



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

SEDE SUR

DEPARTAMENTO DE FARMACOBIOLOGÍA

**Participación del factor de necrosis tumoral α y el receptor
TNFR1 en la alodinia táctil inducida por privación
de sueño MOR en ratas**

TESIS

Que presenta

Q.F.B. JULISSA GONZÁLEZ GONZÁLEZ

Para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

en

Neurofarmacología y Terapéutica Experimental

Directora de tesis

Dra. Janet Murbartián Aguilar

Ciudad de México

Agosto, 2023



El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Neuroinflamación y Dolor (Laboratorio 4) del Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, bajo la dirección de la Dra. Janet Murbartían Aguilar.

Para poder realizar este proyecto de tesis se contó con la beca de Maestría No. 806461 otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT).



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme guiado y acompañado a lo largo de mis estudios y por darme la oportunidad de concluirlos. Gracias por ser mi fortaleza, brindarme una vida llena de aprendizajes y felicidad.

Al CONAHCYT y al CINVESTAV, por proporcionarme los recursos necesarios para realizar este trabajo, por facilitarme los recursos materiales y el apoyo económicos para que fuera posible concluir mis estudios de posgrado.

Agradezco a mi asesora la Dra. Janet Murbartián Aguilar, por darme la oportunidad de ser parte de su laboratorio, por su valiosa dirección y su tiempo dedicado a este proyecto. Gracias por el apoyo, la paciencia y ayudarme siempre a mejorar académicamente.

Agradezco a mi comité sinodal, la Dra. Myrna Déciga Campos y la Dra. Mónica Díaz Coránguez, por sus valiosas aportaciones, comentarios y críticas que enriquecieron mi trabajo y me ayudaron a crecer académicamente.

A Carlos Javier Martínez Magaña por enseñarme las técnicas que se usan en el laboratorio 4 de “Neuroinflamación y dolor” y compartir conmigo sus conocimientos.

A Diana Paulina Velázquez Chávez, por estar siempre dispuesta ayudarme y enseñarme las técnicas del laboratorio, por su apoyo y sobre todo por su amistad tan sincera.

Agradezco a Diana Calvillo Montoya por estar a mi lado en las buenas y en las malas, por motivarme a seguir adelante en los momentos de desesperación y sobre todo por su cariño incondicional.

A Palmira Acosta Mares y Eva Marcela Solares Rioja, por los buenos momentos que compartimos y las risas.

Agradezco a la Sra. Laura Rioja por su apoyo y confianza para poder concluir mis estudios.



A el personal de bioterio, biblioteca, vigilancia, al Sr. Andrés Meza y a Shareny Freyffeldt, por hacer posible la realización de este proyecto y los trámites necesarios para mi titulación.



DEDICATORIA

A mis padres Javier González Gómez y Oralia González González, este trabajo es un logro tanto de ustedes como mío. No existen palabras para agradecer todo lo que han hecho por mí, su paciencia, sacrificio para hacer posible mi educación y por su amor incondicional.

A mi hermana Nayeli González González, mi abuelita Rosina González Godina y mi tío Héctor Trejo, gracias por apoyarme a continuar con mis estudios, gracias por su cariño y creer en mí en todo momento.

A Diana Laura Calvillo Montoya, quien ha sido parte importante de este proceso, por creer en mi cuando yo misma dudaba, gracias por su amor, paciencia e inagotable apoyo.



ÍNDICE

I. LISTA DE ABREVIATURAS	I
II. ÍNDICE DE FIGURAS	IV
III. ÍNDICE DE TABLAS	V
IV. RESUMEN.....	VI
V. ABSTRACT.....	VII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Sueño	1
1.2 Ciclo del sueño	1
1.3 Dolor	3
1.4 Clasificación del dolor	4
1.5 Fisiología del dolor.....	6
1.5.1 Nocicepción	6
1.5.2 Nociceptores	7
1.5.3 Clasificación de los nociceptores	8
1.5.4 Señalización del dolor	10
1.5.4.1 Vías ascendentes	10
1.5.4.2 Vías descendentes	10
1.5.5 Sensibilización	11
1.5.5.1 Sensibilización periférica	11
1.5.5.2 Sensibilización central	13
1.6 Trastornos del sueño y alteraciones en la nocicepción	15
1.7 Mecanismos involucrados entre la privación de sueño y el dolor.....	17
1.8 Neuroinflamación y participación de las citocinas en la respuesta nociceptiva.....	19
1.9 Factor de necrosis tumoral α	21
1.10 Participación de TNF α y su receptor TNFR1 en la nocicepción	23
1.11 Participación de TNF α en la regulación del ciclo sueño-vigilia	26
2. ANTECEDENTES	28



3. JUSTIFICACIÓN	30
4. HIPÓTESIS	31
5. OBJETIVOS	31
5.1 Objetivo general	31
5.2 Objetivos particulares	31
6. MATERIALES Y MÉTODOS	32
6.1 Animales.....	32
6.2 Fármacos.....	32
6.3 Modelo de privación de sueño MOR.....	32
6.4 Conducta nociceptiva	33
6.5 Inmunodetección de proteínas por Western blot	35
6.5.1 Procesamiento de tejidos y cuantificación de proteínas	35
6.5.2 Electroforesis de proteínas	35
6.6 ELISA	36
6.7 Prueba de coordinación motriz	36
7. DISEÑO EXPERIMENTAL	37
7.1 Curso temporal de los cambios en el umbral de retiro inducidos por privación de sueño MOR.	37
7.2 Participación de TNF α y TNFR1 en el mantenimiento de la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR.	37
7.3 Participación de TNF α y TNFR1 en el establecimiento de la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR.	38
7.4 Determinación de la expresión de TNFR1 y concentración de TNF α en médula espinal de ratas con privación de sueño MOR.	39
7.5 Análisis estadístico	40
8 RESULTADOS	41
8.1 La privación de sueño MOR induce alodinia táctil en ratas.	41
8.2 La talidomida revierte la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR en ratas hembra y macho.....	42
8.3 El R7050 revierte la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR en ratas hembra y macho.....	43



8.4 El pretratamiento con talidomida previene el desarrollo de alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR en ratas hembra y macho. .44	
8.5 El pretratamiento con R7050 previene el desarrollo de alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR en ratas hembra y macho.45	
8.6 Efecto de R7050 y talidomida sobre el umbral de retiro en ratas naïve.46	
8.7 Efecto de los fármacos usados sobre la coordinación motriz.46	
8.8 La privación de sueño MOR no modifica la expresión de TNFR1 en ganglio de raíz dorsal y médula espinal dorsal.47	
8.9 La privación de sueño MOR reduce los niveles de TNF α en médula espinal dorsal.48	
8.10 Efecto del pretratamiento de talidomida y R7050 sobre los niveles de TNF α en ratas hembra y macho.49	
9. DISCUSIÓN.....50	
9.1 La privación de sueño MOR aumenta la respuesta nociceptiva.....50	
9.2 TNF α y TNFR1 participan en el desarrollo y mantenimiento de la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR.....52	
9.3 La privación de sueño MOR reduce los niveles de TNF α en médula espinal dorsal.....55	
10. CONCLUSIONES.....58	
11 PERSPECTIVAS.....58	
12. BIBLIOGRAFÍA60	



I. LISTA DE ABREVIATURAS

µg	Microgramos
µl	Microlitros
4HNE	4- hidroxinonenal
5,6-EET	Ácido 5,6- epoxieicosatrienoico
AMPA	Receptores al ácido α-amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
AP-1	Proteína activadora 1
ATP	Adenosina trifosfato
ARN	Ácido ribonucleico
AR	Artritis reumatoride
ASIC	Canales iónicos sensibles a ácido
BDNF	Factor neurotrófico derivado de cerebro
bFGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
CaMK	Proteína cinasa dependiente de calmodulina
cAMP	Adenosina monofosfato cíclico
CCI	Constricción crónica de nervio ciático
CCL1	Ligando a quimiocina 1
CCL2	Ligando a quimiocina 2
CCL5	Ligando a quimiocina 5
CCL7	Ligando a quimiocina 7
CCK ₂	Receptor de colecistoquinina B
CFA	Adyuvante completo de Freund
CGRP	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
cm	Centrimetro
COX	Ciclooxigenasa
CXCL1	Ligando-quimiocina 1
CXRCR1	Receptor de fractalcina
DAMPs	Patrón molecular asociado a daño
DD	Dominio de muerte
DMSO	Dimetil sulfóxido
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EEG	Electroencefalograma
ERK	Cinasa regulada por señal extracelular
FADD	Dominio de muerte asociado a Fas
g	Gramos
GABA	Ácido γ-aminobutírico
Glu	Glutamato
Gly	Glicina
Gly-R	Receptor de glicina
GPCR's	Receptores acoplados a proteína G



GRD	Ganglio de la raíz dorsal
h	Horas
H ⁺	Protón
HMGB1	Proteína de alta movilidad 1
Hz	Hertz
i.t	Intratecal
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-13	Interleucina 13
IL-18	Interleucina 18
INF γ	Interferón- γ
JNK	Cinasas c-Jun N-terminal
KCC2	Co-transportador neuronal Cl ⁻ /K ⁺
KO	Animales knock-out
LNE	Ligadura de los nervios espinales
L4	Lumbar 4
L5	Lumbar 5
M	Molar
MAO	Monoamino oxidasa
MAPKs	Proteínas cinasas activadas por mitógenos
min	Minutos
mM	Milimolar
MMP-2	Metaloproteinasa de matriz - 2
MOR	Sueño de movimientos oculares rápidos
MLKL	Cinasa de linaje mixto
N	Naïve
Na _v	Canales de sodio dependientes de voltaje
Na _v 1.7	Canales de sodio dependientes de voltaje tipo 7
Na _v 1.8	Canales de sodio dependientes de voltaje tipo 8
Na _v 1.9	Canales de sodio dependientes de voltaje tipo 9
NF- κ B	Factor nuclear kappa B
NGF	Factor de crecimiento neuronal
nm	Nanómetros
NMDA	Ácido N-metil-D-aspartico
NO	Óxido nítrico
no-MOR	Sueño sin movimientos oculares rápidos
P2X3	Receptor purinérgico P2X ₃
P2Y	Receptor purinérgico P2Y
p38 MAPK	P38 proteína cinasa activada por mitógenos
PAMPs	Patrón molecular asociado a patógenos



PGE2	Prostaglandina E2
PI3K	Cinasa dependiente de fosfoinositol 3
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
PMSF	Fluoruro de fenilmetilsulfonilo
P-MOR	Privación de sueño de movimientos oculares rápidos
PVDF	Fluoruro de polivinilideno
RIPA	Buffer de ensayos de radioinmunoprecipitación
rpm	Revoluciones por minuto
RTK	Receptor de tirosina cinasa
RVM	Médula rostral ventromedial
SCW	Pared celular estreptocócica (Streptococcal Cell Wall)
SGPA	Sustancia gris periacuaductal
SP	Sustancia P
SNC	Sistema nervioso central
Src	Proteína cinasa Src
STAT3	Transductor de señal y activador de la transcripción 3
sTNF α	TNF α soluble
TACE	Enzima convertidora de TNF
TLRs	Receptores tipo Toll
tm-TNF α	TNF α transmembranal
TNF α	Factor de necrosis tumoral α
TNFR1	Receptor 1 del factor de necrosis tumoral
TNFR2	Receptor 2 del factor de necrosis tumoral
TNFtg	Ratones transgénicos TNF α
TrkB	Receptor de tropomiosina cinasa B
TrkA	Receptor de tropomiosina cinasa A
TRPA1	Receptor de potencial transitorio de anquirina 1
TRPV1	Receptor de potencial transitorio vaniloide 1
V	Vehículo
WT	Silvestre (wild type)



II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Características del electroencefalograma del sueño.	2
Figura 2: Clasificación del dolor.	4
Figura 3: Nocicepción.	7
Figura 4: Clasificación de los nociceptores.	9
Figura 5: Sensibilización periférica.	12
Figura 6: Sensibilización central.	13
Figura 7: La neuroinflamación puede inducir dolor.	20
Figura 8: Síntesis de TNF α y vía de señalización de TNFR1.	22
Figura 9: Representación del modelo de tanque con agua y plataformas múltiples.	33
Figura 10: Evaluación de la conducta nociceptiva.	34
Figura 11: Diseño experimental 1.	37
Figura 12: Diseño experimental 2.	38
Figura 13: Diseño experimental 3.	39
Figura 14: Diseño experimental 4.	40
Figura 15: Diseño experimental 5.	40
Figura 16: Efecto de la privación de sueño MOR sobre el umbral de retiro mecánico en ratas.	41
Figura 17: Efecto de la talidomida sobre la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR.	42
Figura 18: Efecto de R7050 sobre la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR.	43



Figura 19: Efecto del pretratamiento de talidomida sobre la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR	44
Figura 20: Efecto del pretratamiento de R7050 sobre la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR	45
Figura 21: Efecto de la talidomida y el R7050 en ratas naïve.	46
Figura 22: Expresión de TNFR1 en ratas hembra sometidas a privación de sueño MOR.....	47
Figura 23: Curso temporal de los niveles de TNF α en la privación de sueño MOR.....	48
Figura 24: Efecto del pretratamiento de talidomida y R7050 sobre los niveles de TNF α	49

III. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Efecto de la privación de sueño en modelos animales y en humanos sanos y enfermos.....	16
Tabla 2: Participación de TNF α y su receptor TNFR1 en la nocicepción	25
Tabla 3: Prueba de coordinación motriz en ratas naïve.	47



IV. RESUMEN

Existe una relación recíproca y bidireccional entre la privación de sueño y el dolor, el dolor afecta la calidad del sueño y la mala calidad de sueño aumenta la intensidad del dolor. Particularmente se ha reportado que la privación de sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) aumenta la sensibilidad nociceptiva, sin embargo, los mecanismos que subyacen a esta relación no se entienden por completo. La privación de sueño promueve la liberación de mediadores proinflamatorios, los cuales, modifican la actividad de las neuronas nociceptivas. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y su receptor TNFR1 tienen un papel importante en la respuesta nociceptiva, sin embargo, se desconoce su participación en la alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR. El objetivo de este estudio fue evaluar la participación del TNF α y el receptor TNFR1 en el desarrollo y mantenimiento de la alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR en ratas. El tratamiento de talidomida, un inhibidor de la síntesis de TNF α o R7050, un bloqueador de la vía de señalización TNF α /TNFR1, revirtieron la alodinia táctil observada en animales con privación de sueño MOR de forma dependiente de la concentración. El pretratamiento de talidomida y R7050 previno el desarrollo de alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR. No se observaron modificaciones en la expresión del receptor TNFR1 en ganglio de la raíz dorsal o médula espinal de ratas privadas de sueño MOR. Se determinó que la privación de sueño disminuye los niveles de TNF α en médula espinal de ratas hembra y machos en comparación con el control. Los datos obtenidos en esta tesis sugieren que TNF α y el receptor TNFR1 tienen un papel pronociceptivo y promueven el desarrollo y mantenimiento de la alodinia inducida por la privación de sueño MOR.



V. ABSTRACT

There is a reciprocal and bidirectional relationship between sleep and pain, pain affects sleep quality and poor sleep quality is associated with increased pain intensity. It has been reported that rapid eye movement (REM) sleep deprivation increases nociceptive sensitivity; however, the mechanisms underlying this relationship are not entirely understood. Sleep deprivation promotes the release of proinflammatory mediators, which modify the activity of nociceptive neurons. The tumor necrosis factor alpha (TNF α) and its TNFR1 receptor have an essential role in the nociceptive response, nevertheless; the participation in allodynia induced by REM sleep deprivation is still unknown. This study aimed to evaluate the participation of TNF α and TNFR1 receptor in the development and maintenance of tactile allodynia induced by REM sleep deprivation in rats. The treatment of thalidomide, an inhibitor of TNF α synthesis, or R7050, a blocker of signaling pathway TNF α /TNFR1, reversed tactile allodynia in animals with REM sleep deprivation concentration-dependent manner. The pretreatment of thalidomide and with R7050 prevented the development of tactile allodynia induced by REM sleep deprivation. No changes in TNFR1 expression were observed in the dorsal root ganglion or spinal cord of rats with REM sleep deprivation. It was determined that that sleep deprivation decreased the levels of TNF α in the spinal cord of male and female rats in comparison with the control. The data obtained in this thesis suggest that TNF α and TNFR1 have a pronociceptive role and promotes in developing and maintaining tactile allodynia induced by REM sleep deprivation.



1. INTRODUCCIÓN

1.1 Sueño

El sueño es un estado fisiológico donde se presenta pérdida de la conciencia, relajación muscular y menor capacidad de reaccionar a estímulos externos (Fuller et al., 2006). El sueño involucra el funcionamiento de múltiples regiones cerebrales, las cuales actúan juntas eléctrica y químicamente para alternarlo con la vigilia, un estado de conciencia y alta actividad. Algunas de las estructuras que regulan el ciclo del sueño son: el hipotálamo, el tálamo, la corteza cerebral, el tronco encefálico, y los núcleos monoaminérgicos y colinérgicos (Philips et al., 2013).

El sueño es un estado conductual. Los individuos necesitan un ambiente apropiado para dormir y una postura adecuada, que es única de cada individuo o especie, por otra parte, el individuo puede decidir no dormir, aunque tenga sueño (Velayos et al., 2007). El sueño cumple con múltiples funciones en el organismo: recuperación de energía, regulación térmica, metabólica, endocrina, inmune, regula la actividad eléctrica cerebral y ayuda a regular algunas funciones del cerebro como consolidación de la memoria (Carrillo-Mora et al., 2013).

1.2 Ciclo del sueño

Durante el sueño se presentan cambios fisiológicos que lo distinguen de la vigilia; los músculos se relajan, la actividad respiratoria y el ritmo cardiaco disminuyen, cambia la actividad cerebral y se presentan movimientos oculares en algunas fases (Velayos et al., 2007). El ciclo del sueño se divide en dos etapas de acuerdo a la actividad eléctrica cerebral: sueño sin movimientos oculares rápidos (no-MOR) y sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) (Philips et al., 2013). El sueño no-MOR y sueño MOR se alternan en ciclos de 90 minutos aproximadamente, cada ciclo comienza con la fase 1 del sueño no-MOR y continua con la fase de sueño MOR, un descanso adecuado consta de 4-6 ciclos (Carrillo-Mora et al., 2013). Conforme se acerca la hora de despertar

las fases de sueño no-MOR se vuelve más cortas y los episodios de sueño MOR se alargan (**Figura 1B**) (Scammell et al., 2017).

El sueño no-MOR o sueño de ondas lentas, se caracteriza por oscilaciones δ , son ondas de alta amplitud y baja frecuencia mediadas por electroencefalograma (EEG) (0– 4 Hz). Se observa baja actividad muscular y poca actividad ocular (Scammell et al., 2017). El sueño no-MOR se divide en 4 fases que van desde el sueño más ligero hasta el más profundo (Carrillo-Mora et al., 2013). La primera fase es el paso de la vigilia al sueño, la actividad fisiológica comienza a disminuir y los músculos comienzan a relajarse. En esta fase del sueño predominan las ondas α y el EEG muestra ondas θ de mayor amplitud. En la segunda fase hay una disminución del ritmo EEG, se presentan estallidos de sueño llamados husos y “complejos K” son ondas lentas bifásicas (Fuller et al., 2006). En la tercera y cuarta fase los músculos están completamente relajados y las constantes vitales son significativamente más bajas que durante la vigilia (Mutz y Javadi, 2017). Durante estas fases el sueño es profundo, las ondas del EEG son muy lentas, predominan las ondas δ o γ (**Figura 1A**) (Carley, 2003; Fuller et al., 2006).

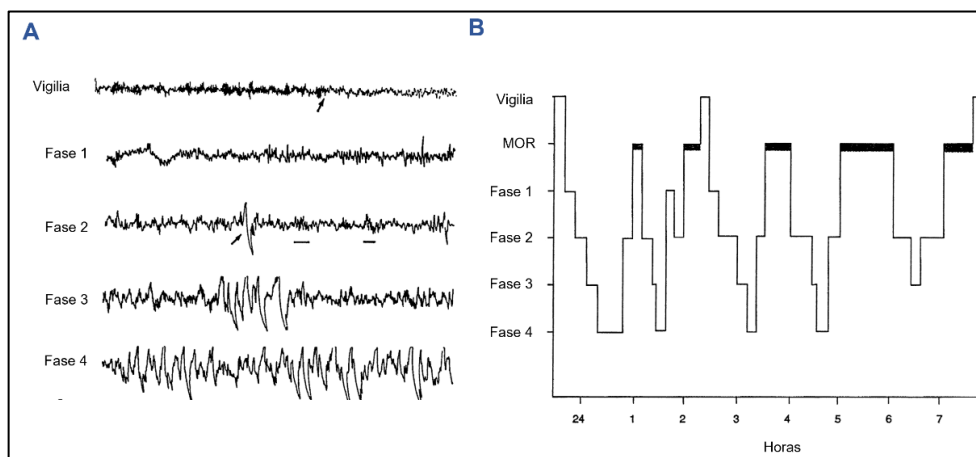


Figura 1: Características del electroencefalograma del sueño. A) Durante la vigilia se presenta mayor actividad cerebral, esta es similar a la actividad de la fase del sueño MOR. Durante el sueño no-MOR el ritmo EEG tiende a enlentecerse, en esta fase las ondas son de mayor amplitud y baja frecuencia. B) El sueño no-MOR en un adulto joven dura entre 70-100 min y el sueño MOR 5-30 min, las dos fases del sueño se repiten en ciclo de 90 min, en cada ciclo las fases de sueño MOR se alargan y el sueño no-MOR se acorta (Modificado de: Carley, 2003).



El sueño MOR se caracteriza por ondas de baja amplitud y alta frecuencia, la actividad cerebral en ese momento es muy similar a la vigilia, se observan ondas θ (6 – 9 Hz) y γ (40 – 300 Hz). En esta fase del sueño resulta muy difícil despertar, se presentan movimientos oculares rápidos, atonía muscular, frecuencia cardiaca y respiratoria fluctuantes (Luppi y Fort, 2019; Mutz y Javadi, 2017; Velayos et al., 2007). En ese momento se generan los pensamientos vivos que acompañan a los sueños, pero la atonía muscular que se presenta en esta fase evita la representación de los sueños (Carrillo-Mora et al., 2013; Scammell et al., 2017).

Diferentes neurotransmisores y estructuras del cerebro ayudan a modular los diferentes grados de profundidad del sueño. La vigilia está regulada por el sistema reticular ascendente de activación (SRAA) y por la acción de la acetilcolina, noradrenalina, histamina, serotonina, glutamato y orexina (Alóe et al., 2005; Fuller et al., 2006). En la regulación del sueño no-MOR participan principalmente el hipotálamo anterior, núcleos talámicos reticular y dorsomediales, en esta fase del sueño los principales neurotransmisores que intervienen son glutamato y ácido- γ -aminobutírico (GABA). La fase del sueño MOR está regulada por la actividad del núcleo reticular pontino oral y la acción de varios neurotransmisores entre ellos serotonina, GABA y glutamato (Luppi y Fort, 2019; Velayos et al., 2007).

1.3 Dolor

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) define al dolor como una *“experiencia sensorial y emocional desagradable asociada, o similar a la asociada con, daño tisular real o potencial”*. El dolor tiene la función de proteger el organismo de posibles daños que pongan en riesgo su integridad. Sin embargo, en algunas condiciones el dolor pierde su función de protección y se convierte en sí mismo una patología, en este caso ocurren alteraciones en los mecanismos involucrados en la transmisión nociceptiva y afectan la calidad de vida del individuo (Arco, 2015; Woolf, 2010).

Es importante señalar que en la interpretación del dolor se involucra una parte emocional dada por los aspectos psicológicos y el entorno del individuo, los cuales pueden modificar la percepción del dolor, de tal manera que la gravedad de la lesión no necesariamente se encuentra relacionada con la intensidad dolorosa (Arco, 2015; Raja et al., 2020).

1.4 Clasificación del dolor

El dolor puede clasificarse de acuerdo a diferentes características como la intensidad o duración (Souza Monteiro et al., 2020). Una de las clasificaciones más aceptada es la propuesta por Woolf en el 2004, basada en el mecanismo neurobiológico que lo desencadena, clasificándolo en 4 tipos; dolor nociceptivo, inflamatorio, neuropático y disfuncional (**Figura 2**). Los primeros dos se consideran protectores, los otros dos se consideran maladaptativos y son el resultado de un funcionamiento anormal del sistema nociceptivo (Woolf, 2004; 2010).

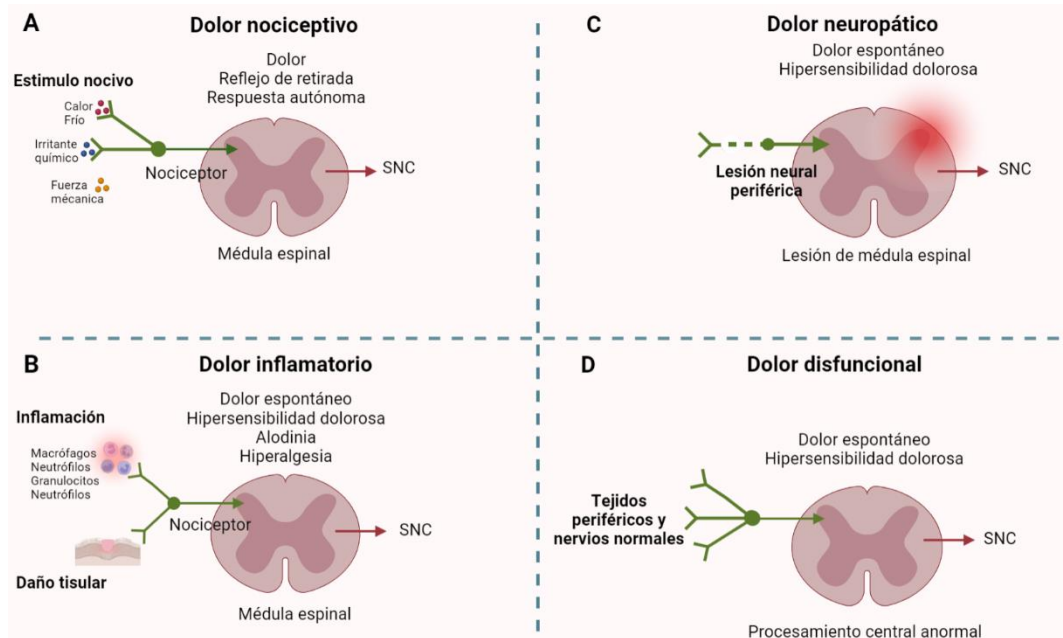


Figura 2: Clasificación del dolor. El dolor se puede clasificación de acuerdo a su mecanismo neurobiológico. Los primeros dos se consideran mecanismos de alerta A) dolor nociceptivo, es una respuesta inmediata tras un estímulo térmico, químico o mecánico nocivo. B) dolor inflamatorio, se debe a la acción del sistema inmunológico y la liberación de mediadores inflamatorios que activan a los nociceptores. Los otros tipos de dolor se consideran

maladaptativos C) dolor neuropático, se debe una lesión en el sistema nervioso y D) dolor disfuncional, se debe a un funcionamiento central alterado (Modificado de Woolf, 2004).

