

Dolor e inflamacion II: mecanismos celulares y moleculares que van a ejercer cambios en el sistema nervioso periferico y central

J. Maya Martin. *Profesor Titular del Area de Fisioterapia de la Universidad de Sevilla.*

M. Albornoz Cabello. *Profesor Colaborador del Area de Fisioterapia de la Universidad de Sevilla.*

A. Yanez Álvarez. *Fisioterapeuta. Sevilla.*

J. V. Toledo Marhuenda. *Profesor Colaborador del Area de Fisioterapia de
la Universidad Miguel Hernandez de Elche.*

P. Garcia Somorrostro. *Fisioterapeuta. Malaga.*

RESUMEN

Durante un proceso inflamatorio se liberan en el sitio de la lesion una serie de mediadores de diferentes origenes, como la bradiginina, factores de la coagulation, serotonina, histamina, potasio, ATP, prostanoides, interleucinas, histamina, neuropeptides y factor de crecimiento nervioso, entre otros. Los nociceptores poseen receptores para muchas de estas moleculas y a traves de esta interaccion estos mediadores inflamatorios pueden modificar la actividad de las neuronas primarias, activandolas directamente o disminuyendo su umbral de respuesta, fenomeno denominado sensibilization periferica. Los cambios ocurridos en la actividad de las neuronas primarias, sumado a modificaciones en su perfil bioquimico por la induccion de la expresion de nuevas proteinas, dan inicio a una serie de cambios en las sinapsis espinales, generando una hiperexcitabilidad de las neuronas del asta dorsal, fenomeno denominado sensibilization central que contribuye en muchos casos a la persistencia del dolor. En el presente articulo se revisan los principales mecanismos celulares y moleculares que operan estos cambios en las neuronas sensoriales primarias y en las astas posteriores de la medula espinal, en respuesta a un proceso inflamatorio.

Palabras clave: Dolor, inflamacion, alodinia.

ABSTRACT

During an inflammatory process, a series of mediators from different origins such as bradikinin, coagulation factors, serotonin, histamine, potassium, ATP, prostanoids, interleukins, neuropeptides, and nerve growth factor, are released. The nociceptors possess receptors for many molecules, and through their interactions they can modify primary neurons activity. They work on this process by the direct activation of these neurons or by reducing their activation threshold, known as peripheral sensitization. Clinically, this phenomenon is responsible for the primary hyperalgesia that is present on the injury

side. The changes occurred in the activity of the primary neurons added to the modification of their biochemical profile done by the induction of the expression of new proteins, alters spinal synapsis, generating hiperexcitability of the dorsal horn neurons. This phenomenon has been denominated as central sensitization that contributes of pain persistence, even when the tissue is healing. A clinical relation between secondary hiperalgesia and allodinia is present. This article reviews the principal cellular and molecular mechanisms that guide the changes in primary sensory neurons and in the dorsal horn neurons of the spinal cord, in response to an inflammatory process. The knowledgement of these mechanisms has permitted a better understanding of this kind of pain and outlines new treatment approaches for its management.

Key Words: Pain, inflammation, allodinia.

1 INTRODUCCIÓN

El dolor es una sensación heterogénea que puede subdividirse en tres categorías desde el punto de vista fisiopatológico: el dolor fisiológico, el inflamatorio y el neuropático. El dolor normal o fisiológico es una sensación protectora que nos alerta acerca de la presencia en el ambiente de estímulos lesivos. A su vez, después de un proceso inflamatorio o una lesión nerviosa se suceden una serie de alteraciones en el sistema somatosensorial, que amplifican las respuestas e incrementan la sensibilidad a estímulos periféricos, de tal manera que el dolor puede ser activado por estímulos normalmente inocuos o de baja intensidad. Este tipo de dolor, denominado clínico o patológico, es una expresión de la plasticidad del sistema somatosensorial, definida como la capacidad de estas neuronas de cambiar sus funciones, perfil bioquímico o su estructura. Estos cambios operan en múltiples sitios y se producen por diversos mecanismos. La hipersensibilidad que acompaña al dolor inflamatorio usualmente retorna a lo normal si el proceso o enfermedad causante es controlado, mientras que el dolor neuropático persiste por tiempo prolongado, aún cuando haya ocurrido un proceso de cicatrización [1, 2].

En el presente artículo se revisarán los principales mecanismos moleculares involucrados en la mediación del dolor inflamatorio, ya que de su conocimiento han emergido nuevas opciones de manejo que permitirán analizar el dolor de una manera integral y no solo como un síntoma único y aislado.

SENSIBILIZACIÓN PERIFÉRICA

La presencia de material extraño o de una lesión tisular induce la activación de los macrofagos residentes, los cuales cumplen un papel decisivo en el desarrollo de la inflamación aguda [3]. A partir de este evento inicial, se desencadenan una serie de procesos que incluyen el reclutamiento de leucocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos) los cuales ejercen un papel amplificador y una cascada de activación y liberación de mediadores de diferentes orígenes: algunos generados por la lesión tisular (bradicinina, factores de la coagulación, serotonina, histamina, potasio, ATP, prostanoídes, etc.), productos de las células del sistema inmune o de las plaquetas (interleucinas, factores del complemento, histamina, serotonina, etc.), factores neurogénicos (sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, aminoácidos excita-

torios, catecolaminas) y finalmente factores de crecimiento (factor de crecimiento nervioso) [4, 7],

Así, en condiciones de inflamación, los nociceptores se rodean de lo que se ha denominado la sopa o jungla inflamatoria [4], que produce de una manera orquestada la alteración de las propiedades funcionales intrínsecas de las membranas de estas neuronas nociceptoras. Algunos de los mediadores químicos producen su activación generando potenciales de acción y otros los sensibilizan, es decir, ocurre una disminución en su umbral de respuesta, de manera que estímulos mecánicos o térmicos de menor intensidad logran activarlos (figura 1) [8],

Esta sensibilización periférica puede ser detectada rápidamente después de la lesión tisular y es el resultado de cambios en mole-

culas receptoras o en los canales de sodio en el terminal axónico. Un ejemplo de estos cambios es el receptor VR1 para la capsaicina (receptor vainilloide), el cual responde a la estimulación térmica dolorosa. Cuando este receptor es estimulado repetidamente, la corriente iónica a través del canal al cual está acoplado, aumenta progresivamente; el mismo resultado se observa cuando se expone a protones. Los mecanismos que producen este proceso de autosensibilización no están muy claros, pero pueden estar involucrados cambios conformacionales en la proteína inducidos por el calor o por alteraciones secundarias a la entrada de calcio a través del canal. Igualmente, muchos mediadores inflamatorios, al unirse a sus receptores, activan cascadas de señalización mediadora por tirosininasas y proteincinasas (A y C). Estas pueden

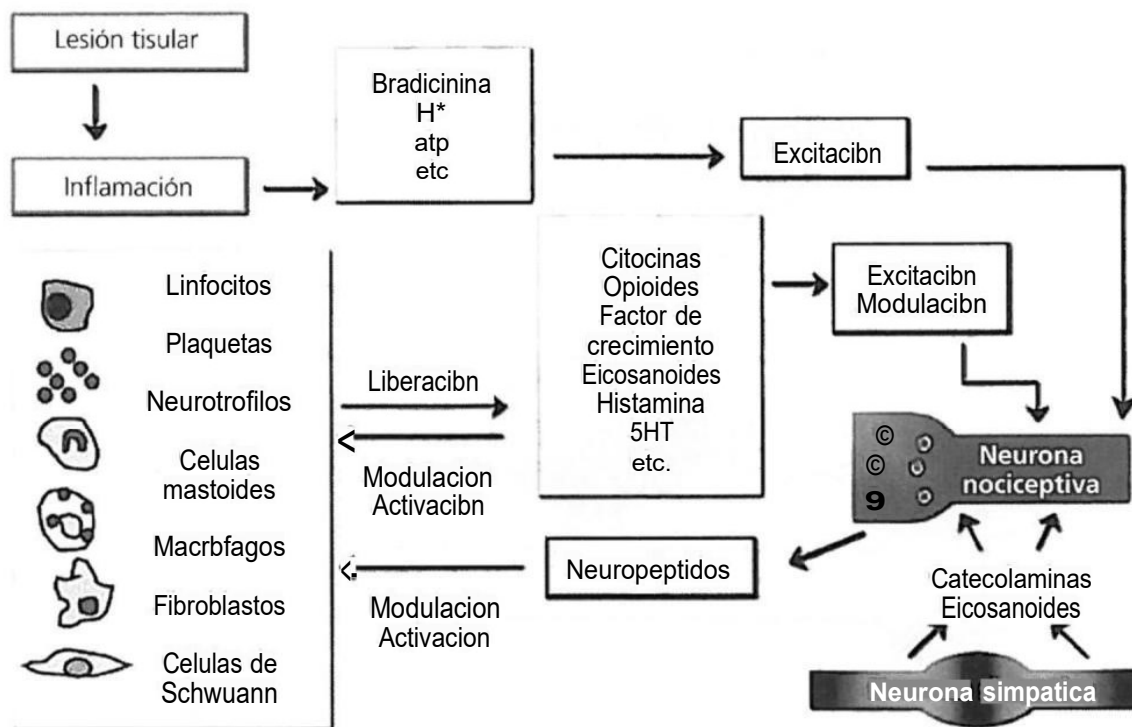


Fig. 1. Esquema de los diferentes mediadores involucrados en la activación o sensibilización de las neuronas aferentes.

desencadenar la fosforilación de estructuras específicas de los nociceptores, como por ejemplo canales de sodio resistentes a la tetrodotoxina denominados SNS/ SNS2 (*specific sensory neurons*), cuya modificación puede variar el umbral de activación, así como la tasa de activación e inactivación, e incrementar la magnitud de corrientes de sodio depolarizantes [1, 4, 9, 10].

