in the superficial dorsal horn of a rat reserpine-induced pain model. *Neuroscience*, 479, 125-139.

Vacca, V., Marinelli, S., Pieroni, L., Urbani, A., Luvisetto, S., Pavone, F. (2016). 17 β -estradiol counteracts neuropathic pain: a behavioral, immunohistochemical, and proteomic investigation on sex-related differences in mice. *Scientific Reports*, 6, 18980.

van Dijken, H., Dijk, J., Voorn, P., Holstege, J. C. (1996). Localization of dopamine D₂ receptor in rat spinal cord identified with immunocytochemistry and in situ hybridization. *European Journal of Neuroscience*, 8(3), 621-628.

van Tilburg, M. A. L., Parisien, M., Boles, R. G., Drury, G. L., Smith-Voudouris, J., Verma, V., Khoury, S., Chabot-Doré, A. J., Nackley, A. G., Smith, S. B., Whitehead, W. E., Zolnoun, D. A., Slade, G. D., Tchivileva, I., Maixner, W., Diatchenko, L. (2020). A genetic polymorphism that is associated with mitochondrial energy metabolism increases risk of fibromyalgia. *Pain*, 161(12), 2860-2871.

Van Tol, H. H., Bunzow, J. R., Guan, H. C., Sunahara, R. K., Seeman, P., Niznik, H. B., Civelli, O. (1991). Cloning of the gene for a human dopamine D₄ receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature*, 350(6319), 610-614.

Vanegas H., Schaible H. G. (2004). Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory? *Brain Research Reviews*, 46(3), 295-309.

Vargas-Alarcon, G., Alvarez-Leon, E., Fragoso, J. M., Vargas, A., Martinez, A., Vallejo, M., Martinez-Lavin, M. (2012). A SCN9A gene-encoded dorsal root ganglia sodium channel polymorphism associated with severe fibromyalgia. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 13, 23.

Verma, V., Drury, G. L., Parisien, M., Özdag Acarli, A. N., Al-Aubodah, T. A., Linton, A., Krock, E., Morado Urbina, C. E., Winsvold, B., Fritsche, L. G., Fors, E. A., Piccirillo, C., Khoutorsky, A., Svensson, C. I., Fitzcharles, M. A., Ingelmo, P. M., Bernard, N. F., Dupuy,

- F. P., Üceyler, N., Sommer, C., King, I. L., Meloto, C. B., Diatchenko, L., HUNT-All In Pain. (2022). Unbiased immune profiling reveals a natural killer cell-peripheral nerve axis in fibromyalgia. *Pain*, 163(7), e821-e836.
- Viisanen, H., Bonsu Ansah, O., Pertovaara, A. (2012). The role of dopamine D₂ receptor in descending control of pain induced by motor cortex stimulation in the neuropathic rat. *Brain Research Bulletin*, 89, 133-143.
- Vincent, A., Lahr, B. D., Wolfe, F., Whipple, M. O., Oh, T. H., Barton, D. L., St. Sauver, J. (2013). Prevalence of fibromyalgia: a population-based study in Olmsted County, Minnesota, utilizing the Rochester epidemiology project. *Arthritis and Care Research (Hoboken)*, 65(5), 786-792.
- Vincent, A., Whipple, M. O., Low, P. A., Joyner, M., Hoskin, T. L. (2016). Patients with fibromyalgia have significant autonomic symptoms but modest autonomic dysfunction. *PM & R: The journal of injury, function, and rehabilitation*, 8(5), 425-435.
- Vrtačnik, P., Ostanek, B., Mencej-Bedrač, S., Marc, J. (2014). The many faces of estrogen signaling. *Biochemia Medica (Zagreb)*, 24(3), 329–342.
- Walker, Q. D., Ray, R., Kuhn, C. M. (2006). Sex differences in neurochemical effects of dopaminergic drugs in rat striatum. *Neuropsychopharmacology*, 31(6), 1193-1202.
- Wamsley, J. K., Alburges, M. E., McQuade, R. D., Hunt, M. (1992). CNS distribution of D₁ receptors: use of a new specific D1 receptor antagonist, [³H]SCH39166. *Neurochemistry International*, 20(Suppl.), S123-S128.
- Wang, H., Moser, M., Schiltenswolf, M., Buchner, M. (2008). Circulating cytokine levels compared to pain in patients with fibromyalgia. A prospective longitudinal study over 6 months. *Journal of Rheumatology*, 35, 1366-1370.
- Ware, M. A., Fitzcharles, M. A., Joseph, L., Shir, Y. (2010). The effects of nabilone on sleep in fibromyalgia: results of a randomized controlled trial. *Anesthesia and Analgesia*, 110(2), 604–610.
- Watanabe, M., Narita, M., Hamada, Y., Yamashita, A., Tamura, H., Ikegami, D., Kondo, T., Shinzato, T., Shimizu, T., Fukuchi, Y., Muto, A., Okano, H., Yamanaka, A., Tawfik, V. L., Kuzumaki, N., Navratilova, E., Porreca, F., Narita, M. (2018). Activation of ventral tegmental area dopaminergic neurons reverses pathological allodynia resulting from nerve injury or bone cancer. *Molecular Pain*, 14,1744806918756406.

