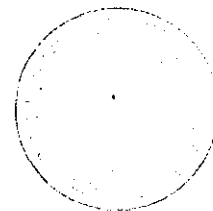


T.U.
C/70

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Facultad de Medicina



Sevilla, a 30 de Mayo de 1988, número 30 del libro
correspondiente.

Sevilla,

20 JUN 1988

Tratado del Registro de Tesis,

Rafael Cobos Romana

UNIVERSIDAD DE SEVILLA



APORTACIONES A LA FUNDAMENTACION

NEURO-HISTOQUIMICA DE LA E. A. A.

"LOCALIZACION Y MODIFICACION DEL SISTEMA
METENCEFALINERGICO EN LA MEDULA CERVICAL DEL GATO. TRAS
ESTIMULACION CON ELECTROACUPUNTURA".

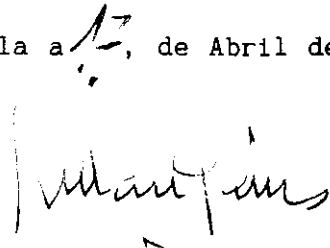
TESIS DOCTORAL

RAFAEL COBOS ROMANA, 1988.

DON JOSE M^a GENIS GALVEZ, CATEDRATICO NUMERARIO DE ANATOMIA Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLOGICAS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

CERTIFICA: Que el trabajo realizado para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía, por el Licenciado Don Rafael Cobos Romana, bajo el título de : "Aportaciones a la fundamentación neuro-histoquímica de la E.A.A.. Localización y modificación del Sistema Metencefalinérgico en la médula cervical del gato, tras estimulación con electroacupuntura.", ha sido realizado en este Departamento bajo la Dirección del Profesor Doctor Don José Vázquez Tapióles, Titular Numerario de Anatomía y la co-dirección del Doctor en Medicina y Cirugía, Don Miguel Muñoz Sáez, con dedicación, eficacia y competencia, reuniendo valor y méritos suficientes para optar a dicho grado.

Y para que conste y surta el oportuno efecto legal, expido el presente certificado en Sevilla a ¹⁷, de Abril de mil novecientos ochenta y ocho.

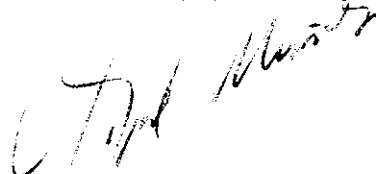


Fdo.- Jose M^a Génis Galvez.

"APORTACIONES A LA FUNDAMENTACION NEURO-HISTOQUIMICA DE LA
E.A.A..- LOCALIZACION Y MODIFICACION DEL SISTEMA
METENCEFALINERGICO EN LA MEDULA CERVICAL DEL GATO, TRAS LA
ESTIMULACION CON ELECTROACUPUNTURA".

Trabajo realizado para
optar al grado de Doctor
en Medicina y Cirugía
por la Universidad
de Sevilla, por:
D. Rafael Cobos Romana

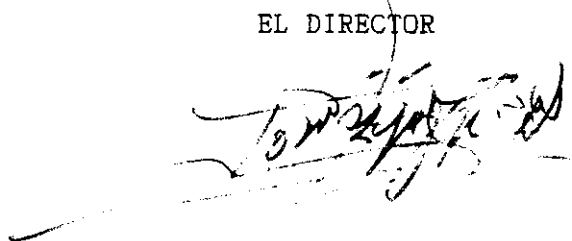
EL CODIRECTOR



Fdo.: Miguel Muñoz Sáez

Doctor en Medicina y Cirugia

EL DIRECTOR



Fdo.: Jose Vázquez Tapióles

Prof. Titular

AGRADECIMIENTOS

Profesores

Vazquez Tapioles, Coveñas y Montero.

Doctores y Licenciados en Medicina

Muñoz, Morgado, Valseca, Garcia-Ayestarán, Murillo,
Chinchón, Jimenez, Valle, Martinez-Calderón, Polo,
Recuero, Botello, Encina , Moreno , Diaz, Morales y
Moya.

Señores

Hermida, Jimenez-Mazarío, Yang, Freire , Jarana y
Sarabia

Y a todas las personas que , de una u otra manera
colaboraron a que este trabajo culminara felizmente.

DEDICATORIA

A mi padre, "in memoriam".

"DIVINUM EST OPUS SEDARE DOLORUM".

Hipócrates

"EN CIENCIA EL HECHO QUEDA,
PERO LA TEORIA SE RENUEVA".

Santiago Ramón y Cajal.

"SIN DOLOR NO SE FORMA EL CARACTER,
SIN EL PLACER, EL ESPIRITU".

Feuchtersleben

INDICE

Págs.

INTRODUCCION.....	12
CONSIDERACIONES ANATOMO-FUNCIONALES.....	47
MATERIAL Y METODO.....	95
RESULTADOS.....	120
DISCUSION.....	143
RESUMEN.....	155
CONCLUSIONES.....	158
BIBLIOGRAFIA.....	162

INTRODUCCION

"Si hasta ahora habia tardado en darlo a conocer (refiriendose a sus descubrimientos) es porque queria contar con una gran masa de hechos que oponer a la crítica , siempre dispuesta a saltar sobre los nuevos descubrimientos con un pirronismo , unas veces envidioso, otras meticoloso, o dictado por motivo de intereses que siempren tienden a poner trabas al progreso de las luces : porque al destruir con sus observaciones insidiosas la confianza naciente del público o de las personas interesadas , no anima mucho , hay que reconocerlo , a aquellos que estarían dispuestos a dedicar sus vigílias al progreso de un arte que les atrae por encima de todo : el arma del ridículo , el temor a verse tachado de charlatán , son, para el médico que aspira a recorrer de forma honorable su carrera , la cabeza de Medusa. Queda petrificado ante el enjambre de periodistas y de una multitud de escritores cuyo único empeño consiste en empañar cuanto tocan". Estas palabras del Dr. de La Sarlandière estan en la pagina 55 del primer libro sobre E.A.A escrito en 1825 pero que bien podían haber sido escritas hoy mismo...

Antes de haber finalizado mis estudios de Medicina, tuve la oportunidad de iniciarme en el conocimiento de la materia médica que probablemente sea la más antigua de las que todavía se practican, como lo es la Acupuntura. Tras obtener la Licenciatura de Medicina y Cirugía el año de 1980, y hasta hoy día, en mi ejecutoria profesional se ha simultaneado la práctica de la Medicina General y la Acupuntura. Muchas han sido las satisfacciones que una y otra me han deparado, pero siempre ha quedado, latiendo en el fondo de mi espíritu, el deseo insatisfecho de no profundizar en la E.A.A. más allá de la pura experiencia clínica. Se trata pues, por mi parte, de un compromiso y un reto que ahora se cumplen. Y digo un compromiso que me atrevo a calificar de ético, puesto que creo que debemos estar obligados a conocer el mecanismo íntimo de lo que ejercemos de manera puramente empírica, e insistimos en lo de ético porque pensamos que todo profesional de la Medicina debe velar porque su trabajo sea luz que ilumine su propia vida y la de los demás. Nuestra profesión, el noble Arte de curar, cada día se parece más a una ciencia, como decía el Profesor Marañón, al referirse a las etapas gloriosas de la Medicina Clásica: "La Medicina era como una Ciencia humildísima, como una Arte excelso". Pero no será nunca arte si no profundizamos en los valores ético-morales y humanos del ejercicio profesional y de igual manera nunca llegara a ser ciencia si cada uno dentro de su terreno, no nos esforzamos por superar el mero papel de ejecutores de procedimientos y técnicas.

Así se nos plantéo por parte del Prof. Vázquez el indagar respecto a los posibles efectos de la E.A.A. a nivel de la médula cervical del gato y en concreto observar las modificaciones del sistema met-encefalinérgico, comprobadas por técnicas de inmunocitoquímica. Pero cabe la pregunta de la razón que nos mueve al respecto. Un estudio de éstas características no hace más que permitir una ulterior aplicación práctica, de esta forma el sustrato sobre el que nos movemos , no es sino un enclave anatomofuncional de la neuromodulación del dolor , en suma se trata de una aproximación al estudio de una de las facetas del dolor y su posible tratamiento.

No es fácil hacer una exposición del concepto del dolor sin mencionar la importancia socio-cultural e histórica que posee.

El dolor ha sido un desafío para el hombre a lo largo de su historia. Tanto es así que ya en la Biblia y concretamente en la expulsión de Adán y Eva, aparece el dolor como condena en el "parirás con dolor", se trata de la aparición del dolor como frontera entre el estado ideal (el paraíso) y el estado real o terrenal. Es el dolor como polaridad negativa de la felicidad, que se expresa de mil formas según la cultura, la religión o el nivel social . A este concepto del dolor como lo opuesto de la felicidad se le añaden otras categorías no menos importantes, como el dolor como vía de purificación (religiones tipo cristiana o indúes), o en suma, el concepto del dolor frente al del sufrimiento y la resignación entendidas como un ejercicio de control sobre la raíz animal del hombre.

De todos los enfoques conceptuales del dolor, el que más nos ha influido desde siempre, ha sido el de el dolor como la antítesis de la salud.

El dolor cumple con la primordial tarea de ser una señal de alerta para el organismo, en la que se desarrolla a nivel de conducta la respuesta ambivalente de huida o defensa, pero es fácilmente comprobable que en determinadas circunstancias el dolor deja de ser el centinela que alerta, y se transforma en un verdadero parásito que hace imposible la vida a quien lo padece , se trata en este caso de lo que podríamos llamar , el dolor enfermedad, frente al dolor sintoma. Pues bien, es en ese "dolor enfermedad , donde se muestra la cara más cruel del dolor.

Aquellos procesos terminales que cursan con dolor representan para nosotros una terrible ironía, ya que ese dolor es inútil ontológicamente y a su vez sitúa al que lo padece ante una posición que por inexorable no deja de ser terrible. Este dolor "sin sentido" del enfermo terminal, se nos antoja como un enemigo a vencer, representa un mandato moral el aliviar a estos pacientes, el darles calidad y dignidad de vida, en suma facilitar la "muerte digna".

Mi personal situación como médico adjunto de la Clínica del Dolor de la C. S. "Virgen del Rocio de Sevilla", me ha mantenido en un contacto de primer plano respecto a la vivencia del dolor , a la vez que me ha permitido comprobar , como un equipo , como el que dirige de manera abnegada el Dr. Murillo García, es a nuestro entender, en la actualidad la única respuesta posible al tratamiento del dolor rebelde.

Un enfoque multidisciplinario, se percibe como única estrategia razonable a seguir. No hay una única terapéutica para el dolor, es necesario el empleo de todos los medios a nuestro alcance, para dar la batalla al dolor con posibilidades de éxito terapéutico.

En este punto creo necesario intentar una definición del dolor, aunque "a priori" parezca algo casi utópico.

Según la International Association for the Study of Pain (I.A.S.P.), "el dolor es una experiencia subjetiva desagradable que nosotros asociamos en primer lugar a lesión histórica y que describimos en términos de tal daño, o cuya presencia es revelada por manifestaciones visibles y/o audibles de la conducta. Madrid Arias, J.L., (1984).

Menos difícil aunque complejo, es intentar una posible clasificación del dolor, ya que está presente prácticamente en cualquier patología, tanto orgánica como psicósomática.

Podemos clasificar el dolor atendiendo a una serie de parámetros:

En función de la Patogenia

- Por exceso de nocicepción :

Se produce cuando existe un factor que irrita o estimula de manera permanente la vía nociceptiva. No cursa con déficit neurológico.

- Por desaferentación de la vía nociceptiva (desinhibición), en su integración o transmisión . Suele coexistir con déficit neurológico.

Por la Topografía

Se busca establecer el correlato entre el foco lesivo y el dolor.