Los cambios mencionados ocurren localmente en el terminal axónico de los nociceptores, pero la inflamación puede igualmente inducir cambios transcripcionales en el soma de estas neuronas. Es así como aumenta la expresión de los receptores VR1 y de los canales SNS/SNS2, los cuales son transportados retrogradamente al terminal axónico. De igual forma, aumenta la expresión de sustancia P y del factor neurotrópico derivado del

cerebro (FNDC), los cuales van a contribuir a modular los cambios periféricos (cuando se conducen retrogradamente) y en las astas posteriores de la medula (cuando se conducen anterogradamente) [2]. Varios factores parecen contribuir en la aparición de estas modificaciones en el soma de las neuronas nociceptivas: el aumento en la actividad eléctrica en los ganglios de la raíz dorsal, la activación de canales de calcio dependientes de voltaje, así como el transporte retrogrado de sustancias como el factor de crecimiento nervioso (FCN) [1, 2]. Además, estos cambios se evidencian varias horas después del inicio de la inflamación, que es el tiempo requerido para la expresión y el transporte de estas sustancias (figura 2).

Por otro lado, un tipo particular de nociceptores denominados «latentes» o «silentes»

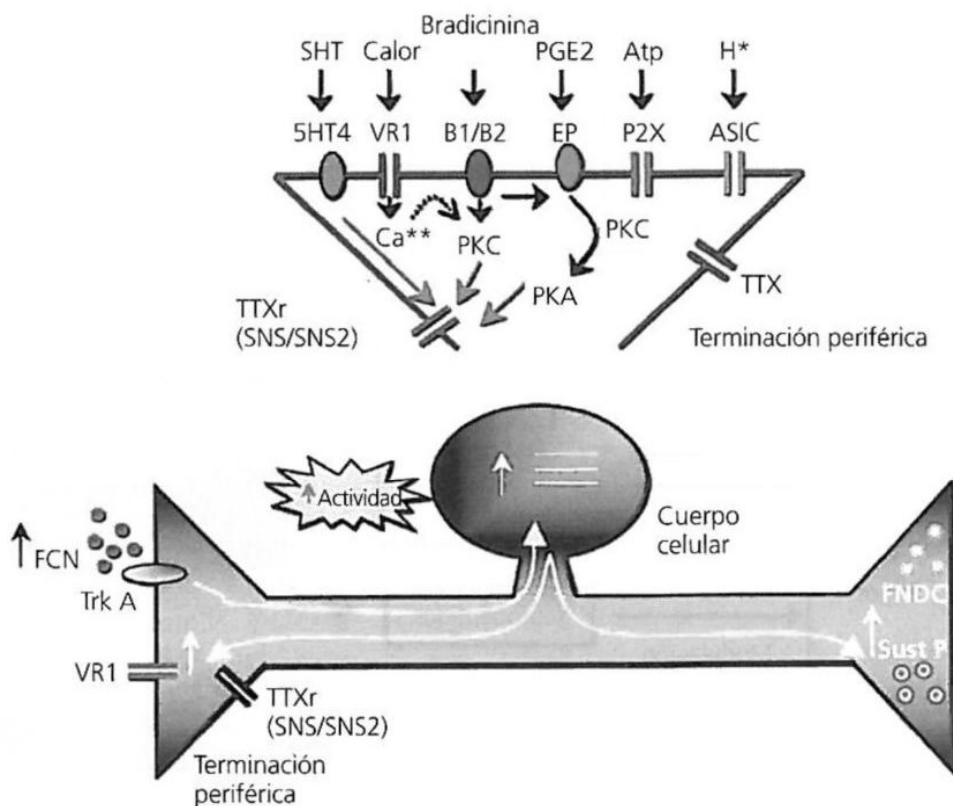


Fig. 2. Modulación de las aferentes primarias durante la inflamación.

ciosos», pueden ser activados en los tejidos periféricos inflamados. Estos han sido descritos en articulaciones, vísceras y piel, y se estima que corresponden al 40 % de las fibras C y al 30 % de las Aα. De esta manera, siguiendo a la liberación de mediadores inflamatorios estos receptores, previamente silenciosos, son activados por un amplio rango de estímulos mecánicos y térmicos, y representan una fuente extra de entradas nociceptivas al sistema nervioso central (SNC) [7, 11, 12],

A continuación se describen las características más sobresalientes de los principales mediadores inflamatorios que actúan sobre los nociceptores.

Cininas

Las cininas son una familia de péptidos, producidos *de novo* en fluidos corporales y tejidos durante la inflamación. Las dos más estudiadas son un nonapéptido y un decapeptido, denominadas respectivamente bradicinina y kalidina, las cuales se sintetizan a partir de moléculas precursoras denominadas cininógenos (α_2 globulinas), por acción de la enzima calicreína. Todas las cininas poseen las mismas propiedades fisiológicas básicas, incluyendo el control de la relajación de músculo liso, participan en respuestas inflamatorias (vasodilatación, incremento de la permeabilidad vascular y estimulación de células inmunes) y se han considerado los más potentes mediadores algogénicos endógenos, por la capacidad que tienen de activar las fibras sensoriales primarias tipo C y Aδ [5, 13, 15],

En su síntesis intervienen tres vías diferentes: la vía plasmática, la tisular y la plasma/tejido independiente. Esta última se observa en las células inmunes (mastocitos y basófilos),

en donde es posible producir cininas de una manera independiente de la enzima calicreína, a través de la liberación de proteasas celulares [4],

La mayor parte de los efectos de las cininas son mediados por la activación de al menos dos receptores, los cuales se han denominado B1 y B2; este último ha sido el más estudiado, se encuentra constitutivamente presente en un amplio rango de tejidos entre los que se incluyen neuronas nociceptivas periféricas y centrales, neuronas simpáticas, músculo liso vascular y células del sistema inmune [16, 17]. El receptor B1 tiene una distribución más limitada y es expresado casi exclusivamente en tejidos inflamados. Este receptor parece mediar los efectos de las cininas durante la lesión tisular y la inflamación, y participa en la hiperalgesia, más que en la nocicepción aguda [15]. En la inducción de su expresión influyen diferentes factores, entre los cuales se menciona, principalmente, a la interleucina 1β (IL-1β) y otros como la IL-2, IL-8, factor de necrosis tumoral α (FNTα), factores de crecimiento y metabolitos activos de la bradicinina [13, 15, 18],

El mecanismo de activación de las neuronas sensoriales se ha descrito asociado al receptor B2. Este se encuentra acoplado a una proteína G que induce la activación de la fosfolipasa C, la cual aumenta los niveles de 1, 4, 5-trifosfato de inositol (IP3) y del diacilglicerol (DAG); este último, activa una proteína cinasa C (PKC), con la consecuente fosforilación de proteínas celulares incluyendo proteínas de membrana como los canales iónicos. La modificación de las corrientes iónicas de Na^+ y Ca^{++} interviene en la liberación de neuropeptidos y en la activación de las enzimas oxidoreductasa neuronal y endotelial [19, 20],

El aumento en la síntesis de bradicinina se asocia además con un aumento en la pro-

ducción de prostaglandinas (PGS) y leucotrienos, mediante dos posibles mecanismos: por un lado, durante el metabolismo del DAG se puede producir ácido araquidónico y aumentar indirectamente los niveles de prostaglandinas E₂ (PGE₂) y prostaciclina (PGI₂) [13], y de otra parte la bradicinina parece intervenir también en la activación directa de una fosfolipasa A. El aumento en el AMPc intracelular, el cual puede ser mediado por las PGS, potencia a su vez la acción de la bradicinina, aumentan la frecuencia de disparo de los nociceptores y facilita la liberación de neuropeptidos [21],

Evidencia adicional ha demostrado que la estimulación de receptores B₂ también produce la activación de vías alternas de señalización, en las que se fosforilan algunos tipos de cinasas, entre las cuales se encuentra la proteincinasa S6 ribosomal, la cual induce la producción de algunas citocinas proinflamatorias como la IL-6 e IL-8, y la potenciación de la síntesis de IL-1b mediada por TNF-α [13].