1. Dolor nociceptivo: ocurre en respuesta a un daños del tejido, no hay un daño neuronal, se generan reflejos de acción inmediata (Woolf, 2010). Se divide en dos categorías: dolor somático, que está bien localizado generalmente a nivel de la dermis, y dolor visceral que generalmente surge como una sensación difusa (**Figura 2A**) (Souza Monteiro et al., 2020).
2. Dolor inflamatorio: se considera un mecanismo de alerta, cuando ocurre una lesión o infección, se liberan mediadores inflamatorios, los cuales son fundamentales para el desarrollo y mantenimiento de este tipo de dolor (Souza Monteiro et al., 2020). Se caracteriza por una mayor sensibilidad a estímulos dolorosos y el contacto físico, además impide el movimiento para promover una curación más rápida de la parte lesionada (**Figura 2B**) (Woolf, 2010).
3. Dolor neuropático: se caracteriza por la presencia de alodinia e hiperalgesia y además dolor espontáneo. La IASP define la alodinia como “*dolor debido a un estímulo que normalmente no provoca dolor*” y la hiperalgesia como “*aumento del dolor por un estímulo que normalmente provoca dolor*” (Scholz et al., 2019; Woolf, 2004). Este tipo de dolor se debe a una lesión en el sistema nervioso y puede resultar de diferentes trastornos neurológicos como; neuralgia del trigémino, neuropatía diabética o neuralgia post-herpética (**Figura 2C**) (Colloca et al., 2017).
4. Dolor disfuncional: es aquel que se presenta sin una causa aparente ya que no se identifica un estímulo nocivo. Este tipo de dolor se debe a un procesamiento central alterado y se caracteriza por una sensibilidad anormal (**Figura 2D**). En algunas patologías como fibromialgia, dolor de



cabeza por tensión, síndrome de intestino irritable y artritis se presenta este tipo de dolor (Woolf, 2004; 2010).

1.5 Fisiología del dolor

1.5.1 Nocicepción

La nocicepción es un mecanismo sensorial que permite la detección de estímulos nocivos a través de una subpoblación de fibras nerviosas de alto umbral denominadas nociceptores, fibras aferentes primarias o neuronas de primer orden (Basbaum et al., 2009). Los nociceptores detectan los estímulos térmicos, mecánicos o físicos de alta intensidad o que ponen en riesgo el organismo mediante la activación de diversos receptores y canales iónicos; canales de sodio activados por voltaje (Nav1.7, Nav1.8, Nav1.9), receptores de potencial transitorio (TRPs), canales iónicos sensibles a ácido (ASICs), receptores purinérgicos (P2Y, P2X). Estos canales y receptores son activados por diversas sustancias liberadas en respuesta al daño; prostaglandinas, factor de crecimiento neuronal (NGF), interleucina 1 β (IL-1 β) factor de necrosis tumoral α (TNF α), histamina, serotonina, bradicinina, protones (H⁺), tromboxanos y leucotrienos (Costigan y Woolf, 2000). La nocicepción comprende de una serie de mecanismos; transducción, transmisión, modulación y percepción (Lamont et al., 2000):

1. Transducción: proceso mediante el cual un estímulo de alta intensidad se traduce en señales eléctricas, este paso de la nocicepción esta mediado por la activación de canales iónicos. Los nociceptores tiene la capacidad de diferenciar un estímulo inocuo de un estímulo nocivo, solo responden a estímulos de alta intensidad (Zegarra, 2007).
2. Transmisión: es la propagación de los potenciales de acción desde la periferia a la médula espinal y posteriormente a centros supraespinales (Vanderah, 2007).
3. Modulación: La señal nociceptiva es modificada en el asta dorsal o tractos descendentes, se puede facilitar o inhibir (Vanderah, 2007).

4. Percepción: es la integración de los tres procesos anteriores, dando como resultado esa experiencia subjetiva y emocional llamada dolor (**Figura 3**) (Basbaum et al., 2009; Tracey y Manthyh, 2007).

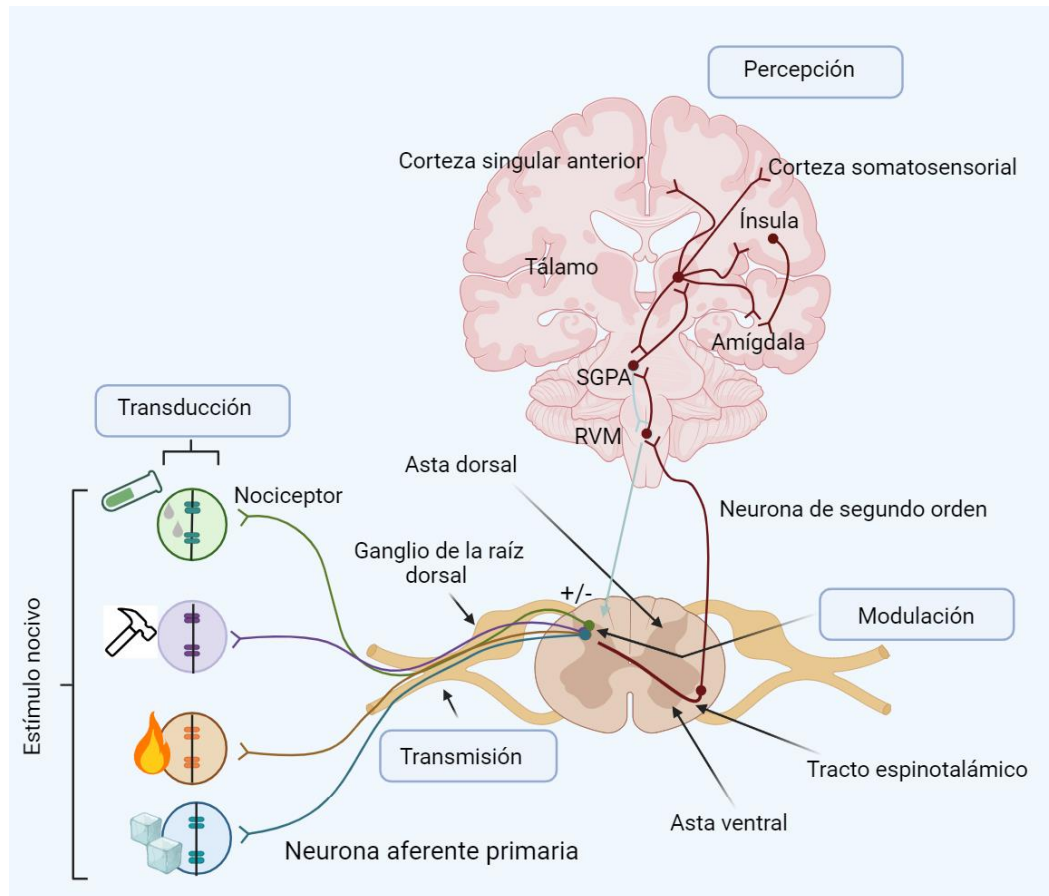


Figura 3: Nocicepción. La nocicepción es la detección de los estímulos nocivos a través de los nociceptores. La información detectada se transduce en potenciales de acción y se transmite a centros supraespinales, la señal dolorosa se puede inhibir o facilitar. La percepción es el resultado final de estos tres procesos, donde se genera una experiencia subjetiva y emocional (Modificado de Ruelle-Le et al., 2021).

1.5.2 Nociceptores

Los nociceptores tienen propiedades biofísicas y moleculares especiales que les permite excitarse selectivamente a estímulos dañinos, estos responden tanto a las señales externas como a las provocadas por el propio organismo (Basbaum et al., 2009). Los nociceptores tienen una rama axonal periférica que detecta los estímulos nocivos y una rama axonal central que hace contacto



sináptico con las neuronas de proyección en la asta dorsal de la médula espinal. La rama axonal periférica y central de los nociceptores comparten el mismo tallo axonal ubicado en el ganglio de la raíz dorsal (GRD) (Bourne et al., 2014; Brodin et al., 2016).

1.5.3 Clasificación de los nociceptores

Los nociceptores se pueden clasificar de acuerdo al grado de mielinización y velocidad de conducción;

Fibras A β : son altamente mielinizados de más de 10 μm de diámetro y transmisión rápida (30-100 m/s), transmiten información sensorial inocua (Bourne et al., 2014; Millan, 1999).

Fibras A δ : son fibras poco mielinizadas de diámetro medio (2-5 μm) y conducción rápida (12-30 m/s), transmiten información de estímulos térmicos, mecánicos, térmicos y químicos de alto umbral (Millan, 1999; Vanderah, 2007).

- **Fibras A δ tipo I**: son de conducción rápida y responde a estímulos mecánicos y químicos de alta intensidad. Responden a estímulos térmicos mayores a 50 °C, ante la estimulación térmica constante, se sensibilizan y responden a temperaturas más bajas y estímulos mecánicos de menor intensidad (Basbaum et al., 2009; Millan, 1999).
- **Fibras A δ tipo II**: responden más rápido a los estímulos térmicos se activan a temperaturas más bajas que los tipos I, y responden a estímulos mecánicos de alta intensidad (Basbaum et al., 2009; Millan, 1999).

Fibras C: son fibras amielínicas de transmisión lenta (< 2 m/s) y diámetro pequeño (0.4-1.2 μm), transmiten la mayoría de los estímulos, son fibras polimodales, es decir, pueden ser sensibles al calor, a estímulos mecánicos y químicos (Bourne et al., 2014; 2001; Millan, 1999).

- **Fibras C peptidérgicas**: libera péptidos como la sustancia P (SP) y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). Este tipo de

fibras expresan el receptor de tropomiosina cinasa A (TrkA) del NGF (Juliu y Basbaum, 2001).

- **Fibras C no peptidérgicas:** este subtipo de fibras expresa el receptor de neurotrofina c-Ret para la unión del factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), además de expresar receptores a adenosina trifosfato (ATP) particularmente P2X₃ (Juliu y Basbaum, 2001).

Nociceptores silenciosos: es un subtipo de los nociceptores tipo C amielínicas, presentes en la piel, viseras y articulaciones, los cuales presentan poca actividad espontánea, responde únicamente a estímulos físicos de alta intensidad, relacionados con una lesión (Millan, 1999; Woller et al., 2017) **(Figura 4).**

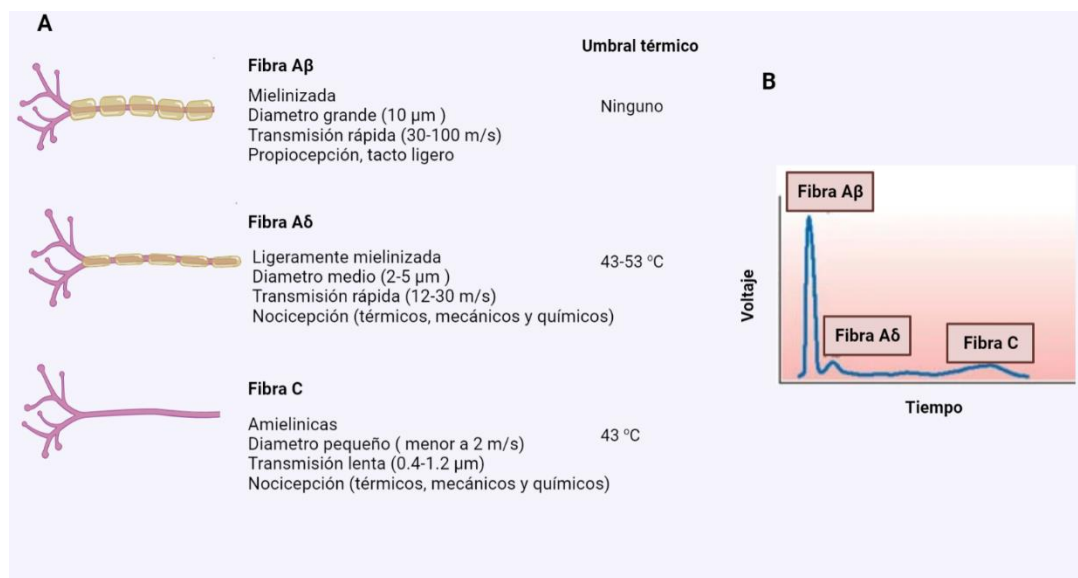


Figura 4: Clasificación de los nociceptores. A) Los nociceptores se pueden clasificar de acuerdo al grado de mielinización, diámetro grande (Fibras Aβ), diámetro medio (Fibras Aδ) y pequeño (Fibras C). B) La velocidad de transmisión se relaciona con el grado de mielinización y se refleja en el registro de un potencial de acción (Modificada de Julius y Basbaum, 2001).

1.5.4 Señalización del dolor

1.5.4.1 Vías ascendentes

Los estímulos químicos, mecánicos y térmicos nocivos son detectados por los nociceptores. Las terminales nerviosas periféricas transducen la información detectada en potenciales de acción y la transmiten a través del axón de la fibra nerviosa hasta la médula espinal donde se encuentran las neuronas de segundo orden haciendo sinapsis con estas (Juliu y Basbaum, 2001). De la terminal central del nociceptor se liberan neurotransmisores excitadores (SP, aspartato, glutamato, CGRP, ATP) los cuales activan a las neuronas de segundo orden, encargadas de amplificar la señal dolorosa (Grace et al., 2014; Kuner, 2010). Las neuronas de segundo orden llevan la información a centros supraespinales (bulbo raquídeo rostro medial, sustancia gris periacuadantal, tálamo, regiones parabraquiales, hipotálamo y amígdala) siguiendo diferentes trayectorias que tienen origen en diferentes láminas de la médula espinal, las dos principales vías son: el tracto espino-talámico y el espino-reticular (Basbaum et al., 2009). La primera de ellas lleva la información al tálamo, se encarga de codificar la ubicación y la intensidad de la señal dolorosa. La segunda lleva la información al sistema límbico, esta vía se asocia con la parte emocional y el afecto (Willias y Westlund, 1997; Woller et al., 2017).

1.5.4.2 Vías descendentes

La nocicepción está formada además por vías descendentes que ayudan a facilitar o inhibir la señal dolorosa. Las vías descendentes ahora se originan en las estructuras supraespinales hacia la médula espinal (Kwon et al., 2013). Las principales estructuras responsables son la médula rostral ventromedial (RVM) y la sustancia gris periacuadantal (SGPA). Los centros supraespinales se conectan con la SGPA que envía proyecciones a la RVM y a la médula espinal (Bourne et al., 2014; Ossipov et al., 2010). Las neuronas moduladoras de la RVM (GABAérgicas, glicinérgicas, noradrenérgicas, serotoninérgicas)

proyectan a la médula espinal y ayudan a suprimir o incrementar la señal dolorosa (Mason, 1999; Ossipov et al., 2010).

1.5.5 Sensibilización

La señal dolorosa es una señal de alarma que intenta proteger al organismo del peligro. Las alteraciones en este sistema produce un aumento de la excitabilidad o la capacidad de respuesta de las neuronas a nivel periférico o central, conocido como sensibilización (Kawasaki et al., 2008; Staud, 2012). La sensibilización surge tras una estimulación nociva repetida o prolongada, como consecuencia disminuye el umbral de activación e incrementa la actividad espontánea (Aguggia et al., 2013).

1.5.5.1 Sensibilización periférica

La sensibilización periférica se relaciona con la inflamación. En una lesión los nociceptores activos y células inmunológicas (mastocitos, basófilos, macrófagos, neutrófilos) liberan; SP, CGRP, citocinas, quimiocinas, neurotrofinas, bradisininas, prostaglandinas, histamina, eicosanoides, quimiocinas, H^+ , NGF, tromboxanos, leucotrienos, entre otros mediadores proinflamatorios (Ji et al., 2018). Los nociceptores expresan diversos receptores y canales iónicos que reconocen a cada uno de estos mediadores, y como consecuencia la respuesta a estos mediadores aumenta la excitabilidad de los nociceptores y provoca dolor (Kidd y Urban, 2001; Ji et al., 2014). Posteriormente se induce la producción de segundos mensajeros como el Ca^{2+} , el cuál activa a cinasas como: proteína cinasa A (PKA), proteína cinasa dependiente de calmodulina (CaMK) proteína cinasa C (PKC), y proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPKs) entre ellas cinasas c-Jun N-terminal (JNK), proteínas cinasas activadas por mitógenos (p38 MAPK), cinasa regulada por señal extracelular (ERK). Las cinasas fosforilan algunos canales iónicos (TRPs, Nav1.7, Nav1.8 y Nav1.9) y modifican drásticamente su actividad, generando hiperexcitabilidad (Pinho-Ribeiro et al., 2017). Por otra parte, los nociceptores también expresan receptores que son activados por

patrones moleculares asociados a daño (DAMPs) o patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) los cuáles también sirven como mediadores en la respuesta de dolor (Ji et al., 2014; Woller et al., 2017). La activación de los nociceptores activa potenciales de acción antidrómicos y ortodrómicos, que causan la liberación de CGRP y SP, los cuales favorecen a la despolarización de fibras nerviosas vecinas y la liberación de mediadores inflamatorios. Esto promueve la inflamación y la sensibilización (**Figura 5**) (Costigan y Woolf, 2000).

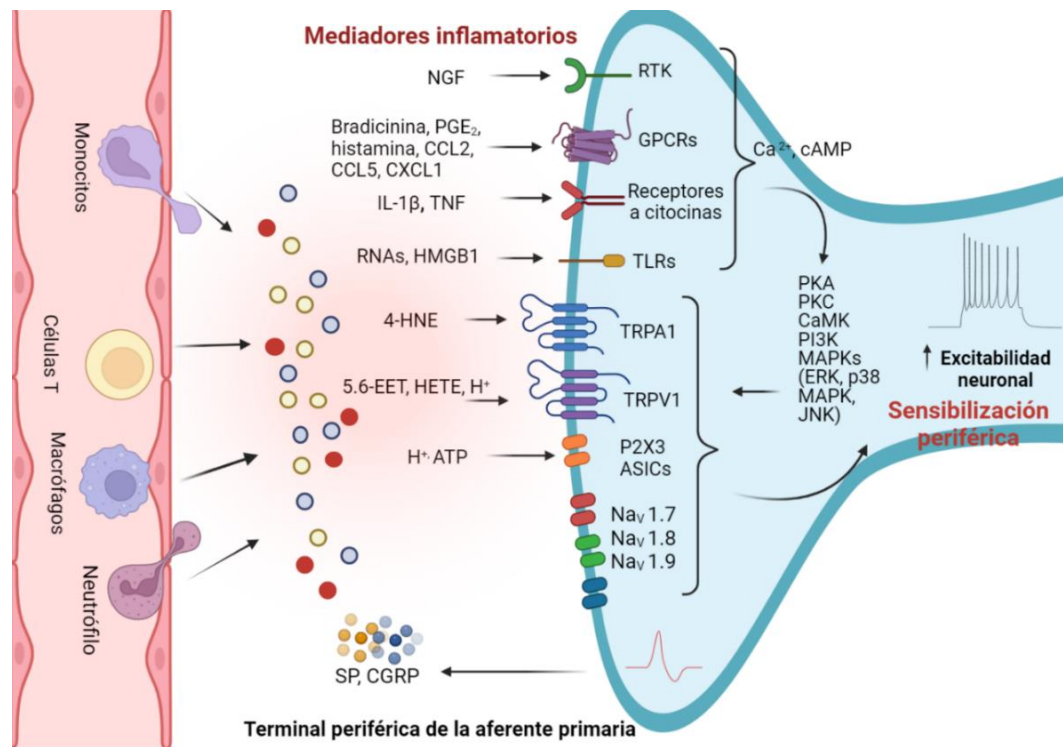


Figura 5: Sensibilización periférica. El aumento de la excitabilidad de las fibras nerviosas se produce en respuesta a la activación de los receptores ubicados en la superficie celular de los nociceptores, por medio de los componentes endógenos liberados por las células neuronales y no neuronales infiltradas al lugar de lesión. La activación de estos receptores incrementa los niveles de Ca²⁺ citosólico y la activación de diversas cinasas, estas modifican la actividad de diferentes canales iónicos, promoviendo la excitabilidad neuronal (Modificada de Ji et al., 2014).

1.5.5.2 Sensibilización central

La sensibilización central se debe a una mayor capacidad de respuesta neuronal, hay mayor eficacia sináptica o una inhibición reducida, lo que facilita la hiperexcitabilidad del sistema nervioso central (SNC) (Letremoliere y Woolf, 2009). Existe una relación entre la sensibilización periférica y central, los estímulos periféricos prolongados inducen cambios en el SNC lo que conduce a este tipo de sensibilidad. Se han descrito tres mecanismos principales relacionados con la sensibilización central (Basbaum et al., 2009) (**Figura 6**);

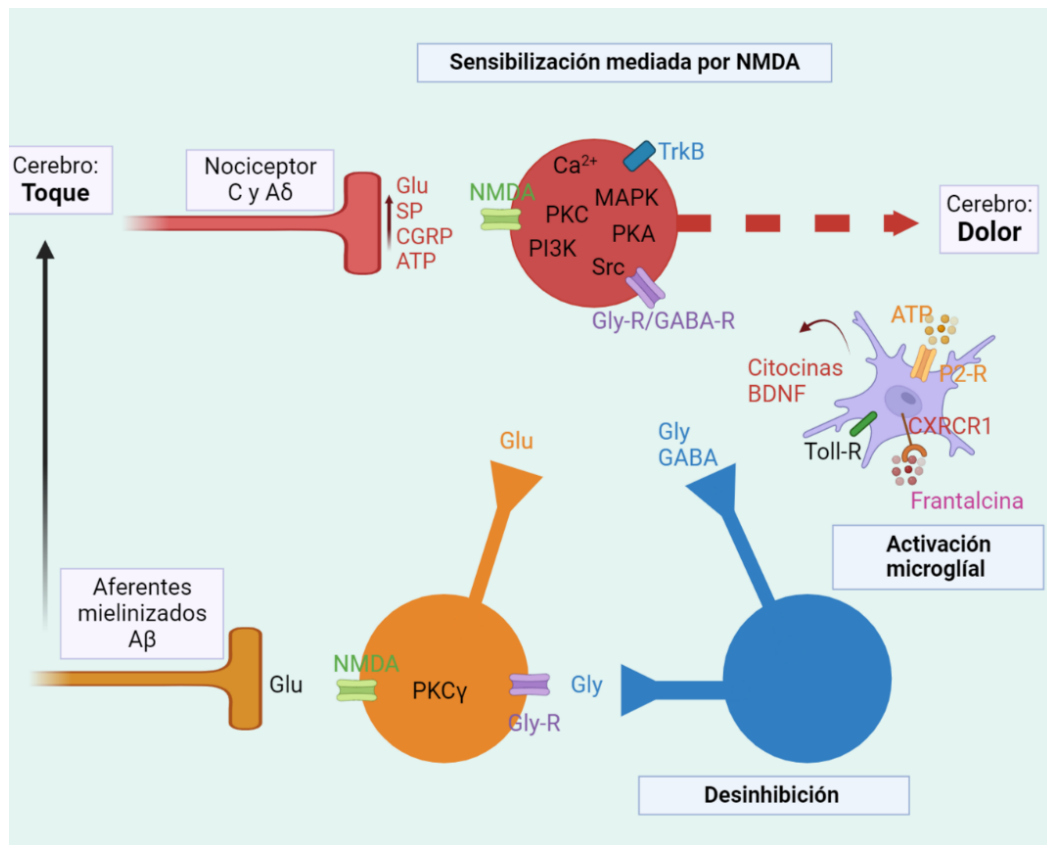


Figura 6: Sensibilización central. La actividad presináptica aumentada permite la liberación de varios neurotransmisores entre ellos el glutamato, el cual promueve la despolarización posináptica a través de los receptores NMDA y la entrada de Ca^{2+} . Por otra parte, la transmisión sináptica inhibitoria mediada por GABA y glicina se encuentra disminuida, lo que favorece a la excitabilidad neuronal. En la sensibilización centra las células de la glía liberan BDNF, el cual a través de los receptores TrkB modifica el gradiente de Cl^- debido a una menor expresión del cotransportador KCC2 y la alteración de la actividad del receptor GABA (Modificada de Basbaum et al., 2009).

- 1. Sensibilización mediada por los receptores a glutamato NMDA.** La actividad de los nociceptores por lesión induce la liberación de neurotransmisores que se unen a sus receptores en la membrana de las neuronas postsinápticas. En particular, el glutamato activa a los receptores a glutamato ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y Kainato, lo cual provoca la despolarización de la neurona de segundo orden (Basbaum et al., 2009; Letremoliere y Woolf, 2009). Esta despolarización induce un cambio en el receptor a glutamato tipo N-metil-D-aspartico (NMDA), en reposo su poro se encuentra bloqueado por Mg^{2+} , tras la despolarización de la membrana se elimina lo que permite la entrada de Ca^{2+} a través de él (Grace et al., 2014; Ji et al., 2018). El aumento de calcio intracelular activa vías de señalización que promueven la sensibilización central. El Ca^{2+} activa cinasas; MAPK, PKA, PKC, proteína cinasa Src (Src) y cinasa dependiente de fosfoinositol 3 (PI3K), éstas fosforilan los receptores NMDA, lo que favorece la excitabilidad neuronal (Ji et al., 2018; Letremoliere y Woolf, 2009). La activación de otros receptores a glutamato en la neurona posináptica y la liberación de péptidos y mediadores inflamatorios contribuyen al aumento de Ca^{2+} citosólico y por lo tanto a la sensibilización (Basbaum et al., 2009).
- 1. Desinhibición GABAérgica y glicinérgica alterada.** En condiciones normales existe una neurotransmisión inhibitoria mediada por dos principales neurotransmisores, GABA y glicina que modulan la transmisión dolorosa a nivel del asta dorsal de la médula espinal (Grace et al., 2014). Sin embargo, durante los procesos de dolor crónico o condiciones patológicas hay una disminución de las corrientes inhibitorias, lo que facilita la excitabilidad de las neuronas (Basbaum et al., 2009; Li et al., 2021).
- 2. Activación de la microglía.** Un tercer mecanismo que contribuye a la sensibilización central es la activación de las células gliales, particularmente de la microglía y los astrocitos (Basbaum et al., 2009;

Li et al., 2021). La lesión induce la liberación de mediadores que son detectados por la microglía, entre ellos se libera ATP que se dirige sobre los receptores purinérgicos microgliales de tipo P2, causando la liberación del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Grace et al., 2014). El BDNF actúa sobre los receptores de tropomiosina quinasa B (TrkB) en las neuronas de segundo orden en la asta dorsal de la médula espinal lo que genera cambios en el gradiente de Cl⁻ debido a que reduce la expresión del co-transportador neuronal Cl⁻/K⁺ (KCC2), esto provoca un aumento en la concentración intracelular de cloruro. Este cambio en el gradiente de Cl⁻ modifica la actividad del receptor a GABA, de manera que el GABA pasa de tener una acción inhibitoria a ser excitadora (Basbaum et al., 2009). Por otra parte, la microglía activa libera moléculas de señalización como: citocinas y quimiocinas que contribuyen a la sensibilización central (Kawasaki et al., 2008).