- Localizado o relacionado
- Difuso/Irrradiado/Propagado

Por la Etiología

- Somático
- Neurológico
- Psicógeno

Por el grado de Evolución

- Agudo
- Subagudo
- Crónico
- Terminal

Por la Intensidad

Molestia

Ligero

Soportable

Sordo

Punzante

Violento

Desgarrador

Lancinante

Tenebrante

Incoercible

Este quizás sea uno de los principales escollos que se nos plantea a la hora de valorar los resultados clínicos y revisar la evolución de los tratamientos.

Está perfectamente definido el protocolo experimental para establecer el grado de dolor en los animales, como la estimulación de la pulpa dentaria, calor radiante, forcipresión controlada, isquemia bajo control y sobre todo el "rat tail flick" (movimientos de cola de la rata). D'Amour F.E., Smith D.L. (1975). Pero en humanos esto es muy difícil debido a los múltiples factores que se imbrican en la experiencia dolorosa:

Naturaleza del proceso

Aspectos socio-culturales

Aspectos éticos y religiosos, etc...

De aquí que sean muchos los métodos existentes de valoración o dolorimetría (Cuestionario de Mc Guill-Melzack, Analogo Visivo, test de Lattinen, Escala I.N.O.) sin que aun tengamos uno definitivo. Aliaga Font, L. et al. (1983).

En definitiva, compartimos totalmente la idea del Prof. Bonica, según la cual, para ser algólogo (especialista en el tratamiento del dolor), se deben estudiar los síndromes y los mecanismos del dolor y se ha tener un conocimiento cabal de todas las modalidades de tratamiento. Bonica, J. F. (1985).

Volviendo a nuestro planteamiento inicial, decíamos que nuestra Tesis Doctoral tiene por finalidad imbricar la E.A.A. con el tratamiento del dolor, los péptidos opiáceos endógenos relacionados con el dolor (en concreto la Met-Encefalina) y el sustrato medular cervical de su actividad, comprobado con una técnica tan sofisticada como es la inmunocitoquímica.

Tenemos que decir que la E.A.A. constituye el 43 % de los tratamientos aplicados en las Clínicas del dolor que estan acogidas a los criterios de acreditación de la I.A.S.P. Villar Landeira, J.M., 1983.

Por lo tanto, la E.A.A. tiene un papel fundamental que desarrollar y creemos que su fundamentación neurohistoquímica responde a un puro criterio de racionalización.

Hay numerosos trabajos previos que relacionan la E.A.A. con los péptidos opiáceos endógenos. Lung et al. (1973), Pomeranz, B. et al. (1976)(1977). Gonzalo, L.M. (1979). , hasta 1986 ninguno que abordara la interrelación de la E.A.A., Met-Encefalina, inmunocitoquímica, S.N.C. y el gato. Muñoz, M. (1986), y desde entonces hasta la actualidad sólo tres Tesis doctorales leídas en ésta Universidad y dos comunicaciones presentadas en el Congreso de Neurociencias celebrado en Barcelona en 1987. Muñoz, M. (1986), Morgado, A. (1987), Valseca, F., J. (1988), Vazquez, J. y cols. (1987) y Muñoz, M. y cols. (1987) pero ¿ cual ha sido la trayectoria de esta técnica hasta nuestros días?



Antes de entrar a desarrollar el fenómeno histórico de la Acupuntura, creo que debemos realizar una aclaración respecto a las diferencias conceptuales existentes entre la Electroacupuntura analgésica (E.A.A) y la Acupuntura expresada tal como la describe la tradición.

Aunque el sustrato de la Acupuntura y la E.A.A. es el mismo, es decir coinciden en los mismos puntos y a las mismas profundidades, lo que las imprime carácter diferencial es el método de estimulación, que en el caso de la primera es manual a través de sucesivas rotaciones, y en el segundo la estimulación se produce por impulsos eléctricos con las características de precisión requeridos en cada circunstancia. Para poder llegar a hablar de la E.A.A han tenido que pasar siglos a través de los cuales la Acupuntura ha sobrevivido a cientos de generaciones.

¿Como podríamos definir la Acupuntura?

Creemos que hay dos formas de definirla, en función de si nos expresamos en nuestro contexto occidental, o lo hacemos desde la más estricta tradición.

Según su estricto sentido occidentalizado "Acupuntura es aquella terapéutica basada en la introducción de agujas metálicas en puntos especiales de la piel". Guillaume, M.J. et al., (1979).

Segun los criterios tradicionales mas ortodoxos "Acupuntura es aquella rama de la Medicina Tradicional China que por medio de la inserción de agujas de metal en puntos de la piel, que siguen el recorrido de los Meridianos , persigue corregir el desequilibrio de la energia corporal, origen de la enfermedad" Borsarello, J.F., (1984).

Como es facil de comprender existen radicales diferencias entre una y otra concepcion de la Acupuntura.

Se hace referencia a que la Acupuntura es una rama de la Medicina Tradicional de China, que abarcaba muchas más tecnicas como el Masaje, la Fitoterapia, la Gimnasia etc., y bien es cierto que hoy día la Acupuntura se practica, se aprende y se enseña en paises distintos a China.

Se dice que se introducen las agujas en puntos que siguen el curso de los Meridianos, que investigaciones posteriores no han podido aislar. Sí es segura, por el contrario, la evidencia del correlato entre Canales de Acupuntura y proximidad de trayectos nerviosos de nervios perifericos. Peihua Z., et al. (1979). Bossy, J., (1985).

Los puntos de Acupuntura no han hecho sino confirmarse por los hallazgos electrofisiológicos y anatómicos, por los que se les considera estructuras funcionales , aunque sin substrato anatómico individualizado. Reichmanis M., Marino A. Becker R. (1975), Zonglian H. (1979).

Por último se dice que la Acupuntura tiende a corregir el desequilibrio energético, causa de la enfermedad. Sin menospreciar estos conceptos, creemos que la línea a seguir estriba en hacer más asequible la terminología de la Acupuntura a los occidentales, para que el análisis de los resultados se ajuste a criterios racionales e inteligibles para otros profesionales de la Medicina.

Podemos afirmar que la Acupuntura partiendo de principios ancestrales, puramente empíricos, ha sabido proyectarse diáfananamente a través de los siglos, siendo a las puertas del siglo XXI un punto de atención en la investigación de vanguardia en el terreno de la Terapéutica y la Neurobiología.

Entremos a describir los hitos históricos que jalonan el largo camino seguido por la Acupuntura hasta nuestros días.

Para conocer la fecha real de la aparición de esta técnica tendremos que hacer uso de los métodos históricos habituales, como son las fuentes bibliográficas y la opinión autorizada de los sinólogos e investigadores al respecto.

Dada la antigüedad de la cultura china, su historia se pierde en la noche de los tiempos, sin embargo su excepcional cultura ha generado uno de los alfabetos más ricos del mundo. Los ideogramas chinos permiten estudiar el origen de una palabra y su situación histórica. Así a través de la palabra Acupuntura tendremos una aproximación a la fecha de sus inicios.

Los ideogramas que han venido representando a la aguja de Acupuntura, enunciados por orden de antigüedad son los siguientes.

TCHENN: aguja, aplicada tanto al uso doméstico, como terapéutica, se representa ideográficamente por " bambú sobreafilado " lo que demuestra indirectamente que la Acupuntura comenzó a practicarse utilizando astillas de bambú , así y según algunos autores, la Acupuntura se empezó a utilizar antes de la Edad de Piedra. Huard, P., Wong, M. (1959).

En orden cronológico (aproximadamente en el siglo 28 a. de J.C.) aparece otro nuevo ideograma:

PIENN-CHENN: que podemos traducir por " aguja de piedra".

Por último el ideograma actual referido a la aguja de Acupuntura, se representa por " metal afilado " ,y aparece por primera vez descrito en el Nei-King-Ling-Shu, atribuido al Emperador Amarillo, en cuyo primer capítulo se dice:

"El pueblo a menudo está enfermo. Absorbe sin ton ni son tisanas y productos tóxicos, que no les alivian ni los punzones de piedra. Deseo que sea tratado con las misteriosas agujas de metal con las que se dirige la energía." (Hoang-Ti, sin datar).

Estas agujas de metal han ido cambiando su composición con el paso de los siglos, pasando del cobre al bronce, oro, plata y hierro. Curiosamente, parece seguir la evolución del Neolítico y la Era de los Metales. Soulié de Morant, G. (1972).

Respecto al enclave geográfico en el que aparece la Acupuntura, parece lógico situarlo en el Sur de China, próximo al río progenitor de la cultura de este país, el Valle del Río Amarillo. Baptiste, R. (1962). Desde este valle, la cultura de China se extendió hacia otros pueblos de manera pacífica a través de la Ruta de la Seda. Este trayecto sirvió de cauce para el intercambio comercial y cultural. Esta ruta, cauce de ideas, técnicas y religiones, se extendía desde el Valle del Hong-go (Río Amarillo), donde se situaba SIN-GAN (antigua capital de China) para dirigirse hacia Afganistan, Persia y Asia Menor (costas de Siria), atravesando los valles de los grandes ríos, Ganges e Indo, y la Meseta de Iran. Esto nos lleva a contemplar a la cultura china como un foco permanente de influencia sobre todo el Oriente, lo que indirectamente favoreció la propagación de la Acupuntura. Nedham, J., (1956).

Para el estudio de los principales personajes históricos de la Acupuntura seguiremos el siguiente esquema:

Alta Antigüedad y Período de los Mitos.

Período de las Grandes Dinastías:

Período de las Primaveras y Otoños (770 a. de

J.C.)

Hann (s. III a. de J. C. al III después de

J.C.)

Tsiun y Oé (del s. III al s. VI d. de J.C.)

Soé y Trang (del s. VI al X)

Iuann (s. XIV)

Ming (del s. XIV a mediados del XVIII)

Tsring (del s. XVIII al XX)

Período de la República o China Contemporánea

Período de la República Popular.

ALTA ANTIGUEDAD . LOS MITOS

Corresponde al período previo a la creación del Estado Chino tal como lo conocemos históricamente, es decir anterior a la aparición de las dinastías.

Aparecen ,en esta etapa, tres personajes relacionados, directa o indirectamente, con la Acupuntura y de cuya existencia real no queda más que la tradición oral. Se les denomina como "Los tres Augustos Conductores" y son :

FU-HI: se le atribuye haber redactado el I-CHING o Libro de las Mutaciones, que se considera el libro chino más antiguo y cuyo primer ejemplar se escribe en la dinastía Chu en los siglo del IX al VIII a. de J.C. (Baptiste, R., 1962).

En este libro se sientan las bases del principio binario, sustento de la teoría de la Acupuntura y la filosofía china.

CHEH-NONG: Es venerado en China como el "Emperador Rojo", patrón de la farmacopea y la herboristería . Existe una farmacopea que lleva su nombre , editada por la dinastía Han (s. IV a. de J.C.) donde se citan 365 medicamentos. Lavier, J. A., (1966).

HOANG-TI: se le conoce como el Emperador Amarillo, y a él se le atribuye el haber redactado el libro titulado "Canon de lo Interno" o NEI-KING-LING-SHU, donde se perfilan las líneas doctrinales de la Acupuntura. Se compone de dos partes : el LING-SHU (Tratado de Acupuntura) y el SO-WEN (Libro de las Preguntas Sencillas). No es probable que fuera escrito en una época tan remota , pero sí es uno de los libros mas antiguos sobre medicina que existe en el mundo. Hay que tener en cuenta que los caracteres médicos chinos se remontan al siglo XIII a. de J.C. Beau,G., (1965).

PERIODO IMPERIAL O DE LAS GRANDES DINASTIAS

Previa a esta época se sitúa un periodo intermedio conocido como de las Primaveras y los Otoños, en el que destaca un médico singular, PIEN-TSIO quien escribió el NAN-KING o Libro de las Cuestiones Fáciles donde se describe el método diagnóstico chino a través de los pulsos. Huard, P., Wong, M. (1959).