El SNC también sintetiza cininas y es probable que, en esta ubicación, estas sustancias inicien una cascada de eventos similares a los observados en la periferia, incluyendo un incremento en el flujo sanguíneo, extravasación de plasma y participación en la serialización del dolor. Estos mecanismos aún no están bien dilucidados, pero es claro que la administración central de bradicinina causa hiperalgesia [22],

Prostaglandinas y otros derivados del ácido araquidónico

Durante los procesos inflamatorios, diversas citocinas como la IL-1b y el TNFα, entre otros, inducen la producción de la enzima ciclooxigenasa 2 (COX-2), con una subsecuente

liberación de eicosanoides entre los que se encuentran las PGE₂, la PGI₂ y el leucotrieno B₄ (LTB₄), los cuales participan de manera importante en la sensibilización de las terminaciones nociceptivas ante estímulos dolorosos [23, 24],

La PGE₂ ha sido señalada como el eicosanoide más importante en la hiperalgesia mecánica, tanto en animales como en humanos. Su acción está mediada por la familia de receptores EP (1 a 4), de los cuales el EP1 ha sido catalogado como fundamental en las respuestas dolorosas agudas [25,7]. La PGI₂, con importancia similar a la de la PGE₂ en la serialización de los estímulos de dolor, es rápidamente producida en situaciones de lesión tisular e interactúa con receptores IP ubicados en las membranas de las neuronas sensoriales [24, 28],

El mecanismo de acción de estas sustancias está mediado por una proteína G y utiliza como segundo mensajero al AMPc, para activar una proteincinasa A (PKA), la cual lleva a la fosforilación de un canal iónico o modulación de estructuras citosólicas que controlan los niveles de Ca⁺⁺ intracelular. Además, estos receptores pueden mediar la activación de la fosfolipasa C, con igual resultado [23, 28]. Algunos estudios han planteado que el óxido nítrico (NO) en bajas dosis, puede intervenir en la vía antes descrita, actuando en un paso previo a la acción de la PKA [26, 27],

De otra parte, algunos leucotrienos, como el LTB₄, se han relacionado con el fenómeno de hiperalgesia. A su vez, el LTD₄ puede sensibilizar a las neuronas sensoriales de manera indirecta, estimulando en células como macrófagos y basófilos, la síntesis y liberación de eicosanoides, así como la producción de DAG e IP₃. El mecanismo que media el efecto de los leucotrienos en los nociceptores no es claro, pero parece involucrar la activación

de la proteincinasa C [6, 29], Además, algunas investigaciones señalan que los productos de las lipoxigenasas (LOs) como 15-(S)-HPETE, 5-(S)-HETE, LTB₄ y 12-(S)-HPETE, pueden actuar como agonistas endógenos de los receptores de capsaicina, logrando excitar de esta manera a las neuronas sensoriales [30],

Serotonina

Esta sustancia es liberada por las plaquetas y células mastoides durante la inflamación. Uno de los estímulos para su liberación es la producción de FCN. Los efectos fisiológicos de esta sustancia en los tejidos son mediados por una familia de receptores, los cuales están divididos en tres grandes grupos designados como: 5HT₁, 5HT₂ e 5HT₃. Varios tipos de receptores se ubican en las terminaciones nerviosas libres y median los efectos de la serotonina sobre estas neuronas [31],

Su unión al receptor 5HT₃ activa un canal catiónico selectivo para el Na⁺ y causa una excitación directa de los nociceptores [5]. La serotonina puede también sensibilizar a los receptores y disminuir su umbral de respuesta a estímulos térmicos y mecánicos; este efecto parece estar mediado principalmente por los receptores 5HT₁, particularmente la subclase 5HT_{1A} [31], y por el receptor 5HT₂ [9] a través de los cuales se eleva el AMPc y se altera la permeabilidad al ion potasio [5, 29],

Histamina

El mayor reservorio de esta sustancia se encuentra en las células mastoides, de donde puede ser liberada por estímulos como la sustancia P, el péptido relacionado con el gen

de la calcitonina, la IL-1 y el FCN, los cuales inducen la degranulación de estas células [5],

Se conoce poco acerca de la manera como la histamina ejerce sus efectos. Algunas neuronas sensoriales ubicadas en ganglios de la raíz dorsal y trigeminal expresan en su membrana receptores H₁, a través de los cuales esta sustancia incrementa la permeabilidad para el Ca⁺⁺ y estimula la liberación de taquicinas y péptido relacionado con el gen de la calcitonina [32]. Modelos animales en los cuales este receptor está ausente han mostrado una disminución en la respuesta dolorosa al aplicar estímulos químicos, mecánicos y térmicos [33],

Mediadores inflamatorios de las células inmunes

Durante un proceso inflamatorio, las células del sistema inmune liberan una variedad de interleucinas; de ellas, las IL-1 β , la IL-6, la IL-8 y TNF α participan en la hiperalgesia inflamatoria, en tanto que otras como la IL-10 parecen tener un efecto contrario [5, 34, 6],

Se han propuesto varios mecanismos de acción de la IL-1 β en la hiperalgesia inflamatoria, principalmente indirectos, como la estimulación de la liberación de prostaglandinas [8, 34], la inducción de receptores de bradicinina [6] y un aumento en los niveles locales de FCN, mediante su acción sobre fibroblastos, astrocitos y células de Schwann [37, 38],

Por su parte, la IL-8, una citocina liberada por macrófagos activados y células endoteliales se ha propuesto como un posible puente entre la lesión tisular y la hiperalgesia mediada por el sistema simpático. Experimentalmente se ha comprobado que es posible bloquear la hiperalgesia producida por la inyección intraplantar de esta sustancia,

mediante la administración de antagonistas de los receptores betaadrenérgicos, del receptor D para la dopamina y bloqueador de las neuronas simpáticas con guanetidina [39, 40],

Muchos estudios han apoyado la participación de la IL-10 como una sustancia antinociceptiva y antiinflamatoria, algunos sugieren que el mecanismo responsable de esta propiedad es la inhibición en la producción de sustancias como el NCF, TNF α e IL-1 β [35, 36, 41].

El TNF α parece tener un papel muy importante en la hiperalgesia inflamatoria [40]. Durante la respuesta inmune puede ser expresado en mastocitos, queratinocitos, fibroblastos, macrófagos, neutrófilos, así como también en células de Schwann de nervios periféricos lesionados. Este factor favorece la liberación de IL-1, IL-6 e IL-8 [8], reduce el umbral de activación de las fibras tipo C, induce la liberación de neuropeptidos como la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, y desencadena las vías dependientes de la COX, para la formación de prostaglandinas [42],

Factor de crecimiento nervioso

Esta neurotrofina es producida por los tejidos periféricos inervados y por células de soporte, incluyendo fibroblastos, células de Schwann y queratinocitos; controla la supervivencia, el crecimiento y el fenotipo de las neuronas inmaduras. Su aporte constante desde la periferia es necesario para el mantenimiento del fenotipo normal de las neuronas nociceptivas primarias adultas [29],

La inflamación provoca una temprana y mantenida elevación de FCN. Este factor, producido endógenamente o aplicado exógenamente, se asocia con la activación y sen-

sibilización de fibras sensoriales de pequeño calibre [43, 5]. Ejerce sus acciones a través de su unión a un receptor de alta afinidad, del tipo de tirosinasa (trk A), el cual se encuentra ubicado en las células inflamatorias, neuronas simpáticas, y neuronas sensoriales primarias [44, 46]. En estas últimas, el FCN puede directamente alterar su excitabilidad y sensibilizarlas, pero además, el complejo FCN-receptor es internalizado y transportado hasta el cuerpo celular; en esta localización, interviene en la regulación de la expresión de genes como el de la sustancia P, del péptido relacionado con el gen de la calcitonina y el de la proteína 43 (asociada al crecimiento neuronal) [47],

El aumento en la síntesis de estos neuropeptidos incrementa a su vez sus efectos tanto a nivel periférico en la inflamación neurogénica y en las astas posteriores de la médula, en la sensibilización central [45]. Mediante estas acciones en el soma, el FCN contribuye también a regular la expresión de otras proteínas, como el receptor de capsaicina y de los canales de sodio resistentes a la tetrodotoxina. Igualmente, promueve la ramificación axonal hacia la periferia aumentando de esta manera el campo receptivo de las neuronas sensoriales [14],

Los efectos en la transcripción genética parecen ser mediados por otras cascadas de señalización como la de las MAP cinasas y afectar no solo a las neuronas nociceptivas sino a neuronas de bajo umbral, las cuales adquieren un fenotipo quílmico semejante al de las fibras C; se ha demostrado que el número de células mielinizadas gruesas de los ganglios de la raíz dorsal inmunorreactivas a sustancia P, aumenta después de una inflamación [10, 48],