Wei, H., Viisanen, H., Pertovaara, A. (2009). Descending modulation of neuropathic hypersensitivity by dopamine D₂ receptors in or adjacent to the hypothalamic A11 cell group. *Pharmacological Research*, 59, 355-363.

Wei, W., Chen, Z. J., Zhang, K. S., Yang, X. L., Wu, Y. M., Chen, X. H., Huang, H. B., Liu, H. L., Cai, S. H., Du, J., Wang, H. S. (2014). The activation of G protein-coupled receptor 30 (GPR30) inhibits proliferation of estrogen receptor-negative breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cell Death and Disease*, 5(10), e1428.

Wells, J. A., Shibata, S., Fujikawa, A., Takahashi, M., Saga, T., Aoki, I. (2017). Functional MRI of the reserpine-induced putative rat model of fibromyalgia reveals discriminatory patterns of functional augmentation to acute nociceptive stimuli. *Scientific Reports*, 7, 38325.

White, H. D., Brown, L. A., Gyurik, R. J., Manganiello, P. D., Robinson, T. D., Hallock, L. S., Lewis, L. D., Yeo, K. T. (2015). Treatment of pain in fibromyalgia patients with testosterone gel: Pharmacokinetics and clinical response. *International Immunopharmacology*, 27(2), 249-256.

Williams, D. A., Clauw, D. J. (2009). Understanding fibromyalgia: lessons from the broader pain research community. *The Journal of Pain*, 10(8), 777-791.

Willis, W. D. (2002). Long-term potentiation in spinothalamic neurons. *Brain Research: Brain Research Reviews*, 40(1-3), 202-214.

Wolfe, F., Clauw, D. J., Fitzcharles, M. A., Goldenberg, D. L., Häuser, W., Katz, R. L., Mease, P. J., Russell, A. S., Russell, I. J., Walitt, B. (2016). Revisions to the 2010/2011 fibromyalgia diagnostic criteria. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 46(3), 319-329.

Wolfe, F., Walitt, B., Perrot, S., Rasker, J. J., Häuser, W. (2018). Fibromyalgia diagnosis and biased assesment: Sex, prevalence and bias. *PLoS One*, 13(9), e0203755.

Wood, P. B. (2008). Role of central dopamine in pain and analgesia. *Expert Reviews Neurotherapeutics*, 8(5), 781-797.

Wood, P. B., Patterson, J. C., Sunderland, J. J., Tainter, K. H., Glabus, M. F., Lilien, D. L. (2007b). Reduced presynaptic dopamine activity in fibromyalgia syndrome demonstrated with positron emission tomography: a pilot study. *The Journal of Pain*, 8(1), 51-58.