DINASTIA HAN: la figura mas eminente en este periodo es HUA-TO, cirujano dotado de una increíble habilidad, y que utilizaba las agujas de Acupuntura para sus anestésias, ayudandose del cáñamo indio. Tambien en este ciclo se sitúa la figura estelar de CHAN-CHON-KIN (el Hipócrates chino) quien escribió el CHANG-HAN-LUEN (Tratado del Frío Nocivo, que incluye las "Recetas del Libro de oro" , obra tan importante como el Nei-King.) Lavier, J.A., (1964).

DINASTIAS TSIN Y OE: WAN-FU-MI escribe el Libro de las Verdades, donde se describen con todo detalle los mismos puntos de Acupuntura que hoy conocemos. Por su parte WAN-SHU redacta el MO-KING (obra fundamental de la esfigmología china).

DINASTIAS SOE Y TRANG: WAN-PING, desarrolla parte del So-Wen.

DINASTIA SONG: WAN-WEI-YI es un personaje muy interesante, escultor, médico, arquitecto, etc..es a él a quien se le atribuye el haber diseñado y construido un "Hombre de Bronce" sobre el que los alumnos aspirantes a acupuntores eran examinados.

DINASTIA YUAN: en este período China es invadida por los pueblos mongoles. Hambre y grandes devastaciones, diezman la población, reduciéndola hasta la mitad. Esto contrasta con la visión que nos da Marco Polo en sus memorias que presenta a una china mongolizada, culta y en paz.

Al respecto, señalar que Soulié de Morant le atribuye esa misma calidad referente a la situación política y cultural. Soulié de Morant, G., (1972). Al desaparecer la influencia de los mongoles, se instaura el Colegio Imperial de Medicina.

DINASTIA MING: destaca el médico LI-CHE-CHEN, quien redacta una Enciclopedia de Patología Médica que se traduce a todas las lenguas orientales. En el periodo OAN-LI de esta dinastía, YAN-KIEU-CHE (conocido como TSI-CHE , "el que viene en ayuda de su época",) escribe la monumental obra de Acupuntura

conocida por el TA-TCHRENG. Maspero, H., (1965)

DINASTIA TSUNG O MANCHÚ: Periodo turbulento que precede al advenimiento de la Republica, en el que destaca WANG-SIN-YEN , quien en 1831 escribe un tratado de corrección de errores medicos, y CHEU-SIEN quien redacta una obra titulada, "Estudio fácil de las Agujas y de las Moxas" en dos volúmenes. Soulié de Morant, G., (1972).

PERIODO REPUBLICANO (1912-1948)

El Dr. SUN-YAT-SEN, formado a la occidental, accede al poder como primer Presidente de la República. Su formación médica y el rechazo hacia todo lo que se relacionaba con las dinastías precedentes, le lleva a prohibir la Acupuntura oficialmente, aunque se seguiria practicando clandestinamente.

PERIODO DE LA REPUBLICA POPULAR (1948-) Con la

culminación de la Revolución , MAO-ZE-DONG instauro el régimen comunista y se autoriza la práctica de la Acupuntura y la Medicina Tradicional China. Hay en este periodo un hecho significativo respecto a explicar éste cambio de los dirigentes chinos. Durante la "Larga Marcha" MAO prometió un impulso de la Sanidad en China (más medicos a la occidental), pero las cifras era elocuentes, en 1950 existian en todo el Estado Chino 41400 medicos a la occidental frente a 500000 medicos tradicionales, lo que unido a la ayuda recibida durante la Revolución por parte del Ejército Popular de esos mismos medicos tradicionales, lleva a la

oficialización de la Medicina Tradicional China en igualdad de trato con la occidental. Las iniciales, y a la vez seculares, rencillas entre médicos a la occidental y tradicionales se zanjaron en 1954 con la creación de la Asociación Médica China que englobaba a los dos tipos de Medicina, a la vez que ponía en marcha un plan de cooperación de médicos tradicionales en Hospitales chinos. Huard, P, Wong, M., (1964).

LA ACUPUNTURA EN OCCIDENTE

La Acupuntura, ha recibido su nombre latino (de Acus= aguja), de manos de los padres jesuitas enviados a China en la Misión Científica Francesa de Pekín promovida por Luis XIV. El término chino que define la Acupuntura se traduce por "Aguja de Metal y Fuego". La palabra "Fuego" hace referencia al uso de la "Moxa" (del japonés Mogusa) que consiste en el calentamiento y/o cauterización de los puntos de Acupuntura por medio de la planta desecada, "Artemisa Sinensis". Las primeras referencias del uso de la Acupuntura en Occidente son las siguientes.

1671: P. HARVIEU, jesuíta, publica en Grenoble : "Les Secrets de la Médecine des Chinois , consistant en la parfaite connaissance des pouls, envoyés de la Chine par un Français , homme de grand mérite".

1682: A. CLEYER publica en Francfurt la obra del misionero jesuíta polaco MICHEL BOYM "Specimen medicinale, sive opuscula medica ad mentem sinensium".

1683: THEN RYNE cirujano holandés, publica en Londres "Dissertatio de artritide mantifa schematica de acupunctura" en el que hace referencia al tratamiento de la gota por Acupuntura.

1735: DU HALDE escribe el tratado "Descripción geográfica del Imperio Chino", donde menciona la Acupuntura.

1816: **BERLIOZ** padre del famoso músico, escribe una "Memoria sobre Acupuntura".

1825: Dr. **DE LA SARLANDIERE** escribe "MEMORIA SOBRE LA ELECTROPUNTURA Y EL EMPLEO DE LA MOXA JAPONESA EN FRANCIA" que según parece es el primer antecedente de la E.A.A.

1826: **J. CLOQUET** parece que practicó la Acupuntura con gran éxito clínico, lo que le llevó a escribir un Tratado de Acupuntura.

1826: **DANTU** de **VANNES** publica un Tratado de Acupuntura y lleva su experiencia al seno de la Academia de Medicina de Francia , lo que lleva a interesarse por la Acupuntura en el tratamiento del dolor a grandes celebridades médicas como; **LAENEC**, **TROUSSEAU**, **BRETONNEAU** etc...

1836: **DABRY DE THIERSANT**, ex-consul de Francia en China publica "La Medicine des Chinois".

1929: **GEORGES SOULIÉ DE MORANT** irrumpe en Francia con el mayor bagaje de conocimientos de Acupuntura que jamás alcanzara un occidental, consul de Francia en Shangai y Yunnan a edad muy temprana, con exacto dominio de varias lenguas chinas, tuvo a dos de los grandes maestros de fin de siglo, Yang y Kao, de quienes recibió información extensa y profunda de la Acupuntura. Tal fué la maestría que adquirió que fué nombrado Caballero de la Orden del Botón de Coral Cincelado (equivalente a Académico). A su regreso a Francia publicó su monumental tratado "L'Acupuncture Chinoise" y su tratado menor "Precis de la Vraie Acupuncture". Baptiste, R., (1962)

Formó a la mayoría de los introductores de la Acupuntura en el terreno de la Medicina Occidental (Chamfrault, De la Fuye, Niboyet, todos eminentes clínicos).

LA ACUPUNTURA EN ESPAÑA

1575: MIGUEL DE LOARCA , escribe "Verdadera relación de la grandeza del Reino de la China" con comentarios a la técnica de las agujas.

1585: FRAY GONZALEZ DE MENDOZA , se refiere a la Acupuntura en su libro "Historia de las cosas mas notables, ritos y costumbres del Gran Reino de la China".

1936: J. FERRAN publicó su libro titulado "La Acupuntura en la practica Médica". Alvarez Simó, E., (1973).

Hacemos referencia en todo este capítulo a la relación entre E.A.A - Analgesia - Metencefalina - Inmunocitoquímica - Médula cervical del gato, motivo de nuestra Tesis Doctoral. Pero ¿Cual es la importancia de las Encefalinas?, ¿Cual es su origen?, ¿Que papel desarrollan?

Hablar de las Encefalinas nos lleva a hacer referencia inicial al opio, *Papaver somniferum*, la planta de cuyo cultivo nace el punto de partida de la carrera por la fabricación de los analgésicos más potentes conocidos, los opiáceos.

En 1803, Seturner, aísla por primera vez la estructura química de la morfina, alcaloide natural del opio presente en él en un 4 a 23%. Desde esta etapa inicial se han aislado no solo derivados de la morfina sino grupos de moléculas penta y hexacíclicas , alcaloides naturales y sintéticos, etc... Flórez, J., y Martínez Lage, I.M., (1985).

El descubrimiento de la estereoespecificidad de la molécula de morfina induce a pensar en la existencia de un enclave específico a nivel celular, que permita la interacción de la molécula. Se propone entonces la relación receptor-efector molecular en relación a los opiáceos. Esto último sucede de manera cuasi simultánea en varios laboratorios del mundo:

PERT, C.B. & SNYDER , S.H. (1973) por medio de la naloxona.

SIMON, E.J., HILLER, J.M. & EDELMAN, I. (1973) con la etorfina.

TERENIUS, L. (1973) con la dihidromorfina.

Estos tres descubrimientos demuestran el receptor opiáceo.

Los receptores opiáceos se encuentran a nivel de la membrana celular, y se clasifican de manera clásica en tres grupos, Martin, W.R., et al. (1976):

μ localizado en diversas estructuras en proporciones diferentes (alta en la sustancia gelatinosa de Rolando)

κ (interaccionan con un análogo como la Ketociclazocina)

δ (de alta concentración en sustancia gelatinosa de Rolando).

Kosterlitz H.W. & Waterfield A.A. (1975) con métodos "in vitro" analizan la estructura del receptor y añaden una nueva visión de los receptores (utilizando antagonistas puros).

¿Que función tienen los receptores ?

(TABLA I). Técnicas de marcaje han permitido asignar a la localización del receptor el posible mecanismo. Goldstein, A. (1976), Snyder, S.H., (1980).

En 1975 se produce un descubrimiento revolucionario que sacude a los científicos interesados en las Ciencias Neurobiológicas: HUGHES trabajando en el Laboratorio de Kosterlitz, describe haber aislado una molécula procedente de tejido cerebral del cerdo con comportamiento morfínomimético. Hughes, J. (1975). Ese mismo año el equipo anterior describe dos pentapéptidos con actividad agonista morfínica. Hughes, J. et al. (1975).

TABLA ILOCALIZACION Y FUNCIONES
DE LOS RECEPTORES OPIACEOS (**)

LOCALIZACION	FUNCION
Médula Espinal	
Láminas I/II	Percepción del dolor corporal
Tronco Cerebral	
S.G. del tracto espinal del V par.	Percepción del dolor céfalico
N. Tracto Solitario- N. Comisural-N. Ambiguo.	Depresión respiratoria, actividad antitusígena, reflejos vagales, hipotensión ortostática, ↓ secreción gástrica.
Area Postrema	Náuseas y vómitos.
Locus Coeruleus	Euforia.
Hábenua, N. Interpeduncularis, Fásciculo retroflexo.	S. Límbico: emociones, euforia
T. Cúadrigemino superior, N. Ventral del cuerpo geniculado lateral.	Miosis
Sustancia gris periacueductal.	Percepción del dolor.
Diencéfalo	
Infundíbulo.	Secreción de ADH, efectos hormonales.
Pars lat. N. talámico medial, láminas tálamicas: externa e interna.	Percepción del dolor.
Centrum Medianun. N. Paraventricular.	
Telencefalo	
Amígdala	Efectos emocionales.
Caudado, Putamen, Globus palidus, N. Accumbens.	Rigidez motora.
Organo subfornical	Efectos hormonales.
N. Intersticial de la stría terminalis.	Efectos emocionales.