El FCN puede alterar la excitabilidad de los nociceptores de manera indirecta, actuando sobre sus receptores en células inflamatorias

y neuronas simpáticas posganglionares, a través de los cuales estimula la liberación de otros mediadores sensibilizadores, como neuropeptidos y citocinas. Se establece así un circuito de retroalimentación entre los neuropeptidos, citocinas y el FCN que pudiera estar activado en procesos inflamatorios crónicos [29, 48, 46],

Óxido nítrico

Múltiples sustancias liberadas durante procesos inflamatorios, tales como la IL-1, IL-6, TNF α y el interferon γ (INF γ), tienen la capacidad de aumentar la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (NOS_i), ubicada en los macrófagos y, por ende, elevar los niveles locales de óxido nítrico. No obstante las otras dos isoformas de esta enzima, expresadas constitutivamente en las neuronas y en el endotelio (NOS_n y NOS_e) también son activadas en estos estados [19, 49]. Una evidencia de esto se observe al utilizar un antagonista de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) ubicados en neuronas periféricas, lo cual impidió la síntesis de NO, disminuyendo los niveles propios de esta sustancia en los estados de lesión tisular [19]. Así, el NO producido a partir de las NOS constitutivas parece intervenir en el desarrollo de la inflamación durante las primeras 4 horas, y el producido a partir de la NOS inducible se relaciona con el mantenimiento de la respuesta inflamatoria después de 5 horas de aplicado el estímulo [19, 49, 50],

El papel que cumple el NO en la serialización del dolor en las neuronas periféricas no ha sido completamente dilucidado, ya que algunos modelos experimentales le han atribuido un papel pronociceptivo mientras que otros evidencian acciones antinociceptivas. Un factor que parece modificar las acciones

de este gas, es su concentración en el sitio de inflamación. Algunos autores sugieren que participa como analgésico cuando es producido en grandes cantidades y como hiperálgico cuando sus niveles son bajos [51].

Se ha demostrado que el NO puede facilitar la hiperálgia inducida por mediadores como PGE₂ o serotonina, actuando como intermediario de la vía AMPc – PKA cuando se encuentra en pequeñas cantidades, o activar la cascada dependiente de GMPc cuando se encuentra en altas concentraciones [51, 52]. De otra parte, diversos estudios le han atribuido acciones antinociceptivas, como mediador de la actividad analgésica de algunos fármacos como dipirona, diclofenaco y opiáceos, los cuales periféricamente pueden activar la vía L-arginina-NO-GMPc, logrando desensibilizar los nociceptores [6, 53, 54]. Así, la acción del NO parece depender del sitio y mecanismos que aumentan su producción.

Sustancias neurogénicas

Normalmente los neuropeptidos, liberados de las terminaciones nerviosas sensoriales, ejercen un efecto eferente y trófico en los tejidos diana [4]. Durante la inflamación, sin embargo, las neurocininas, sustancia P, neurocinina A y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, contribuyen directamente a la inflamación neurogénica y a la hiperálgia del sitio lesionado [4].

La sustancia P estimula la síntesis de NO en el endotelio vascular, causando vasodilatación y estimula la contracción de las células endoteliales produciendo extravasación de plasma, lo cual facilita el paso de mediadores inflamatorios y células del sistema inmune al sitio de la lesión. Este neuropeptido induce además la degranulación de células mastoi-

des permitiendo la liberación de otros mediadores inflamatorios, principalmente histamina y enzimas proteolíticas, las cuales catalizan la producción de bradicinina. A su vez, la estimulación de la producción de citocinas lleva a la activación de moléculas de adhesión necesarias para la interacción de los leucocitos con el endotelio vascular [5, 9]. Estos mecanismos se han involucrado en patologías como artritis, asma, enfermedad inflamatoria intestinal o migraña, etc., en las cuales el uso de los antagonistas de las neurocininas podrían ser de utilidad clínica [9].

Por su parte, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina es un potente vasodilatador arteriolar y actúa sinérgicamente con la sustancia P, incrementando el flujo sanguíneo. Algunos estudios indican que este péptido desempeña un papel importante en los cambios de plasticidad neuronal que ocurren en respuesta a eventos inflamatorios periféricos, incluyendo el desarrollo de respuestas nociceptivas [55].

Los terminales simpáticos también intervienen en la hiperalgesia e inflamación que sigue al trauma tisular sin lesión nerviosa. Este efecto parece ser mediado por la liberación de otros mediadores químicos como prostanoídes o posiblemente sustancia P de las fibras simpáticas activadas [56].

SENSIBILIZACIÓN CENTRAL

La presencia de un proceso inflamatorio afecta no solo a los nociceptores, el SNC manifiesta igualmente una serie de cambios que van a participar de manera importante en la generación de este tipo de dolor. El sitio donde mayoritariamente se han descrito estos procesos es la médula espinal; allí se produce un estado de sensibilidad alterada con un incremento en la excitabilidad de estas neuro-

nas, caracterizado por: 1) Reducción en los umbrales de activación de estas neuronas, las cuales pueden ser activadas con estímulos considerados no dolorosos, 2) Alteración en el patrón temporal de respuesta, de tal manera que estímulos breves pueden evocar una actividad sostenida de las neuronas, 3) Incremento en la respuesta de las neuronas, de forma que estímulos dolorosos producen un mayor efecto en ellas y 4) Expansión de los campos receptivos, lo que permite que las respuestas sean evocadas, estimulando una mayor área [57].

Estos cambios dependen fundamentalmente de la actividad de las fibras C y de la liberación de diferentes moléculas e involucran tanto a las neuronas primarias como a las neuronas del asta dorsal de la médula. Es posible que los mecanismos periféricos sean preponderantes en las fases tempranas después de lesión tisular y que sean estas entradas las responsables de generar los cambios centrales que explican las características que causan el dolor, aun en ausencia de inflamación [2, 57, 58].

Desde el punto de vista psicofisiológico, el término hiperalgesia se refiere a un desplazamiento hacia la izquierda en la curva que relaciona la intensidad del estímulo con la sensación dolorosa percibida e incluye la alodinia cuando el estímulo es de baja intensidad (figura 3) [59].

Se han descrito dos tipos de hiperalgesia: la primaria involucra el área de la lesión y la secundaria representa la extensión del dolor más allá del sitio de la lesión y en algunas ocasiones a sitios distantes. La hiperalgesia primaria se puede explicar por los mecanismos periféricos mencionados anteriormente y la secundaria por mecanismos centrales [57, 58, 60, 61].

A continuación se describirán algunos de los fenómenos y características que acompañan a la sensibilización central.

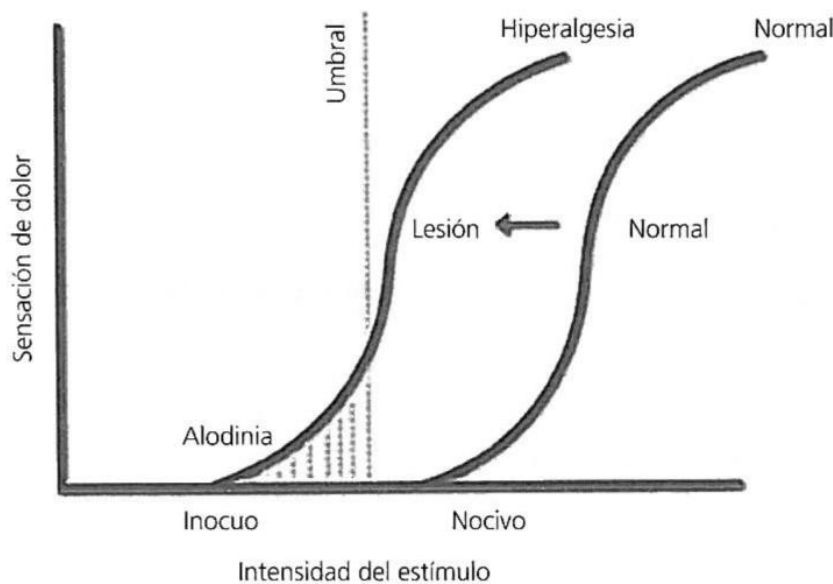


Fig. 3. Diagrama que ilustra los cambios en la sensación de dolor inducidos por la lesión tisular.

Transmisión de la información nociceptiva al nivel espinal

Los cambios en la excitabilidad que caracterizan la sensibilización central se han descrito en las neuronas de amplio rango dinámico (NAD), en las nociceptivas específicas y en las neuronas motoras que median las respuestas reflejas de retirada. Las NAD se han considerado como las responsables de señalar la intensidad del dolor, tanto en primates como en humanos y han sido las más estudiadas en relación con los cambios en su sensibilidad basal e hipersensibilidad evocada por estímulos de origen inflamatorio.