Wood, P. B., Schweinhardt, P., Jaeger, E., Daguer, A., Hakyemez, H., Rabiner, E. A., Bushnell, M. C., Chizh, B. A. (2007a). Fibromyalgia patients shown an abnormal dopamine response to pain. *European Journal of Neuroscience*, 25, 3576-3582.

- Woolf, C. J. (2004). Pain: Moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Annals of Internal Medicine*, 140, 441-451.
- Woolf, C. J. (2010). What is this thing called pain? *The Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3742-3744.
- Woolf, C. J., Ma, Q. (2007). Nociceptors-noxious stimulus detectors. *Neuron*, 55(3), 353-364.
- Wu, Y. Y., Jiang, Y. L., He, X. F., Zhao, X. Y., Shao, X. M., Du, J. Y., Fang, J. Q. (2015). Effects of electroacupuncture with dominant frequency at SP 6 and ST 36 based on meridian theory on pain-depression dyad in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 732845.
- Yang, H.-W., Zhou, L.-J., Hu, N.-W., Xin, W.-J., Liu, X.-G. (2005). Activation of spinal D₁/D₅ receptor induces late-phase LTP of C-fiber-evoked field potentials in rat spinal dorsal horn. *Journal of Neurophysiology*, 94, 961-967.
- Yao, X., Li, L., Kandhare, A., Mukherjee-Kandhare, A., Bodhankar, S. (2020). Attenuation of reserpine-induced fibromyalgia via ROS and serotonergic pathway modulation by fisetin, a plant flavonoid polyphenol. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19(2), 1343–1355.
- Yokohama, C., Okamura, H., Nakajima, T., Taguchi, J., Ibata, Y. (1994). Autoradiographic distribution of [³H]YM-09151-2, a high-affinity and selective antagonist ligand for the dopamine D₂ receptor group, in the rat brain and spinal cord. *Journal of Comparative Neurology*, 344, 121-136.
- Younger, J., Noor, N., McCue, R., Mackey, S. (2013). Low-dose naltrexone for the treatment of fibromyalgia: findings of a small, randomized, double-blind, placebo-controlled, counterbalanced, crossover trial assessing daily pain levels. *Arthritis and Rheumatism*, 65(2), 529–538.
- Yu, W., Pati, D., Pina, M. M., Schmidt, K. T., Boyt, K. M., Hunker, A. C., Zweifel, L. S., McElligott, Z. A., Kash, T. L. (2021). Periaqueductal gray/dorsal raphe dopamine neurons contribute to sex differences in pain-related behaviors. *Neuron*, 109(8), 1365-1380.
- Yunus, M. B., Ahles, T. A., Aldag, J. C., Masi, A. T. (1991). Relationship of clinical features with psychological status in primary fibromyalgia. *Arthritis and Rheumatism*, 34, 15-21.
- Zautra, A. J., Fasman, R., Parish, B. P., Davis, M. C. (2007). Daily fatigue in women with osteoarthritis, rheumatoid arthritis, and fibromyalgia. *Pain*, 128, 128-135.

Zhang, T., Xue, R., Zhu, L., Li, J., Fan, Q., Zhong, B., Li, Y., Ye, C., Zhang, Y. (2016). Evaluation of the analgesic effects of amroxetine, a novel potent serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor. *Acta Pharmacologica Sinica*, 37, 1154-1165.

Zhao, H., Zhu, W., Pan, T., Xie, W., Zhang, A., Ondo, W. G., Le, W. (2007). Spinal cord dopamine receptor expression and function in mice with 6-OHDA lesion of the A11 nucleus and dietary iron deprivation. *The Journal of Neuroscience*, 85, 1065-1076.