1.6 Trastornos del sueño y alteraciones en la nocicepción

El sueño es una necesidad biológica, para mantener el funcionamiento de diferentes sistemas fisiológicos, por lo tanto, su alteración repercute en la función del organismo (Miyazaki et al., 2017). La perturbación prolongada incrementa alteraciones metabólicas como: aumento de la resistencia a insulina y la probabilidad de desarrollar diabetes tipo II (Knutson et al., 2006; Spiegel et al., 2005). El cerebro es uno de los principales órganos afectados por la privación de sueño, se han observado alteraciones de la memoria, la cognición, aumenta el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y problemas neuroconductuales (Gaine et al., 2018; Grandner, 2017; Jackson et al., 2013; Kang et al., 2009; Lewis et al., 2017; Verweij et al., 2014; Wehr et al., 1987).

La nocicepción se altera por la privación de sueño. Existe una relación recíproca entre el sueño y dolor, estudios experimentales han observado que la alteración del sueño contribuye al desarrollo de dolor y la presencia de dolor

crónico genera mala calidad de sueño (Tomim et al., 2016). En modelos animales se ha observado que la pérdida de sueño aumenta las conductas asociadas a dolor (Alexandre et al., 2017; Onen et al., 2001a; Onen et al., 2000). Experimentos en humanos sanos reportan que la privación total, parcial o de algunas de las fases del sueño facilita la sensibilidad dolorosa (Faraut et al., 2015; Schuh-Hofer et al., 2013). Se ha informado que la mala calidad de sueño en pacientes con fibromialgia, artritis reumatoide o quemaduras graves aumenta la percepción del dolor (Affleck et al., 1996; Finan et al., 2013; Irwin et al., 2012; Raymond et al., 2001) (**Tabla 1**).

Tabla 1: Efecto de la privación de sueño en modelos animales, en humanos sanos y enfermos. La privación total, parcial o selectiva de sueño aumenta la respuesta nociceptiva.

Referencia	Sujeto de estudio	Diseño experimental	Evaluación de la nocicepción	Efecto inicial
Ejemplos de estudios en humanos sanos y enfermos				
(Affleck et al., 1996)	Mujeres con fibromialgia (edad promedio 43.8 años)	-Sueño ilimitado	Entrevistador electrónico, se evaluó calidad de sueño e intensidad del dolor	-Las mujeres que dormían mal reportaron mayor intensidad del dolor y las mujeres con mejor calidad del sueño reportaron dolor menos intenso.
(Roehrs et al., 2006)	Hombre y mujeres sanos (18 - 35 años)	-Restricción de sueño total (8, y 4 h) -Restricción de sueño MOR (8 y 2 h) por 2 días.	Latencia de retiro del dedo ante la aplicación de calor radiante	-La pérdida de sueño acumulada aumenta la sensibilidad dolorosa. -La latencia de retiro disminuye con la privación de sueño total y MOR.
(Onen et al., 2001b)	Hombres sanos (26 - 43 años)	-Privación total 1 día + PMOR 2 días + recuperación -Privación total 1 día + privación de sueño noMOR 2 días + recuperación	Umbral nociceptivo mecánico (aplicación de presión) y térmico	-La privación total afecta el umbral nociceptivo más que la privación selectiva. -La privación total y selectiva no modificaron el umbral térmico. -La recuperación de sueño noMOR mostró un mayor efecto analgésico que el sueño MOR.
(Irwin et al., 2012)	Pacientes con artritis reumatoide (AR) y sujetos sanos	-4 h de privación de sueño durante la noche	Cuestionario de dolor McGill	-Los pacientes con AR presentaron una mayor respuesta nociceptiva después de 4 h de privación de sueño. -La privación de sueño aumentó el dolor en las articulaciones, relacionado con la AR.

Tabla 1: Efecto de la privación de sueño en modelos animales, en humanos sanos y enfermos. La privación total, parcial o selectiva de sueño aumenta la respuesta nociceptiva (continuación).

Referencia	Sujeto de estudio	Diseño experimental	Evaluación de la nocicepción	Efecto inicial
Ejemplos de estudios hechos en modelos animales				
(Ukponmwan et al., 1986)	Ratas Wistar macho	-P-MOR 96 h -Administración de deprenil, inhibidor de la monoamino oxidasa A-B (MAO), fosforamidona (inhibidor de encefalinas), feniletilamina (sustrato de la MAO).	Umbral nociceptivo mecánico (Randall-Selitto)	-La privación de sueño redujo el umbral nociceptivo. -La administración de deprenil y feniletilamina potenciaron el efecto analgésico de la fosforamidona en los animales control, pero no se observó mayor efecto en los animales con P-MOR. -La P-MOR redujo el efecto analgésico de la fosforamidona.
(Onen et al., 2000)	Ratas Wistar macho	-P-MOR 3 días y 4 días de recuperación	Umbral nociceptivo mecánico (presión en la pata)	-La P-MOR redujo el umbral nociceptivo. -La recuperación del sueño mostró un efecto analgésico.
(Onen et al., 2001a)	Ratas Wistar macho	-P-MOR 3 y 5 días	Umbral nociceptivo térmico y mecánico, estímulo eléctrico en la pata y prueba de formalina.	-La respuesta a estímulos térmicos, mecánicos y eléctricos aumentó después de la P-MOR, pero no cuando se aplicó un estímulo químico.
(Tomim et al., 2016)	Ratas Wistar macho	-P-MOR 24 y 48 h -Administración de bicuculina, morfina, y antagonista del receptor de colecistoquinina B (CCK ₂)	Umbral nociceptivo mecánico (Randall-Selitto) y prueba de formalina	-La P-MOR disminuyó el efecto analgésico de la morfina. -La bicuculina y el antagonista de CCK ₂ mostraron un efecto antinociceptivo en animales con P-MOR.
(Alexandre et al., 2017)	Ratones C57BL/67 macho y hembra	-Privación aguda: 12, 6 y 9 h. -Privación crónica: 1,3 y 5 días.	Prueba de acetona, umbral nociceptivo mecánico (von Frey) y térmico (placa caliente)	-La privación aguda y crónica aumenta la respuesta nociceptiva y la sensibilidad a estímulos mecánicos y térmicos.

1.7 Mecanismos involucrados entre la privación de sueño y el dolor

Se ha demostrado que una mala calidad del sueño induce dolor, sin embargo, los mecanismos no se entienden por completo. El sueño mantiene el correcto funcionamiento del organismo, es posible que la perturbación prolongada del sueño altere el funcionamiento de los circuitos moduladores del dolor. Por ejemplo se ha informado que la privación de sueño afecta los controles descendentes inhibitorios noradrenérgicos y serotoninérgicos (Damasceno et al., 2009; Wei et al., 2008). En diferentes modelos animales se ha observado que la privación de sueño reduce la actividad GABAérgica y aumenta la

actividad glutamatérgica en la asta dorsal, lo que favorece a una mayor excitabilidad neuronal y al desarrollo de dolor (Tomim et al., 2016; Wei et al., 2007, 2008). Además, la falta de sueño afecta a los sistemas inhibitorios descendentes mediados en la SGPA. La privación de sueño afecta a la eficacia analgésica de la morfina y la SGPA es fundamental para su efecto analgésico (Alexandre et al., 2017; Nascimento et al., 2007; Ukponmwan et al., 1984). En otros estudios se ha descrito que la privación de sueño aumenta la transmisión colecistoquinérgica en el RVM, lo que promueve controles descendentes pronociceptivos (Tomim et al., 2016).

Shapiro y Girdwood propusieron el primer mecanismo que explica parte del efecto pronociceptivo de la pérdida de sueño. Shapiro y Girdwood observaron que la privación de sueño altera el funcionamiento del sistema opioide, causa una disminución en la producción de opiodes (Shapiro y Girdwood, 1981). Posteriormente se observó que la falta de sueño altera la afinidad de los receptores μ y δ (Fadda et al., 1993).

La inflamación es otro posible mecanismo involucrado. La perturbación del sueño aumenta la liberación de células inmunes (monocitos y macrófagos) e incrementar la producción de mediadores proinflamatorios (citocinas y prostaglandinas) por estas células (Faraut et al., 2015; Hu et al., 2003; Irwin et al., 2008). Los mediadores proinflamatorios a nivel periférico pueden unirse a sus receptores expresados en los nociceptores y sensibilizarlos directamente o entrar desde la periferia a la médula espinal y modular la señal nociceptiva (Basbaum et al., 2009; Herrero et al., 2020).

El efecto pronociceptivo de la restricción de sueño probablemente se debe a una alteración en la liberación de varias sustancias endógenas, se ha observado que la falta de sueño altera la liberación de dopamina, orexina, vitamina D y melatonina. Por ejemplo, la dopamina tiene efecto antinociceptivo, la mala calidad de sueño regula a la baja los receptores dopaminérgicos $D_{2/3}$, afectando su función en la modulación del dolor (Finan y Remeniuk, 2016). Varios autores han propuesto que la falta de sueño disminuye la secreción de

melatonina. La melatonina interactúa con varias vías del dolor, como GABA, NMDA, MAPK y opioides, de tal manera que la disminución de melatonina aumenta la señal nociceptiva mediante su acción en diferentes sistemas de neurotransmisión (Danilov y Kurganova, 2016).

1.8 Neuroinflamación y participación de las citocinas en la respuesta nociceptiva

Uno de los posibles mecanismos involucrados en diferentes tipos de dolor es la neuroinflamación de la médula espinal (Kawasaki et al., 2008). La neuroinflamación se caracteriza por la activación de la microglía y astrocitos, una mayor permeabilidad vascular, filtración de células inmunológicas periféricas y la producción de mediadores inflamatorios; $TNF\alpha$, $IL-1\beta$, interleucina 6 (IL-6), interleucina 18 (IL-18), quinasas (CXCL1, CCL7, CCL2), factores de crecimiento (BDNF, bFGF), neurotransmisores y neuromoduladores (glutamato, ATP) (Ellis y Bennett, 2013; Ji et al., 2014; Jiang et al., 2020). Estos mediadores gliales a nivel de la médula espinal, regula la transmisión sináptica excitatoria e inhibitoria y conducen al desarrollo de sensibilización central. Durante la neuroinflamación también se liberan citocinas antiinflamatorias y otros mediadores que normalizan la neuroinflamación y la respuesta dolorosa alterada (Ji et al., 2014). Las vías de señalización ERK 1/2 y MAPK p38 se activan en la microglía, y en los astrocitos la vía ERK 1/2 y JNK para la liberación de estos mediadores proinflamatorios (Calvo et al., 2012).

Las citocinas participan en la inducción del dolor, las principales citocinas relacionadas con una mayor respuesta nociceptiva son el $TNF\alpha$ y la $IL-1\beta$ (White et al., 2005). $TNF\alpha$ y la $IL-1\beta$ son citocinas multifuncionales que promueven la hipernocicepción por su acción directa sobre las neuronas sensoriales o la liberación de otros mediadores proalgésicos como quimiocinas, ATP, óxido nítrico (NO), lípidos, otras citocinas o prostanoïdes (Miller et al., 2009). Se ha observado que la administración local, sistémica o en la médula espinal de citocinas aumenta la respuesta a estímulos nocivos

(Cunha et al., 1992; DeLeo et al., 1996; Fukuoka et al., 1994; Miller et al., 2009; Reeve et al., 2000). Por otra parte, en modelos animales se ha observado que el uso de diferentes estrategias para bloquear la acción de las citocinas revierte y/o previene el desarrollo de hiperalgesia o alodinia, lo que respalda la idea de que están involucradas en desarrollo y mantenimiento del dolor (Ribeiro et al., 2000; Sweitzer et al., 2001; Watanabe et al., 2011; Watkins y Maier, 2003) (**Figura 7**).

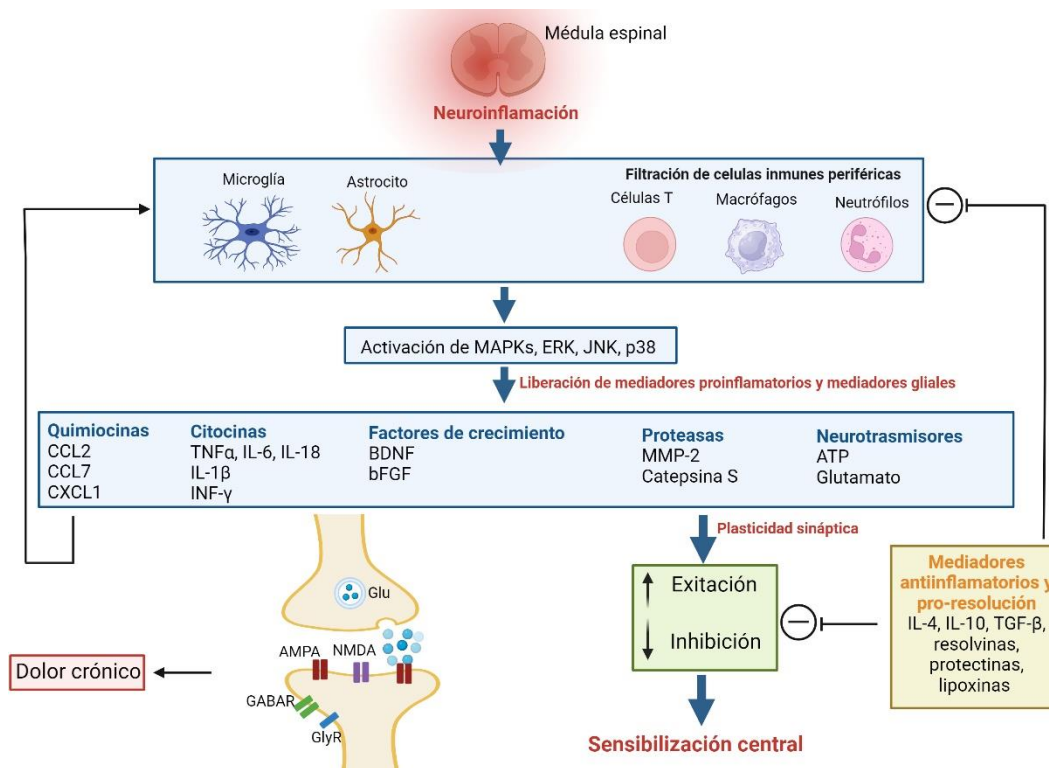


Figura 7: La neuroinflamación puede inducir dolor. La neuroinflamación en la médula espinal se debe a la activación de las células gliales, filtración de células inmunes periféricas y la liberación de productos proinflamatorios y mediadores glias que tienen la capacidad de modular la transmisión sináptica inhibitoria y excitatoria, lo cual genera sensibilidad central y dolor crónico. La glía libera mediadores lipídicos y antiinflamatorios que resuelven la neuroinflamación y el dolor (Modificada de Ji et al., 2014).

Las citocinas proinflamatorias evidentemente producen cambios en la respuesta nociceptiva, sin embargo, los mecanismos involucrados no están claros. Las citocinas pueden producir cambios más rápidos que no dependen de una alteración génica (Sweitzer et al., 2001). Se ha demostrado que los cambios en la excitabilidad de las neuronas nociceptivas surgen del efecto

directo de las citocinas sobre canales iónicos. Existe evidencia de que la IL-1 β , TNF α e IL-6 modifican la actividad de los canales de sodio y aumentan la expresión del receptor de potencial transitorio vaniloide 1 (TRPV1), como consecuencia aumenta la sensibilidad ante estímulos térmicos y mecánicos (Barros et al., 2011). La IL-1 β en conjunto con TNF α activan los receptores de bradicinina para provocar hiperalgesia inflamatoria. Por otra parte las citocinas son potentes inductores de liberación de la SP, CGRP, ciclooxigenasa-1 y por lo tanto de la prostaglandina E2 (PGE2), los cuales facilitan la sensibilidad a estímulos dolorosos químico, térmicos y mecánicos (Barros et al., 2011; Vallejo et al., 2010; Zhang y An, 2007). El TNF α e IL-1 β aumentan la actividad de los receptores AMPA y NMDA en la médula espinal, mientras otras interleucinas inhiben las corrientes mediadas por GABA y glicina lo que favorece el aumento de la excitabilidad neuronal (DeLeo et al., 1996).

1.9 Factor de necrosis tumoral α

El TNF α es una citocina pleiotrópica esencial para la respuesta inflamatoria del sistema inmunológico innato (Turner et al., 2014). El TNF α se encuentra implicado en la apoptosis, necrosis, proliferación celular, funciona como un pirógeno endógeno, participa en la regulación del ciclo sueño - vigilia, desarrollo embrionario, metabolismo de lípidos, promueve su propia producción e induce la liberación de otras citocinas y quimiocinas inflamatorias, se ha observado que tiene funciones en la coagulación y resistencia a la insulina (Chen y Geoddel, 2002; Chu, 2013; Pozniak et al., 2014; Turner et al., 2014).

TNF α es una proteína homotrimérica sintetizada por varias células del sistema inmune; mastocitos, macrófagos, monocitos, células NK y entre otras como queratinocitos, fibroblastos y neuronas (Turner et al., 2014). TNF α se sintetiza en su forma transmembranal (tm-TNF α), una proteína que consta de 233 residuos de aminoácidos. La enzima convertidora de TNF (TACE) procesa la forma transmembranal y da origen a la forma soluble (sTNF α), una proteína de 157 residuos de aminoácidos (Horiuchi et al., 2010; Jang et al., 2021). Las dos

formas de TNF α tiene funciones biológicas, la forma soluble ejerce sus funciones a distancia de las células que la sintetizan. La forma transmembranal depende de la interacción célula – célula y regula la respuesta inflamatoria local (**Figura 8**) (Horiuchi et al., 2010; Ruiz et al., 2021).

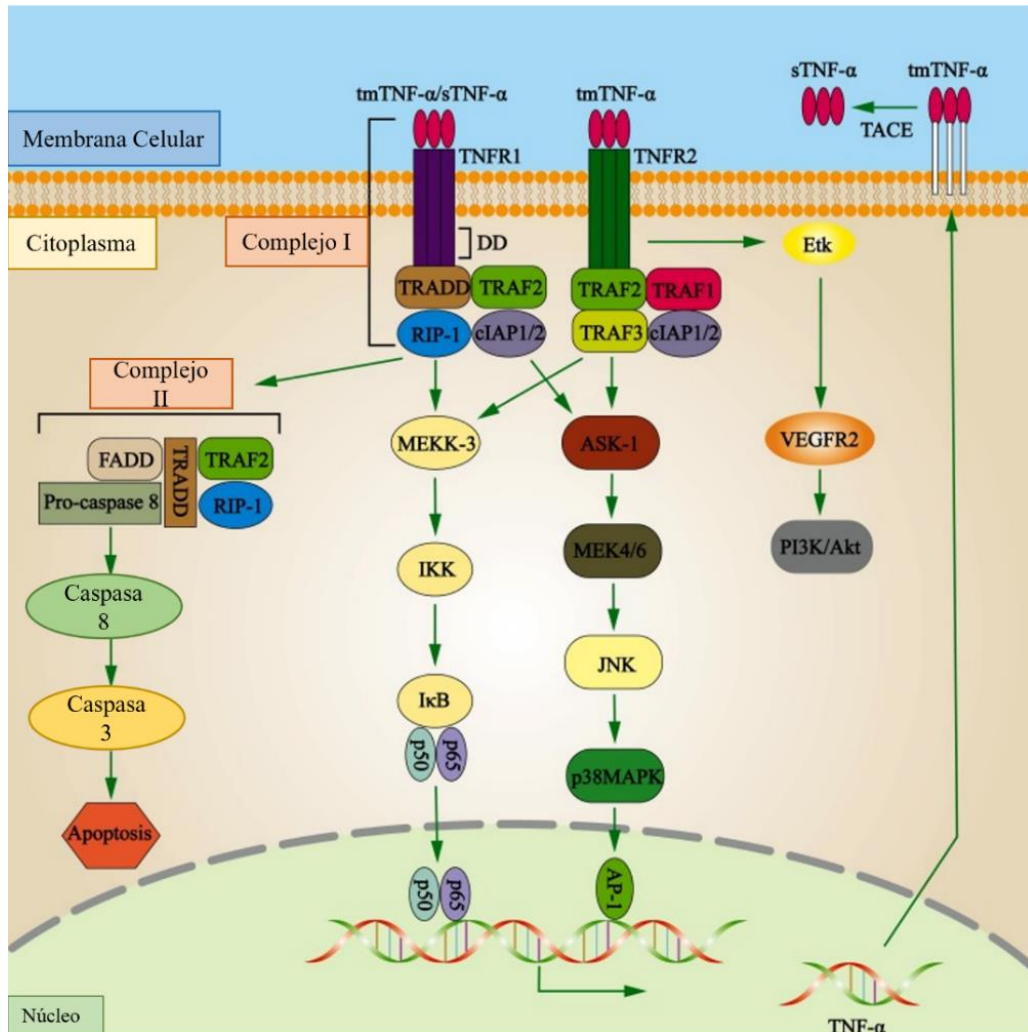


Figura 8: Síntesis de TNF α y vía de señalización de TNFR1. TNF α es sintetizado en su forma transmembranal, la enzima TACE la metaboliza a su forma soluble. La unión de TNF α al receptor TNFR1 lleva a la formación de diferentes complejos los cuales activan diferentes factores de transcripción que inducen la activación de genes a través de los cuales se cumplen las diversas funciones biológicas de esta citocina (modificada de Jie et al., 2020).

TNF α ejerce sus efectos a través de dos receptores independientes, el receptor 1 del factor de necrosis tumoral (TNFR1) y el receptor 2 del factor de necrosis tumoral (TNFR2) (Ruiz et al., 2021; Turner et al., 2014). TNFR2 se

expresa únicamente en las células inmunológicas, induce la proliferación, supervivencia celular y apoptosis (Chu, 2013; Ruiz et al., 2021). TNFR1 se activa por ambas formas de TNF α a diferencia de TNFR2 que solo es activado por tm-TNF α (Pozniak et al., 2014).

TNFR1 tiene un dominio de muerte (DD), que permite la unión de varias proteínas adaptadoras que forman diferentes complejos de señalización que desencadenan diferentes respuestas biológicas (Jang et al., 2021). La unión de TNF α a TNFR1 lleva finalmente a la formación de diferentes complejos y a la activación de algunos factores de transcripción como del factor nuclear kappa B (NF- κ B), y de la proteína activadora 1 (AP-1), que promueven la expresión de genes que inducen las diferentes funciones esta citocina (Pozniak et al., 2014). El complejo I promueve inflamación, supervivencia, proliferación celular y defensa inmunitaria (Ruiz et al., 2021). Si este conjunto de proteínas se disocia del DD e interactúa con el dominio de muerte asociado a Fas (FADD) se forma el complejo II para promover apoptosis (van Horssen et al., 2006). La adición de otras proteínas acopladoras forma otros complejos que activan la proteína similar al dominio de cinasa de linaje mixto (MLKL) para inducir necrosis (**Figura 8**) (Jang et al., 2021).

1.10 Participación de TNF α y su receptor TNFR1 en la nocicepción

La liberación de mediadores químicos es una respuesta general en varios tipos de lesión, los cuales mejoran la respuesta a estímulos dolorosos debido a la sensibilización de los nociceptores o una mayor liberación de neurotransmisores en la médula espinal que aumenta la respuesta nociceptiva (Miller et al., 2009). Las células gliales del sistema nervioso central, células de Schwann y células del sistema inmunológico como macrófagos y neutrófilos, sintetizan citocinas proinflamatorias que modulan la sensibilidad al dolor, mientras que el dolor afecta su síntesis y liberación (Leug y Chahill, 2010; Shavit et al., 2006). TNF α se considera una de las principales citocinas pronociceptivas, debido a su acción directa en sus receptores expresados en las neuronas que promueven la nocicepción o de forma indirecta debido a que

incrementa la liberación de otros mediadores pronociceptivos (Hudmon et al., 2008).

La administración local de TNF α induce alodinia mecánica e hiperalgesia térmica, además, su aplicación aumenta la tasa de disparo de las neuronas que participan en la nocicepción (Cunha et al., 2005; Junger y Sorkin, 2000; Schäfers et al., 2008; Sorkin et al., 1997; Wei et al., 2007). Existe evidencia del que efecto pronociceptivo de TNF α se reducen mediante la administración de agentes neutralizantes de TNF α como etanercept, infliximab o inhibidores de la señalización TNF α /TNFR1 (Andrade et al., 2014; Dogrul et al., 2011; Xu et al., 2019). Ratonés que no expresan TNFR1 (TNFR1-KO) presentan hiperalgesia térmica reducida, menor sensibilidad mecánica y dolor espontáneo ante la administración exógena de TNF α o algún agente inflamatorio como formalina (Yamacita-Borin et al., 2015; Zhang et al., 2011). Además, TNF α promueve el desarrollo y mantenimiento de diferentes tipos de dolor (Jin y Gereau, 2006; Leo et al., 2015) **(Tabla 2)**.

El TNF α promueve el dolor mediante diferentes mecanismos, por ejemplo, reduce el umbral de activación de algunos tipos nociceptores entre ellos A β y C (Barros et al., 2011; Zhang et al., 2010). El TNF α no solo es responsable de activar la producción de otros mediadores inflamatorios que inducen dolor, se ha observado que también regula la actividad y expresión de varios canales iónicos. Niveles elevados de TNF α aumentan la actividad y la expresión de canales de Na⁺ resistentes a tetrodotoxina y sensibles a tetrodotoxina en las neuronas del GRD, facilitando el desarrollo de dolor neuropático e inflamatorio (He et al., 2010; Leo et al., 2015; Tamura et al., 2014). Parte de la sensibilidad térmica y mecánica desencadenada por esta citocina se debe a que mejora las corrientes mediadas por los canales TRPs (Barker et al., 2022; Hensellek et al., 2007; Zhao et al., 2019). Además, esta citocina a través de su receptor TNFR1 modifica la actividad de los receptores AMPA y NMDA. (Kawasaki et al., 2008; Zhang et al., 2011). Se ha observado que inhibe las corrientes medidas por GABA, lo que facilita la excitabilidad neuronal (Zhang et al., 2010).

Varios autores proponen que estos mecanismos se regulan mediante la activación de la p38 MAPK a bajo de TNFR1 (Barker et al., 2022; Zhang et al., 2010; Zhao et al., 2019).

Tabla 2: Participación de TNF α y su receptor TNFR1 en la nocicepción. TNF α y la activación de su receptor TNFR1 inducen sensibilidad térmica y mecánica, además de modificar la actividad de otros canales iónicos y receptores.