(*) Snyder, S.H., (1980) [modificado por Florez, J., (1981)].

Las dos moléculas aisladas reciben los nombres de Metionina-Encefalina y Leucina-Encefalina, con una estructura pentapeptídica (de 5 Aminoácidos) con una diferencia en el aminoácido terminal: Bellet, M., Elghozzi, J.L. (1980)

TYR-GLY-GLY-PHE-MET (Met-Encefalina)

TYR-GLY-GLY-PHE-LEU (Leu-Encefalina)

Desde entonces se han aislado más de 30 Péptidos Neurotransmisores o Neuropéptidos. Iversen, L.L. (1983) (TABLA II)

Estos neuropéptidos coexisten con otros Neurotransmisores clásicos del SNC y en la misma neurona, en contra del principio de Dale. Hökfelt T. et al., (1980).

El origen de estos péptidos opiáceos endógenos está en grandes precursores proteicos como la β -Lipotropina, Olson, G.A. et al., (1981):

PRO-OPIOMELANOCORTINA \Rightarrow β -Endorfina/ACTH/MSH y otros

PROENCEFALINA-A \Rightarrow Met-Encefalina/Leu-Encefalina

PROENCEFALINA-B \Rightarrow Leu-Encefalina/Dinorfina

En 1976, se determinó la estructura primaria de la β -Lipotropina humana. Hao Li, C. (1976).

TABLA II**NEUROPEPTIDOS**
(Iversen, L.L., 1983)**PEPTIDOS HIPOFISARIOS**

Corticotropina (ACTH)
 H. del crecimiento (GH)
 Lipotropina
 Hormona α -estimulante
 de los melanocitos (α -MSH)
 Oxitocina
 Vasopresina

HORMONAS CIRCULANTES

Angiotensina
 Calcitonina
 Glucagón
 Insulina

HORMONAS DIGESTIVAS

Polipéptido pancreático
 avícola
 Colecistocinina (CCC)
 Gastrina
 Polipéptido pancreático
 Secretina
 Substancia P
 Polipéptido intestinal
 vasoactivo

PEPTIDOS OPIACEOS

Dinorfina
 β -Endorfina
 Met-Encefalina
 Ciotorfina
 Leu-Encefalina

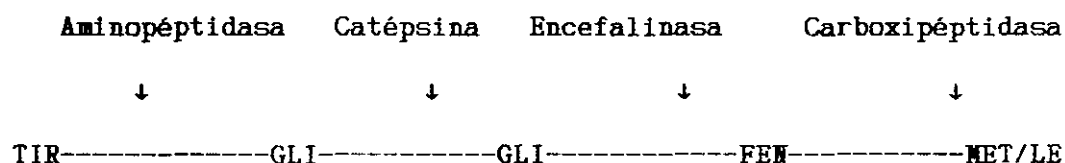
HORMONAS LIBERADORAS HIPOTALAMICAS.

H. Liberadora de la H.
 Luteínica (LHRH)
 Somatostatina
 H. Liberadora de la
 tiotropina (TRH)

OTROS PEPTIDOS

Bombesina
 Bradicinina
 Carnosina
 Neuropéptido Y
 Neurotensina
 Proctolín

Los opiáceos se sintetizan por rotura enzimática de los "precursores proteicos" de los que derivan , estas enzimas (tripsina, y carboxipéptidasas rompen los enlaces dando lugar a péptidos de pequeño tamaño), una vez sintetizado el péptido activo, la degradación enzimática del mismo se produce según la siguiente reacción, Yaksh, T.L., (1987):



En cuanto a las acciones de estos opiáceos es curioso observar como en años anteriores a su descubrimiento, Reynolds, D.V., (1969), comprueba que la estimulación eléctrica de la Sustancia Gris Central de la rata provocaba una analgesia equivalente a la administración de morfina. Los péptidos opiáceos son los responsables de la comunicación de muchas neuronas. Se sintetizan en el interior de las neuronas y se acumulan en el interior o las prolongaciones de las mismas. El fenómeno de la estimulación de una de estas Neuronas Peptidérgicas seguiría el siguiente esquema, Hökfelt T. et al., (1980):

La concentración de K^+ extracelular (Calcio-dependiente), provoca la liberación del péptido que está almacenado en vesículas.

Inmediatamente se produce la conversión enzimática, el transporte axonal y la liberación en la hendidura sináptica sin "reuptake" como sucede en los clásicos neurotransmisores.

El contacto entre el opiáceo y el receptor de la otra neurona se expresa funcionalmente como excitación o inhibición. Este comportamiento dual ha llevado a considerar dos sistemas de opiáceos:

Encefalinérgico: a nivel de médula y cerebro.

Endofinérgico: En las proximidades del N. Arcuatus, Hipotálamo y N. Cerec.

Los péptidos opiáceos se aíslan en más de una región del organismo aparte del S.N.C., en concreto en la médula suprarrenal, hipófisis etc... Knigge, K.M., Joseph, S.A., (1984).

Respecto a la función específica de los opioides endógenos, parece seguirse la tendencia de considerar a éstos con los mismos efectos que los mórficos exógenos. Peralta, C.E., Gelpi, M.E. (1983).

Fundamentalmente se les considera unidos a la neuromodulación del dolor, y en concreto a la Met-Encefalina se le asigna un papel inhibitorio de las vías nociceptivas. Nicoll R.A. et al., (1980).

Respecto a la tecnología que ha hecho posible la localización y estudio de los neuropéptidos diremos que varios son los métodos que se han venido utilizando: el radioinmunoensayo, la autorradiografía, et..., pero todas las técnicas histoquímicas se han revolucionado con la aparición de la inmunocitoquímica. El método de Coons marcó un hito que abrió las puertas a todo un nuevo mundo dentro de la biología celular, pero la falta de estabilidad permanente de las muestras y el costo del equipo de detección de fluorescencia obligaron a la búsqueda de nuevos métodos, en ese camino se encontró la Inmunocitoquímica (técnica de revelado de antígenos tisulares por inmunoperoxidasa ideado inicialmente por Stenberger en 1969) que presenta la fiabilidad máxima con la desaparición de los inconvenientes de la fluorescencia. Montero, C., (1981). En estos últimos años se han ido desarrollando técnicas cada vez más específicas con anticuerpos purísimos e incluso por medio de hibridomas y anticuerpos monoclonales específicos. Milstein C. & Cuello A.C., (1983).

Haciendo recapitulación de lo que hemos visto hasta ahora, creemos llegado el momento de, a modo de síntesis, presentar las razones de la elección que hemos realizado:

EL GATO: Es de todos los animales utilizados en el laboratorio el que más estudios neurobiológicos presenta en relación a las vías nociceptivas. Las más modernas técnicas de identificación de estructuras a nivel de la médula se han realizado sobre el gato, Rexed, B. (1952), y además existen trabajos equivalentes en condiciones normales realizados en este animal. Glazer, E.J., Basbaum, A.I. (1981). Conrath-Verrier, M. et al. (1983).

La E.A.A.: Porque son múltiples los trabajos relacionando la analgesia por E.A.A con los opioides endógenos. Hyodo, M. et al. (1976), Gonzalo, L.M., (1979), Muñoz, M., (1986), Morgado, A., (1987) y Valseca, F.J. (1988). Además por disponer de la cartografía para la Acupuntura de varios animales, entre ellas la del gato. Rubin M., (1976). Klide, A., Kung, S. (1977), Chang, C.C., (1980). Milin, J., (1980). Y tener acceso a las técnicas de E.A.A. Chu, L., Y. (1972), Boureau, F., Willer, J.C. (1982).

La MEDULA: Por ser sus astas posteriores, el enclave decisivo de las vías de transmisión del dolor y a la vez estar implicado en la modulación del mismo. Wall, P.D., (1967).

La INMUNOCITOQUIMICA: Por ser el método de constatación

más fiable, ya demostrado con anterioridad. Conrath, M. et al., (1983). Muñoz, M., (1986). Morgado, A., (1987) y Valseca, F.J., (1988).

La MET-ENCEFALINA: Por ser un neuropéptido fundamental en la moderna Neurobiología y una de las piezas clave de la Biología Molecular.

Así pues, de la imbricación de de estos cinco factores o parámetros empleados con todo rigor metodológico, pretendemos confirmar los siguientes hechos que planteamos en hipótesis con el objetivo de elevarla a la categoría de Tesis:

La E.A.A. de baja frecuencia **modifica** la estructura del el sistema met-encefalinérgico (sommas o fibras y terminales) a nivel de la médula cervical del gato.

Nuestro particular concepto de lo que es una Tesis Doctoral se ha ido modificando a lo largo del recorrido que hemos realizado en nuestro trabajo. Tantos han sido los elementos circunstanciales que han rodeado nuestra tarea que es casi imposible poder reflejarlos en todo su contenido , pero hay uno en concreto que no nos resistimos a exponer. Cuando iniciamos los trabajos preliminares para preparar esta Tesis , teniamos la idea arraigada de que el objetivo, fin último concreto y medible, era demostrar lo que se afirma en hipótesis. Pues bien, curiosamente tenemos que afirmar de entrada que la realización de una Tesis nos trae aparejado el descubrimiento de lo que significa la Tesis en si misma . Se trata desde nuestra perspectiva , de una via de perfeccionamiento en la metodologia científica. Es ni más ni menos , una escuela de "método", que deja una impronta definitiva en la posterior práctica clínica y sobre todo en la propia vida del doctorando. Estamos pues ante un camino en lo científico , en lo personal y humano, en el que descubrimos el potencial del método en la Ciencia y simultaneamente los valores humanos de quienes nos rodean en la tarea.



En mi caso particular hay dos hechos con ese carácter humano que no deseo dejar de mencionar. De un lado he comprendido la enorme responsabilidad de quien asume la tarea de ser Director de una Tesis, responsabilidad y sacrificio que no tienen otra justificación si no es por el profundo amor a la Ciencia y a la verdad, lo que se resume en la figura del Prof. Vázquez Tapioles, quien me ha hecho confirmar mi concepto de "Maestro", como el de ser no sólo transmisor de conocimientos y métodos, sino quizás lo más importante, el ser ejemplo de una forma de entender la vida y hacer participe al discípulo de una visión del orden y prioridad de conceptos fundamentales en lo humano y en lo moral.

De manera simultánea, hemos apreciado muy vivamente el concepto de colectividad científica, el sano espíritu de colaboración y compañerismo, plasmado en nuestro caso por la ayuda recibida de manera particular por nuestros queridos amigos los Drs. Muñoz , Morgado y Valseca.

Estas "circunstancias" han hecho posible nuestro trabajo, ya que su positivo aspecto ha sido capaz de amortiguar y anular las dificultades y contrariedades de indole material que todos hemos soportado. Como dice U. Eco: "Se puede aprovechar la ocasión de la Tesis (aunque el resto del periodo universitario haya sido desilusionante o frustrante) para recuperar el sentido positivo y progresivo del estudio, no entendido como una cosecha de nociones , sino como una elaboración crítica de una experiencia , como adquisición de una capacidad , para localizar los problemas, para afrontarlos con nuevo método..." (Eco, U., 1983).

**CONSIDERACIONES
ANATOMO-FUNCIONALES**

La Médula Espinal, del Latin "medulla", meollo, túetano, lo más interno. y "spinalis", espina, referida a la dorsal, es desde el punto de vista filogenético, la porción más antigua del neuroeje, a la vez que la mas sencilla desde el punto de vista funcional. Todos los elementos suprayacentes, cuyo conjunto constituyen el encéfalo, significan complementos y perfeccionamientos sucesivos que se han ido desarrollando a medida que el individuo ha ido elevandose en la escala de los vertebrados. Delmas, A. (1976).