La transmisión sináptica en las astas dorsales de la médula espinal es mediada por la liberación tanto de glutamato como de neuropeptidos, principalmente sustancia P. El primero de estos neurotransmisores actúa sobre diferentes tipos de receptores: AMPA y NMDA, asociados a un canal iónico y los metabotrópicos, asociados a segundos mensajeros. Su unión a receptores AMPA (α-amino-

no-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionico) y kainato, produce en las neuronas espinales potenciales postsinápticos excitatorios rápidos; por el contrario, la activación de los receptores NMDA y de los receptores metabotrópicos (mGlu) induce respuestas más prolongadas. De otra parte, la unión de la sustancia P a su receptor NK1 (neurocinina 1), produce igualmente respuestas prolongadas [58, 62].

Mientras que el receptor AMPA parece establecer el nivel basal de la nocicepción y transmitir fielmente la intensidad y duración de los estímulos periféricos, los receptores NMDA, mGlu y NK1 desempeñan un papel clave en la iniciación y mantenimiento de los cambios en la transmisión sináptica que constituyen la sensibilización central, debido a la capacidad que tienen de alterar, prolongar e incrementar la actividad de los circuitos nociceptivos espinales [2, 61].

El receptor NMDA ha sido ampliamente estudiado en los procesos de dolor por su determinante participación en los mecanismos

de sensibilización central. Este receptor tiene cuatro propiedades principales: La primera es que controla un canal catiónico de alta conductancia que es muy permeable al calcio, así como al sodio y al potasio. En segundo lugar, el calcio que ingresa a través del canal activa una cascada de segundos mensajeros dependientes de calcio. Tercero, el canal solo funciona en presencia de glicina, por lo que existe un sitio de unión para este aminoácido en el receptor NMDA. Por último, en reposo la entrada del canal está bloqueada por el ion Mg^{++} ; sin embargo, este bloqueo es dependiente de voltaje de tal manera que cuando la membrana se despolariza en presencia de glutamato, el Mg^{++} es expulsado del canal por rechazo electrostático, lo que permite la entrada de Ca^{++} y de Na^+ , aumentando así la magnitud de la despolarización [62].

Por su parte, el receptor NK1 para la sustancia P está asociado a una proteína G, a través de la cual desencadena la síntesis de IP_3 y de DAG, con el correspondiente aumento de la concentración intracelular de calcio. En modelos de dolor inflamatorio crónico se ha encontrado un aumento en la expresión de este receptor en las neuronas espinales, lo cual se acompaña, como se menciono anteriormente, de un aumento en la síntesis de sustancia P en las neuronas nociceptivas primarias [63, 64].

Existe una interacción entre los receptores para la sustancia P y para el glutamato; se ha observado que la unión de la sustancia P al receptor NK1 puede ayudar a liberar el bloqueo por Mg^{++} de los receptores NMDA a través de dos posibles mecanismos: la despolarización inducida por esta interacción o a través de la activación de una cascada de segundos mensajeros [65]. Así, la sustancia P contribuye en la generación de la hiperexcitabilidad central, pero su participación en el

mantenimiento de la misma parece ser menor, según estudios realizados [66]. En la figura 4 se esquematiza a las sinapsis que convergen en las NAD, con los principales neurotransmisores involucrados.

Fenómeno de *Wind up*

Este fenómeno se caracteriza por un incremento progresivo en el número de potenciales de acción en las neuronas espinales, cuando un nervio periférico es estimulado eléctricamente con suficiente intensidad para activar las fibras C y con bajas frecuencias (0,3-1/seg). Se ha descrito en modelos experimentales (asta dorsal de gatos, ratas y primates, en neuronas del asta ventral, en el núcleo trigeminal y en el talamo). En humanos el correlato perceptual de este fenómeno es la suma temporal del segundo dolor [57, 67].

Este fenómeno corresponde a un proceso de facilitación homosináptica, dependiente de la actividad de las neuronas aferentes. Es una manifestación de la remoción, mediante una despolarización sináptica sucesiva, del bloqueo de los receptores NMDA, el cual es dependiente de voltaje y ejercido por magnesio. Así, con cada entrada sucesiva se logra amplificar la respuesta. Antagonistas de este receptor eliminan o reducen el fenómeno de *wind up* y respuestas similares se han observado con el uso de antagonistas de los receptores de neurocininas y con la morfina [1, 68].

Los procesos sinápticos que generan *wind up* son rápidamente reversibles y no explican la sensibilización central; este último fenómeno es más complejo y requiere de la participación de otros neurotransmisores, receptores y cascadas de señalización intracelular, así como de entradas provenientes de varias

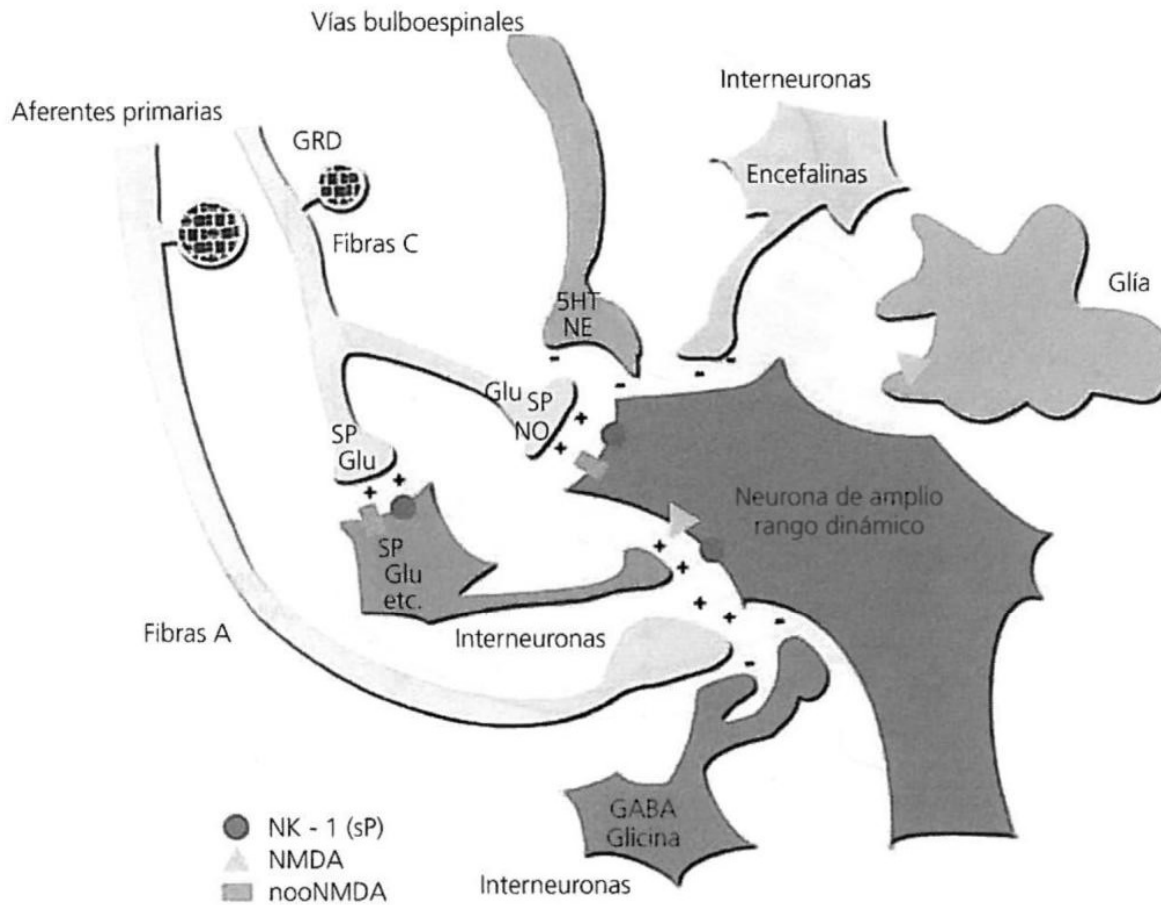


Fig. 4. Esquema de las neuronas que convergen) sobre los amplios rango dinámico, con los neurotransmisores y principales receptores involucrados.

neuronas, es decir, es un proceso de facilitación heterosináptica [57, 68],

participan en este proceso de plasticidad neuronal [2, 58].