Referencia	Modelo	Sustancia	Evaluación de la nocicepción	Efecto inicial
(Cunha et al., 1992)	Dolor inflamatorio	-TNF α	Umbral nociceptivo mecánico (Randall-Selitto).	-TNF α genera hiperalgesia dependiente de la dosis.
(Woolf et al., 1997)	Dolor inflamatorio	- Adyuvante completo de Freund (CFA) -TNF α -Antisuero anti-TNF α	Umbral nociceptivo mecánico y térmico (Filamentos de von Frey y placa caliente).	-La administración de CFA y TNF α aumenta la sensibilidad térmica y mecánica. -El antisuero anti-TNF α disminuye la sensibilidad térmica y mecánica.
(Sommer et al., 1998)	Dolor neuropático, constricción crónica de nervio ciático (CCI)	-Anticuerpos anti-TNF α , anti-TNFR1 y anti-TNFR2	Umbral nociceptivo mecánico y térmico (Filamentos de von Frey).	-TNF α participa en el desarrollo y mantenimiento del dolor neuropático a través de TNFR1.
(Junger y Sorkin, 2000)	Ratas naïve	-TNF α	Umbral nociceptivo mecánico y térmico (Filamentos de von Frey, estímulos fríos y calientes).	-TNF α sensibiliza las fibras C pero no las A β . -TNF α aumenta la permeabilidad vascular de forma dependiente de la dosis. - TNF α disminuye el umbral mecánico
(Ribeiro et al., 2000)	Dolor inflamatorio	-Talidomida -Carragenina -TNF α -PGE $_2$	Umbral nociceptivo mecánico y térmico (Presión en la pata y placa caliente).	-La talidomida reduce las conductas asociadas a dolor mediante la inhibición de la síntesis de TNF α . -Inhibe la hiperalgesia inducida por carragenina y bradicinina.
(Lindenlaub et al., 2000)	Dolor neuropático, (CCI)	-Anticuerpo anti-TNF α	Umbral nociceptivo mecánico y térmico (Filamentos de von Frey y calor radiante)	-El tratamiento anti-TNF α redujo la alodinia mecánica y la hiperalgesia térmica inducida por CCI.
(Schäfers et al., 2003)	Dolor neuropático, ligadura de los nervios espinales (LNE)	-Etanercept -SB203580 (inhibidor de p38 MAPK)	Umbral nociceptivo mecánico (Filamentos de von Frey).	-La activación de p38 MAPK por TNF α induce alodinia mecánica después de la lesión nerviosa.
(Cunha et al., 2005)	Ratones KO y Silvestre (wild type) de TNFR1	-TNF α -Carragenina	Umbral nociceptivo mecánico.	-El efecto algésico de TNF α depende el receptor TNFR1. -La Carragenina induce la producción de TNF α y en ratones KO se reduce su síntesis. -La carragenina afecta menos el umbral nociceptivo de los ratones KO.

Tabla 2: Participación de TNF α y su receptor TNFR1 en la nocicepción (Continuación).

Referencia	Modelo	Sustancia	Evaluación de la nocicepción	Efecto inicial
(Schäfers et al., 2008)	Neuronas del GRD de ratas con LNE y ratas naïve	-TNF α mutado	Umbral nociceptivo mecánico y térmico (Filamentos de von Frey y aplicación de calor radiante).	-La activación de TNFR1 sensibiliza las fibras A β y A δ de ratas naïve. -La activación de TNFR1/2 induce alodinia mecánica e hiperalgesia térmica. -TNFR2 actúa en las fibras vecinas no lesionadas.
(Jin y Gereau, 2006)	Ratones KO (TNFR1 ^{-/-} , TRPV1 ^{-/-} , TNFR2 ^{-/-}) neuronas del GRD	-TNF α -SB202190 (inhibidor de p38 MAPK)	Umbral nociceptivo mecánico y térmico (Filamentos de von Frey y aplicación de calor radiante).	-TNF α no causo hipersensibilidad térmica en ratones TRPV1 ^{-/-} . -TNF α mejoró las corrientes de los canales de Na resistentes a TTX mediante la activación de p38 MAPK.
(Watanabe et al., 2011)	Dolor neuropático (Compresión de GRD)	-Etanercept	Umbral nociceptivo mecánico y térmico (Filamentos de von Frey y aplicación de calor radiante).	-Etanercept disminuye la alodinia mecánica y la hiperalgesia térmica inducidos por compresión de GRD.
(Zhang et al., 2011)	Ratones KO (TNFR1 ^{-/-} , TNFR2 ^{-/-} , TNFR1/2 ^{-/-})	-TNF α -Formalina -CFA	Umbral de nocicepción por estimulación térmica (aplicación de calor radiante).	-TNF α es fundamental en el dolor inflamatorio. -Mejora la transmisión sináptica excitatoria. -TNF α puede ayudar al mantenimiento del dolor inflamatorio mediante la activación de los receptores NMDA.
(Chakravarthy et al., 2014)	Artritis SCW	-Etanercept	Umbral nociceptivo mecánico (Filamentos de von Frey).	-Etanercept redujo la producción de citocinas, la inflamación y la alodinia mecánica.
(Fischer et al., 2017)	Inflamación sistémica en ratones transgénicos TNF α (TNFtg) y WT		Umbral nociceptivo mecánico y térmico (Filamentos de von Frey y aplicación de calor radiante).	-Aumenta la expresión de canales de Na ⁺ en ratones TNFtg. -Los ratones TNF α mostraron hiperalgesia térmica y mecánica, mediada por una mayor excitabilidad de los nociceptores.
(Xu et al., 2019)	Dolor neuropático LNE	-Talidomida	Umbral nociceptivo mecánico y térmico (Filamentos de von Frey y aplicación de calor radiante).	-El pretratamiento y postratamiento con talidomida reduce la alodinia mecánica inducida por LNE. -El pretratamiento de talidomida reduce la activación de células gliales en la asta dorsal.

1.11 Participación de TNF α en la regulación del ciclo sueño - vigilia

TNF α es un inductor del sueño, se ha observado que durante la vigilia aumentan su concentración en cerebro e induce el sueño normal en ausencia de un proceso inmunológico (Baracchi y Opp, 2008; Krueger et al., 2011b). Las

citocinas antiinflamatorias (IL-4, IL-10, IL-13) inhiben el sueño, reducen la producción de citocinas somníferas (TNF α y IL-1 β), regulan su efecto y el de otras sustancias que inducen el sueño (Krueger et al., 2011a; 2011b)

La expresión de TNF α se eleva después de la privación de sueño y aumentan los episodios de sueño no-MOR (Kapas y Krueger, 1992; Shoham et al., 1987; Zielinski y Krueger, 2011). Se ha observado que su administración alarga los periodos de sueño no-MOR y suprime el sueño MOR. Este efecto no se observa en ratones TNFR1-KO, además, la administración de TNF α no causa un exceso de sueño no-MOR en estos ratones (Baracchi y Opp, 2008; Jewett y Krueger, 2012; Rockstrom et al., 2018; Fang et al., 1997). Por otra parte, se ha mostrado que evitar su efecto mediante la administración de antagonistas, anticuerpos, receptores solubles, se reduce las fases de sueño no-MOR durante el periodo de descanso (Baracchi y Opp, 2008; Imeri y Opp, 2009). El uso de tratamientos anti-TNF α como etanercept, talidomida, adalimumab en enfermedades autoinmunes, reducen la somnolencia y mejoran la calidad de sueño (Detert et al., 2016; Rockstrom et al., 2018).

Es probable que la glía sea un componente clave en la génesis del sueño, libera mediadores que modulan la función neuronal y la inflamación. La vigilia prolongada aumenta la producción de ATP, la activación de sus receptores expresados en la glía afecta la producción de citocinas y otras sustancias implicadas en la regulación del sueño. Las citocinas activan factores de transcripción expresados en varias células incluyendo la glía y neuronas como NF- κ B y AP-1, que afectan la producción de las mismas citocinas y de otras sustancias reguladoras del sueño entre ellas NO y ciclooxigenasa (COX) (Rockstrom et al., 2018; Zielinski y Krueger, 2011).

2. ANTECEDENTES

Estudios hechos en modelos animales han demostrado que la privación de sueño aumenta la respuesta nociceptiva. Se ha observado que los animales sometidos a privación de sueño tienen una mayor respuesta a estímulos térmicos, mecánicos y eléctricos (Onen et al., 2001a) y mejorar la calidad de sueño disminuye la sensibilidad al dolor (Onen et al., 2000). Además, se ha informado que la P-MOR reduce el efecto antinociceptivo de fármacos como la morfina o inhibidores de la MAO (Tomim et al., 2016; Ukponmwan et al., 1986). La privación de sueño se relaciona con un funcionamiento alterado de algunos neurotransmisores que participan en la modulación del dolor, como la serotonina, noradrenalina y entre otros (Farooqui et al., 1996). En otros estudios se ha observado que la privación de sueño disminuye la síntesis de opioides y disminuye la afinidad de los receptores δ y μ lo cual altera procesos analgésicos endógenos (Fadda et al., 1991).

Varios estudios proporcionan evidencia de la relación que existe entre las células gliales, células inmunológicas que se filtran al sistema nervioso tras un periodo de privación y las neuronas que participan en la nocicepción. Se ha observado que en ratas sometidas a privación de sueño incrementan los niveles de TNF α , IL-6 e IL-1 β y se altera la función de la barrera hematoencefálica mediada por moléculas inflamatorias, astrocitos y microglía (Brianza-Padilla et al., 2018; Dalanon et al., 2021; Hurtado-Alvarado et al., 2016; Irwin et al., 2006; Manchanda et al., 2018).

Existe evidencia que demuestra que la administración local y sistémica de citocinas como TNF α o IL-1 β genera conductas asociadas al dolor (Cunha et al., 1992; DeLeo et al., 1996; Miller et al., 2009; White et al., 2005). Se ha reportado que el uso de inhibidores de la síntesis de TNF α , como talidomida o el uso de anticuerpo anti-TNF α como etanercept, infliximab, disminuyen las conductas nociceptivas en modelos animales (Andrade et al., 2014; Dogrul et al., 2011; Xu et al., 2019). Así mismo la deficiencia de su receptor TNFR1 reduce la sensibilidad dolorosa (Yamacita-Borin et al., 2015; Zhang et al.,



2011). En particular, en nuestro laboratorio se demostró en un modelo de estrés crónico por restricción de movimiento, un antagonista del receptor 1 de TNF α (R7050) y talidomida (inhibidor de la síntesis de TNF α) revierten la alodinia táctil inducida por el estrés crónico (Tesis de maestría, Pluma-Pluma, 2019).



3. JUSTIFICACIÓN

Los trastornos del sueño inducen un aumento en la sensibilidad dolorosa. Existe evidencia que demuestra una relación bidireccional entre el sueño y el dolor, sin embargo, los mecanismos específicos que participan en la inducción de la sensibilidad dolorosa causada por la alteración del sueño no se entienden por completo.

La participación de TNF α y su receptor TNFR1 en el desarrollo de dolor es evidente. Numerosos estudios han demostrado que el uso de tratamientos anti-TNF α disminuyen las conductas asociadas al dolor (Chakravarthy et al., 2014; Sommer et al., 1998; Xu et al., 2019). Por otra parte, se ha observado que la ausencia de su receptor TNFR1 y el uso de inhibidores de la señalización TNF α /TNFR1 disminuyen el dolor y la inflamación (Yamacita-Borin et al., 2015; Zhang et al., 2011). Debido a la participación de esta citocina y su receptor TNFR1 en el desarrollo de sensibilidad dolorosa y además que la privación de sueño tiene en si misma un componente inflamatorio, es importante determinar su papel en el desarrollo de alodinia en animales con privación de sueño MOR.



4. HIPÓTESIS

El TNF α y su receptor TNFR1 promueven el desarrollo y mantenimiento de la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR en ratas.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar la participación del TNF α y de su receptor TNFR1 en el desarrollo y mantenimiento de la alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR en ratas.

5.2 Objetivos particulares

1. Determinar farmacológicamente la participación de TNF α y de su receptor TNFR1 en el desarrollo y mantenimiento de la alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR en ratas.
2. Evaluar posibles cambios en la expresión del receptor TNFR1 inducidos por la privación de sueño MOR en ratas mediante Western blot.
3. Determinar los niveles de TNF α en médula espinal dorsal de ratas con privación de sueño MOR mediante ELISA.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Animales

Se usaron ratas hembra y macho de la cepa Wistar con un peso entre 200-220 g provenientes del bioterio del CINVESTAV, sede sur. Los animales se mantuvieron en un ciclo luz/oscuridad de 12/12 horas, y en condiciones de humedad y temperatura controladas, con alimento y agua *ad libitum*. Al finalizar los experimentos, los animales se sacrificaron en una cámara de CO₂. Los experimentos se realizaron cumpliendo las especificaciones marcadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y protocolo no. 0095-14 aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales del Laboratorio (CICUAL).

6.2 Fármacos

Talidomida (Cat. #50-35-1, Sigma-Aldrich St. Louis, Mo), un inmunomodulador que inhibe la síntesis de TNF α e incrementa la degradación de su ARNm, se administró a concentraciones crecientes (0.01, 0.1, y 1 μ g/10 μ l). R7050 (Cat. #5432, Tocris Bioscience, Bristol) un bloqueador del receptor TNFR1 se administró a concentraciones crecientes (0.1, 1 y 10 μ g/10 μ l). Los fármacos se disolvieron en DMSO al 30% y se administraron por vía intratecal en un volumen final de 10 μ l.

6.3 Modelo de privación de sueño MOR.

Los animales se sometieron a un periodo de privación de sueño MOR por 48 h, para lo cual se usó el modelo de tanque con agua y plataformas múltiples. Se acondicionaron cajas de acrílico con 6 plataformas, estas se llenaron con agua hasta 2 cm por debajo de su base. Las plataformas permiten a los animales permanecer fuera del agua, además de tener acceso a alimento y agua, que son colocados en la parte superior de la caja. Este modelo permite que los animales pueden entrar a todas las fases del sueño a excepción de la

fase de sueño MOR, debido a la atonía muscular que se presenta en esta fase del sueño, las ratas caerían al agua (van Hulzen y Coenen, 1981) (**Figura 9**). Previo al periodo de privación, los animales se habituaron por un día en las cajas experimentales sin agua y con aserrín, con el fin de que los animales aprendieran a subir a las plataformas, ubicar el agua y alimento.

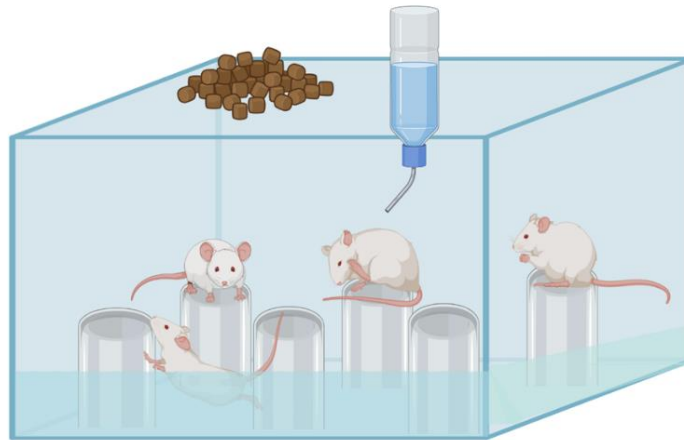


Figura 9: Representación del modelo de tanque con agua y plataformas múltiples. El modelo permite entrar a todas las fases del sueño a excepción de la fase de sueño MOR, debido a la atonía muscular que se presenta en esa fase del sueño. Se coloca un número menor de animales al número de plataformas para permitirles moverse a través de ellas y evitar estrés por inmovilización. En la parte superior se tiene acceso a agua y alimento.

6.4 Conducta nociceptiva

Se calculó el 50% de umbral de retiro mediante la aplicación de filamentos calibrados de von Frey que tienen una fuerza desde 0.008 g hasta los 300 g. Se empleó el método de Up and Down, el cual consiste en la aplicación de uno de los filamentos (a partir de 2 g) por 8-10 segundos sobre la superficie plantar de una de las extremidades posteriores. Se considera una respuesta positiva si la rata retira la extremidad y se registra con una “X”, de ser lo contrario se registra con una “O”. Cuando se tiene una respuesta positiva, la siguiente evaluación debe ser con el filamento anterior, de menor fuerza, en caso de ser lo contrario y tener una respuesta negativa, se evalúa con el siguiente filamento, de mayor fuerza. Entre cada evaluación para evitar una respuesta positiva por estímulos anteriores se dejó pasar entre 15-20 segundos. Después

del primer cambio de una respuesta positiva a negativa o viceversa, se realizaron 5 evaluaciones más para tener 6 evaluaciones en total.

Para la evaluación los animales se separaron en cajas individuales. Las cajas se colocaron sobre una base elevada, formada por una malla metálica que permite la aplicación de los filamentos, en la parte inferior de las cajas. Antes de comenzar la evaluación, los animales se habituaron por 30 min (**Figura 10**).

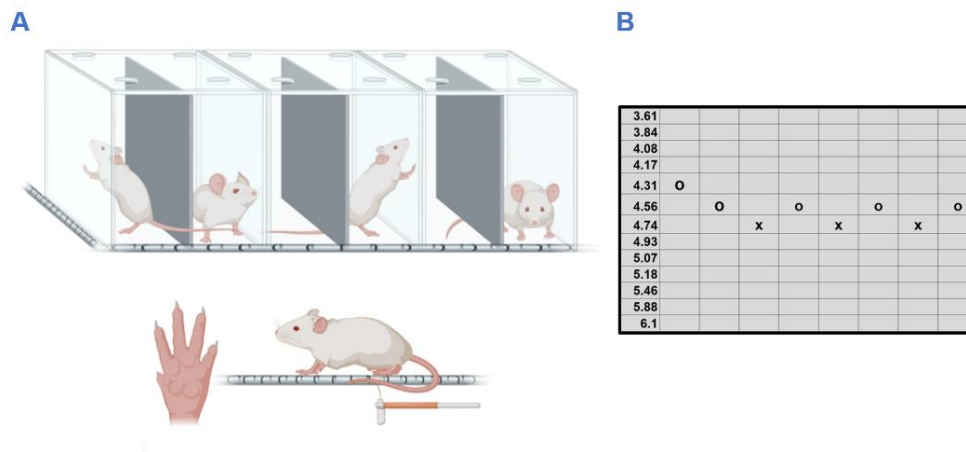


Figura 10: Evaluación de la conducta nociceptiva. A) Representación de la evaluación del umbral de retiro mecánico, los animales se evaluaron mediante la aplicación de filamentos de von Frey en una de las extremidades posteriores B) Ejemplo del registro de respuestas para calcular el 50% de umbral de retiro mediante el método de Up and Down.

El 50% de umbral de retiro se entiende como la fuerza en gramos necesaria para que el 50% de las respuestas sea positiva, se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$50\% \text{ umbral (g)} = 10^{X_f + k\delta} / 10000$$

Donde:

X_f : valor del último filamento de von Frey aplicado (en unidades logarítmicas).

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

δ : diferencia del promedio de respuestas obtenidas (unidades logarítmicas) (Dixon, 1980).

6.5 Inmunodetección de proteínas por Western blot

6.5.1 Procesamiento de tejidos y cuantificación de proteínas

Los animales se sacrificaron y se extrajo la parte dorsal de la sección lumbar de la médula espinal y los GRD L4 y L5. Para la preparación de las muestras los tejidos se mantuvieron a 4 °C durante todo el procedimiento. Para la preparación de los lisados se usó una solución amortiguadora de lisis RIPA (NaCl 150 mM, Tris HCl 50 mM, EDTA 5 mM, pH 7.5), sacarosa 1.5 M, Tritón X-100 al 1%, inhibidores de fosfatasa (β -glicerol 5 mM, NaF 50 mM, PMSF 100 mM, ortovanadato 200 mM) e inhibidores de proteasa (aprotinina 2 μ g/ μ l, leupeptina 1 μ g/ μ l, pepstatina 2 μ g/ μ l), la muestra fue homogenizada y centrifugada a 13,500 rpm por 10 min. Se obtuvo el sobrenadante a partir del cual se realizó la cuantificación de proteínas totales.

La cuantificación de proteínas totales se realizó mediante el método de Bradford, utilizando γ -globulina para realizar la curva patrón. Para la cuantificación de las muestras se hizo en una proporción 1:20 usando solución amortiguadora RIPA y se adicionó 250 μ l de reactivo de Bradford en proporción 1:5, se incubó durante 5 min a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 630 nm.

6.5.2 Electroforesis de proteínas

50 μ g de proteínas totales se resolvieron en un gel de poliacrilamida-SDS al 12% mediante electroforesis. Posteriormente se realizó la electrotransferencia a membranas de polivinilideno (PVDF) las cuales se bloquearon en leche descremada al 5% en solución amortiguadora de fosfatos (PBS; NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, Na₂HPO₄ 10 mM y KH₂PO₄ 2 mM) y 0.1% de Tween 20 durante 1 h. La membrana se incubó con el anticuerpo TNFR1 (1:500; Cat. sc-8436; Santa Cruz Biotechnology) durante 12 h a 4 °C. Al



término de este tiempo se realizaron lavados con leche descremada al 1%. La membrana se incubó con el anticuerpo secundario anti-ratón (1:10,000; Cat. 115-035-003; Jackson Immuno Research Laboratories; West Grove, PA) durante 1 h, nuevamente se realizaron lavados con leche descremada al 1%.

La Inmunodetección de las proteínas se realizó por quimioluminiscencia (Immobilon Western Chemiluminescent HRP Substrate; Millipore; Burlington, MA), las imágenes obtenidas se analizaron con el equipo C-Digit Blot Scanner y el software Image Studio (LI-COR Biosciences, Lincoln, NE) para cuantificar la densidad óptica de la señal. Se utilizó como control de carga la proteína β -actina (1:5000; Cat. MAB1501R, Millipore, Billerica, MA), y el anticuerpo secundario anti-ratón mencionado anteriormente.

6.6 ELISA

Se prepararon lisados de la parte dorsal de la sección lumbar de la médula espinal a nivel de L4 y L5. Las muestras de tejido se prepararon como se describió anteriormente en la sección de Western blot. Para la detección de TNF α se usó el Kit de ELISA Thermo Fisher Scientific BMS622 de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Esta prueba está diseñada para determinar la concentración del TNF α , unido entre un par de anticuerpos, un anticuerpo de captura y un detector, se agrega un sustrato que reacciona con el complejo enzima-anticuerpo-objetivo y se emite una señal. La intensidad de la señal es proporcional a la concentración de TNF α presente en el tejido.

6.7 Prueba de coordinación motriz

Para evaluar si los fármacos administrados causan algún daño en la coordinación motriz de los animales, estos se sometieron a una prueba usando el Rota-rod, en tal prueba los animales deben caminar sobre un cilindro que gira a 11 rpm. Previo a la prueba del fármaco, los animales fueron entrenados por 10 min por tres días, durante el entrenamiento se enseñó a los animales a subir y caminar en el cilindro. La prueba con el fármaco se hizo durante 5 min. y se registró el número de caídas en este tiempo.

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

7.1 Curso temporal de los cambios en el umbral de retiro inducidos por privación de sueño MOR

Se uso un grupo de 6 ratas hembra o macho para evaluar los cambios en el umbral de retiro mecánico inducidos por la privación de sueño. Los animales se evaluaron antes de comenzar el periodo de privación (basal), a las 24 y 48 h de P-MOR. Para evaluar su recuperación se evaluaron 24, 48 y 72 h posteriores al periodo de privación (**Figura 11**).

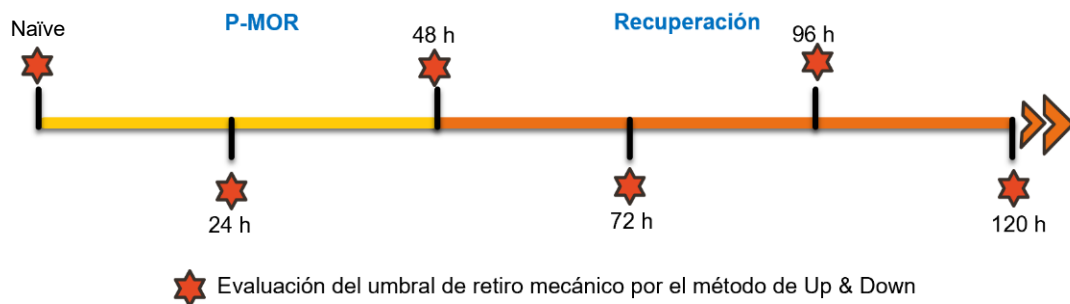


Figura 11: Diseño experimental 1. Cambios en el umbral de retiro mecánico inducidos por P-MOR.

7.2 Participación de TNF α y TNFR1 en el mantenimiento de la alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR

Ratas hembra, sometidas a un periodo de 48 h de privación de sueño, se les administró por vía intratecal (10 μ l) concentraciones crecientes de talidomida o R7050. Posterior a la administración se evaluó el efecto del fármaco a las 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h. Para evaluar diferencias asociadas al sexo se evaluó únicamente las concentraciones máximas de cada fármaco en un grupo de ratas macho (**Figura 12**).

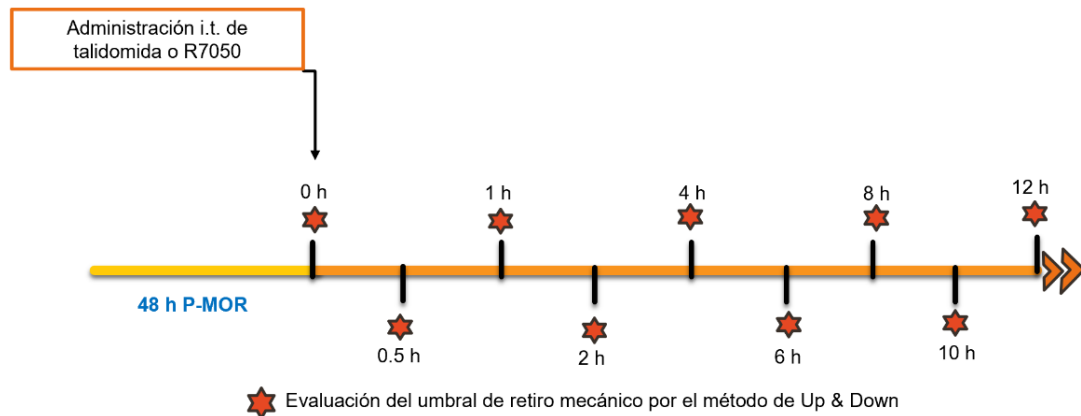


Figura 12: Diseño experimental 2. Evaluación de la participación de TNF α y el receptor TNFR1 en el mantenimiento de la alodinia táctil inducida por la P-MOR.

7.3 Participación de TNF α y TNFR1 en el establecimiento de la alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR

Se probaron diferentes protocolos donde se evaluó el efecto de 1 μ g de talidomida o 10 μ g de R7050. En el primer protocolo un grupo de ratas hembra recibieron un pretratamiento de 1 administración antes del inicio de P-MOR. En el segundo protocolo se realizaron 3 administraciones (0, 8 y 16 horas antes del periodo de privación). En el tercer protocolo se realizaron 4 administraciones (0, 8, 16, 24 horas antes del periodo de privación). Al término del pretratamiento los animales se sometieron a un periodo de P-MOR de 48 h para posteriormente evaluar los cambios en el umbral de retiro por 12 horas. Para evaluar diferencias asociadas al sexo se probó el protocolo de 4 administraciones de cada fármaco en un grupo de ratas macho (**Figura 13**).