La forma de la médula espinal deriva directamente de su estructura. (Jimenez-Castellanos, J., 1975). Se trata de un tallo cilíndrico, ligeramente aplanado, ya que su diámetro transversal es mayor que el anteroposterior. Ocupa la casi totalidad del conducto raquídeo. Respecto a la ocupación del conducto raquídeo, ésta se va modificando en el desarrollo del feto, hasta el tercer mes de la vida intrauterina, la médula espinal es tan larga como el conducto, de ahí en adelante, la columna vertebral se alarga más rápidamente que la médula espinal, hasta que al final del quinto mes fetal, el extremo de la médula está al nivel de la base del sacro. Aproximadamente cuando ocurre el nacimiento, la médula se extiende hasta cerca del tercer segmento lumbar. Chusid, J. (1983).

A todo lo largo de su superficie, presenta un color blanco siendo su consistencia blanda.

La Médula se extiende en longitud, desde el atlas, a nivel del borde superior, hasta el borde inferior de la primera vertebra lumbar (o borde superior de la segunda lumbar).

Topográficamente, en la médula pueden distinguirse numerosos segmentos:

- Un segmento superior, de forma cilíndrica y muy corto que sigue al bulbo.

- Un ensanchamiento superior, o engrosamiento cervical, que se origina a expensas de la presencia a dicho nivel del origen de los nervios espinales del miembro superior. Se detecta desde la quinta metámera cervical, hasta la primera torácica, siendo su anchura máxima la que se sitúa a nivel del sexto segmento medular cervical.

- Un segmento torácico, con un diámetro cilíndrico regular entre las metamerias segunda y novena torácicas.

- Un engrosamiento lumbar que representa la existencia a dicho nivel de los nervios raquídeos del miembro inferior, extendiéndose desde la primera metamera lumbar, hasta la tercera sacra. Según otros autores el segmento va desde la novena dorsal hasta la primera lumbar. Bouchet, A., Guilleret, J. (1978). Dicho segmento presenta su máximo diámetro a nivel del doceavo mielomero dorsal, donde se inicia un estrechamiento progresivo denominado como medular, o terminal, cuyo vértice es un filamento constituido por tejido conectivo fibroso llamado, filum terminale que continúa la médula hacia abajo, prolongado a su vez por el ligamento coxígeo, que va desde el vértice hasta la cara dorsal del primer segmento coxígeo. (Gray, H., et al., 1985).

De la morfología externa medular sobresale de manera notoria la presencia , a lo largo de su longitud, de una serie de surcos y fisuras de notable significación anatómica.

Sobre la línea media, un surco profundo, el surco mediano anterior, o fisura mediana anterior, que recorre la casi totalidad de la longitud de la superficie ventral de la médula espinal y cuya profundidad va aumentando de manera progresiva, conforme avanza caudalmente. Está limitado en profundidad por una cinta transversal: la comisura blanca anterior, constituida por una lámina de fibras nerviosas, situada dorsalmente a una malla de piamadre.

Las ramas perforantes de los vasos espinales pasan desde la fisura , a través de la comisura, para irrigar la región central de la médula.

Por fuera de este surco se sitúa un cordón longitudinal de color blanquecino llamado cordón anterior, que medial a la zona de emergencia de las raíces anteriores , las incluye en su espesor.

El surco mediano posterior es menos profundo que el anterior, de él parte un delgado tabique sagital de neuroglia (tabique mediano posterior o septum), que va mas allá del grosor medular, llegando casi a alcanzar el conducto central ependimario. La extensión anteroposterior de este tabique va menguando cuanto más descendemos caudalmente, ya que se hace mas posterior el conducto central y disminuye el diámetro medular. Gray, H. et al. (1985).

A ambos lados y a poca distancia del surco mediano posterior existe un surco posterolateral (surco colateral posterior), por el que penetran las raíces posteriores espinales. La sustancia blanca comprendida entre los surcos medianos posterior y posterolateral, a ambos lados de la línea media, constituyen los cordones posteriores. A nivel torácico y cervical superiores, la superficie de los cordones posteriores es atravesada por un surco denominado intermedio posterior, constituido por un tabique que se extiende en el espesor del cordón posterior, dividiéndolo en dos haces de fibras, uno de situación medial, el llamado fascículo gracilis, delgado o de Goll, y otro de situación más lateral, denominado fascículo cuneatus, cuneiforme o de Burdach. Perez-Casas, A., et al. (1977).

La porción de la médula comprendida entre el surco posterolateral y la fisura mediana anterior constituye el cordón anterolateral, que se divide por la entrada de las raíces de los nervios espinales. El cordón lateral se sitúa entre las raíces y el surco posterolateral.

En los segmentos cervicales más altos, las raíces emergen a través del cordón lateral (a ambos lados de la médula) para formar la porción espinal del nervio accesorio. Estas raíces que se agrupan en un pequeño cordón, ascienden por el conducto vertebral, flanqueando lateralmente a la médula, penetrando en la fosa posterior del cráneo a través del agujero occipital.

Estas fibras, inervan el Esternocleidomastoideo y Trapecio, y constituyen el nervio espinal (XI par), que abandona la base del cráneo por el agujero rasgado posterior.

La región más distal medular se prolonga por el filum terminale, como ya hemos mencionado, constituido por un filamento de tejido conectivo en su porción más caudal (filum terminale internum). Está rodeado por una expansión tubular de aracnoides y duramadre que se continua con el llamado filum terminale externum, unido a una vaina de duramadre.

En el filum terminale internum persiste conducto medular y una porción de espacio subaracnoideo amplia. El filum terminale, se inserta en el coxis acompañado en su trayecto por las raíces espinales, dentro de la teca espinal, lo que constituye en conjunto la denominada cola de caballo. Gray, H. et al. (1985).

Continuándose con la médula espinal y a intervalos regulares, a ambos lados y a lo largo de la misma aparecen los pares de raíces de los nervios raquídeos, evidenciando la general disposición metamérica del organismo. El conducto raquídeo es más amplio que su contenido medular y por lo tanto las raíces más caudales descienden en longitud variable de manera paralela a la médula para encontrar su agujero de conjunción, mientras que divergen por debajo del cono medular.

En su trayecto en el interior del conducto raquídeo las raíces y los nervios espinales están como la médula, envueltos por las formaciones meningeas. Al igual que las meninges craneanas, de las que son continuación, las cubiertas meningeas raquídeas comprenden:

DURAMADRE

Constituye un estuche cilíndrico en el interior del conducto vertebral, del que se separa por un espacio denominado epidural, que llega hasta la segunda o tercera vertebra sacra. Este hecho contrasta con la diferencia entre el nivel medular que no supera la segunda vertebra lumbar, de aquí que exista un verdadero fondo de saco de duramadre en la parte inferior que contiene a los elementos radiculares de la cola de caballo y cuya extremidad forma una vaina al filum terminale que con el nombre de ligamento coxigeo se fija a la parte posterior del coxis.

Sus relaciones son importantes:

Hacia atrás: la cara posterior de la duramadre la separa nítidamente del conducto raquídeo por el espacio epidural.

Hacia adelante: la cara anterior recibe y presenta adherencias con el ligamento vertebral común posterior, que en la parte inferior, en el canal sacro, se transforman en un tabique medial, el denominado ligamento sacrodural de Trolard-Bouchet, A., Guilleret, J., (1978).

Hacia arriba: la duramadre se fija solidamente al axis por la cara posterior del cuerpo del mismo, a la vez que al borde del agujero occipital, donde inmediatamente por debajo presenta dos orificios laterales para permitir el paso de las arterias vertebrales.

Bilateralmente: la duramadre forma una vaina que engloba a las raíces y el nervio raquídeo mismo, fijandose al periostio marginal de los agujeros de conjunción. Antes de la unión de las raíces para formar el nervio raquídeo y en el interior del agujero de conjunción, la vaina de duramadre emite un tabique que separa a ambas raíces.

PIAMADRE

Es una membrana delicada y muy vascularizada, formada por bandas de tejido conectivo y una capa superficial de mesotelio, Greep, R.O., Weiss, L. (1975). Forma en la parte inferior del bulbo y de la médula una vaina cilíndrica que se adhiere a la superficie del tejido nervioso. Tapiza a toda la médula incluyendo a los surcos y fisuras, descendiendo profundamente por el surco medio anterior. Lateralmente emite el ligamento dentado, que se extiende desde cada superficie lateral de la piamadre, hasta insertarse en la superficie interna de la dura, por una serie de prolongaciones. Se confunde con el neurilema de las raíces, mientras que el ligamento dentado separa las raíces anteriores hacia adelante y las posteriores hacia atrás.

ARACNOIDES

Se trata de una cubierta en forma de "tela de araña" que se continua cranealmente por el agujero occipital y con la cisterna magna. Delimita el llamado espacio subaracnoideo que es mas amplio a nivel caudal en el saco dural . Estos espacios contienen L.C.R. y bañan las raíces y la cola de caballo y estan tabicados por el ligamento dentado . En los agujeros de conjunción emiten prolongaciones que acompañan a las raíces en el interior del saco dural.

Mención especial merece el espacio epidural , del que ya hemos hecho referencia, por ser peculiar y exclusivo de las meninges raquídeas, y a la vez por su utilidad terapéutica.

Este espacio se situa entre el saco dural y las paredes raquídeas. Se extiende desde el extremo inferior del conducto raquídeo hasta el agujero occipital donde es cegado por la adherencia de la dura al esqueleto, a este nivel. Es estrecho hacia adelante y lateralmente, por las adherencias de las vainas durales de las raíces. Sin embargo hacia atrás está muy desarrollado . El espacio es real y contiene un aglomerado de grasa fluida por donde discurren los vasos y plexos venosos intrarraquídeos. En la parte inferior de las raíces recibe una delgada vaina dural que marcha hacia los agujeros de conjunción (de tal manera que un anestésico local aplicado al espacio epidural difunde al territorio de las raíces, (fundamento de la anestesia epidural). Esta vía ha tenido un gran auge en el tratamiento del dolor crónico y terminal. Cousins, M., et al. (1984)

Pasamos a continuación a analizar las relaciones anatómicas del conducto raquídeo.

El conducto raquídeo esta formado por cuatro paredes:

- ANTERIOR -

Corresponde a las caras posteriores de los cuerpos vertebrales , reunidos en los discos intervertebrales y tapizada por el ligamento vertebral común posterior.

- POSTERIOR -

A dicho nivel la médula se relaciona con las láminas vertebrales unidas por el ligamento amarillo. La oblicuidad de las láminas vertebrales en la región cervical baja y dorsal cierra por completo el conducto raquídeo. Mientras que la disposición horizontal en la región cervical alta y lumbar sólo se cierra a expensas del ligamento amarillo.

- LATERAL -

Se corresponde con los agujeros de conjunción que responden a la salida de los nervios raquídeos cuyas paredes se forman a expensas de las caras axiales de los pedículos vertebrales a nivel de los cuerpos .

El agujero de conjunción deja pasar el nervio raquídeo , las venas anastomóticas de los plexos intra y extrarraquídeos , el nervio sinuvertebral y la arteria radicular, rama de las arterias intercostales y lumbares, según la altura.

A su vez, las relaciones del conducto raquídeo con el entorno son las siguientes:

Hacia adelante: la cara posterior de los cuerpos vertebrales y los discos intervertebrales.

Lateralmente: según el nivel

Cervical: con el canal transversario, por donde caminan los vasos vertebrales y los espacios intertransversarios.

Dorsal: con las articulaciones costotrasversas.

Lumbar: con apófisis transversas, psoas y cuadrado lumbar.

Hacia atrás: Se corresponde con la línea media de las apófisis espinosas , lateralmente a las partes blandas extrarraquídeas, representadas por:

Hacia arriba: Músculos de la nuca.

A nivel dorsal: Músculos de la región dorsal.

A nivel lumbar: Músculos sacrolumbares. Bou-

chet, A., Guilleret, J. (1978).