Zhen, X. C., Uryu, K., Wang, H. Y., Friedman, E. (1998). D₁ dopamine receptor agonists mediate activation of p38 mitogen-activated protein kinase and c-jun amino-terminal kinase by a protein kinase A dependent mechanism in SK-N-MC human neuroblastoma cells. *Molecular Pharmacology*, 54, 453–458.

Zhi, L., Tegley, C. M., Pio, B., Edwards, J. P., Jones, T. K., Marschke, K. B., Mais, D. E., Risek, B., Schrader, W. T. (2003). Synthesis and biological activity of 5-methylidene 1,2-dihydrochromeno[3,4-f]quinoline derivatives as progesterone receptor modulators. *Bioorganic and Medical Chemistry Letters*, 13(12), 2071-2074.

Zhu, H., Clemens, S., Sawchuk, M., Hochman, S. (2007). Expression and distribution of all dopamine receptor subtypes (D₁-D₅) in the mouse lumbar spinal cord: a real-time polymerase chain reaction and non-autoradiographic in situ hybridization study. *Neuroscience*, 149, 885-897.

Zimmer, Z., Fraser, K., Grol-Prokopczyk, H., Zajacova, A. (2022). A global study of pain prevalence across 52 countries: examining the role of country-level contextual factors. *Pain*, 163(9), 1740-1750.

Zimmermann, M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 16, 109-110.

Zubieta, J. K., Smith, Y. R., Bueller, J. A., Xu, Y., Kilbourn, M. R., Jewett, D. M., Meyer, C. R., Koeppe, R. A., Stohler, C. S. (2002). Mu-opioid receptor-mediated antinociceptive responses differ in men and women. *The Journal of Neuroscience*, 22(12), 5100-5107.

13. ANEXOS

13.1 Artículos derivados del proyecto de doctorado

De la Luz-Cuellar, Y. E., Coffeen, U., Mercado, F., Granados-Soto, V. (2023). Spinal dopaminergic D₁-and D₂-like receptors have a sex-dependent effect in an experimental model of fibromyalgia. *European Journal of Pharmacology*, 948, 175696.

De la Luz-Cuellar, Y. E., Rodríguez-Palma, E. J., Franco-Enzástiga, Ú., Déciga-Campos, M., Mercado, F., Granados-Soto, V. (2023). Spinal dopaminergic D₁ and D₅ receptors contribute to reserpine-induced fibromyalgia-like pain in rats. *Brain Reseach*, 1799, 148167.

*Ambos artículos se muestran al final de esta sección.

13.2 Artículos derivados de otros proyectos

Rodríguez-Palma, E. J., **De la Luz-Cuellar, Y. E.**, Islas-Espinoza, A. M., Félix-Leyva, A. E., Shiers, S. I., García, G., Torres-López, J. E., Delgado-Lezama, R., Murbartián, J., Price, T. J., Granados-Soto, V. (2023). Activation of α_6 -containing GABA_A receptors induces antinociception under physiological and pathological conditions. *Pain*, 164(5), 948-966.

Rodríguez-Palma, E. J., Castelo-Flores, D. G., Caram-Salas, N. L., Salinas-Abarca, A. B., Centurión, D., **De la Luz-Cuellar, Y. E.**, Granados-Soto, V. (2022). Sex-dependent antiallodynic effect of α_2 adrenergic receptor agonist tizanidine in rats with experimental neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology*, 920, 174855.

Delgado-Lezama, R., Bravo-Hernández, M., Franco-Enzástiga, Ú., **De la Luz-Cuellar, Y. E.**, Alvarado-Cervantes, N. S., Raya-Tafolla, G., Martínez-Zaldivar, L. A., Vargas-Parada, A., Rodríguez-Palma, E. J., Vidal-Cantú, G. C., Guzmán-Priego, C. G., Torres-López, J. E., Murbartián, J., Félix, R., Granados-Soto, V. (2021). The role of spinal cord extrasynaptic α_5 GABA_A receptors in chronic pain. *Physiological Reports*, 9(16): e14984.