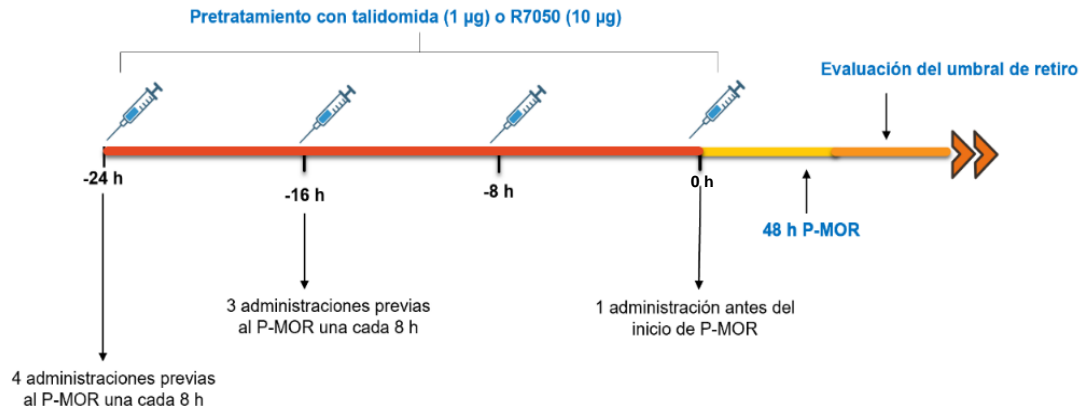


Figura 13: Diseño experimental 3. Esquema del pretratamiento para evaluación de la participación de TNF α y el receptor TNFR1 en el establecimiento de la alodinia táctil inducida por P-MOR.

7.4 Determinación de la expresión de TNFR1 y de la concentración de TNF α en ratas con privación de sueño MOR

La expresión de TNFR1 en GRD (L4 y L5) y médula espinal dorsal (MED) se realizó mediante una inmunodetección por Western blot. En el caso de la cuantificación de los niveles de TNF α en la médula espinal dorsal, ésta se realizó por medio de una prueba de ELISA. En ambos casos, se obtuvieron muestras de ratas hembra y macho naïve, ratas con 12 h, 1 y 2 días de privación y 2 días de recuperación (4 ratas por grupo) (**Figura 14**). Para evaluar el efecto de los fármacos sobre los niveles de TNF α se obtuvieron muestras de médula espinal dorsal de ratas macho y hembra que recibieron previamente un pretratamiento de R7050 (10 µg) o talidomida (1 µg), para lo cual se aplicó el protocolo de 4 administraciones (una cada 8 horas) se obtuvieron muestras de ratas con 12 h y 2 días de privación y ratas con 2 días de recuperación (**Figura 15**).

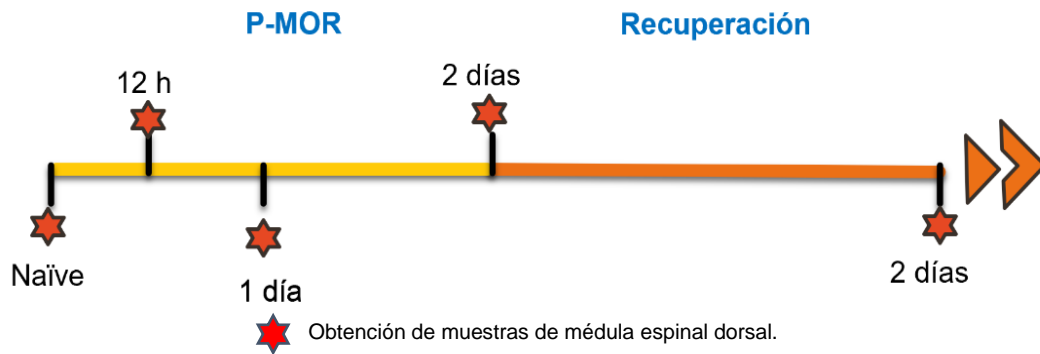


Figura 14: Diseño experimental 4. Curso temporal de la expresión de TNF α y TNFR1 en médula espinal dorsal y GRD (L4 y L5) mediante Western blot. Determinación de los niveles de TNF α mediante ELISA.

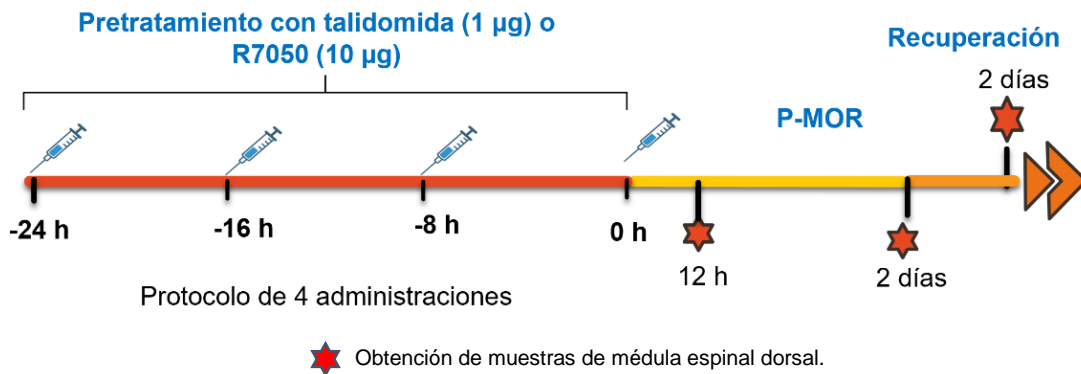


Figura 15: Diseño experimental 5. Determinación de los niveles de TNF α mediante ELISA en animales con pretratamiento de talidomida (1 µg) o R7050 (10 µg).

7.5 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en la prueba de umbral de retiro mecánico se reportan como el promedio \pm el error estándar de 6 animales para la conducta y de 4 animales para Western blot y ELISA. A partir de los cursos temporales se calculó el área bajo la curva. Para evaluar diferencias entre 3 o más grupos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una y dos vías y se realizaron pruebas post hoc de Tukey o Dunnett. La diferencia entre dos grupos se realizó mediante la prueba *t de Student*. El análisis de los datos se realizó utilizando el programa Graph Prism 8. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa cuando el valor de *p* es igual o menor a 0.05.

8. RESULTADOS

8.1 La privación de sueño MOR induce alodinia táctil en ratas

La privación de sueño MOR redujo el 50% de umbral de retiro a estímulos mecánicos en ratas hembra y macho en ambas extremidades posteriores. La reducción en el umbral se observó a partir de las 24 h de privación de sueño MOR alcanzando un nivel de alodinia (< 4 g) a las 48 h. Al término de la privación de sueño, las ratas se regresaron a su caja hogar. Las ratas mostraron niveles de umbral de retiro similar a los basales con 72 h de recuperación (**Figura 16A y B**). El efecto de la privación de sueño MOR sobre el umbral de retiro fue similar en ratas hembra y macho (**Figura 16C y D**). Los datos sugieren que la privación de sueño MOR reduce el umbral de retiro a estímulos mecánicos de forma generalizada e independiente del sexo.

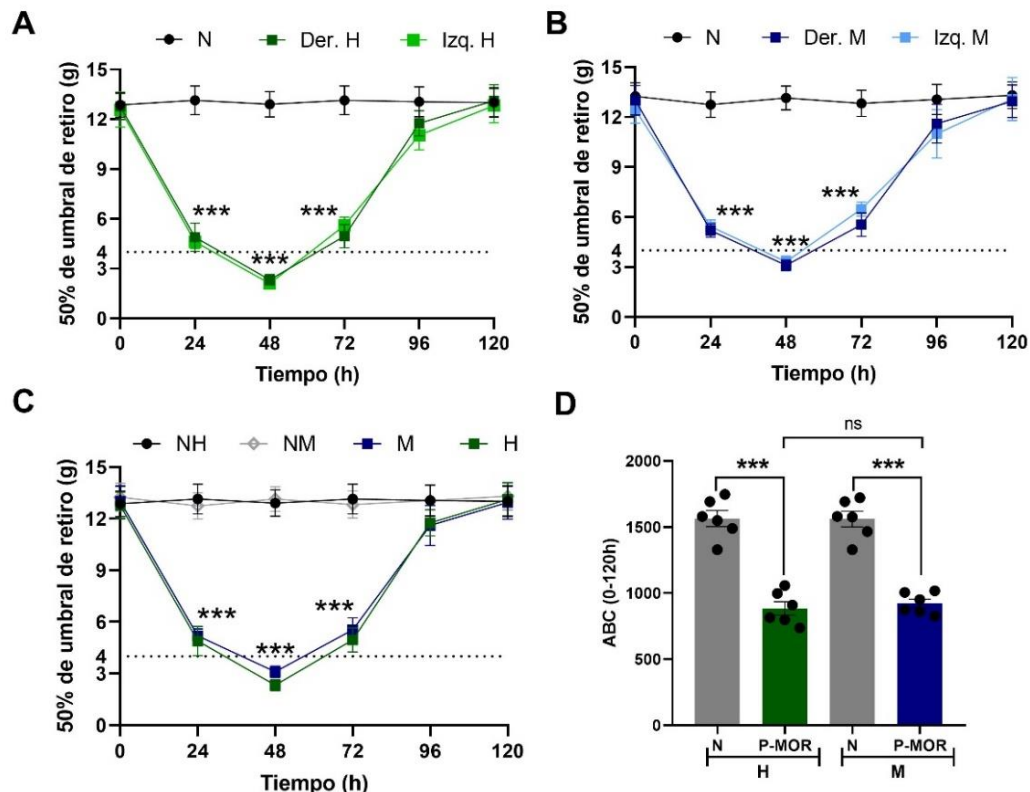


Figura 16: Efecto de la privación de sueño MOR sobre el umbral de retiro mecánico en ratas. **A y B.** Curso temporal del 50% de umbral de retiro mecánico en ratas sometidas a privación de sueño MOR (P-MOR) por 48 h y su posterior recuperación (120 h). Se evaluaron la extremidad posterior derecha (Der.) e izquierda (Izq.) en hembras (H) y machos (M), y en un grupo de ratas naïve (N). **C.** Comparación de los cursos temporales de los cambios en el

umbral de retiro en ratas hembra y macho (extremidad posterior derecha). **D.** Área bajo la curva calculada a partir del curso temporal C. Los datos representan el promedio \pm error estándar $n=6$, *** $p < 0.001$ vs N por ANOVA de dos vías (A, B, C), *t de Student* M vs H, NH vs H, NM vs M (D).

8.2 La talidomida revierte la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR en ratas hembra y macho

La administración intratecal de talidomida revirtió la alodinia táctil en ratas hembra sometidas a 48 h de privación de sueño MOR, alcanzando un efecto máximo a las 4 h de la administración (**Figura 17A**). El efecto de la talidomida fue dependiente de la concentración (**Figura 17B**). La administración de 1 μg de talidomida tuvo un efecto similar en ratas hembra y macho (**Figura 17C y D**).

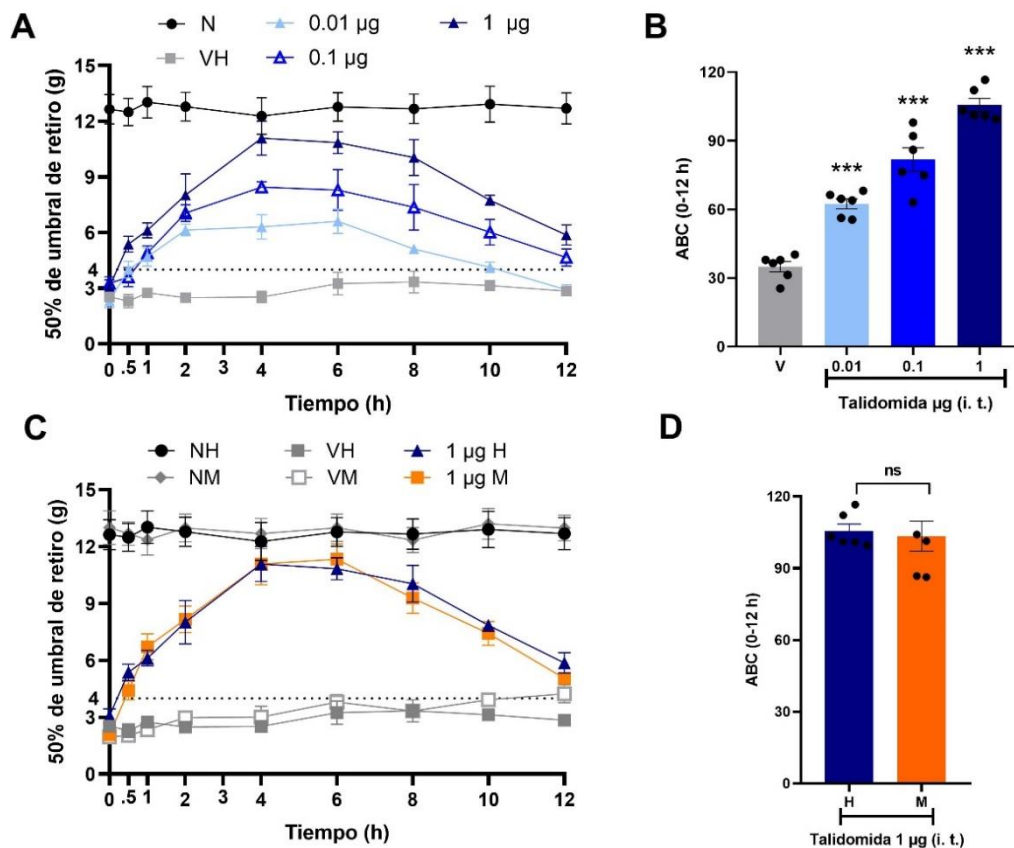


Figura 17: Efecto de la talidomida sobre la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR. **A.** Curso temporal del efecto de la administración intratecal (i.t.) de talidomida (0.01-1 μg) y su vehículo (V) sobre la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR. **B.** Área bajo la curva calculada a partir del curso temporal A. **C.** Comparación de los cursos temporales del efecto de la administración intratecal de 1 μg de talidomida sobre la alodinia táctil en ratas hembra (H), y macho (M). **D.** Área bajo la curva calculada a partir del curso

temporal C. Los datos representan el promedio \pm error estándar $n=6$, *** $p < 0.001$ vs V por ANOVA de una vía seguido de la prueba Dunnett (B), y *t de student* H vs M (D)

8.3 El R7050 revierte la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR en ratas hembra y macho

La administración intratecal de R7050, un antagonista del receptor TNFR1, revirtió la alodinia táctil en ratas hembra sometidas a privación de sueño MOR (**Figura 18A**). El R7050 tuvo un efecto dependiente de la concentración (**Figura 18B**). La administración intratecal de 10 μg de R7050 en ratas hembra y macho tuvo un efecto similar (**Figura 18C y D**).

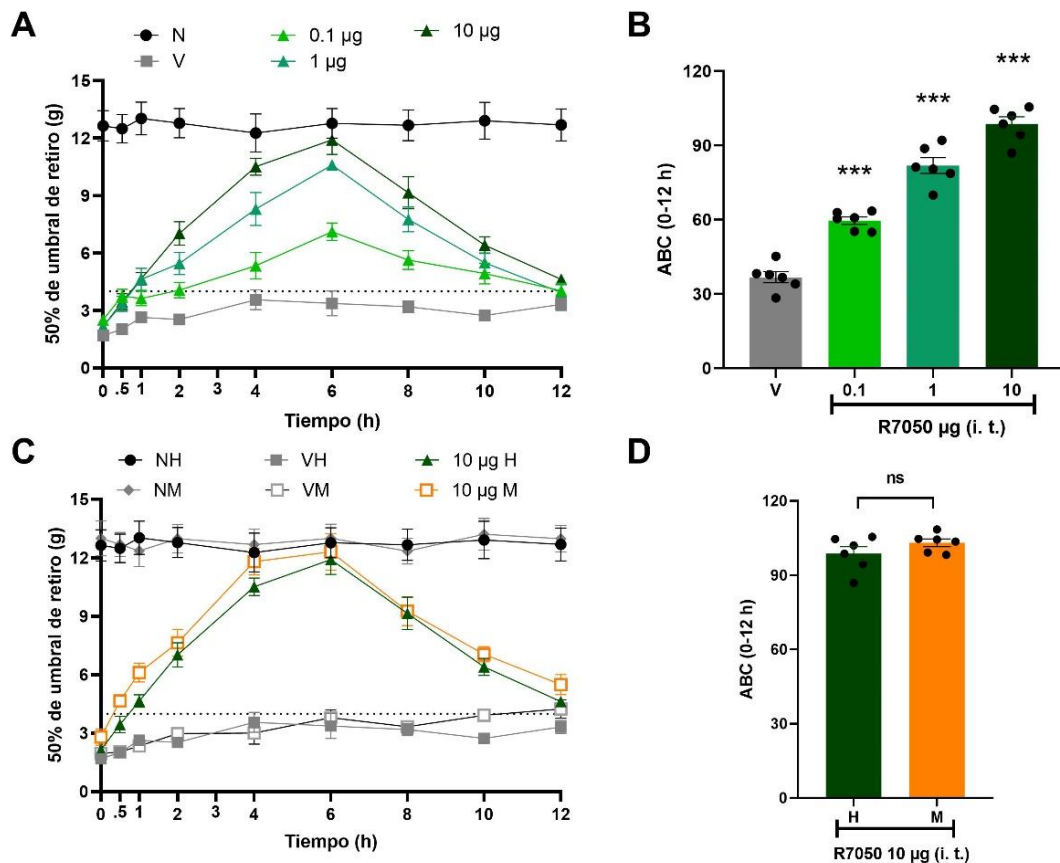


Figura 18: Efecto de R7050 sobre la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR. **A.** Curso temporal del efecto de la administración intratecal (i.t) de R7050 (0.1-10 μg) y su vehículo (V) sobre la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR. **B.** Área bajo la curva calculada a partir del curso temporal A. **C.** Cursos temporales del efecto de la administración intratecal de 10 μg de R7050 sobre la alodinia táctil en ratas hembra (H) y macho (M). **D.** Área bajo la curva calculada a partir del curso temporal C. Los datos representan el promedio \pm error estándar $n=6$, *** $p < 0.001$ vs V por ANOVA de una vía seguido de la prueba Dunnett (B), y *t de student* H vs M (D).

8.4 El pretratamiento con talidomida previene el desarrollo de alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR en ratas hembra y macho

El pretratamiento de talidomida impidió el desarrollo de alodinia táctil inducida por 48 h de privación de sueño MOR. Cuando se administra 1 μg de talidomida se observó un efecto modesto. Sin embargo, 3 y 4 administraciones (una cada 8 horas) de talidomida previas al periodo de privación de sueño, impidieron el desarrollo de alodinia táctil en ratas expuestas a 48 h de privación de sueño MOR (**Figura 19A y B**). Se tuvo un efecto similar en ratas hembra y macho con 4 administraciones de talidomida (**Figura 19C y D**).

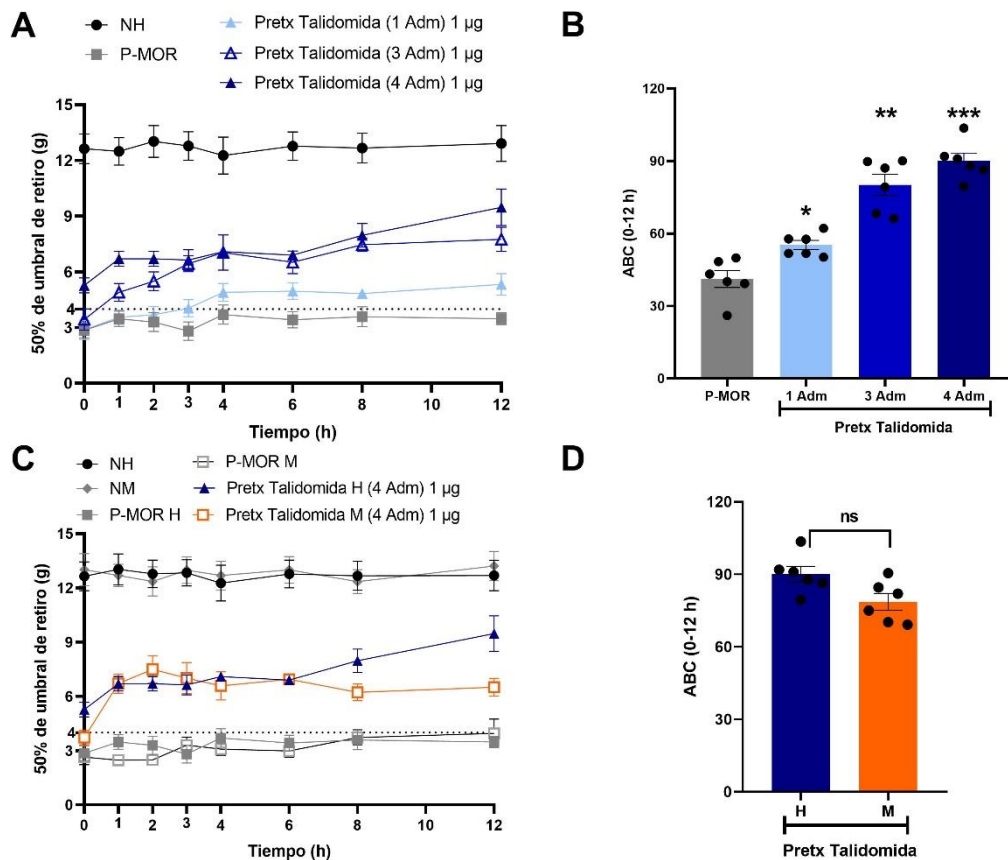


Figura 19: Efecto del pretratamiento de talidomida sobre la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR. **A.** Curso temporal del efecto del pretratamiento (Pretx) de 1, 3 y 4 administraciones (Adm) por vía intratecal de 1 μg de talidomida sobre la alodinia táctil inducida por 48 h de privación de sueño MOR y de ratas sin pretratamiento (P-MOR). **B.** Área bajo la curva calculada a partir del curso temporal A. **C.** Comparación de los cursos temporales del efecto del pretratamiento de 4 administraciones de 1 μg de talidomida sobre la alodinia táctil en ratas hembra (H), y macho (M) inducida por 48 h de privación de sueño MOR. **D.** Área bajo la curva calculada a partir del curso temporal C. Los datos representan el promedio \pm error

estándar $n=6$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs P-MOR, ANOVA de una vía seguido de la prueba Dunnett (B) y *t de Student* H vs M (D).

8.5 El pretratamiento con R7050 previene el desarrollo de alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR en ratas hembra y macho

El pretratamiento de R7050 impidió el desarrollo de alodinia táctil inducida por 48 h de privación de sueño MOR. El pretratamiento de una 1 administración de 10 μg de R7050 justo antes del inicio del periodo de privación no impidió el desarrollo de alodinia. Sin embargo, 3 y 4 administraciones (una cada 8 horas) de R7050 previas al periodo de privación de sueño inhibieron el desarrollo de alodinia táctil en ratas expuestas a 48 h de privación de sueño MOR (**Figura 20A y B**). El pretratamiento con 4 administraciones de R7050 (10 μg) tuvo un efecto similar en hembras y machos (**Figura 20C y D**).

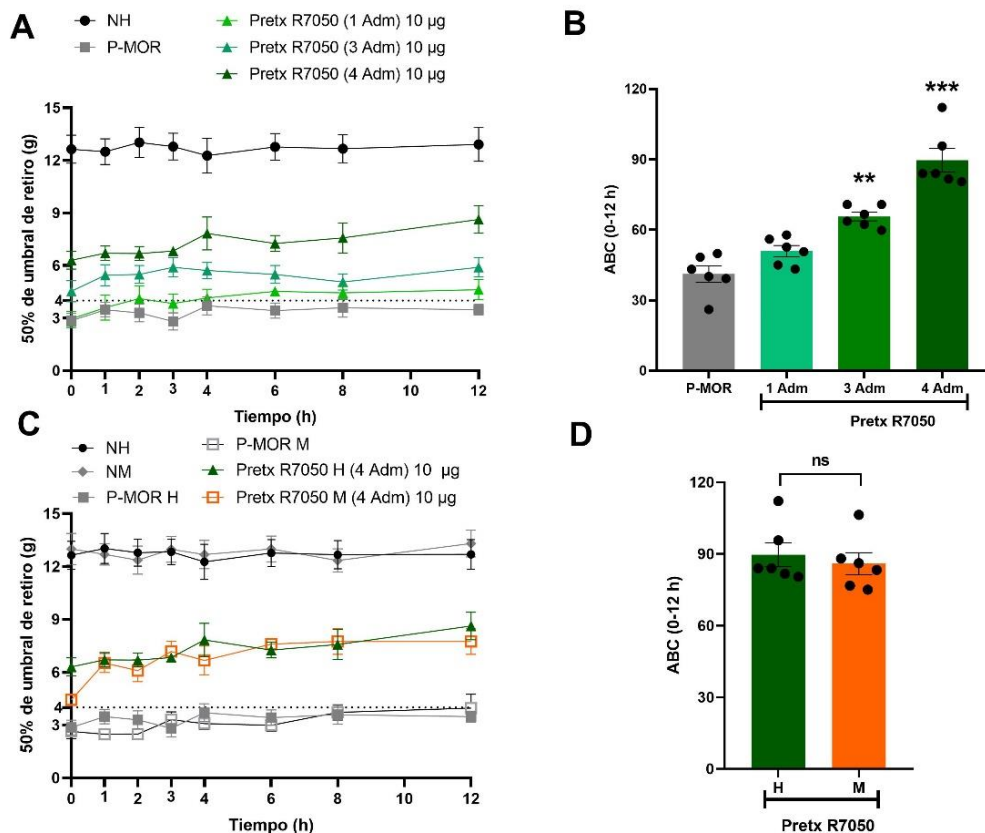


Figura 20: Efecto del pretratamiento de R7050 sobre la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR. A. Curso temporal del efecto del pretratamiento (Pretx) de 1, 3 y 4 administraciones (Adm) vía intratecal de 10 μg de R7050 sobre la alodinia táctil inducida por 48 h de privación de sueño MOR y ratas sin pretratamiento (P-MOR). **B.** Área bajo la curva

calculada a partir del curso temporal A. **C.** Comparación de los cursos temporales del efecto del pretratamiento de 4 administraciones vía intratecal de 10 μg de R7050 sobre la alodinia táctil en ratas hembra (H), y macho (M) inducida por 48 h de privación de sueño MOR. **D.** Área bajo la curva calculada a partir del curso temporal C. Los datos representan el promedio \pm error estándar $n=6$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs P-MOR, ANOVA de una vía seguido de la prueba Dunnett (B) y *t de Student* H vs M (D).

8.6 Efecto del R7050 y talidomida sobre el umbral de retiro en ratas naïve

La administración del vehículo (DMSO 30%), la concentración máxima de R7050 (10 μg) y talidomida (1 μg), no afectó el umbral de retiro mecánico en rata naïve (**Figura 21A y B**).