El sistema vascular de la médula participa del que se encarga de irrigar el conducto raquídeo. De manera esquemática, diremos que este sistema se compone de dos arterias principales y dos sistemas de vascularización.

La médula recibe el aporte arterial a expensas de las dos arterias espinales anteriores, ramas de las vertebrales . Estas arterias cruzan las caras laterales del bulbo , y se unen en la línea media al descender por el surco medio anterior, formando un tronco denominado tronco longitudinal espinal. Simultáneamente, y también procedentes de las vertebrales, aparecen las arterias espinales posteriores que descienden a ambos lados de la médula por los surcos laterales, a la altura de las raíces posteriores. A nivel más inferior , se encuentran las arterias radiculares metaméricas , que son derivadas de las lumbares, iliolumbares y sacras laterales, de las que por su mayor calibre se destaca la arteria radicular magna. Este sistema radicular se divide al penetrar por los agujeros de conjunción siguiendo el trayecto de las dos raíces . La rama anterior llega hasta la línea media y nutre al tronco longitudinal espinal anterior y las posteriores engrosan los troncos espinales posteriores del lado correspondiente.

A lo largo del recorrido de estas arterias se establecen permanentes anastómosis que podemos considerar como dos sistemas:

1- SISTEMA TRANSVERSAL

Se constituye a expensas de las arterias radicales que son responsables de un anillo vascular perimedular.

2- SISTEMA LONGITUDINAL

Originado por los troncos espinales anterior y posteriores que nacen de las ramas espinales anteriores y posteriores de las vertebrales.

Esta red vascular perimedular irregular determina la existencia de tres territorios arteriales:

Superior: dependiente de la vertebral.

Medio: dependiente de las intercostales inferiores y radicular magna (de Adamckievicz), Bouchet, A., Guilleret, J. 1978).

Inferior: depende de las arterias lumbares.

El sistema de retorno venoso se organiza a tres niveles:

- Intramedular -
- Intrarraquídeo -
- Extrarraquídeo -

A nivel intramedular los vasos se inician en la sustancia gris y de manera centrífuga se anastomosan formando la red perimedular que se reúne en seis troncos dirigidos longitudinalmente:

Tres de posición anterior: uno en el surco medio y dos a lo largo de las raíces.

Tres posteriores: uno en el surco medio posterior y dos en cada surco lateral posterior.

De los referidos troncos parten ramas transversas que tras atravesar los agujeros de conjunción se dirigen a los plexos extrarraquídeos.

A nivel intrarraquídeo, se sitúan:

Dos venas longitudinales, una en contacto con los cuerpos vertebrales y otra con las láminas.

Anastomosis horizontales, procedentes de la reunión de las venas longitudinales.

Venas de conjugación que drenan las venas medulares hacia los plexos extrarraquídeos.

A nivel extrarraquídeo, se constituye a expensas de dos redes:

Red anterior, recibe las venas de los cuerpos vertebrales y emite a las venas de conjugación.

Red posterior, se relaciona con las apófisis espinosas y las caras laterales de las láminas, es anastomótico del plexo intrarraquídeo.

Todo el sistema intra y extrarraquídeo drena a nivel de la región cervical en las venas yugulares posteriores y la vena vertebral , dorsalmente en la vena ácigos menor y mayor y en la región mas caudal en las lumbares , iliolumbares , sacras laterales y medias. Testut, L., Latarjet, A. (1976).

ESTRUCTURA INTERNA Y ORGANIZACION DE LA MEDULA ESPINAL

A la hora de orientarnos en el estudio a microscopía óptica de los elementos tisulares y organizativos de la médula espinal, nos parece fundamental, dar una visión de conjunto o resumen morfológico de un corte transversal teórico. Sobre este corte teórico, describiremos los elementos limitantes, la citoarquitectura de la sustancia gris, y la organización fibrilar de la sustancia blanca, para analizar por último la función de la sustancia gris y las vías nociceptivas.

La médula se encuentra dividida en dos mitades simétricas, derecha e izquierda, por los surcos:

- Medioventral (Fissura Mediana Anterior).
- Mediodorsal (Sulcus Medianus Posterior).

Cada mitad se subdivide, a consecuencia de la salida de las raíces a través de los surcos ventrolateral y dorsolateral, en tres cordones:

- Anterior (Funiculus Anterior).
- Lateral (Funiculus Lateralis).
- Posterior (Funiculus Posterior).

El cordón posterior se divide a su vez en dos cordones secundarios, por la presencia del llamado surco intermedio dorsal (Sulcus Intermedius Posterior), dichos cordones se sitúan , uno en posición interna , el Fascículo Delgado o de Goll (Fasciculus Gracilis), y otro en posición lateral , el Fascículo Cuneiforme o de Burdach (Fasciculus Cuneatus).

Si atendemos al aspecto macroscópico de este corte medular transversal teórico sobre el que venimos trabajando, veremos que se distinguen claramente dos zonas bien diferenciadas por el color, la Sustancia Blanca (Substancia Alba) de situación periférica, correspondiendo a los fascículos nerviosos (ascendentes, descendentes y asociativos), y la Sustancia Gris (Substancia Grisea) de situación central , constituyendo una columna aplanada que recorre toda la longitud de la médula espinal y modificándose en la zona de transición hacia el bulbo y en el cono medular.

DISPOSICION GENERAL DE LA SUSTANCIA GRIS

Vista la médula en un corte transversal, la sustancia gris aparece formada por dos masas paralelas en forma de coma, unidas por una comisura transversal que se encuentra atravesada por el conducto central o ependimario. El conjunto asemeja a la forma de la letra H mayúscula , teniendo sus masas laterales una tendencia a la concavidad de dirección lateral.

Para el análisis morfológico , se considera una porción anterior y otra posterior. en algunas zonas del recorrido medular aparece, de manera más o menos nítida , otra porción lateral. De manera clásica a cada una de las porciones se les ha denominado columnas . Debido a que en algunos niveles estas columnas se muestran afiladas es por lo que a menudo se les califica de "astas". Según algunos autores esta terminología es considerada pintoresca e incluso errónea e innecesaria por la constitución alargada y en forma de cinta del conjunto de la sustancia gris, por lo que consideran mas exacto llamarlas columnas.Gray, H. et al.(1985). Según éste último término de "columnas", podemos hablar de tres elementos constituyentes de la sustancia gris:

- Columna gris anterior o ventral.
- Columna gris posterior o dorsal.
- Columna gris intermedia o lateral.

En todo equivalente a las clásicas astas anterior, posterior y lateral, de los cánones anatómicos descriptivos.

COLUMNA GRIS ANTERIOR O VENTRAL

Corresponde al asta anterior, se proyecta ventral y algo lateral respecto a la comisura transversal. Es corta y gruesa en comparación con el grosor de la columna posterior, y no contacta con la superficie medular externa por la separación que le impone la presencia de la porción lateral del cordón anterior.

Funcionalmente representa la zona somatomotora , punto de partida de la neurona periférica que controla la musculatura estriada esquelética, cuyos axones forman los nervios motores. Recibe aferencias medulares reflejas de tipo segmentario, intersegmentario y las vias motoras suprasegmentarias(Via final común de Sherrington). Sus límites se describen como anterior o cabeza del asta y posterior o base .Delmas, A., (1976).

COLUMNA GRIS POSTERIOR O DORSAL

Se sitúa dorsolateralmente, es estrecha en su sección transversal y contacta con la superficie externa medular , en las proximidades del surco posterolateral del que la separa el haz dorsolateral. Se corresponde con el asta posterior. La base se continúa con la región gris intermedia. Así pues, esta columna puede describirse constituida por la ya referida base, un estrecho cuello que se continua con una porción oval o fusiforme (la cabeza), sobre la que se sitúa un apex o porción afilada, de tejido casi transparente, la llamada sustancia gelatinosa de Rolando. Constituye la zona somatosensitiva de la que depende la sensibilidad exteroceptiva, táctil, térmica y dolorosa.

COLUMNA GRIS LATERAL

Se trata de una saliente angular, de reducidas dimensiones. Se aprecia desde el II segmento torácico hasta el I lumbar. Constituye la zona visceromotora, de carácter vegetativo, encargada de la inervación de los músculos lisos viscerales.

El límite entre sustancia gris y blanca, es nítido en todo el recorrido medular, sin embargo, en la región cervical, salientes de sustancia gris, procedentes de la columna gris dorsal, invaden el cordón lateral. Los salientes están separados por fibras nerviosas entrecruzadas, lo que le da un aspecto de red, de ahí el nombre de formación reticular (formatio reticularis) idéntica a la que aparece en el tronco cerebral. Gray, H., et al. (1985).

CITOARQUITECTURA DE LA SUSTANCIA GRIS

Las células nerviosas, que en conjunto constituyen la sustancia gris, se distinguen por seguir un patrón de agregados mayores o menores, con significado funcional claro en la mayoría de las ocasiones, mientras que en otras está aún sujeto a controversias.

La aplicación de múltiples técnicas de investigación y diferentes enfoques a la hora de estudiar la significación morfofuncional de los agregados neuronales, ha provocado en los últimos años, un permanente cambio en relación a los términos utilizados. Nosotros, atendiendo al enfoque morfológico, veremos la división clásica "nuclear" pero insistiremos en la actual clasificación de Rexed en áreas o láminas. Rexed, B. (1952).

GRUPOS NEURONALES DE LA COLUMNA GRIS ANTERIOR

Se le considera el grupo de centros medulares mejor individualizados, estando ampliamente desarrollado en los engrosamientos cervico-dorsal y lumbosacro, por donde salen los nervios motores de los miembros. Se admite por todos los autores consultados, que la columna gris anterior consta de cinco grupos de columnas o núcleos de desarrollo variable según el nivel estudiado.

A.- NUCLEO ANTEROINTERNO O MEDIOVENTRAL.

Se extiende de C1 a S4, pero está más desarrollado en los engrosamientos cervical y lumbar.

B.- NUCLEO ANTEROEXTERNO O LATEROVENTRAL.

Situado por fuera del anterior. De C1 a C4 es el origen de las fibras del XI par o nervio espinal responsable de la inervación de los músculos trapecio y esternocleidomastoideo.

C.- NUCLEO POSTEROEXTERNO O LATERODORSAL

Por detrás del precedente, se extiende de C1 a S4 y está más desarrollado en las dos zonas de engrosamiento cervico-dorsal y lumbosacra.

D.- NUCLEO MEDIODORSAL

Es el mas pequeño, se situa por detrás del núcleo medioventral, en la base de la columna.

E.- NUCLEO CENTRAL

Es sólo apreciable de C4 a D1 y de L1 a L4, y está dispuesto en la región mas central de la columna.

Estos núcleos que hemos citado se encargan de la motilidad esquelética, se puede generalizar respecto a la sistematización funcional que siguen ,así, los núcleos anteriores estan destinados a los músculos proximales y los posteriores a los distales.El N. Medioventral se encarga de la flexión del tronco, el Anteroexterno inerva los músculos parietoventrales y los flexores del Miembro Superior y la extensión del Inferior, el N. Posteroexterno se encarga de los extensores del M. Superior y los flexores del Inferior, el N. Mediodorsal inerva los músculos vertebrales y extensores del tronco., por último el N. Central inerva el diafragma,a nivel cervical y los músculos del periné a nivel lumbosacro.Bouchet, A., Guilleret, J.(1978)

GRUPOS NEURONALES DE LA COLUMNA GRIS INTERMEDIA

Esta región posee células pequeñas, propias de las células preganglionares autonómicas . En el origen embriológico éstas células se sitúan en posición dorsolateral respecto al canal neural . Las que emigran a posiciones laterales, se constituyen en el grupo Intermediolateral que es el responsable del saliente de la columna gris lateral. en el seno de esta columna se distinguen tres núcleos:

- Principal
- Paraependimario o Intermedio externo.
- Comisural Posterior.