Mecanismos celulares en la sensibilización central

Los mecanismos celulares que subyacen a la sensibilización central e hiperalgesia no se han esclarecido por completo, pero la evidencia sugiere que existe una importante contribución del Ca^{++} intracelular, de sistemas de segundos mensajeros y de proteincinasas. En la figura 5 se esquematizan algunos de los mecanismos celulares que

Calcio intracelular

Los neurotransmisores liberados por las neuronas aferentes primarias nociceptivas pueden afectar los niveles de Ca^{++} intracelular. La activación de los receptores NMDA, AMPA/kainato y metabotrópicos y NK1, así como la presencia de canales de Ca^{++} dependientes de voltaje en las neuronas espinales, son factores que se han asociado con

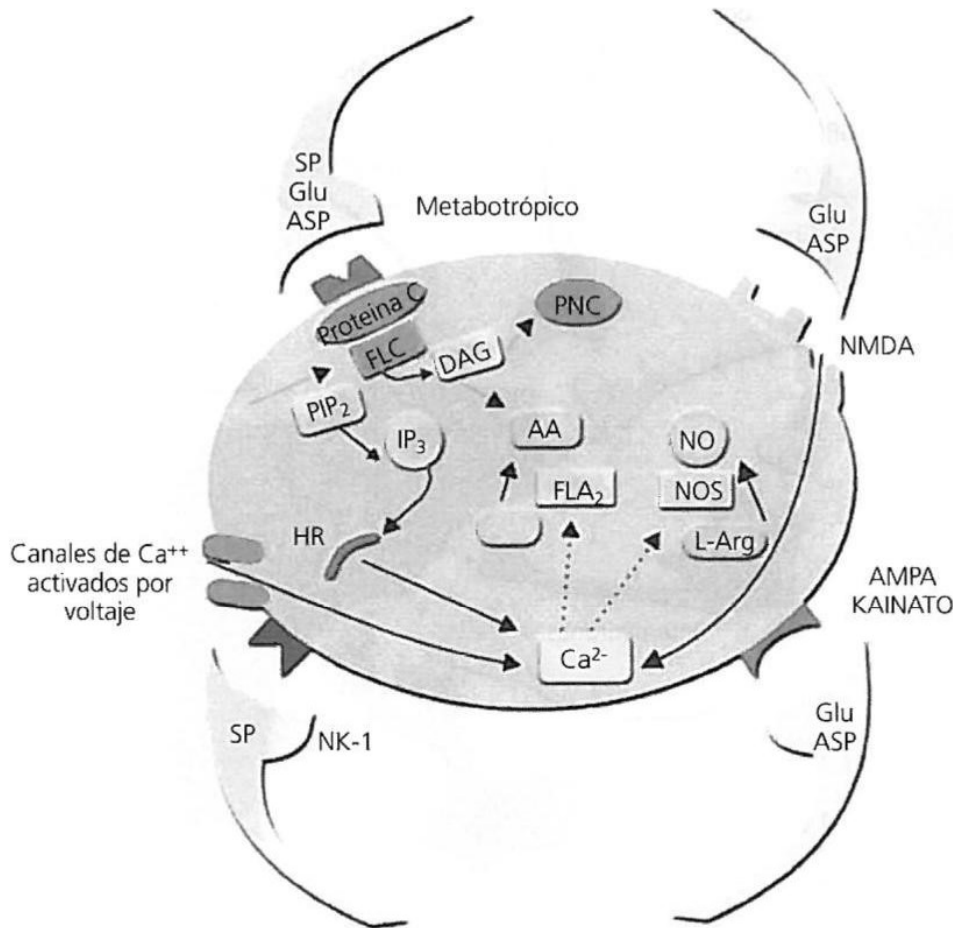


Fig. 5. Esquema que indica los posibles mecanismos por los cuales una estimulación dolorosa o lesión tisular o nervioso, lleva a la sensibilización de las neuronas del asta dorsal de la médula y contribuye a la nocicepción persistente. Glu: glutamato, PLC: fosfolipasa C, PIP₂: trifosfato de inositol, DAG: diacil glicerol, AA: ácido araquidónico, PLA₂: fosfolipasa A2, NO: óxido nítrico, NOS: óxido nítrico sintasa

un aumento en los niveles intracelulares de Ca⁺⁺ [58, 63],

La importancia del Ca⁺⁺ parece variar en diferentes estados de dolor. En modelos animales de nocicepción aguda como el de sacudida de la cola (*tail-flick*) o el test de placa caliente (*hot plate*), la administración de Ca⁺⁺, de quelantes de Ca⁺⁺ o de antagonistas de los canales de Ca⁺⁺ no altera significativamente las respuestas nociceptivas. Por el contrario, en modelos de dolor persistente como el test de la formalina o la aplicación

de ácido acético, las respuestas nociceptivas comportamentales si son afectadas por estos agentes [58, 63, 69],

De otra parte, la hiperalgesia primaria o secundaria y la alodinia son sensibles al bloqueo de los canales de calcio dependientes de voltaje (principalmente los N y en menor medida los L y P/Q). No obstante el uso de estos bloqueadores en la práctica clínica tiene series inconvenientes, debido a su participación en otros procesos somatoestésicos normales y a sus efectos secundarios [69].

Activación de la vía L-arginina-óxido nítrico. El aumento de los niveles de Ca^{++} intracelular, dispara la cascada NO/GMPc a través de la activación de la NOSn. El GMPc a su vez actúa sobre diferentes blancos, incluyendo proteínas G, canales iónicos y receptores; o puede difundir fuera de estas neuronas e influir en la actividad de los tejidos circundantes [70, 71].

Múltiples estudios experimentales han evidenciado el papel del NO en el desarrollo y mantenimiento de la sensibilización central. Por un lado, se ha comprobado un aumento en la expresión de la NOS en las astas posteriores de la medula de ratas sometidas a procesos inflamatorios. Igualmente, en esta localización se ha observado un aumento en la concentración de NO y de sus metabolitos (NO_2 / NO_3), en respuesta a la aplicación intradérmica de irritantes químicos como la capsaicina [70,72]. De otra parte, se ha observado que el NO puede alterar la excitabilidad de las neuronas espinales, reduciendo la inhibición tónica dada por las neuronas descendentes y por las neuronas glicinérgicas y gabaérgicas de la medula espinal [71].

Los inhibidores de la NOS han mostrado efectos analgésicos en algunos modelos experimentales. Así, el pretratamiento con L-NAME produce un efecto analgésico en la fase tardía del test de formalina y reduce a la vez la persistente actividad de las neuronas del asta dorsal inducida por este irritante. El uso del 7-nitroindazol, un inhibidor selectivo de la NOSn, ha sido igualmente efectivo en reducir la hiperalgesia inducida por carragenina y capsaicina [70, 73].

En contraposición a lo anterior, otros estudios en animales y humanos postulan la participación de este gas, en la antinocicepción. Son varias las razones que se han postulado para explicar estas discrepancias, entre las que se mencionan la existencia de una fami-

lia de genes de la NOS, cuya expresión puede ser regulada por diferentes tipos de estímulos, o la posibilidad que tiene el NO de difundir y actuar sobre diferentes poblaciones neuronales así como sobre diferentes moléculas [71].

Prostaglandinas y sensibilización central

La elevación en los niveles de PGD_2 , PGE, $PGF_{2\alpha}$, de la COX2 y del ácido araquidónico en el SNC [73, 5], se ha demostrado en respuesta a estímulos inflamatorios.

Múltiples evidencias en modelos animales y en el hombre han confirmado los efectos centrales de los AINES para reducir las respuestas hiperalgesicas centrales producidas por inflamación o lesión de los tejidos y se han propuesto varios mecanismos de acción y estructuras afectadas, tales como la inhibición de la COX (con AINE como la indometacina, diclofenaco y naproxeno, por ejemplo), u otros mecanismos espinales o supraespinales, que pueden involucrar sistemas descendentes de modulación del dolor y que pueden explicar la acción analgésica de fármacos como la dipirona y el acetaminofeno, los cuales administrados sistémica o centralmente son débiles inhibidores de la COX pero potentes antihiperalgesicos [76, 8].

Otros mensajeros intracelulares

Además de los mecanismos de señalización intracelular mencionados anteriormente, se han caracterizado otras vías que contribuyen en la generación de ese estado facilitado de las neuronas de las astas posteriores de la medula.

La proteincinasa C parece ser el punto de convergencia de la activación de varios receptores presentes en las astas superficiales dorsales de la medula espinal, como los receptores NK1, mGlu o los EP, los cuales están acoplados a proteínas G, así como de receptores acoplados a tirosincinasa como el trk B. Un hallazgo importante es que la PKC fosforila los receptores NMDA, lo cual induce una remoción parcial del Mg^{++} , e incrementa la actividad del receptor NMDA, lo que a su vez aumenta la entrada de Ca^{++} , produciéndose de esta manera un mayor incremento en la actividad de esta enzima [2, 61].

Otra cascada de señalización mediada por cinasas es la vía de las proteincinasas activadas por mitógenos/cinasas, regulada por señales extracelulares (MAPK/ERK, de los nombres en inglés). Múltiples segundos mensajeros como el AMPc, la PKA, el Ca^{++} y el DAG pueden controlar la serialización de estas cinasas a través de pequeñas proteínas G denominadas Ras y Rap1. Los procesos de fosforilación mediados por estas cinasas se incrementan siguiendo a la estimulación nociceptiva y se ha observado que su inhibición puede suprimir la segunda fase del test de la formalina, lo que indica su importante participación en la sensibilización central, ya que esta fase se produce por los cambios ocurridos al nivel central.