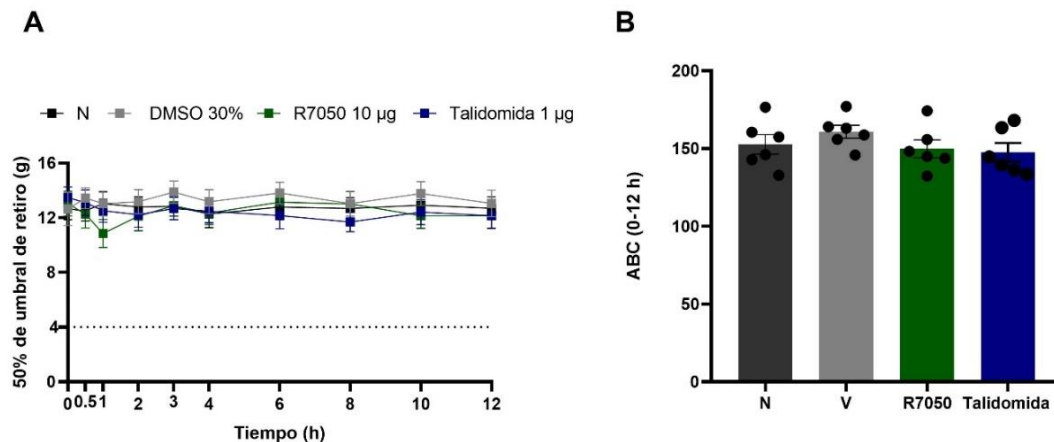


Figura 21: Efecto de la talidomida y el R7050 en ratas naïve. **A.** Curso temporal del efecto de la administración intratecal de DMSO 30%, 1 μg de talidomida y 10 μg de R7050 en ratas Naïve (N). **B.** Área bajo la curva calculada a partir del curso temporal A. Los datos representan el promedio \pm error estándar $n=6$.

8.7 Efecto de los fármacos usados sobre la coordinación motriz

La administración de la concentración máxima utilizada de R7050 (10 μg) y talidomida (10 μg), en ratas naïve no afectó la coordinación motora de las ratas. Los resultados de la prueba de rota-rod sugieren que el efecto evaluado en la prueba de umbral de retiro mecánico no se debe a un efecto adverso sobre la coordinación motriz de los animales (**Tabla 3**).

Tabla 3: Prueba de coordinación motriz en ratas naïve. Promedio de caídas de los animales sometidos a la prueba de rota-rod, evaluados antes de la administración del fármaco y después de la administración intratecal de 10 µg de talidomida y 10 µg de R7050.

Fármaco y concentración	Antes del tratamiento	Después del tratamiento
Talidomida 10 µg	1/4	0/4
R7050 10 µg	0/4	0/4

8.8 La privación de sueño MOR no modifica la expresión de TNFR1 en ganglio de raíz dorsal y médula espinal dorsal

La privación de sueño MOR no modifico la expresión de TNFR1 en ganglio de la raíz dorsal (L4 y L5) y en médula espinal dorsal de ratas hembra (**Figura 22A y B**).

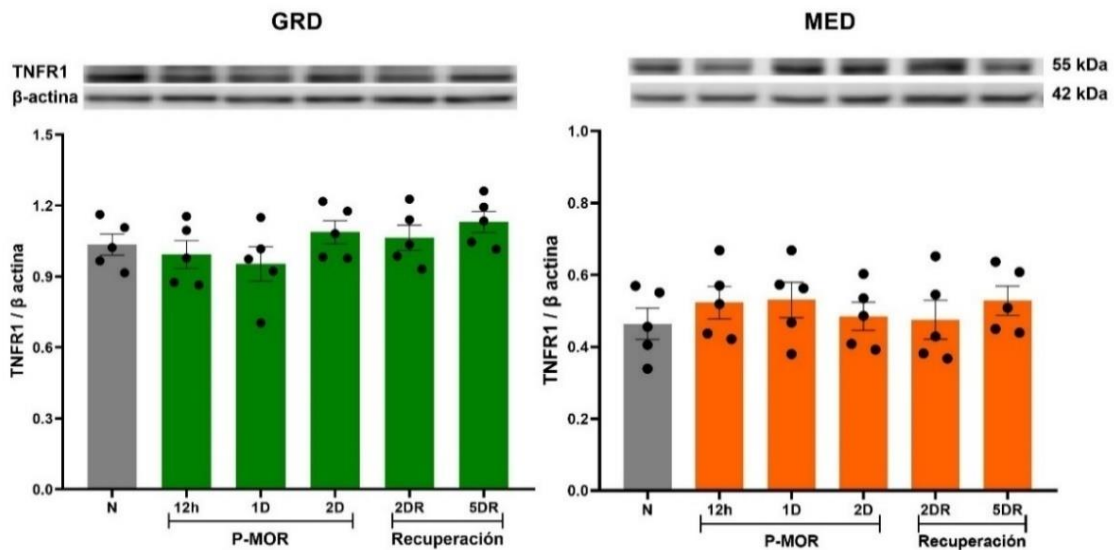


Figura 22: Expresión de TNFR1 en ratas hembra sometidas a privación de sueño MOR. Cambios en la expresión de TNFR1 en ratas Naïve (N), con 12 h, 1 y 2 días de privación de sueño MOR (P-MOR), 2 y 5 días de recuperación **A**) en ganglio de la raíz dorsal (GRD) **B**) en médula espinal dorsal (MED). Los datos representan el promedio ± error estándar (n=5), de la cuantificación de la señal, se expresa como índice de densidad óptica de TNFR1 / β-actina.

8.9 La privación de sueño MOR reduce los niveles de TNF α en médula espinal dorsal de ratas con privación de sueño MOR

La privación de sueño MOR en ratas hembra y macho disminuyó los niveles de TNF α en la médula espinal dorsal, este efecto se observó desde las 12 h de privación de sueño y se mantuvo hasta dos días posteriores al periodo de privación (**Figura 23A y B**). La disminución de TNF α fue más evidente en ratas hembra.

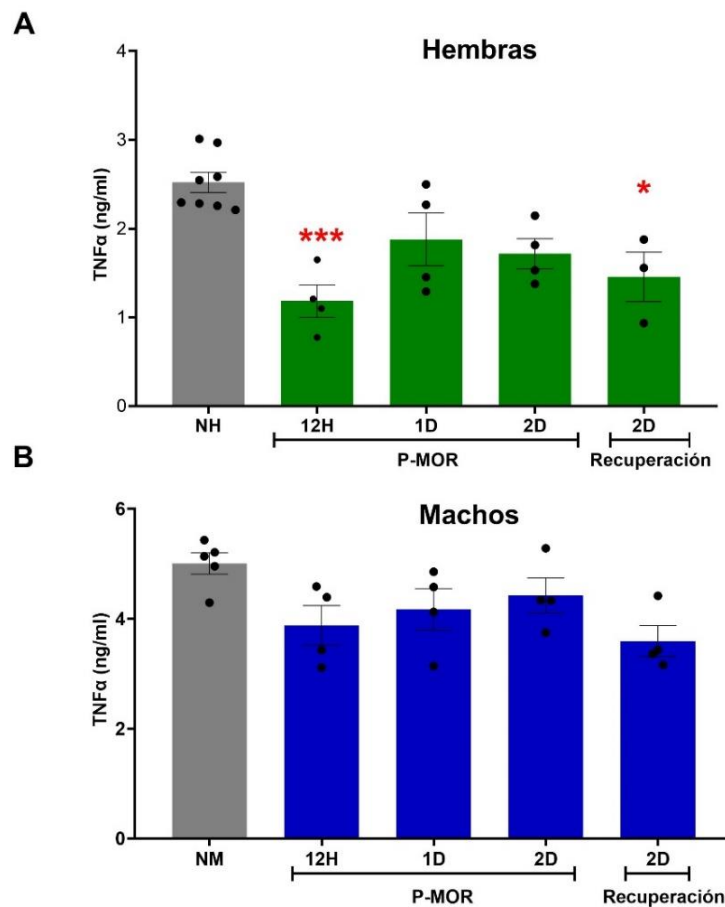


Figura 23: Curso temporal de los niveles de TNF α en la privación de sueño MOR. La privación de sueño MOR redujo la concentración de TNF α en médula espinal dorsal de ratas hembra **A**) y macho **B**). Naïve (N), ratas con 12 h, 1 y 2 días de privación de sueño MOR (P-MOR) y 2 días de recuperación. Los datos representan el promedio \pm error estándar (n de al menos 3 animales), *p < 0.05, ***p < 0.001 vs N, ANOVA de una vía seguido de la prueba Dunnett.

8.10 Efecto del pretratamiento de talidomida y R7050 sobre los niveles de TNF α en ratas hembra y macho

4 administraciones de 1 μ g de talidomida (una cada 8 h) y 10 μ g de R7050 (una cada 8 h) previas al periodo de privación de sueño MOR, disminuyeron los niveles de TNF α en médula espinal dorsal de ratas hembra (**Figura 24A y B**). Se obtuvieron resultados similares en los machos (**Figura 24C**) con el tratamiento de 10 μ g de R7050.

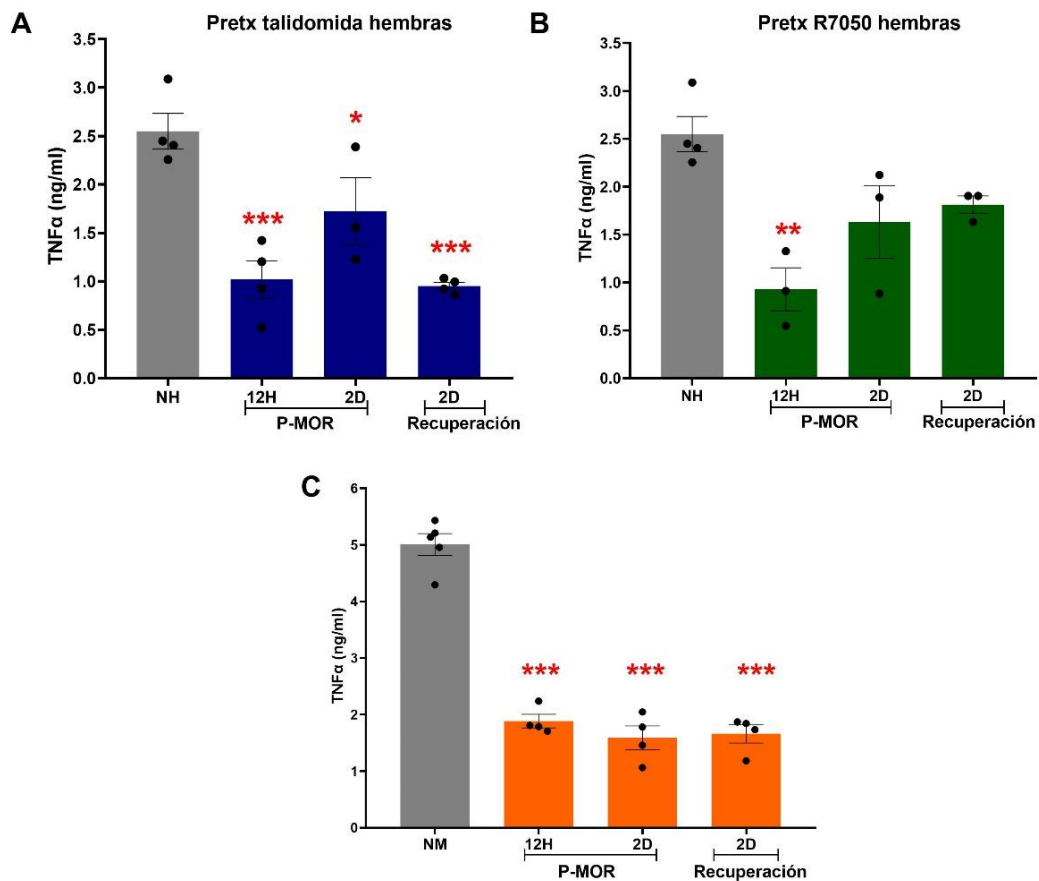


Figura 24: Efecto del pretratamiento de talidomida y R7050 sobre los niveles de TNF α . **A)** Efecto del pretratamiento (Pretx) con 4 administraciones de talidomida (1 μ g) sobre los niveles de TNF α en ratas hembra con 12 h, 2 días de privación de sueño MOR (P-MOR) y 2 días de recuperación. **B)** Efecto del pretratamiento con 4 administraciones de R7050 (10 μ g) sobre los niveles de TNF α en ratas hembra con 12 h, 2 días de P-MOR y 2 días de recuperación. **C)** Efecto del pretratamiento con 4 administraciones de R7050 (10 μ g) sobre los niveles de TNF α en ratas macho con 12 h, 2 días de P-MOR y 2 días de recuperación. Los datos representan el promedio \pm error estándar (n de al menos 3 animales), * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs Naive (N), ANOVA de una vía seguido de la prueba Dunnett.

9. DISCUSIÓN

9.1 La privación de sueño MOR aumenta la respuesta nociceptiva

Los resultados de este estudio confirman que la privación de sueño MOR induce una mayor respuesta nociceptiva. Se observó que el umbral de retiro mecánico disminuyó a partir de las 24 h de P-MOR y a las 48 h de P-MOR las ratas presentaron niveles de alodinia (por debajo de 4 g). Estos datos concuerdan con estudios previos, en donde se ha reportado que la privación de sueño exacerba las conductas nociceptivas tanto en humanos como en modelos animales (Hicks et al., 1978; Onen et al., 2001b; Roehrs et al., 2006; Azevedo et al., 2011). En un estudio hecho en humanos sanos se observó que dos noches de privación total del sueño aumentan la sensibilidad a estímulos térmicos y mecánicos (Azevedo et al., 2011). Así mismo, se ha reportado que en humanos la privación de sueño total afecta mayormente el umbral nociceptivo en comparación con la privación parcial o selectiva, lo que respalda que tanto la deficiencia como la pérdida de sueño aumentan la sensibilidad al dolor (Onen et al., 2001b). En modelos animales, se ha reportado que la privación de sueño MOR altera la respuesta nociceptiva (Hicks et al., 1979, Onen et al., 2000; Onen et al., 2001a). En animales sometidos a 72 h de privación de sueño MOR se observó un aumento en la sensibilidad a estímulos térmicos, mecánicos y eléctricos, pero no a estímulos químicos (Onen et al., 2001a). Por otra parte en ratas con P-MOR reduce el efecto analgésico de opioides exógenos e inhibidores de la MOA (Ukponmwan et al., 1984, 1986).

En este estudio demostramos que la P-MOR induce alodinia generalizada, se observó una reducción en el umbral de retiro en ambas extremidades. En concordancia con nuestros resultados, se ha reportado que una noche de privación total de sueño aumenta la sensibilidad a estímulos térmicos y mecánicos de forma generalizada en hombres y mujeres (Schuh-Hofer et al., 2013). Debido a que en otros modelos de dolor disfuncional como el estrés crónico por restricción de movimiento (Curiel, 2018; Pluma-Pluma, 2019; Rodríguez-Palma et al., 2023) y fibromialgia (De la Luz-Cuellar et al., 2017) se

observa una respuesta dolorosa generalizada, se propone que la privación de sueño MOR induce un dolor clasificado como disfuncional.

La relación entre el sexo y la nocicepción es compleja. En un estudio hecho en humanos se reportó que una noche de privación total del sueño aumenta la sensibilidad a estímulos mecánicos y fríos de forma independiente del sexo, sin embargo, la sensibilidad a estímulos calientes fue mayor en mujeres privadas de sueño, lo cual fue asociado a un deterioro del control inhibitorio del dolor en las mujeres (Eichhorn et al., 2018). En varios estudios se ha observado que en roedores hembra se presenta una respuesta mayor a estímulos nocivos comparado con los animales macho (Li et al., 2009; Mogil et al., 2000; Tall y Crisp, 2004). De hecho, en ratones sometidos a 72 h de P-MOR se observó una disminución de la latencia de retiro en la respuesta a estímulos térmicos en ratones hembras en comparación con los ratones machos (Araujo et al., 2011). Pero en otro estudio no se reportan diferencias entre sexos (Larson y Carter, 2016). En nuestras condiciones experimentales, la privación de sueño MOR disminuyó el umbral de retiro de manera similar entre ratas hembra y macho, y no se observaron diferencias entre sexos.

Aunque la relación entre el sueño y el dolor está ampliamente establecida, los mecanismos que explican el desarrollo de hipersensibilidad al dolor inducida por la falta de sueño siguen sin ser claros. Se ha identificado un mal funcionamiento del sistema opioidérgico, lo cual podría estar relacionado con el efecto pronociceptivo de la privación de sueño. Shapiro y Girdwood observaron una liberación reducida de opioides endógenos en ratas tras la P-MOR (Shapiro y Girdwood, 1981). Posteriormente, Fadda y colaboradores identificaron una menor afinidad de los receptores μ y δ en ratas sometidas a privación de sueño (Fadda et al., 1991). Además, se ha reportado un menor efecto analgésico de opioides exógenos como la morfina en animales sometidos a P-MOR (Tomim et al., 2016; Ukponmwan et al., 1984).

Se han descrito otros mecanismos que contribuyen al efecto pronociceptivo de la privación de sueño, además del sistema opioidérgico. Por ejemplo varios

autores coinciden en que la hiperalgesia desencadenada por la privación de sueño se debe a un desequilibrio en la función de los controles inhibitorios (Tomim et al., 2015; Kourbanova et al., 2022). Se ha reportado que la privación de sueño altera los controles descendentes inhibitorios noradrenérgicos y serotoninérgicos en animales sometidos a P-MOR (Wei et al., 2008; Damasceno et al., 2009). Por otra parte, se ha identificado que la falta de sueño altera el funcionamiento de estructuras cerebrales, se ha descrito que afecta el sistema mesolímbico principalmente del núcleo accumbens (NAc) en roedores (Kourbanova et al., 2022; Sardi et al., 2018b) y en humanos (Seminowicz et al., 2019). La mayoría de las neuronas del NAc expresan receptores excitatorios de adenosina A_{2A}, la adenosina se acumula durante la vigilia prolongada, lo que contribuye a la sobre-excitabilidad de las neuronas del NAc, y esto induce una mayor sensibilidad al dolor (Valijent et al., 2009; Sardi et al., 2018).

Existe evidencia que muestra que la falta de sueño incrementa la respuesta inflamatoria (Irwin et al., 2016; Simpson y Dinges, 2007; Vgontzas et al., 1999). La privación de sueño promueve la liberación de mediadores proinflamatorios, los cuales modifican la función de las neuronas involucradas en la nocicepción (Basbaum et al., 2009; Hu et al., 2003; Kawasaki et al., 2008; Yehuda et al., 2009). Con base en esto, en este estudio se planteó demostrar la participación de una de las principales citocinas proinflamatorias, el TNF α y su receptor TNFR1, el cual se expresa ampliamente en neuronas del GRD y en la médula espinal, (Holmes et al., 2006; Li et al., 2004; Shubayer y Myers, 2001) como posibles agentes que participan en la hipersensibilidad dolorosa observada en ratas sometidas a privación de sueño MOR.

9.2 TNF α y TNFR1 inducen el desarrollo y mantenimiento de la alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR

Los datos obtenidos muestran que el postratamiento con talidomida, un inhibidor de la síntesis de TNF α , revirtió la alodinia táctil observada en ratas con 48 h de P-MOR, además, el pretratamiento con talidomida impidió el



desarrollo de alodinia táctil inducida por la P-MOR. Estos datos sugieren que el TNF α tiene un papel pronociceptivo y participa en el desarrollo y mantenimiento de la alodinia táctil inducida por la P-MOR. Se ha descrito previamente en modelos animales que la administración de TNF α aumenta la sensibilidad nociceptiva a estímulos, térmicos y mecánicos (Cunha et al., 1992; Gao et al., 2009). La investigación preclínica ha demostrado que TNF α tiene efectos sensibilizantes mediados por sus receptores, expresados en las neuronas nociceptivas (Liu et al., 2002; Junger y Sorkin 2000; Zhang et al., 2002). Se ha reportado que el uso de inhibidores de la síntesis de TNF α o el uso de bloqueadores de su vía de señalización revierten las conductas nociceptivas en varios tipos de dolor (Chakravarthy et al., 2014; Ribeiro et al., 2000; Sommer et al., 1998; Watanabe et al., 2011; Xu et al., 2019). Particularmente la participación de TNF α se ha descrito en otros modelos de dolor disfuncional como la fibromialgia (Cordaro et al., 2022), la hiperalgesia inducida por el estrés crónico (Pluma-Pluma, 2019), y en el dolor lumbar crónico (Wang et al., 2008). Por ejemplo, en un modelo de fibromialgia el tratamiento con infliximab y etanercept, dos inhibidores de TNF α , disminuyeron la hipersensibilidad a estímulos mecánicos y térmicos (Cordaro et al., 2022).

Estudios previos han demostrado que la privación de sueño promueve un estado proinflamatorio (Carroll et al., 2015; Haack et al., 2009; Hu et al., 2003). Se ha identificado que la perturbación del sueño aumenta la actividad transcripcional del factor NF- κ B, el cual induce la liberación de citocinas proinflamatorias como TNF α , IL-1 β y IL-6 (Irwin et al., 2008). Los datos obtenidos en este estudio apoyan la idea de que interrupción la del sueño activa vías de señalización que promueven la inflamación y que dicha activación modula el aumento de la sensibilidad al dolor. En apoyo a esto, en el laboratorio se ha demostrado que la P-MOR promueve la activación de la vía de señalización HMGB1/TLR4, una vía de señalización que promueve la liberación de mediadores proinflamatorios (Gómez et al., 2015) y que la

activación de esta vía se relaciona con una mayor respuesta nociceptiva en las ratas sometido a P-MOR (Martínez-Magaña, 2020).

Adicionalmente, en este estudio se demostró que el postratamiento con R7050 revirtió la alodinia táctil en ratas con 48 h de P-MOR; además, el pretratamiento de R7050 previno el desarrollo de alodinia inducida por la P-MOR. Dado que el R7050 impide la activación de la vía de señalización TNF α /TNFR1, estos datos sugieren que TNFR1 tiene un papel pronociceptivo y que participa en el desarrollo y mantenimiento de la alodinia táctil inducida por la P-MOR. La participación de TNFR1 en la respuesta nociceptiva está ampliamente descrita, se ha observado que en ratones que no expresan TNFR1 presentan hiperalgesia térmica reducida y menor sensibilidad mecánica ante la administración exógena de TNF α (Zhang et al., 2011). Por otra parte, se ha observado que su activación aumenta la tasa de disparo y evoca potenciales de acción en las neuronas nociceptivas (Junger y Sorkin, 2000; Schäfers et al., 2008). El receptor TNFR1 se expresa de forma constitutiva en neuronas del GRD y médula espinal, en contraste con TNFR2 su expresión en estas estructuras es limitada (Holmes et al., 2004). Con base en lo anterior, se decidió en este estudio determinar el papel pronociceptivo de TNF α a través de su receptor TNFR1 en la hipersensibilidad al dolor inducida por la P-MOR.

Un posible mecanismo que explica el efecto pronociceptivo de TNF α y TNFR1 en la P-MOR, involucra la activación de la microglía espinal, estudios previos han reportado que la privación de sueño promueve su activación (DeLeo y Yezierski, 2001; Watkins et al., 2001; Watkins y Maier, 2003). La microglía espinal libera diferentes mediadores proinflamatorios, entre ellos TNF α (Ji y Suter, 2007; Milligan, 2009). En apoyo a esto, se ha observado que la liberación espinal de TNF α , evocado por la aplicación de lipopolisacáridos, se bloqueó por la administración intratecal de minociclina y pentoxifilina (inhibidores de la microglía), lo cual a su vez se relacionó una menor respuesta nociceptiva (Saito et al., 2010). El TNF α liberado por la microglía activa a su receptor TNFR1 expresado en neuronas de la asta dorsal, ya que en varios

estudios se ha observado que a nivel de la médula espinal la activación del receptor TNFR1 modifica la actividad de algunos canales iónicos, mediante la p38 MAPK. Esta cinasa fosforila y modula la función de varios canales iónicos, incluidos los canales de sodio y calcio (de Lima et al., 2022; Jin y Gereau, 2006; Pollock et al., 2002). Se ha observado que TNF α participa en el desarrollo de sensibilización central, dado que aumenta la transmisión sináptica excitatoria, mediada por AMPA y NMDA (Kawasaki et al., 2008) y disminuye la transmisión sináptica inhibitoria mediada por GABA y glicina a través de p38 MAPK (Zhang et al., 2010; Zhang y Dougherty, 2011; Zhang et al., 2013).

9.3 La privación de sueño MOR reduce los niveles de TNF α en médula espinal dorsal

En este estudio se observó que la privación de sueño MOR disminuye los niveles de TNF α en la médula espinal dorsal de ratas a partir de las 12 h del inicio del periodo de la privación de sueño y se mantuvo hasta dos días posteriores al término del periodo de privación de sueño. Es importante mencionar que la disminución de esta citocina fue más evidente en ratas hembra en comparación con las ratas macho. Estos hallazgos concuerdan con un estudio hecho en humanos en el que se observó que un periodo corto de privación de sueño reduce los niveles de TNF α (Shearer et al., 2001). Al igual que otro estudio en el que se observó que en hombres sanos sometidos a 4 días de privación parcial de sueño disminuyen los niveles de citocinas proinflamatorias como la IL-1 β y TNF α (Wolkow et al., 2015). Sin embargo, también existen reportes en humanos donde se ha observado que una noche de privación total de sueño aumenta el ARN mensajero de TNF α (Chennaoui et al., 2014). En el caso de modelos animales se ha reportado que en ratas sometidos a 72 h de P-MOR los niveles plasmáticos de algunas citocinas proinflamatorias (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17, TNF α) aumentan (Yehuda et al., 2009). Es probable que la discrepancia de nuestros resultados con lo observado previamente se deba a la técnica empleada para medir los cambios



en los niveles de TNF α , al protocolo de privación de sueño empleado o al tejido en el que se evalúan los niveles de esta citocina. Dado que la mayoría de los estudios miden sus cambios en sangre y en este estudio se realizó en médula espinal. Sería importante comprobar los resultados obtenidos mediante otras pruebas como las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que puede determinar el ARN mensajero de la citocina (Garibyan y Avashia, 2014), avidin biotin peroxidasa (ABC) la cual es útil para determinar su presencia directamente en tejidos (Bratthauer, 2010), citometría de flujo que permite la cuantificación de la citocina de interés y la identificación de las principales células que la sintetizan (Jaroszeski y Radcliff, 1999).

Un posible mecanismo implicado en la disminución de las citocinas inducida por la privación de sueño es a través del efecto inmunosupresor de los glucocorticoides y de las catecolaminas, que se liberan en respuesta al factor estresante que implica la privación de sueño. Se ha descrito que en animales sometidos a 96 h de P-MOR incrementan los niveles de las hormonas adrenocorticotrópica y corticosterona (Galvão et al., 2009; Machando et al., 2013; Rocha-Lopes et al., 2018). En otros estudios hechos en humanos se ha observado que la vigilia prolongada incrementa los niveles de adrenalina y noradrenalina (Irwin et al., 1999). Los complejos como la corticosterona y la noradrenalina retroalimentan negativamente el sistema inmunológico, disminuyen la liberación de las citocinas proinflamatorias y aumenta la liberación de las citocinas antiinflamatorias, mediante la supresión de factores de transcripción como NF- κ B, AP-1 y transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3) (Silverman y Sternberg, 2013; Tian et al., 2014).