Funcionalmente se distinguen tres segmentos:

-Cervical: entre C3 y C4 , contiene el centro cardíaco.

-Dorsolumbar: entre C8 y L2, tiene aspecto arrosariado, y constituye el ya mencionado tracto Intermediolateral, a cuyo nivel se sitúan:

Centro pilomotor y sudoríparo (para cada nivel)

Centro cilio-espinal (entre C8 y D2)

Centro Cardiopulmonar (entre D3 y D5)

Centro Esplácnico (entre D6 y L2).

-Sacro: se extiende de S3 hasta el cono medular.

GRUPOS NEURONALES DE LA COLUMNA GRIS POSTERIOR

Ampliamente superada en la actualidad la clásica división estructural en:

Casquete gelatinoso de Rolando, en relación al dolor.

Zona de Waldeyer, que recibe sensaciones de tacto, frío y calor.

Núcleo comisural de Cajal, encargado de la tonicidad muscular, tipo erectora.

Columna de Clarke, que regula la tonicidad muscular flexora.

Zona marginal de Lissauer.

basada en los estudios de Ranson, S.W. (1913), Elwyn, A. (1929), Waterston, D. (1933), Bishop, G.H. (1933), los grupos que a continuación vamos a describir se caracterizan por ser irregulares en cuanto a su constancia a lo largo del recorrido de la médula. Jimenez-Castellanos, J., (1975).

A.- COLUMNA DE CLARKE.

(Columna Vesicular de Stilling-Clarke).

También se le denomina Nucleo dorsal o torácico. Está situado en la región basal de la columna gris posterior.

Sólo está presente en la médula de C8 a L3, por lo que algunos autores consideran que un corte transversal de la médula donde aparezca dicha columna de Clarke puede ser descartado de ser cervical. Testut, L., Latarjet, A. (1976).

Tiene atribuidas funciones relacionadas con la sensibilidad propioceptiva (sensibilidad profunda inconsciente). Sus fibras forman el Fascículo espinocerebeloso directo de Fleschig, tras pasar al cordón lateral homolateral, dicho fascículo penetra en el cerebelo a través del pedúnculo cerebeloso inferior. Novack, R.A., Demarest, R.J. (1985).

B.- NUCLEO DE BETCHEREW

(Núcleo basal externo de Bechterew).

Aparece en exclusividad en la médula cervical y lumbosacra. Está en el vértice más periférico de la base. Viene a representar el relevo de las vías de la sensibilidad propioceptiva de los miembros.

Sus fibras cruzan la línea media por la comisura gris anterior para pasar a formar, en el cordón lateral, el Fascículo espinocerebeloso cruzado de Gowers, que alcanza el cerebelo por el pedúnculo cerebeloso superior.

C.- NUCLEO DE LA CABEZA (ESTRATO ZONAL DE WALDEYER).

De él parten las fibras de asociación cortas, que son el relevo de la sensibilidad exteroceptiva y térmica. Sus



fibras atraviesan la línea media por la comisura gris anterior, y forman el fascículo espinotalámico lateral en el cordón lateral.

D.- SUSTANCIA GELATINOSA DE ROLANDO.

Está situada a continuación del núcleo de la cabeza y su presencia es constante en toda la longitud medular. La estudiaremos con más detalle cuando analicemos la estructura laminar de la médula espinal.

La descripción que hemos hecho hasta ahora de la sustancia gris medular está basada en una concepción topográfica basada en las técnicas de tinción clásicas, atendiendo más a criterios anatómicos puros, más que a los funcionales.

Rexed en 1952, analizando cortes medulares de gatos, y atendiendo a las características citológicas de las neuronas, formas y concentraciones de células, emite el concepto laminar de la sustancia gris. Distingue nueve láminas o capas de situación paralela a la superficie ventral y dorsal de la sustancia gris, extendiéndose por toda la médula en su longitud y alrededor del conducto central. Rexed, B. (1952). Estos estudios se han ido ampliando a otras especies animales y así Shoenen ha confirmado este patrón en la médula humana. Shoenen (1973).

LAMINACION DE LA SUSTANCIA GRIS MEDULAR

LAMINA I

De límites imprecisos, rozando con la sustancia blanca y muy delgada, está en contacto con el Tracto de Lissauer. Su aspecto es reticular debido a que sus fibras (gruesas y finas) forman una malla. Son sus células marginales de Cajal, fusiformes y de diámetros variables. Se le ha asignado el nombre de Lámina Marginal, capa Zonal de Waldeyer o Núcleo de la Cabeza. Sus dendritas reciben impulsos nociceptivos y su actuación parece regulada por fibras de las células de Cajal (en la lámina II) y por fibras descendentes de los Núcleos del Troncoencefalo que sinapsan en dendritas y somas de ésta lámina.

LAMINA II

Está constituida por un conglomerado de células de pequeño diámetro, reunidas en pequeños grupos, cruzada por numerosas fibras, sobre todo en su parte interna, que proceden del cordón posterior. Se distinguen en ella dos zonas delimitables, una interna o ventral con escasa celularidad, y otra externa o dorsal con un alto índice de población celular.

Las fibras de esta lámina emiten axones directos hacia la lámina I (de aquí el papel de control sobre el impulso nociceptivo que éstas reciben). De manera indirecta envían axones sobre el territorio del Funiculo de Lissauer y tras un corto recorrido por él sinapsan con la lamina I. Histológicamente esta lámina está constituida por las llamadas células limitrofes de Cajal, células pequeñas o centrales y células marginales. Ramón y Cajal, S. (1891).

A la lámina II se la identifica como la Sustancia gelatinosa de Rolando. Existiendo una intensa discusión acerca de los límites de la misma. Rexed vé con claridad la independencia entre el concepto de Sustancia gelatinosa de Rolando y láminas II y III, no sólo por las diferencias entre las células sino por las fibras contenidas que delimitan ambas láminas. Rexed, B. (1952).

Szentagothai, concluye que ambas láminas II y III son idénticas, tanto por las características anatómicas como por las conexiones que estas establecen. Szentagothai, J. (1964).

Por último y más recientemente Merrill, E. et al. (1978) llegan a la conclusión de la identidad funcional de ambas láminas estudiando las fibras del Funiculo lateral de Lissauer.

Como vemos la Sustancia gelatinosa de Rolando ha polarizado y sigue polarizando la investigación de numerosos neurobiólogos. Como ya adelantamos en páginas anteriores, dado el interés de esta zona en nuestro estudio, nos detendremos de manera especial en la descripción pormenorizada de la misma.

Es de destacar la disposición particular de las dendritas de la lámina I que se presentan en forma de redes dendríticas de gran tamaño extendidas tangencialmente por la cara dorsal de la columna gris dorsal, para mezclarse con las fibras profundas del haz dorsolateral de Lissauer y algunas fibras procedentes de los aferentes sensoriales de las raíces. Los axones de esta capa se reparten por las capas situadas mas ventrales, salvo algunos que teniendo longitudes muy superiores, tras decusarse ascienden por las columnas blancas ventrolaterales del lado contralateral, para llegar al tronco cerebral y el diéncefalo. Las neuronas de la lamina II y algunas de la III, tienen sus dendritas situadas radialmente, así algunos de sus axones pasarían a láminas mas profundas, aunque la mayoría permanecen en las mismas láminas II y III, algunos axones ascienden o descienden por la lamina II y otros pasan al haz dorso-lateral de Lissauer para volver a las láminas I y III para ramificarse profusamente. Cerveró, F., Iggo, A. (1980).

LAMINA III

Su celularidad es escasa y sus células poseen somas grandes. Tiene funciones propias de la Sustancia gelatinosa de Rolando, en la terminología nuclear se le asignan características similares del Nucleo Propio (características comunes a la lámina IV).

LAMINA IV

Posee células de formas múltiples, es muy heterogénea su distribución y está surcada por fibras que aparecen en un gran número. Los somas tienen formas predominantes del tipo estrellado, circulares y triangulares. Como ya hemos referido más arriba, se corresponde con el Nucleo Propio o funicular dorsal.

LAMINA V

Ocupa el cuello de la columna dorsal, de manera clásica se ha subdividido en dos zonas, un tercio lateral de células con somas triangulares y los dos tercios medios que presentan fibras en gran densidad.

Las fibras atraviesan la lámina transversalmente, dorsoventralmente y longitudinalmente, por lo que se le ha venido asignando el término de formación reticular. Posee una distribución axodendritica muy amplia en conexión con las láminas I y II.

LAMINA VI

Corresponde a la base de la columna gris posterior, posee un tercio medio de células apiladas densamente y los dos tercios laterales, caracterizado por escasas células, de

formas estrelladas y triangulares.

LAMINA VII

Corresponde en parte a la zona gris intermedia .
Sus células pertenecen al Nucleo de Clarke o torácico. El resto de la lámina se extiende ventralmente entre la VIII y la IX.

LAMINA VIII

Se sitúa en posición media, en las intumescencias cervical y lumbar, alcanzando la base de la columna gris anterior.

LAMINA IX

Comprende los cuerpos de las neuronas motoras α siendo por ello la base partida de la vía final común de Sherrington y además posee otras células más pequeñas, que son el origen de las eferentes γ y grupos de interneuronas ,consideradas como las células inhibitorias de Renshaw de alto valor funcional.Gray, H. et al. (1985).

LAMINA X

Está formada por la sustancia gris central y las comisuras grises ventral y dorsal.

ORGANIZACION DE LA SUSTANCIA BLANCA

Daremos una visión esquemática de las estructuras fibrilares medulares, ya que no son objeto directo de nuestro estudio, sin embargo es necesario hacer referencia a su disposición como complemento a la visión general topográfica en la que nos moveremos.

El color blanco de esta parte de la médula se debe a la composición de esta sustancia, fibras, neuroglía y vasos, todo ello con elevado contenido de mielina.

Se organiza en tres cordones:

Anterior

Lateral

Posterior

Las fibras que componen la sustancia blanca se vienen clasificando de manera clásica en cinco tipos:

1.-Fibras aferentes con centro trófico en los ganglios raquídeos

2.-Fibras largas ascendentes aferentes hacia niveles supraespinales.

3.-Fibras largas descendentes procedentes de niveles supraespinales que hacen sinapsis con neuronas medulares.

4.-Fibras intra e intersegmentarias.

5.-Fibras motoras de las columnas medial y lateral que salen por las raíces anteriores. Chusid, J. (1983)

HACES DEL CORDON ANTERIOR

DESCENDENTES

CORTICOESPINAL ANTERIOR

VESTIBULOESPINAL

Se sitúa detrás del tectoespinal , al lado de la fisura media anterior.No es cruzado. Representa la vía aferente del equilibrio.Su origen está en los núcleos vestibulares.

TECTOESPINAL

Es lateral a la fisura media anterior.Se origina en los tubérculos cuadrigéminos.Sinapsa en las láminas VI y VIII de la columna gris anterior.

RETICULOESPINAL

Se disemina por el cordón anterior.Sinapsa en las láminas VI y VIII y tiene su origen en los núcleos reticulares del puente.

INTERSTICIOESPINAL

Se origina en el Nucleo Intersticial y desciende por el fascículo longitudinal medio.

HAZ SOLITARIO ESPINAL DE CAJAL

Sólo se ha descrito en felinos.Se originan sus fibras en el N. Solitario, se le compara al haz reticuloespinal medial.Ramón y Cajal, S. (1972).

ASCENDENTES**HAZ ESPINOTALAMICO ANTERIOR**

Es medial a las fibras de las raíces ventrales y dorsal al haz vestibuloespinal. Se origina en cuatro grupos de neuronas:

a.-Células de rango dinámico restringido de las láminas IV y V (responden a estímulos no dolorosos).

b.-Neuronas propioceptivas de las láminas IV y V.

c.-Neuronas de rango dinámico amplio, de la lámina V.

d.-Neuronas de umbral alto, nociceptivas puras de la lámina I. Barraquer, Ll., (1986).