Franco-Enzástiga, Ú., **De la Luz-Cuellar, Y. E.**, Hernández-Reyes, L. E., Raya-Tafolla, G., Torres-López, J. E., Murbartián, J., Granados-Soto, V., Delgado-Lezama, R. (2022). Chapter 12 - Extrasynaptic α_5 GABA_A receptors and their role in nociception and pathological pain. En: Editor(es): Rajkumar Rajendram, Vinood B. Patel, Victor R. Preedy, Colin R. Martin, *The Neurobiology, Physiology, and Psychology of Pain*, Academic Press 2022, pp. 129-137, ISBN 9780128205891.

13.3 Artículos de divulgación

De la Luz Cuellar, Y. E. (2019). Los tatuajes son permanentes gracias a los macrófagos. *Revista Milenaria, Ciencia y Arte*, 14, 3-5.

De la Luz Cuellar, Y. E. (2020). Automedicación con analgésicos en México. *Ciencia: Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*, 71(2), 16-21.

13.4 Congresos

Yarim E. De la Luz-Cuellar, Francisco Mercado, Vinicio Granados-Soto. “Spinal dopaminergic D₁-like receptors contribute in a sex-dependent manner to fibromyalgia-like pain in rats”. Presentación oral de póster virtual. Virtual Neuroscience 2021, Society for Neuroscience. Del 08 al 11 de noviembre de 2021.

Yarim E. De la Luz-Cuellar, Francisco Mercado, Vinicio Granados-Soto. “Spinal dopaminergic receptors contribute to nociception in a rat model of fibromyalgia”.

Presentación de póster. Neuroscience 2019, Society for Neuroscience. Del 19 al 23 de octubre de 2019. McCormick Place, Chicago, Illinois, E.U.A.

13.5 Actividades académicas

- Impartición de la “Unidad de Enseñanza-Aprendizaje 3360010 Estadística” para alumnos de la Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Trimestres 22-Otoño, 23-Invierno y 23-Primavera (17 de octubre 2022 – actualidad).
- Impartición de la asignatura “Farmacología Aplicada” para alumnos de la Maestría en Implantología Oral Integral de la Universidad Westhill., en modalidad virtual. Ciclo escolar 2023-II, 2023-III y 2024-I (02 de enero de 2023 – actualidad).
- Impartición de la asignatura “Farmacología I” para alumnos de la Licenciatura en Medicina de la Universidad Westhill. Periodo escolar 2023-II y 2024-I (30 de enero de 2023 – actualidad).
- Impartición del curso-taller de actualización disciplinar para alumnos de la Maestría en Ciencias Biomédicas, titulado “Inducción, evaluación e interpretación del dolor experimental”. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias de la Salud. 27 de septiembre – 02 de octubre de 2021, 40 horas.
- Asistencia al *North American Pain School*. Fairmont LeChâteau Montebello, Quebec, Canadá. Del 23 al 28 de junio de 2019.
- Asistencia al curso “Canales iónicos: máquinas moleculares” impartido todos los martes del semestre 2019-I del Instituto de Fisiología Celular, UNAM.
- Asistencia al XII Curso Institucional de Microscopía Óptica en el Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Del 23 al 27 de abril de 2018, 40 horas.

13.6 Actividades de retribución social

- Participación en el taller “*Mide tu dolor*” en el marco de actividades de la Semana del Cerebro. Departamento de Farmacobiología del Cinvestav Sede Sur, 2023.
- Participación en el taller “*Mide tu dolor*” en el marco de actividades de la Semana del Cerebro. Departamento de Farmacobiología del Cinvestav Sede Sur, 2019.

13.7 Otras actividades

- *Pain Research Forum Virtual Correspondents Program (2021-2022)*. Redactora de blogs/artículos para *Pain Research Forum*. Elaboración de entrevistas a investigadores reconocidos en el campo de la neurobiología del dolor. <https://www.painresearchforum.org/>