Evidencia de otros estudios sugiere que el estrés exagera la respuesta nociceptiva tanto en humanos (Crettaz et al., 2013; Dufton et al., 2008) como en roedores (Bardi et al., 2009; Lafrance et al., 2010; Rodríguez-Palma et al., 2023; Spezia et al., 2012). Por lo tanto, surge la pregunta de si la reducción en el umbral de retiro se debe al efecto de la privación de sueño MOR o al estrés inducido por la falta de sueño. Sin embargo, otros estudios argumentan en



contra de esta posibilidad. Por ejemplo, Araújo y colaboradores observaron que ratones con 72 h de P-MOR, mostraron cambios marcados en la sensibilidad dolorosa, mientras que los niveles de corticosterona no mostraron cambios significativos (Araujo et al., 2011). Adicionalmente, Wodarski y colaboradores observaron cambios en el umbral térmico y mecánico en animales sometidos a 8 h de privación de sueño, sin embargo, los animales no mostraron conductas asociadas al estrés (Wodrski et al., 2015). De igual manera, en el laboratorio se ha descrito que el protocolo utilizado para la privación de sueño aumenta los niveles de corticosterona en sangre de ratas solo a las 12 horas y a los dos días de privación de sueño MOR los niveles de corticosterona son similares a los basales (Martínez-Magaña, 2020). Estos resultados sugieren que los cambios en la sensibilidad al dolor se deben a la pérdida de sueño y no al estrés.

La disminución de TNF α fue más evidente en médula espinal de ratas hembra en comparación con los machos. El sexo es un variable que afecta el funcionamiento del sistema inmunológico, es probable que este resultado se deba a una respuesta sexualmente dimórfica (Pannell et al., 2012). Por ejemplo, se ha observado en estudios *in vitro* que los estrógenos disminuyen la producción de TNF α de células inmunológicas, al suprimir la expresión de factores de transcripción como NF- κ B y c-Jun (Deshpande et al., 1997; Srivastava et al., 1999; Stice y Knowlton, 2008). Por otra parte, se ha observado en humanos y roedores que las hormonas sexuales disminuyen indirectamente la respuesta inmunológica mediante el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, disminuyen la concentración de los glucocorticoides (Oyola y Handa, 2017; Quinn et al., 2014).

Dado que en este estudio no se observó una modificación en la expresión de TNFR1 en GRD y MED de animales con P-MOR. Es probable que su efecto pronociceptivo de TNF α y TNFR1 no se deba a un incremento en su concentración a nivel espinal o a un aumento en la expresión del receptor TNFR1 inducido por la P-MOR, sino a cambios en la funcionalidad del receptor,



a su fosforilación (Hapil et al., 2020), cambios en su estructura (Karathanasis et al., 2020), la formación de homodímeros (Kucka y Wajant, 2021; Lo et al., 2008) o su internalización (Tchikov et al., 2008), lo cual sería interesante comprobar en estudios posteriores.

10. CONCLUSIONES

La privación de sueño MOR promueve un estado proinflamatorio, activa vías de señalización inflamatorias que median el aumento de la sensibilidad nociceptiva.

TNF α y su receptor TNFR1 tienen un papel pronociceptivo, induce el establecimiento y mantenimiento de la alodinia táctil inducida por la privación de sueño MOR.

El uso inhibitor de la síntesis de TNF α o bloqueadores de la vía de señalización TNF α /TNFR1 podrían ser útiles en el tratamiento del dolor disfuncional.

11. PERSPECTIVAS

- Evaluar posibles cambios en la funcionalidad o en la estructura del receptor TNFR1 que expliquen su papel pronociceptivo inducido por la pérdida de sueño.
- Evaluar mediante PCR, los cambios en los niveles de TNF α en animales con privación de sueño MOR, para confirmar que la privación de sueño disminuye los niveles de esta citocina.
- Evaluar los cambios en la actividad de la microglía en ganglio de la raíz dorsal y médula espinal dorsal de animales con privación de sueño



MOR, para comprobar si la privación de sueño promueve su sobre activación y esta incrementa la hipersensibilidad nociceptiva.

- Evaluar la participación de la vía de señalización TNF α /TNFR1/p38 MAPK en el desarrollo de la hipersensibilidad nociceptiva inducida por la pérdida de sueño.
- Evaluar si el papel pronociceptivo de otros receptores o canales iónicos en la hipersensibilidad nociceptiva inducida por la pérdida de sueño, depende de la activación del receptor TNFR1.

12. REFERENCIAS

- Affleck, G., Urrows, S., Tennen, H., Higgins, P., y Abeles, M. (1996). Sequential daily relations of sleep, pain intensity, and attention to pain among women with fibromyalgia. *Pain*, 68(1), 363-368.
- Aguggia, M., Saracco, M., Cavallini, M., Bussone, G., y Cortelli, P. (2013). Sensitization and pain. *Neurological Sciences*, 34(1), 37-40.
- Alexandre, C., Latremoliere, A., Ferreira, A., Miracca, G., Yamamoto, M., Scammell, T., y Woolf, C. (2017). Decreased alertness due to sleep loss increases pain sensitivity in mice. *Nature Medicine*, 23(6), 768-774.
- Alóe, F., Pinto, A., y Hasan, R. (2005). Sleep-wake cycle mechanisms. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 27(1), 33-39.
- Andrade, P., Hoogland, G., Del Rosario, J., Steinbush, H., Visser-Vandewalle, V., y Daemen, M. (2014). Tumor necrosis factor- α inhibitors alleviation of experimentally induced neuropathic pain is associated with modulation of TNF receptor expression. *Journal of Neuroscience Research*, 92(11), 1490-1498.
- Aomatsu, M., Kato, T., Kasahara, E., y Kitagawa, S. (2013). Gender difference in tumor necrosis factor- α production in human neutrophils stimulated by lipopolysaccharide and interferon- γ . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 441(1), 220-225.
- Araujo, P., Costa-Mazaro, R., Tufik, S., y Andersen, M. (2011). Impact of sex on hyperalgesia induced by sleep loss. *Hormones and Behavior*, 59(1), 174-179.
- Arco, J. (2015). Curso básico sobre dolor. Tema 1. Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico. En *Farmacia profesional* (Vol. 29, Número 1, pp. 36-43).
- Azevedo, E., Manzano, G., Silva, A., Martins, R., Andersen, M., y Tufik, S. (2011). The effects of total and REM sleep deprivation on laser-evoked potential threshold and pain perception. *Pain*, 152(9), 2052-2058.



- Baracchi, F., y Opp, M. (2008). Sleep-wake behavior and responses to sleep deprivation of mice lacking both interleukin-1 β receptor 1 and tumor necrosis factor α receptor 1. *Brain, Behavior, and Immunity*, 22(6), 982-993.
- Bardi, L., Malfetes, N., Newman-Tancredi, A., y Depoortere, R. (2009). Chronic restraint stress induces mechanical and cold allodynia, and enhances inflammatory pain in rat: relevance to human stress-associated painful pathologies. *Behavioural Brain Research*, 205(2), 360-366.
- Barker, K., Higham, J., Pattison, L., Taylor, T., Chessell, I., Welsh, F., Smith, E., y Bulmer, D. (2022). Sensitization of colonic nociceptors by TNF α is dependent on TNFR1 expression and p38 MAPK activity. *The Journal of Physiology*, 600(16), 3819-3836.
- Barros, C, Sakata, R., Machado, A., Gerola, L., y Salomão, R. (2011). Cytokines and pain. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 61(2), 137-265.
- Basbaum, A., Bautista, D., Scherrer, G., y Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139(6), 267-284.
- Bourne, S., Machado, A., y Nagel, S. (2014). Basic anatomy and physiology of pain pathways. *Neurosurgery Clinics of North America*, 25(4), 629-638.
- Bratthauer, G. (2010). The avidin-biotin complex (ABC) method and other avidin–biotin binding methods. *Methods in Molecular Biology*, 558, 257-270.
- Brianza-Padilla, M., Sánchez-Muñoz, F., Vázquez-Palacios, G., Huang, F., Almanza-Pérez, J., Bojalil, R., y Bonilla-Jaime, H. (2018). Cytokine and microRNA levels during different periods of paradoxical sleep deprivation and sleep recovery in rats. *PeerJ*.
- Brodin, E., Ernberg, M., y Olgart, L. (2016). Neurobiology: general considerations-from acute to chronic pain. *Den Norske*



Tannlegeforenings Tidende, 126, 28-33.

- Calvo, M., Dawes, J., y Bennett, D. (2012). The role of the immune system in the generation of neuropathic pain. *The Lancet Neurology*, 11(7), 629-642.
- Carley, R. (2003). Sleep, dreams, and states of consciousness. En *Neuroscience in Medicine* (pp. 595-619).
- Carrillo-Mora, P., Ramírez-Peis, J., y Magaña-Vázquez, K. (2013). Neurobiología del sueño y su importancia: antología para el estudiante universitario. *Neurobiología del Sueño*, 56(4).
- Carroll, J., Carrillo, C., Olmstead, R., Witarama, T., Breen, E., Yokomizo, M., Seeman, T., y Irwin, M. (2015). Sleep deprivation and divergent toll-like receptor-4 activation of cellular inflammation in aging. *Sleep*, 38(2), 205-2011.
- Chakravarthy, K., Faltus, R., Robinson, G., Sevilla, R., Shin, J., Zielstorff, M., Byford, A., Leccese, E., Caniga, M., Hseis, S., Zhang, S., Chi-Sung, C., Zhang-Hoover, J., Moy, L., McLeod, R., Stoffregen, D., Zhang, W., Murtaza, A., y Cicmil, M. (2014). Etanercept ameliorates inflammation and pain in a novel mono-arthritic multi-flare model of streptococcal cell wall induced arthritis. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 15(409).
- Chen, G., y Geoddel, D. (2002). TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science*, 296, 1634-1635.
- Chennaoui, M., Drogou, C., Sauvet, F., Gomez-Merino, D., Scofield, D., y Nindl, B. (2014). Effect of acute sleep deprivation and recovery on insulin-like growth factor-i responses and inflammatory gene expression in healthy men. *European Cytokine Network*, 25(3), 52-57.
- Chu, W. (2013). Tumor necrosis factor. *Cancer Letters*, 328(2), 222-225.
- Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A., Yarnitsky, D., Freeman, R., Truini, A., Attal, N., Finnerup, N., Eccleston, C., Kalso, E., Bennett, D., Dworkin, R., y Raja, S. (2017). Neuropathic

pain. *Nature Reviews Disease Primers*, 16(3).

- Cordaro, M., Siracusa, R., D'Amico, R., Genovese, T., Franco, G., Marino, Y., Di Paola, D., Cuzzocrea, S., Impellizzeri, D., Di Paola, R., y Fusco, R. (2022). Role of etanercept and infliximab on nociceptive changes induced by the experimental model of fibromyalgia. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11).
- Costigan, M, y Woolf, C. (2000). Pain: molecular mechanisms. *The Journal of Pain*, 1(3), 35-44.
- Crettaz, B., Marziniak, M., Willeke, P., Young, P., Hellhammer, D., Stumpf, A., y Burgmer, M. (2013). Stress-induced allodynia evidence of increased pain sensitivity in healthy humans and patients with chronic pain after experimentally induced psychosocial stress. *Plos one*, 8(8).
- Cunha, F., Poole, S., Lorenzetti, B., y Ferreira, S. (1992). The pivotal role of tumour necrosis factor α in the development of inflammatory hyperalgesia. *British Journal of Pharmacology*, 107(3), 660-664.
- Cunha, T., Verri, W., Silva, J., Poole, S., y Cunha, Ferreira, S. (2005). A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(5), 1755-1760.
- Curiel, E. (2018). *Participación del co-transportador KCC2 en un modelo de dolor inducido por estrés crónico en ratas*.
- Dalanon, J., Chikahisa, S., Shiuch, T., Shimizu, N., Chavan, P., Suzuki, Y., Okura, K., Séi, H., y Matsuka, Y. (2021). Pain sensitivity increases with sleep disturbance under predictable chronic mild stress in mice. *Scientific Reports*, 11(1).
- Damasceno, F., Skinner, G., Gomes, A., Araújo, P., y de Almeida, O. (2009). Systemic amitriptyline administration does not prevent the increased thermal response induced by paradoxical sleep deprivation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 94(1), 51-55.
- Danilov, A., y Kurganova, J. (2016). Melatonin in chronic pain

syndromes. *Pain and Therapy*, 5(1), 1-17.

- De la Luz-Cuellar, Y., Velázquez, I., Salinas-Abarca, A., Delgado-Lezama, R., y Granados-Soto, V. (2017). Role of alpha 5 subunit-containing GABAA receptors in a rat model of fibromyalgia. *The Journal of Pain*, 18(4).
- de Lima, F., Lauria, P., do Espírito-Santo, R., Evangelista, A., Nogueira, T., Araldi, D., Soares, M., y Villarreal, C. (2022). Unveiling targets for treating postoperative pain: the role of the TNF- α /p38 MAPK/NF- κ B/Nav1.8 and Nav1.9 pathways in the mouse model of incisional pain. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19).
- DeLeo, J, Colburn, R., Nichols, M., y Malhotra, A. (1996). Interleukin-6-mediated hyperalgesia/allodynia and increased spinal IL-6 expression in a rat mononeuropathy model. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 16(9), 695-700.
- DeLeo, J, y Yeziarski, R. (2001). The role of neuroinflammation and neuroimmune activation in persistent pain. *Pain*, 90(1).
- Deshpande, R., Khalili, H., Pergolizzi, R., Michael, S., y Chang, M. (1997). Estradiol down-regulates LPS-induced cytokine production and NF κ B activation in murine macrophages. *American Journal of Reproductive Immunology*, 38(1), 46-54.
- Detert, J., Dziurla, R., Hoff, P., Gaber, T., Klaus, P., Bastian, H., Braun, T., Schellmann, S., Penzel, T., Fietze, I., Loeschmann, P., Jaehnig, P., Straub, R., Burmester, G., y Buttgereit, F. (2016). Effects of treatment with etanercept versus methotrexate on sleep quality, fatigue and selected immune parameters in patients with active rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 34(5), 848-856.
- Dixon, W. (1980). Efficient analysis of experimental observations. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 20, 441-462.
- Dogrul, A., Gul, H., Yesilyurt, O., Ulas, U., y Yildiz, O. (2011). Systemic and spinal administration of etanercept, a tumor necrosis factor alpha

inhibitor, blocks tactile allodynia in diabetic mice. *Acta Diabetologia*, 48(2), 135-142.

- Duffton, L., Konik, B., Colletti, R., Stanger, C., Boyer, M., Morrow, S., y Compas, B. (2008). Effects of stress on pain threshold and tolerance in children with recurrent abdominal pain. *Pain*, 136(1), 38-43.
- Eichhorn, N., Treede, R., y Schuh-Hofer, S. (2018). The role of sex in sleep deprivation related changes of nociception and conditioned pain modulation. *Neuroscience*, 387, 191-200.
- Ellis, A., y Bennett, D. (2013). Neuroinflammation and the generation of neuropathic pain. *British Journal of Anaesthesia*, 111(1), 26-37.
- Fadda, P., Martellotta, M., Gessa, G., y Fratta, W. (1993). Dopamine and opioids interac. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 17(2), 269-278.
- Fadda, P., Tortorella, A., y Fratta, W. (1991). Sleep deprivation decreases mu and delta opioid receptor binding in the rat limbic system. *Neuroscience Letters*, 129(2), 315-317.
- Fang, J., Wang, Y., y Krueger, J. (1997). Mice Lacking the TNF 55 kDa receptor fail to sleep more after TNF α treatment. *Journal of Neuroscience*, 17(15), 5949-5955.
- Faraut, B., Léger, D., Medkour, T., Dubois, A., Bayon, V., Chennaoui, M., y Perrot, S. (2015). Napping reverses increased pain sensitivity due to sleep restriction. *Plos one*, 10(2).
- Farooqui, S., Brock, J., y Zhou, J. (1996). Changes in monoamines and their metabolite concentrations in REM sleep-deprived rat forebrain nuclei. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 54(2), 385-391.
- Finan, P., Goodin, B., y Smith, M. (2013). The association of sleep and pain: an update and a path forward. *The Journal of Pain*, 14(12), 1539-1552.
- Finan, P., y Remeniuk, B. (2016). Is the brain reward system a mechanism of the association of sleep and pain? *Pain Management*,



6(1), 5-8.

- Fischer, B., Ho, C., Kuzin, I., Bottaro, A., y O'Leary, M. (2017). Chronic exposure to tumor necrosis factor in vivo induces hyperalgesia, upregulates sodium channel gene expression and alters the cellular electrophysiology of dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience Letters*, 653, 195-201.
- Fukuoka, H., Kawatani, M., Hisamitsu, T., y Takeshige, C. (1994). Cutaneous hyperalgesia induced by peripheral injection of interleukin - 1 beta in the rat. *Brain Research*, 657(1), 133-140.
- Fuller, P., Gooley, J., y Saper, C. (2006). Neurobiology of the sleep-wake cycle: sleep architecture, circadian regulation, and regulatory feedback. *Journal of Biological Rhythms*, 21(6), 482-493.
- Gaine, M., Chatterjee, S., y Abel, T. (2018). Sleep deprivation and the epigenome. *Frontiers in Neural Circuits*, 12(14).
- Galvão, O., Sinigaglia-Coimbra, Kawakami, S., Tufik, S., y Suchecki, D. (2009). Paradoxical sleep deprivation activates hypothalamic nuclei that regulate food intake and stress response. *Psychoneuroendocrinology*, 34(8), 1176-1183.
- Gao, Y., Zhang, L., Samad, O., Suter, M., Yasuhiko, K., Xu, Z., Park, J., Lind, A., Ma, Q., y Ji, R. (2009). JNK-induced MCP-1 production in spinal cord astrocytes contributes to central sensitization and neuropathic pain. *Journal of Neuroscience*, 29(13), 4096-4108.
- Garibyan, L., y Avashia, N. (2014). Research techniques made simple: polymerase chain reaction (PCR). *Journal of Investigative Dermatology*, 133(3).
- Gomez, H., Rugeles, M., y Jaimes, F. (2015). Key immunological characteristics in the pathophysiology of sepsis. *Infection*, 19(1), 40-46
- Grace, P., Hutchinson, M., Maier, S., y Watkins, L. (2014). Pathological pain and the neuroimmune interface. *Nature Reviews Immunology*, 14(4), 217-231.



- Grandner, M. (2017). Sleep, health, and society. *Sleep Medicine Clinics*, 12(1), 1-22.
- Haack, M., Lee, E., Cohen, D., y Mullington, J. (2009). Activation of the prostaglandin system in response to sleep loss in healthy humans: potential mediator of increased spontaneous pain. *Pain*, 145(1), 136-141.
- Haack, M., Scott-Sutherland, J., Santangelo, G., Simpson, N., Sethna, N., y Mullington, J. (2012). Pain sensitivity and modulation in primary insomnia. *European Journal of Pain*, 16(4), 522-533.
- Hapil, F., Copuroglu, F., Ertosun, M., Mert, U., Özes, D., y Özes, O. (2020). Negative regulation of TNFR1 signaling via PKA-mediated phosphorylation of TNFR1. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 40(5), 225-235.
- He, X., Zang, Y., Chen, X., Pang, R., Xu, J., Zhou, X., Wei, X., Li, Y., Xin, W., Qin, Z., y Liu, X. (2010). TNF- α contributes to up-regulation of Nav1.3 and Nav1.8 in DRG neurons following motor fiber injury. *Pain*, 151(2), 26-279.
- Hensellek, S., Brell, P., Schaible, H., Bräuer, R., y Segond, G. (2007). The cytokine TNF α increases the proportion of DRG neurones expressing the TRPV1 receptor via the TNFR1 receptor and ERK activation. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 36(3), 381-391.
- Herrero, A., De Koninck, B., Beetz, G., De Beaumont, L., Martel, M., y Lavigne, G. (2020). Sleep and pain: recent insights, mechanisms, and future directions in the investigation of this relationship. *Journal of Neural Transmission*, 127(4), 647-660.
- Hicks, R., Coleman, D., Ferrante, F., Sahatjian, M., y Hawkins, J. (1979). Pain thresholds in rats during recovery from REM sleep deprivation. *Perceptual and Motor Skills*, 48(3), 687-690.
- Hicks, R., Moore, J., Findley, P., Hlrshfield, C., y Humphrey, V. (1978). REM sleep deprivation and pain thresholds in rats. *Perceptual and Motor*

Skills, 48(3), 848-850.

- Holmes, G., Hebert, S., Rogers, R., y Hermann, G. (2004). Immunocytochemical localization of TNF type 1 and type 2 receptors in the rat spinal cord. *Brain Research*, 1025(1), 210-219.
- Horiuchi, T., Mitoma, H., Harashima, S., Tsukamoto, H., y Shimoda, T. (2010). Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology*, 49(7), 1215-1228.
- Hu, J., Chen, Z., Gorczynski, C., Gorczynski, L., Kai, Y., Lee, L., Manuel, J., y Gorczynski, R. (2003). Sleep-deprived mice show altered cytokine production manifest by perturbations in serum IL-1 α , TNF α , and IL-6 levels. *Brain, Behavior, and Immunity*, 17(6), 498-504.
- Hudmon, A., Choi, J., Tyrrel, L., Black, J., Rush, A., Waxman, S., y Dib-Hajj, S. (2008). Phosphorylation of sodium channel Nav1.8 by p38 mitogen-activated protein kinase increases current density in dorsal root ganglion neurons. *Journal of Neuroscience*, 28(12), 3190-3201.
- Hurtado-Alvarado, G., Domínguez-Salazar, E., Velázquez-Moctezuma, J., y Gómez-González. (2016). A2A adenosine receptor antagonism reverts the blood-brain barrier dysfunction induced by sleep restriction. *Plos One*, 11(11).
- Imeri, L., y Opp, S. (2009). How (and why) the immune system makes us sleep. *Nature Reviews Neurociencia*, 10(3), 199-210.
- Irwin, M., Olmstead, R., Carrillo, C., Sadeghi, N., Fitzgerald, J., Ranganath, V., y Nicassio, P. (2012). Sleep loss exacerbates fatigue, depression, and pain in rheumatoid arthritis. *Sleep*, 35(4), 537-543.
- Irwin, M., Olmstead, R., y Carroll, J. (2016). Sleep disturbance, sleep duration, and inflammation: a systematic review and meta-analysis of cohort studies and experimental sleep deprivation. *Biological Psychiatry*, 80(1), 40-52.
- Irwin, M., Thopson, J., Miller, C., Gillin, J., y Ziegler, M. (1999). Effects of sleep and sleep deprivation on catecholamine and interleukin-2 levels

in humans: clinical implications. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 84(6), 1979-1985.

- Irwin, M., Wang, M., Campomayor, C., y Collado-Hidalgo, A. (2006). Sleep deprivation and activation of morning levels of cellular and genomic markers of inflammation. *Archives of Internal Medicine*, 166(16), 1756-1762.
- Irwin, M., Wang, M., Ribeiro, D., Cho, H., Olmstead, R., Breen, C., Martinez-Maza, O., y Cole, S. (2008). Sleep loss activates cellular inflammatory signaling. *Biological Psychiatry*, 64(6), 538-540.
- Jackson, M., Croft, R., Kennedy, G., Owens, K., y Howard, M. (2013). Cognitive components of simulated driving performance: sleep loss effects and predictors. *Accident Analysis and Prevention*, 50, 438-444.
- Jang, D., Lee, H., Shin, H., Song, H., Park, J., Kang, T., Lee, S., y Yang, S. (2021). The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5).
- Jaroszeski, M., y Radcliff, G. (1999). Fundamentals of flow cytometry. *Molecular Biotechnology*, 11(1), 37-53.
- Javaheri, S., Zhao, Y., Punjabi, N., Quan, S., Gottlieb, D., y Redline, S. (2018). Slow-wave sleep is associated with incident hypertension: the sleep heart health study. *Sleep*, 41(1).
- Jewett, K., y Krueger, J. (2012). Humoral sleep regulation; interleukin-1 and tumor necrosis factor. *Vitamins and Hormones*, 89, 241-257.
- Ji, R., Nackley, A., Huh, Y., Terrando, N., y Maixner, W. (2018). Neuroinflammation and central sensitization in chronic and widespread pain. *Anesthesiology*, 129(2), 343-366.
- Ji, R., y Suter, M. (2007). p38 MAPK, microglial signaling, and neuropathic pain. *Molecular pain*, 3(33).
- Ji, R., Xu, Z., y Gao, Y. (2014). Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(7), 533-548.



- Jiang, B., Liu, T., y Gao, Y. (2020). Chemokines in chronic pain: cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential. *Pharmacology and Therapeutics*, 212.
- Jie, Y., Mingxue, C., Xin, J., Zheng, Z., Li, J., y Zhang, S. (2020). The role of IL-1 β and TNF- α in intervertebral disc degeneration. *Biochemical Pharmacology*, 131.
- Jin, X., y Gereau, R. (2006). Acute p38-Mediated Modulation of tetrodotoxin-resistant sodium channels in mouse sensory neurons by tumor necrosis factor- α . *Journal of Neuroscience*, 26(1), 246-255.
- Juliu, D., y Basbaum, A. (2001). Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, 413(6852), 203-210.
- Junger, H., y Sorkin, L. (2000). Nociceptive and inflammatory effects of subcutaneous TNF alpha. *Pain*, 85(1), 145-151.
- Kang, J., Lim, M., Bateman, R., Lee, J., Smyth, L., Cirrito, J., Fujiki, N., Nishino, S., y Holtzman, D. (2009). Amyloid- β dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. *Science*, 326(5955), 1005-1007.
- Kapas, L., y Krueger, J. (1992). Tumor necrosis factor-beta induces sleep, fever, and anorexia. *American Journal of Physiology*, 263(3), 703-707.
- Karathanasis, C., Medler, J., Fricke, F., Smith, S., Malkusch, S., Widera, D., Fulda, S., Wajant, H., van Wijk, S., Dikic, I., y Heilemann, M. (2020). Single-molecule imaging reveals the oligomeric state of functional TNF α -induced plasma membrane TNFR1 clusters in cells. *Science Signaling*, 13(614).
- Kawasaki, Y, Zhang, L., Cheng, J., y Ji, R. (2008). Cytokine mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. *Journal of Neuroscience*, 28(20), 5189–5194.
- Kidd, B., y Urban, L. (2001). Mechanisms of inflammatory pain. *British*

Journal of Anaesthesia, 87(1), 3-11.