Igualmente, la MAPK regula la expresión genética a través de la fosforilación y activación de varios factores de transcripción incluyendo c-Myc, E1a, c-Fos y c-Jun, los cuales a su vez controlan la transcripción de otros genes. Estos cambios transcripcionales incluyen cambios en los receptores (NK1, TrkB, receptores para GABA), en neurotransmisores (dionorfinas, encefalinas, GABA) y en la inducción de la COX2, en las neuronas de las astas posteriores [1, 2, 58],

Participación de las fibras A δ en la sensibilización central

Las alteraciones responsables de la hiperalgesia secundaria incluyen, en primer lugar, un aumento en la magnitud de la sensación evocada por los nociceptores sensibles a estímulos mecánicos y térmicos, y en segundo lugar también produce un cambio en la modalidad de la sensación evocada por los receptores mecánicos de bajo umbral y cuya información se conduce por las fibras A δ [79, 80],

Una hipótesis propuesta, es un cambio en el fenotipo de las fibras A δ que están innervando el área inflamada; como se mencionó anteriormente, durante la inflamación se observa un incremento en la producción del FCN, el cual puede inducir cambios en la expresión genética de factores asociados al crecimiento neuronal y de neuropeptidos, en fibras de pequeño calibre y en las fibras A δ [81]. Estas últimas normalmente conducen información táctil y este cambio fenotípico induciría también un cambio cualitativo en su función, haciéndolas más parecidas a las fibras de dolor [82].

Así, la presencia de una mayor sensibilidad táctil puede indicar un proceso progresivo de la alodinia táctil (hipersensibilidad táctil progresiva), lo que implica la necesidad de tratar el síntoma de alodinia, para prevenir una mayor sensibilización y dolor [82],

CONCLUSIÓN

El dolor de origen inflamatorio implica una secuencia de eventos que se inicia en los nociceptores e incluye además al SNC. Periféricamente los mediadores inflamatorios pueden activar o sensibilizar a los nociceptores. El uso de AINE, está fundamentado en su ca-

pacidad de inhibir la producción de prostaglandinas, uno de los mediadores hiperálgicos más importante liberado en los sitios de lesión tisular. Las neuronas espinales sufren igualmente un proceso de sensibilización, mediante el cual se incrementa la respuesta dolorosa ante la inflamación.

Así, la sensibilización periférica y central, son la expresión de la capacidad del sistema nervioso de responder a cambios en su ambiente, modificando su perfil funcional y bioquímico. Estas modificaciones incluyen un cambio en la actividad, así como la expresión *de novo* de receptores, canales y otras moléculas. El entendimiento de los mecanismos asociados al dolor de origen inflamatorio, ha abierto nuevas posibilidades y blancos para su control.

BIBLIOGRAFÍA

1. Woolf CJ, Costigan M. Transcriptional and posttranscriptional plasticity and the generation of inflammatory pain. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 14:7723-30.
2. Woolf CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science* 2000; 5472:1765-9.
3. Ferreira SH. Are macrophages the body's alarm cells? *Agents Action* 1980; 10:229-30.
4. Dray A. Tasting the inflammatory soup: The role of peripheral neurones. *Pain Rev* 1994; 1:153-71.
5. Dray A. Inflammatory mediators of pain. *Br J Anaest* 1995; 75:125-31.
6. Ferreira SH. The role of interleukins and nitric oxide in the mediation of inflammatory pain and its control by peripheral analgesics. *Drugs* 1993; 46:36-44.
7. Sorkin LS. Basic pharmacology and physiology of acute pain processing. *Anesthesiol Clin North Am* 1997; 5:235-50.
8. Ferreira SH. A classification of peripheral analgesics based upon their mode of action. In: Sandler M, Collins GM, (ed). *Migraine. Spectrum of ideas*. Oxford University Press, 1990:59-72.
9. Levine JD, Fields HL, Basbaum AI. Peptides and the primary afferent nociceptor. *J Neurosci* 1993; 13:2273-86.
10. Neuman S, Doubell TP, Leslie T, Woolf CJ. Inflammatory pain hypersensitivity mediated by phenotypic switch in myelinated primary sensory neurons. *Nature* 1996; 384:360-4.
11. McMahon SB, Koltzenburg M. Novel classes of nociceptors: Beyond Sherrington. *TINS* 1990; 13:199-201.
12. Besson JM. The neurobiology of pain. *Lancet* 1999; 353:16010-15.
13. Calixto J, Cabrini D, Ferreira J, Campos M. Kinins in pain and inflammation. *Pain* 2000; 87: 1-5.
14. Perkins M, Dray A. Novel pharmacological strategies for analgesia. *Ann Rheumat Dis* 1996; 55:715-22.
15. Dray A. Kinins and their receptors in hyperalgesia. *Can J Physiol Pharmacol* 1997; 75: 704-12.
16. Chapman V, Dickenson A. The spinal and peripheral roles of bradykinin and prostaglandins in nociceptive processing in the rat. *Eur J of Pharmacol* 1992; 219:427-33.
17. Rupniak NM, Boyce S, Webb JK, et al. Effects of the bradykinin B1 receptor antagonist des-Arg9[Leu8]bradykinin and genetic disruption of the B2 receptor on nociception in rats and mice. *Pain* 1997; 71:89-97.
18. Hall JM. Bradykinin receptors. *Gen Pharmacol* 1997; 28:1-6.
19. Omotte K, Kawamata T, Kawamata M, et al. Activation of peripheral NMDA-nitric oxide cascade in formalin. *Anesthesiology* 2000; 93:173-8.
20. Omotte K, Kawamata T, Kawamata M, et al. Activation of peripheral NMDA-nitric oxide cascade in formalin. *Anesthesiology* 2000; 93:173-8.
20. Mizumura K, Koda H, Kumazawa T. Evidence that protein kinase C activation is involved in the excitatory and facilitatory effects

- of bradykinin on canine visceral nociceptors in vitro. *Neurosci Lett* 1997; 237: 29-32.
21. Bolyard L, Van Looy J, Vasko M. Sensitization of rat sensory neurons by chronic exposure to forskolin or «inflammatory cocktails does not downregulate and requires continuous exposure. *Pain* 2000; 88: 277-85.
 22. Walker K, Perkins M, Dray A. Kinins and Kinin receptors in the Nervous system. *Neurochem Int* 1995; 26:1-16.
 23. Bley KR, Hunter JC, Eglen RM, Smith JA. The role of IP prostanoid receptors in inflammatory pain. *Trends Pharmacol Sci* 1998; 19:141-7.
 24. Murata T, Ushikubi F, Toshiyuki M. Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor. *Nature* 1997; 388:678-82.
 25. Stock JL, Shinjo K, Burkhardt J, et al. The prostaglandin E EP1 receptor mediates pain perception and regulates blood pressure. *J Clin Invest* 2001; 107: 325-31.
 26. Chen X, Levine JD. NOS inhibitor antagonism of PGE-induced mechanical sensitization of cutaneous C-fiber nociceptors in the rat. *J Neurophysiol* 1999; 81:963-6.
 27. Aley KO, McCarter G, Levine JD. Nitric oxide signaling in pain and nociceptor sensitization in the rat. *J Neurosci* 1998; 18:7008-14.
 28. Morley GK, Erickson DL, Morley JE. The neurology of pain. *Clin Neurol* 1988; 5:1-95.
 29. Rang HP, Bevan S, Dray A. Nociceptive peripheral neurons: Cellular properties. In: Wall PD, Melzack R (ed). *Textbook of pain*. 3th ed, London: Churchill Livingstone, 1994: 57-78.
 30. Wook Hwang S, Cho H, Kwak J, et al. Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: Endogenous capsaicin-like substances. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 6155-60.
 31. Taiwo YO, Levine JD. Serotonin is a directly-acting hyperalgesic agent in the rat. *Neuroscience* 1992; 48:485-90.
 32. Babe KS, Serafin WE. Histamine, bradykinin, and their antagonists. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, (ed). *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*, 9th ed, New York: McGraw-Hill, 1996:581-600.
 33. Mobarakeh JI, Sakurada S, Katsuyama S, et al. Role of histamine H(1) receptor in pain perception: a study of the receptor gene knockout mice. *Eur J Pharmacol* 2000; 391: 81-9.
 34. Ferreira SH, Lorenzetti BB, Cunha FQ, et al. Bradykinin release of TNF-alpha plays a key role in the development of inflammatory hyperalgesia. *Agents Action* 1993; 38:C7-C9.
 35. Poole S, Cunha FQ, Serkirk Set al. Cytokine mediate inflammatory hyperalgesia limited by interleukin 10. *Br J Pharmacol* 1995; 115:684-88.
 36. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest* 2000; 118:503-8.
 37. Garabedian BS, Kanaan JJ, Haddad JJ, et al. Involvement of interleukin 1bb, nerve growth factor and prostaglandin E2 in endotoxin-induced localized inflammatory hyperalgesia. *BrJ Pharmacol* 1997; 121: 1619-26.
 38. Garabedian BS, Poole S, Allchorne A, Winter J. Contribution of interleukin 1bb to the inflammation induced increase in nerve growth factor levels and inflammatory hyperalgesia. *BrJ Pharmacol* 1995; 115:1265-75.
 39. Cunha FQ. Interleukin 8 as a mediator of sympathetic pain. *Br J Pharmacol* 1991; 104: 765-67.
 40. Ribeiro RA, Vale ML, Thomazzi SM, Paschoalato AB, et al. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur J Pharmacol* 2000; 387:111-8.
 41. Kanaan SA, Poole S, Saade NE, et al. Interleukin-10 reduces the endotoxin-induced hyperalgesia in mice *J Neuroimmunol* 1998; 86:142-50.
 42. Junger H, Sorkin L. Nociceptive and inflammatory effects of subcutaneous TNF α . *Pain* 2000; 85:145-51.
 43. Woolf CJ. Phenotypic modification of primary sensory neurons: the role of nerve