- Knutson, K., Ryden, A., Mander, B., y Van Cauter, E. (2006). Role of sleep duration and quality in the risk and severity of type 2 diabetes mellitus. *Archives of Internal Medicine*, 166(16), 1768-1774.
- Kourbanova, K., Alexandre, C., y Letremoliere, A. (2022). Effect of sleep loss on pain new conceptual and mechanistic avenues. *Frontier in neuroscience*, 16.
- Krause, A., Prather, A., Wager, T., Lindquist, M., y Walker, M. (2019). The pain of sleep loss: a brain characterization in humans. *Journal of Neuroscience*, 39(12), 2291-2300.
- Krueger, J., Clinton, J., Winters, B., Zielinski, M., Taishi, P., Jewett, K., y Davis, C. (2011a). Involvement of cytokines in slow wave sleep. *Progress in Brain Research*, 193, 39-47.
- Krueger, J., Majde, J., y Rector, D. (2011b). Cytokines in immune function and sleep regulation. *Handbook of Clinical Neurology*, 98, 229-240.
- Kucka, K., y Wajant, H. (2021). Receptor oligomerization and its relevance for signaling by receptors of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8.
- Kuner, R. (2010). Central mechanisms of pathological pain. *Nature Medicine*, 16(11), 1258-1266.
- Kwon, M., Altin, M., Duenas, H., y Alev, L. (2013). The role of descending inhibitory pathways on chronic pain modulation and clinical implications. *Pain Practice*, 14(7), 656-667.
- Lafrance, M., Roussy, G., Belleville, K., Maeno, H., Beaudet, N., Wada, K., y Sarret, P. (2010). Involvement of NTS2 receptors in stress-induced analgesia. *Neuroscience*, 166(2), 639-652.
- Lamont, L., Tranquilli, W., y Grimm, K. (2000). Physiology of pain. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 30(4), 703-728.



- Larson, R., y Carter, J. (2016). Total sleep deprivation total sleep deprivation and pain perception during cold noxious stimuli in humans summation of pain in healthy participants. *Scandinavian Journal of Pain*, 13, 12-16.
- Leo, M., Argalski, S., Schäfers, M., y Hagenacker, T. (2015). Modulation of voltage-gated sodium channels by activation of tumor necrosis factor receptor-1 and receptor-2 in small DRG neurons of rats. *Mediators of Inflammation*.
- Letremoliere, A., y Woolf, C. (2009). Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *The Journal of Pain*, 10(9), 895-926.
- Leug, L., y Chahill, C. (2010). TNF- α and neuropathic pain a review. *Journal of Neuroinflammation*, 7(27), 1-11.
- Lewis, K., Gordon-Smith, K., Forty, L., Di Florio, A., Craddock, N., Jones, L., y Jones, I. (2017). Sleep loss as a trigger of mood episodes in bipolar disorder: individual differences based on diagnostic subtype and gender. *The British Journal of Psychiatry*, 211(3), 169-174.
- Li, C., Kim, H., Back, H., y Na, H. (2021). Common and discrete mechanisms underlying chronic pain and itch: peripheral and central sensitization. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, 473(10), 1603-1615.
- Li, L., Fan, X., Warner, M., Xu, X., Gustafsson, J., y Wiesenfeld-Hallin, W. (2009). Ablation of estrogen receptor α or β eliminates sex differences in mechanical pain threshold in normal and inflamed mice. *Pain*, 143(1), 37-40.
- Li, Y., Ji, A., Weihe, E., y Schäfer, M. (2004). Cell-specific expression and lipopolysaccharide-induced regulation of tumor necrosis factor α (TNF α) and TNF receptors in rat dorsal root ganglion. *Journal of Neuroscience*, 24(43), 9623-9631.
- Liew, S., y Aung, T. (2021). Sleep deprivation and its association with

diseases- a review. *Sleep Medicine*, 77, 192-204.

- Lindenlaub, T., Teuteberg, P., Hartung, T., y Sommer, C. (2000). Effects of neutralizing antibodies to TNF-alpha on pain-related behavior and nerve regeneration in mice with chronic constriction injury. *Brain Research*, 866(1), 15-22.
- Liu, B., Li, H., Brull, S., y Zhang, J. (2002). Increased sensitivity of sensory neurons to tumor necrosis factor alpha in rats with chronic compression of the lumbar ganglia. *Journal of Neurophysiology*, 88(3), 1393-1399.
- Lo, C., Vunnam, N., Lewis, A., Chiu, T., Brummel, B., Schaaf, T., Grant, B., Bawaskar, P., Thomas, D., y Sachs, J. (2017). An Innovative High-Throughput Screening Approach for Discovery of Small Molecules That Inhibit TNF Receptors. *SLAS Discovery*, 2(8), 950-961.
- Luppi, P., y Fort, P. (2019). Sleep-wake physiology. *Handbook of Clinical Neurology*, 160, 359-370.
- Machando, R., Tufik, S., y Suchecki, D. (2013). Role of corticosterone on sleep homeostasis induced by REM sleep deprivation in rats. *Plos One*, 8(5).
- Manchanda, S., Singh, H., Kaur, T., y Kaur, G. (2018). Low-grade neuroinflammation due to chronic sleep deprivation results in anxiety and learning and memory impairments. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 449(1), 63-72.
- Martínez-Magaña J. (2020). *Participación de la vía HMGB1-TLR4 y su efecto sobre el canal TRPV1 en la alodinia táctil inducida por privación de sueño MOR en ratas.*
- Mason, P. (1999). Central mechanisms of pain modulation. *Current Opinion in Neurobiology*, 9(4), 436-441.
- Millan, M. (1999). The induction of pain: an integrative review. *Progress in Neurobiology*, 57(1), 1-164.
- Miller, R., Jung, H., Bhangoo, S., y White, F. (2009). Cytokine and

chemokine regulation of sensory neuron function. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 194, 417-449.

- Milligan, E., y Watkins, L. (2009). Pathological and protective roles of glia in chronic pain. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(1), 23-39.
- Miyazaki, S., Liu, C., y Hayashi, Y. (2017). Sleep in vertebrate and invertebrate animals, and insights into the function and evolution of sleep. *Neuroscience Research*, 118, 3-12.
- Mogil, J., Chesler, E., Wilson, S., Jurask, J., y Sternberg, W. (2000). Sex differences in thermal nociception and morphine antinociception in rodents depend on genotype. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(3), 375-389.
- Mutz, J., y Javadi, A. (2017). Exploring the neural correlates of dream phenomenology and altered states of consciousness during sleep. *Neuroscience of Consciousness*, 2017(1).
- Nascimento, D., Anderse, M., Hipolide, D., Nobrega, J., y Tufik, S. (2007). Pain hypersensitivity induced by paradoxical sleep deprivation is not due to altered binding to brain μ -opioid receptors. *Behavioural Brain Research*, 178(2), 216-220.
- Onen, S Alloui, A., Jourdan, D., Eschalier, A., y Dubray, C. (2001a). Effects of rapid eye movement (REM) sleep deprivation on pain sensitivity in the rat. *Brain Research*, 900(2), 261-267.
- Onen, S., Alloui, A., Eschalier, A., y Dubray, C. (2000). Vocalization thresholds related to noxious paw pressure are decreased by paradoxical sleep deprivation and increased after sleep recovery in rat. *Neuroscience Letters*, 291(1), 25-28.
- Onen, S., Alloui, A., Gross, A., Eschallier, A., y Dubray, C. (2001b). The effects of total sleep deprivation, selective sleep interruption and sleep recovery on pain tolerance thresholds in healthy subjects. *Journal of Sleep Research*, 10(1), 35-42.
- Ossipov, M., Dussor, G., y Porreca, F. (2010). Central modulation of



pain. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3779-3787.

- Oyola, M., y Handa, R. (2017). Hypothalamic–pituitary–adrenal and hypothalamic–pituitary–gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity. *Stress*, 20(5), 476-494.
- Pannell, L., Galligan, C., y Fish, E. (2012). Sex affects immunity. *Journal of Autoimmunity*, 38(2), 282-291.
- Philips, A., Robinson, P., y Klerman, E. (2013). Arousal state feedback as a potential physiological generator of the ultradian REM/NREM sleep cycle. *Journal of Theoretical Biology*.
- Pinho-Ribeiro, F., Verri, W., y Chiu, I. (2017). Nociceptor sensory neuron-immune interactions in pain and inflammation. *Cellpress*, 38(1), 5-19.
- Pluma-Pluma, A. (2019). *Participación del factor de necrosis tumoral α y el receptor tnfr1 en la alodinia táctil inducida por estrés crónico y por transferencia social del estrés en ratas*.
- Pollock, J., McFarlane, S., Connell, M., Zehavi, U., Vandenabeele, P MacEwan, D., Scott, R. (2002). TNF-alpha receptors simultaneously activate Ca²⁺ mobilisation and stress kinases in cultured sensory neurones. *Neuropharmacology*, 42(1), 93-106.
- Pozniak, P., White, M., y Kalilli, K. (2014). TNF- α /NF- κ B signaling in the CNS: possible connection to EPHB2. *Journal Neuroimmune Pharmacol*, 9(2), 133-141.
- Quinn, M., Ramamoorthy, S., y Cidlowski, J. (2014). Sexually dimorphic actions of glucocorticoids: beyond chromosomes and sex hormones. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1317, 1-6.
- Raja, S., Carr, D., Cohen, M., Finnerup, N., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F., Mogil, J., Ringkamp, M., Sluka, K., Song, X., Stevens, B., Sullivan, M., Tutelman, P., Ushida, T., y Vader, K. (2020). The revised IASP definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 161(9), 1976-1982.

- Raymond, I., Nielsen, T., Lavigne, G., Manzini, C., y Choinière, M. (2001). Quality of sleep and its daily relationship to pain intensity in hospitalized adult burn patients. *Pain*, 92(3), 381-388.
- Reeve, A., Patel, S., Fox, A., Walker, K., y Urban, L. (2000). Intrathecally administered endotoxin or cytokines produce allodynia, hyperalgesia and changes in spinal cord neuronal responses to nociceptive stimuli in the rat. *European Journal of Pain*, 4(3), 247-257.
- Ribeiro, R., Vale, M., Ferreira, S., y Cunha, F. (2000). Analgesic effect of thalidomide on inflammatory pain. *European Journal of Pharmacology*, 391(1), 97-103.
- Rocha-Lopes, J., Borges, R., y Suchecki, D. (2018). Chronic REM sleep restriction in juvenile male rats induces anxiety-like behavior and alters monoamine systems in the amygdala and hippocampus. *Molecular Neurobiology*, 55(4), 2884-2896.
- Rockstrom, M., Chen, L., Taishi, P., Nguyen, J., Gibbons, C., Veasey, S., y Krueger, J. (2018). Tumor necrosis factor alpha in sleep regulation. *Sleep Medicine Reviews*, 40, 69-78.
- Rodríguez-Palma, E., Velazquez-Lagunas, I., Salinas-Abarca, A., Vidal-Cantú, G., y Escoto-Rosales, M., Castañeda-Corral, G., Fernández-Guasti, A., Granados-Soto, V. (2023). Spinal alarmin HMGB1 and the activation of TLR4 lead to chronic stress-induced nociceptive hypersensitivity in rodents. *European Journal of Pharmacology*, 952.
- Roehrs, T, Hyde, M., Blaisdell, B., Greenwald, M., y Roth, T. (2006). Sleep loss and REM sleep loss are hyperalgesic. *Sleep*, 29(2), 145-151.
- Ruelle, L., Inquimbert, P., Hugel, S., Schlichter, R., y Bossu, J. L. (2021). Nociception, douleur et autisme. *Medecine/Sciences*, 37(2), 141-151.
- Ruiz, A., Palacios, Y., Garcia, I., y Chavez-Galan, L. (2021). Transmembrane TNF and Its receptors TNFR1 and TNFR2 in mycobacterial infections. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11).



- Saito, O., Svensson, C., Buczynski, M., Wegner, K., Codeluppi, S., Schaloske, R., Deems, R., Dennis, E., y Yaksh, T. (2010). Spinal glial TLR4-mediated nociception and production of prostaglandin E2 and TNF. *British Journal of Pharmacology*, 160(7), 1754-1764.
- Sardi, N., Tobaldini, G., Morais, R., y Fisher, L. (2018a). Nucleus accumbens mediates the pronociceptive effect of sleep deprivation: the role of adenosine A2A and dopamine D2 receptors. *Pain*, 159(1), 75-84.
- Sardi, N., Lazzarim, M., Guilhen, V., Marcílio, R., Natume, P., Watanabe, T., Lima, M., Tobaldini, G., y Fischer, L. (2018b). Chronic sleep restriction increases pain sensitivity over time in a periaqueductal gray and nucleus accumbens dependent manner. *Neuropharmacology*, 1, 52-60.
- Scammell, T., Arriegoni, E., y Lipton, J. (2017). Neural circuitry of wakefulness and sleep. *Neuron*, 93(3), 747-765.
- Scholz, J., Finnerup, N., Attal, N., Aziz, Q., Baron, R., Bennett, M., Benoliel, R., y Cohen, M. (2019). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain. *Pain*, 160(1), 53-59.
- Schuh-Hofer, S., Wodarski, R., Pfau, D., Caspani, O., Magerl, W., Kennedy, J., y Treede, R. (2013). One night of total sleep deprivation promotes a state of generalized hyperalgesia: a surrogate pain model to study the relationship of insomnia and pain. *Pain*, 154(9), 1613-1621.
- Schutze, S., Tchikov, V., y Schneider-Brachert, W. (2008). Regulation of TNFR1 and CD95 signalling by receptor compartmentalization. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(8), 655-662.
- Schäfers, H., Sommer, C., Geis, C., Hagenacker, T., Vandenabeele, P., y Sorkin, L. (2008). Selective stimulation of either tumor necrosis factor receptor differentially induces pain behavior in vivo and ectopic activity in sensory neurons in vitro. *Neuroscience*, 157(2), 414-423.
- Seminowicz, D., Remeniuk, B., Krimmel, S., Smith, M., Barreth, F., Wulff, A., Furman, A., Geuter, S., Lindquist, M., Irwin, M., y Finan, P.

(2019). No TitlePain-Related Nucleus Accumbens Function: Modulation by Reward and Sleep Disruption. *Pain*, 160(5), 1196-1207.

- Shapiro, C., y Girdwood, P. (1981). Protein synthesis in rat brain during sleep. *Neuropharmacology*, 20(5), 457-460.
- Shavit, Y., Fridel, K., y Beilin, B. (2006). Postoperative pain management and proinflammatory cytokines: animal and human studies. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 1(4), 443-451.
- Shearer, W., Reuben, J., Mullington, J., Price, N., Lee, B., Smith, E., Szuba, M., Van Dongen, H., y Dinges, D. (2001). Soluble TNF- α receptor 1 and IL-6 plasma levels in humans subjected to the sleep deprivation model of spaceflight. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(1), 165-170.
- Shoham, S., Davenne, D., Cady, A., Dinarello, C., y Krueger, J. (1987). Recombinant tumor necrosis factor and interleukin 1 enhance slow-wave sleep. *American Journal of Physiology*, 253(1), 142-149.
- Shubayev, V., y Myers, R. (2001). Axonal transport of TNF-alpha in painful neuropathy: distribution of ligand tracer and TNF receptors. *Journal of Neuroimmunology*, 114(1), 48-56
- Silverman, M., y Sternberg, E. (2012). Glucocorticoid regulation of inflammation and its behavioral and metabolic correlates: from HPA axis to glucocorticoid receptor dysfunction. *Annals of the New York Academy of Sciences Journal*, 1251, 55-63.
- Simpson, N., y Dinges, D. (2007). Sleep and inflammation. *Nutrition Reviews*, 65(12), 44-52.
- Sommer, C., Schmindt, C., y George, A. (1998). Hyperalgesia in experimental neuropathy is dependent on the TNF receptor 1. *Experimental Neurology*, 151(1), 138-142.
- Sorkin, L., Xiao, W., Wagner, R., y Myers, R. (1997). Tumour necrosis factor-alpha induces ectopic activity in nociceptive primary afferent fibres. *Neuroscience*, 81(1), 255-262.



- Souza Monteiro, D., Nassini, R., Geppetti, P., y De Logu, F. (2020). TRPA1 as a therapeutic target for nociceptive pain. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 24(10), 997-1008.
- Spezia, L., Caumo, W., Laste, G., Fernandes, L., Ripoll, J., de Souza, A., Fregni, F., y Torres, I. (2012). Reversal of chronic stress-induced pain by transcranial direct current stimulation (tDCS) in an animal model. *Brain Research*, 1489, 17-26.
- Spiegel, K., Knutson, K., Leproult, R., Tasali, E., y Van Cauter, E. (2005). Sleep loss: a novel risk factor for insulin resistance and Type 2 diabetes. *Journal of Applied Physiology*, 99(5), 2008-2019.
- Srivastava, S., Weitzmann, M., Cenci, S., Ross, F., Adler, S., y Pacifici, R. (1999). Estrogen decreases TNF gene expression by blocking JNK activity and the resulting production of c-Jun and JunD. *Journal of Clinical Investigation*, 104(4), 503-513.
- Staud, R. (2012). Abnormal endogenous pain modulation is a shared characteristic of many chronic pain conditions. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 12(5), 577-585.
- Stice, J., y Knowlton, A. (2008). Estrogen, NFκB, and the heat shock response. *Molecular Medicine*, 14(7), 517-527.
- Sweitzer, S., Martin, D., y DeLeo, J. (2001). Intrathecal interleukin-1 receptor antagonist in combination with soluble tumor necrosis factor receptor exhibits an anti-allodynic action in a rat model of neuropathic pain. *Neuroscience*, 103(2), 529-539.
- Tall, J., y Crisp, T. (2004). Effects of gender and gonadal hormones on nociceptive responses to intraplantar carrageenan in the rat. *Neuroscience letters*, 354(3), 239-241.
- Tamura, R., Nemoto, T., Maruta, T., Onizuka, S., Yanagita, T., Wada, A., Murakami, M., y Tsuneyoshi, I. (2014). Up-regulation of NaV1.7 sodium channels expression by tumor necrosis factor-α in cultured bovine adrenal chromaffin cells and rat dorsal root ganglion neurons.

Anesthesia y analgesia, 118(2), 318-324.

- Tian, R., Hou, G., Li, D., y Yuan, T. (2014). A possible change process of inflammatory cytokines in the prolonged chronic stress and its ultimate implications for health. *The Scientific World Journal*.
- Tomim, D., Pontarolla, F., Bertolini, J., Arase, M., Tobaldini, G., Lima, M., y Fischer, L. (2016). The pronociceptive effect of paradoxical sleep deprivation in rats: evidence for a role of descending pain modulation mechanisms. *Molecular Neurobiology*, 53(3), 1706-1717.
- Tracey, I., y Manthyh, P. (2007). The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron*, 55(3), 377-391.
- Turner, M., Nedjai, B., Hurst, T., y Pennington, D. (2014). Cytokines and chemokines: at the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1843(11), 2563-2582.
- Ukponmwan, O., Rupreht, J., y Dzoljic, M. (1984). REM sleep deprivation decreases the antinociceptive property of enkephalinase inhibition, morphine and cold-water swim. *General Pharmacology*, 15(3), 255-258.
- Ukponmwan, O., Rupreht, J., y Dzoljic, M. (1986). An analgesic effect of enkephalinase inhibition is modulated by monoamine oxidase-B and REM sleep deprivations. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 332(4), 376-379.
- Vallejo, R., Tilley, D., Vogel, L., y Benyamin, R. (2010). The role of glia and the immune system in the development and maintenance of neuropathic pain. *Pain Practice*, 10(3), 167-184.
- van Horssen, R., Ten Hagen, T., y Eggermont, A. (2006). TNF- α in cancer treatment: molecular insights, antitumor effects, and clinical utility. *The Oncologist*, 11(4), 397-408.
- van Hulzen, Z., y Coenen, A. (1981). Paradoxical sleep deprivation and locomotor activity in Rats. *Physiology and Behavior*, 27(4), 741-744.
- van Leeuwen, W., Lehto, M., Lindholm, H., Luukkonen, R., Sallinen, M.,

- Härmä, M., Porkka, T., y Alenius, H. (2009). Sleep restriction increases the risk of developing cardiovascular diseases by augmenting proinflammatory responses through IL-17 and CRP. *Plos one*, 4(2).
- Vanderah, T. (2007). Fisiopatología del dolor. *Clínicas médicas de Norteamérica*, 91, 1-12.
 - Velayos, J., Molerés, F., Irujo, A., Yllanes, D., y Patermain, B. (2007). Anatomical basis of sleep. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 30(1), 7-17.
 - Verweij, I., Romeijn, N., Smit, D., Piantoni, G., Van Someren, E., y van der Werf, Y. (2014). Sleep deprivation leads to a loss of functional connectivity in frontal brain regions. *BMC Neuroscience*, 15(88).
 - Vgontzas, A., Papanicolaou, D., Bixler, E., Lotsikas, A., Zachman, K., Kales, A., Prolo, P., Wong, M., Licinio, J., Gold, P., Hermida, R., Mastorakos, G., y Chrousos, G. (1999). Circadian interleukin-6 secretion and quantity and depth of sleep. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 84(8), 2603-2607.
 - Vgontzas, A., Zoumakis, E., Bixler, E., Lin, H., Follett, H., Kales, A., y Chrousos, G. (2004). Adverse effects of modest sleep restriction on sleepiness, performance, and inflammatory cytokines. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(5), 2119-2126.
 - Wang, H., Schiltenswolf, M., y Buchner, M. (2008). The role of TNF- α in patients with chronic low back pain a prospective comparative longitudinal study. *The Clinical Journal of Pain*, 24(3), 273-278.
 - Watanabe, K., Yabuki, S., Sekiguchi, M., Kikuchi, S., y Konno, S. (2011). Etanercept attenuates pain-related behavior following compression of the dorsal root ganglion in the rat. *European Spine Journal*, 20(11), 1877-1884.
 - Watkins, L., y Maier, S. (2003). Glia: a novel drug discovery target for clinical pain. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2(12), 973-985.
 - Watkins, L., Milligan, E., y Maier, S. (2001). Glial activation: a driving

force for pathological pain. *Trends in Neurosciences*, 24(8), 450-455.

- Wehr, T., Sack, D., y Rosenthal, N. (1987). Sleep reduction as a final common pathway in the genesis of mania. *American Journal of Psychiatry*, 144(2), 201-204.
- Wei, H., Hao, B., Huang, J., Ma, A., Li, X., Wang, Y., y Pertovaara, A. (2010). Intrathecal administration of a gap junction decoupler, an inhibitor of Na(+)-K(+)-2Cl(-) cotransporter 1, or a GABA(A) receptor agonist attenuates mechanical pain hypersensitivity induced by REM sleep deprivation in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 97(2), 377-383.
- Wei, H., Ma, A., Wang, Y., y Pertovaara, A. (2008). Role of spinal 5-HT receptors in cutaneous hypersensitivity induced by REM sleep deprivation. *Pharmacological Research*, 57(6), 469-475.
- Wei, H., Zhao, W., Wang, Y., y Pertovaara, A. (2007a). Pain-related behavior following REM sleep deprivation in the rat: Influence of peripheral nerve injury, spinal glutamatergic receptors and nitric oxide. *Brain Research*, 1148, 105-112.
- Wei, X., Zhang, Y., We, C., Xu, J., Xin, W., y Lui, X. (2007b). Peri-sciatic administration of recombinant rat TNF- α induces mechanical allodynia via upregulation of TNF- α in dorsal root ganglia and in spinal dorsal horn: The role of NF-kappa B pathway. *Experimental Neurology*, 205(2), 471-484.
- White, F., Bhangoo, S., y Miller, R. (2005). Chemokines: integrators of pain and inflammation. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(10), 834-844.
- Willias, W., y Westlund, K. (1997). Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 14(1), 2-31.
- Wolkow, A., Ferguson, S., Vincent, G., Larsen, B., Aisbett, B., y Main, L. (2015). The impact of sleep restriction and simulated physical firefighting work on acute inflammatory stress responses. *Plos One*,

10(9).

- Woller, S., Eddinger, K., Corr, M., y Yakssh, T. (2017). An overview of pathways encoding nociception. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 107(5), 40-46.
- Woolf, C. (2004). Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Annals of Internal Medicine*, 140(6), 441-451.
- Woolf, C. (2010). What is this thing called pain? *Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3742-3744.
- Woolf, C., Allchorne, U., Safieh-Garabedian, B., y Poole, S. (1997). Cytokines, nerve growth factor and inflammatory hyperalgesia: the contribution of tumour necrosis factor α . *British Journal of Pharmacology*, 121(3), 417-422.
- Xu, H., Dang, S., Cui, Y., We, Z., Zhang, J., Mei, X., Feng, Y., y Quin, Y. (2019). Systemic injection of thalidomide prevent and attenuate neuropathic pain and alleviate neuroinflammatory response in the spinal dorsal horn. *Journal of Pain Research*, 12, 3221-3230.
- Yamacita-Borin, F., Zarpelon, A., Pinho-Riberiro, F., Fattori, V., Alves-Filho, J., Cunha, F., Cunha, T., Casagrande, R., y Verri, W. (2015). Superoxide anion-induced pain and inflammation depends on TNF α /TNFR1 signaling in mice. *Neuroscience Letters*, 605, 53-58.
- Yehuda, S., Sredni, B., Carasso, R., y Kenigsbuch-Sredni, D. (2009). REM sleep deprivation in rats results in inflammation and interleukin-17 elevation. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 29(7), 393-398.
- Zegarra, J. (2007). Physiopathological bases of the pain. *Acta Médica Peruana*, 24(2), 105-108.
- Zhang, H., y Dougherty, P. (2011). Acute inhibition of signalling phenotype of spinal GABAergic neurons by tumour necrosis factor- α . *Journal of Physiology*, 589(18), 4511-4526.
- Zhang, H., Zhang, H., y Dougherty, P. (2013). Dynamic effects of TNF-



α on synaptic transmission in mice over time following sciatic nerve chronic constriction injury. *Journal of Neurophysiology*, 110(7), 1663-1671.

- Zhang, H., Nei, H., y Dougherty, P. (2010). A p38 mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism of disinhibition in spinal synaptic transmission induced by tumor necrosis factor- α . *Journal of Neuroscience*, 30(38), 12844-12855.
- Zhang, J., y An, J. (2007). Cytokines, inflammation and pain. *International Anesthesiology Clinics*, 45(2), 27-37.
- Zhang, J., Li, H., Liu, B., y Brull, S. (2002). Acute topical application of tumor necrosis factor alpha evokes protein kinase A-dependent responses in rat sensory neurons. *Journal of Neurophysiology*, 88(3), 1387-1392
- Zhang, L., Berta, T., Xu, Z., Lui, T., Park, J., y Ji, R. (2011). TNF- α contributes to spinal cord synaptic plasticity and inflammatory pain: distinct role of TNF receptor subtype 1 and 2. *Pain*, 152(2), 419-427.
- Zhao, D., Han, D., Wang, S., Lv, B., Wang, X., y Ma, C. (2019). Roles of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in regulating bone cancer pain via TRPA1 signal pathway and beneficial effects of inhibition of neuro-inflammation and TRPA1. *Molecular Pain*, 15.
- Zielinski, M., y Krueger, J. (2011). Sleep and innate immunity. *Frontiers in Bioscience-Scholar*, 3(2), 632-642.