- growth factor in the production of persistent pain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1996; 35: 441-8.
44. McMahon SB. NGF as a mediator of inflammatory pain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1996; 351: 431-40.
 45. Woolf CJ, Ma QP, Crilly P, et al. Nerve growth factor contributes to the generation of inflammatory sensory hypersensitivity. *Neurosci* 1994; 62: 327-31.
 46. Woolf CJ, Ma QP, Allchorne A, et al. Peripheral cell types contributing to the hyperalgesic action of nerve growth factor in inflammation. *J Neurosci* 1996; 8:2716-23.
 47. Leslie T, Emson PC, Dowd PM, et al. Nerve growth factor contributes to the up-regulation of growth associated protein 43 and preprotachykinin A messenger RNAs in primary sensory neurons following peripheral inflammation. *Neuroscience* 1995; 67:753-61.
 48. Apfel SC. Neurotrophic factors and pain. *Clin. J Pain* 2000; 16: 57-11.
 49. Nakamura A, Fujita M, Shiomi H. Involvement of endogenous nitric oxide in the mechanism of bradykinin induced peripheral hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 1996; 117: 407-12.
 50. Lawand NB, Willis WD, Westlund KN. Blockade of joint inflammation and secondary hyperalgesia by L-NAME a nitric oxide synthase inhibitor. *Neuroreport* 1997; 8:895-9.
 51. Chen X, Levine JD. NOS inhibitor antagonism of PGE-induced mechanical sensitization of cutaneous C-fiber nociceptors in the rat. *J Neurophysiol* 1999; 81:963-6.
 52. Aley KO, Gordon MC, Levine JD. Nitric oxide signaling in pain and nociceptor sensitization in the rat. *J Neuroscience* 1998; 18: 7008-14.
 53. Tonussi CR, Ferreira SH. Mechanism of Diclofenac analgesia: direct blockade of inflammatory sensitization. *Eur J Pharmacol* 1994; 251:173-9.
 54. Duarte ID, Santos IR, Lorenzetti BB, Ferreira SH. Analgesia by direct antagonism of nociceptor sensitization involves the arginine-nitric oxide-c-cGMP pathway. *Eur J Pharmacol* 1992; 217:225-7.
 55. Zhang L, Hoff AO, Wimalawansa SJ, et al. Arthritic calcitonin/ alpha calcitonin gene-related peptide knockout mice have reduced nociceptive hypersensitivity. *Pain* 2001; 89:265-73.
 56. Janig W, Levine JD, Michaelis M. Interactions of Sympathetic and primary afferent neurons following nerve injury and tissue trauma. *Prog Brain Res* 1996; 113:161-84.
 57. Woolf CJ. Windup and central sensitization are not equivalent. *Pain* 1996; 66:105-8.
 - 58.Coderre TJ, Katz J, Vaccarino AL, et al. Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. *Pain* 1993; 52:259-85.
 59. Cervero F, Laird J. Mechanism of touch-evoked pain (allodynia): a new model. *Pain* 1996; 68:13-23.
 60. Woolf CJ. Central mechanisms of acute pain. In: Bond MR, Charlton JE, Woolf CJ, editors. *Proceedings of the VIth world congress on pain*. Amsterdam: Elsevier, 1991: 25-34.
 61. Treede RD. Peripheral acute pain mechanisms. *Ann Med* 1995; 27:213-6.
 62. Dickenson AH, Chapman V, Green GM. The pharmacology of excitatory and inhibitory aminoacid-mediated events in the transmission and modulation of pain in the spinal cord. *Gen Pharmacol* 1997; 28:636-8.
 63. Siuka KA, Milton MA, Willis WD, et al. Differential roles of neurokinin 1 and neurokinin 2 receptors in the development and maintenance of heat hyperalgesia induced by acute inflammation. *Br J Pharmacol* 1997; 120:1263-73.
 64. Goff JR, Burkey AR, Goff DJ, Jasmin L. Reorganization of the spinal dorsal horn in models of chronic pain: correlation with behaviour. *Neurosci* 1998; 82:559-74.
 65. Urban L, Thompson SW, Dray A. Modulation of spinal excitability: cooperation between neurokinin and excitatory amino acid neurotransmitter. *Trends Neurosci* 1994; 17:432-8.
 66. Yaksh TL, Malmberg AB. Central pharmacology of the nitric oxide-c-cGMP pathway. *Eur J Pharmacol* 1992; 217:225-7.

- logy of nociceptive transmission. En: PD Wall, R Melzack (ed). Textbook of pain. 3th. Churchill Livingstone; 1994:165-99.
67. Magerl W, Wilk SH, Treede RD. Secondary hyperalgesia and perceptual wind-up following intradermal injection of capsaicin in humans. *Pain* 1998; 74:257-68.
68. Thompson SW, King AE, Woolf CJ. Activity dependent changes in rat ventral horn neurones in vitro: summation of prolonged afferent evoked postsynaptic depolarizations produce a D-APV sensitive windup. *Eur J Neurosci* 1990; 2:638-49.
69. Vanegas H, Schaible HG. Effects of antagonists to high threshold calcium channels upon spinal mechanisms of pain, hyperalgesia and allodynia. *Pain* 2000; 85: 9-18.
70. Quin L, Palecek J, Paleckova V et al. Nitric oxide mediates the central sensitization of primate spinothalamic tract neurons. *J Neurophysiol* 1999; 81:1075-85.
71. Luo ZD. The role of nitric oxide in nociception. *Pain* 2000; 84:459-66.
72. Wu J, Lin Q, Lu Y et al. Nitric oxide contributes to central sensitization following intradermal injection of capsaicin. *Neuroreport* 1998; 9: 589-92.
73. Ferreira SH, Ferreira LB. Intrathecal administration of prostaglandin E2 causes sensitization of the primary afferent neuron via the spinal release of glutamate. *Inflamm Res* 1996; 45:499-502.
74. Yamamoto T, Nozaki-Taguchi N. Role of spinal cyclooxygenase (COX)-2 on thermal hyperalgesia evoked by carrageenan injection in the rat. *Neuroreport* 1997; 8:2179-82.
75. Herrero JF, Thom SA, Headley PM. Relative peripheral, spinal, and supraspinal action of nonsteroidal anti-inflammatory drug (Flunixin) compared to a Mu-opioid agonist (Fentanyl) on nociceptive reflex in the rat. *Analgesia* 1996;2:11-8.
76. Malmberg AB, Yaksh TL. Hyperalgesia mediated by spinal glutamate or substance P receptor blocked by spinal cyclooxygenase inhibition. *Science* 1992; 257:1276-9.
77. Bjorkman R. Central antinociceptive effect of non-steroidal antiinflammatory drugs and paracetamol, experimental studies in the rat. *Acta Anaesth Scand* 1995; 39:9-44.
78. Tortorici V, Vanegas H. Putative role of medullary off- and on- cells in the antinociception produced by dypirone (metamizol) administered systemically or microinjected into PAG. *Pain* 1994; 57:197-205.
79. LaMotte RH, Shain CN, Simone DA, et al. Neurogenic hyperalgesia: psychophysical studies of underlying mechanisms. *J Neurophysiol* 1991; 66:190-211.
80. Pedersen JL, Kehlet H. Secondary hyperalgesia to heat stimuli after burn injury in man. *Pain* 1998; 76:377-84.
81. Ma QP, Woolf CJ. The progressive tactile hyperalgesia induced by peripheral inflammation is nerve growth factor dependent. *Neuroreport* 1997; 8:807-10.
82. Ma QP, Woolf CJ. Noxious stimuli induce an N-methyl-D-aspartate receptor-dependent hypersensitivity of the flexion withdrawal reflex to touch: implications for the treatment of mechanical allodynia. *Pain* 1995; 61:383-90.