Las fibras proyectan hacia el tálamo contralateral, mientras que un 25% lo hacen en el homolateral.

Dentro del haz es posible diferenciar dos componentes :

1.-**Medial**: termina en los Núcleos:

Parafascicular-Paramedial-Intralaminares.

2.-**Lateral**: termina en los Núcleos:

Ventral Posterolateral

Núcleos del grupo posterior: Magnocelular,

Limitante y Supragenículado.

Florez-Beledo, J. (1985)

INTERSEGMENTARIOS

Está constituido por el haz intersegmentario anterior.

HACES DEL CORDON LATERAL

DESCENDENTES

CORTICOESPINAL LATERAL

Se sitúa anterolateral a la columna gris posterior y medial al haz espinocerebeloso. Sus fibras parten de las células de las áreas 4 y 6 de Brodman en el lóbulo frontal. Las fibras cruzan el cordón lateral contralateral (haz corticoespinal lateral cruzado) mientras otras siguen la dirección inicial, para así formar el haz corticoespinal anterior. A esta vía se la considera la vía piramidal.

RUBROESPINAL

Sus fibras descienden del N. Rojo cruzándose y situándose ventral al haz corticoespinal.

RETICULOESPINAL LATERAL

Sus axones proceden de las células del núcleo reticular gigantocelular, son fibras cruzadas e ipsilaterales, realizan la sinapsis con células de las láminas VII y IX.

OLIVOESPINAL

Sus fibras terminan en la columna gris ventral.

ASCENDENTES

ESPINOCEREBELOSO POSTERIOR

Se sitúa en la región posterior del cordón lateral. Sus fibras penetran por el pedúnculo cerebeloso inferior.

ESPINOCEREBELOSO ANTERIOR

Ocupa la periferia del cordón lateral.

ESPINOTALAMICO LATERAL

Se sitúa interno al espinocerebeloso anterior, formando continuidad con el espinotalámico anterior.

ESPINOCERVICAL o ESPINOCERVICOTALAMICO

Las fibras proceden del núcleo cervical lateral. Aparece en los dos primeros segmentos cervicales. Lateral a la columna gris dorsal. Procede de las láminas IV y VI. Los axones ascienden al Nucleo Ventral Posterolateral del Tálamo.

ESPINOTECTAL

Sus fibras se cruzan por la línea media para pasar al cordón lateral. Ascienden hasta los tubérculos cuadrigeminales mientras otras terminan a nivel del tálamo ventral.

FUNICULO DORSOLATERAL (de LISSAUER)

Se sitúa junto a las raíces dorsales, entre el vértice de la lamina I y la superficie medular. Sus fibras proceden de las raíces al bifurcarse en ramas ascendentes y descendentes.

FIBRAS ESPINORRETICULARES

Se origina principalmente en las láminas IV y VIII. Sus fibras terminan ipsilateralmente proyectandose en los siguientes núcleos:

- N. Reticular gigantocelular
- N. Reticular lateral
- N. Reticular caudal del puente
- N. Magnus y Palidum del rafe.

HAZ ESPINOOLIVAR.

Cruza la línea media procedente de la sustancia gris para ascender en unión de los cordones anterior y lateral, hasta alcanzar los núcleos olivares.

HACES INTERSEGMENTARIOS

Están constituidos por el haz intersegmental lateral separado por las fibras de las raíces anteriores, del haz intersegmental anterior.

HACES DEL CORDON POSTERIOR**ASCENDENTES****HAZ DELGADO (GRACILIS de Göll)**

Sus neuronas parten de las láminas III y IV .
 Ascende ocupando la parte media del cordón posterior, en la parte superior de la médula, para alcanzar su núcleo bulbar, luego bordea la Sustancia Gris Periacueductal, para cruzarse en la región lemniscal y allí, junto al lemnisco medio, alcanzar el núcleo ventral del tálamo, desde donde termina en el cortex de la circunvolución postcentral.

HAZ CUNEIFORME (CUNEATUS de Burdach).

Sigue un recorrido idéntico al del haz delgado, salvo por el recambio bulbar en el núcleo cuneiforme.

DESCENDENTES

Se constituye por un grupo de reducido tamaño de fibras que componen los siguientes haces:

HAZ SEMILUNAR O EN VIRGULA DE SCHULTZE**CAMPO OVAL DE FLESHIG****INTERSEGMENTARIAS****HAZ INTERSEGMENTAL POSTERIOR**

Procede de la columna gris posterior y asciende y desciende alternativamente para diseminarse en la sustancia gris.

FUNCIONES Y VIAS NOCICEPTIVAS A NIVEL MEDULAR

Haremos un recorrido , lo más esquemático posible, del papel que desempeñan las neuronas espinales de la sustancia gris medular en los mecanismos nociceptivos y sistemas controladores del mismo.

Para que la señal nociceptiva alcance su destino, debe intervenir una primera neurona situada en el ganglio raquídeo correspondiente. Esta neurona ganglionar, termina con su dendrita en la periferia, y de otro lado su axón en la sustancia gris medular. Esta neurona ganglionar raquídea recibe el impulso de los receptores situados en los tejidos periféricos, que son estimulados por muy diversos agentes.

Lo que caracteriza al receptor no es su estructura histológica concreta , ya que en nuestro caso los receptores al dolor suelen ser terminaciones libres , rodeadas de células epidermoides y envueltas por ellas. Las fibras originadas en estos receptores son las que los clasifican, en función del contenido de mielina y el calibre de las mismas , elementos que influyen de manera decisiva en la velocidad de transmisión del impulso. Burgess, P.R., Perl, E.R. (1967).

Según las características de estos receptores se les clasifica en :

MECANOCEPTORES

Poseen fibras amielínicas gruesas, que se desmielinizan al arborizarse, perdiendo la vaina de Schwann. Son el origen de las fibras A δ y C. Son sensibles especialmente a estímulos mecánicos, tipo pellizco, pinzamiento o pinchazo. Se considera que su neurotransmisor es la sustancia P.

NOCICEPTORES POLIMODALES O TIPO C

Se trata de pequeños receptores, que requieren mayor tiempo de estimulación que los A. Se activan por estímulos mecánicos, térmicos y químicos. Según los estudios de Dubner, realizados en monos, llegan a adaptarse por tener un fácil acceso a la fase de fatiga cuando los estímulos son muy repetidos. También reflejan fenómenos de respuestas aumentadas o de hipersensibilidad, si el estímulo es creciente, o por aparición de actividad espontánea. Bessou, P. et al. (1971). Todo lo anterior, respecto a velocidad y estímulo desencadenante puede verse reflejado en la TABLA III (Tomada de Ramamurthy, S., Winnie, A.P., 1985). La conexión de estas fibras con las neuronas de la columna gris posterior medular permite la clasificación de las mismas en tres clases dependiendo del receptor del que son tributarias. Iggo, A., (1974) :

TABLA IIIClasificación de las fibras nerviosas según diámetro y velocidad*

GRUPO	DIAMETRO	VELOCIDAD DE CONDUCCION	MODALIDAD
A α	20 μ	100 m. p. s.	Actividad Refleja Propioceptiva
A β	20 μ	100 m. p. s.	Tacto y Presión
A γ	20 μ	100 m. p. s.	Fibras intrafusales (Tono muscular)
A δ	4 μ	5 m. p. s.	Temperatura y dolor agudo, Tacto (posible)
B	3 μ	3 - 14 m. p. s.	Fibras preganglionares autonomicas,
C	0.5 - 1 μ	1.2 m. p. s.	Dolor sordo, Temperatura, Tacto.

* (Modificado de Ramamurthy, S., Winnie, A.P., 1985)

μ = micras

m.p.s. = metros por segundo.

Neuronas de clase I: se excitan por mecanorreceptores de umbral alto.

Neuronas de clase II: son excitadas por mecanorreceptores de umbral alto y nociceptores polimodales.

Neuronas de clase III: sólo excitables por nociceptores. Cerveró, F., Iggo, A., (1980).

De manera global pasamos a describir la llegada de las aferencias primarias a la organización del asta posterior medular.

Las aferencias nociceptivas llegan específicamente a las células marginales de Cajal. Se trata de neuronas de gran tamaño, situadas en posición transversal respecto al vértice del asta dorsal, en la lamina I. Apenas se salen de los límites de la lámina. Algunas de estas células se proyectan hacia el tálamo contralateral, vía espinotálamica, o bien ascienden a niveles más craneales. Cerveró, F., Iggo, A., (1980). Reciben las aferencias de fibras :

A δ de mecanorreceptores de media intensidad.

A δ termosensibles cutáneos.

C polimodales.

A δ y C de áreas musculares.

Cuando las fibras llegan a la lámina se dispersan en un árbol dendrítico muy amplio.

En cuanto a la lámina II, se distinguen en la misma dos tipos de células, lo que hace que se le subdivida en II_a y II_b, en función de la localización de las células.

Así en la porción externa, hay un grupo de células pequeñas con árbol dendrítico amplio formado por células limitrofes de Cajal, que son denominadas "stalked cell" (en copa), que reciben aferencias de fibras A δ y C. Fields, H.L. (1987).

En la porción interna se sitúan las células centrales de Cajal, también conocidas por células islotes ("islet-cells"), que reciben aferencias procedentes de receptores de rango dinámico muy amplio (que responden a estímulos muy diversos). Estas células de la lámina II envían sus axones hacia la lámina I de manera retrógrada, o bien hacia el Tracto de Lissauer, para volver a la lámina I, tras un pequeño recorrido. Cerveró, F., Iggo, A., (1980). Se trata de neuronas que presentan períodos inhibitorios o facilitadores muy amplios de aquí que se le asigne el papel de ser el enclave de la puerta de entrada descrita por Melzack y Wall. Melzack, R., Wall, P.D., (1965).

A nivel de la lámina V se reciben aferencias procedentes de fibras A δ y C y además AB, que responden tanto a estímulos nociceptivos, como no nociceptivos. Sus descargas se van incrementando hasta llegar al umbral doloroso (por ser de amplio rango dinámico). Parece jugar un papel fundamental como sustrato neural del tránsito de la información nociceptiva hacia estratos superiores. Albe -Fessard, D. et al. (1974)

SISTEMAS ESPINALES NOCICEPTIVOS ASCENDENTES

A partir del recambio de información producido a nivel medular, las señales de carácter nociceptivo ascienden a estratos superiores por distintas vías, el mensaje se dirige al nivel suprasegmentario gracias a la existencia de un doble componente de fibras ascendentes ,Dennis, S.F., Melzack, R., (1977):

A.- SISTEMA LATERAL: constituido por:

Fibras postsinápticas de los cordones posteriores.

Haz Espinocervicotalámico.

Haz Neoespinotalámico.

B.- SISTEMA MEDIAL:

Haz Paleoespinotalámico.

Haz Espinorreticulotalámico.

Vías propioceptivas difusas.

Así el sistema lateral da información rápida de la lesión, y el medial mantiene durante más tiempo información persistente de la señal, debido a la mayor lentitud de conducción de sus fibras. Parece por lo tanto que este sistema medial es responsable de las conductas de alerta y protección del individuo. El sistema medial proyecta hacia las zonas del tálamo conectadas al sistema límbico y Formación Reticular. Por el contrario el sistema lateral proyecta sobre los núcleos del tálamo lateral. La escuela de Albe-Fessard , defiende la existencia de cuatro componentes espinotalámicos ,Barraquer, B. L. (1986):

- 1.- Neoespinotalámico: que proyecta hacia el Núcleo Postero-Ventral del tálamo.
- 2.- Paleoespinotalámico
- 3.- Espinorreticulotalámico.
- 4.- Espinotectotalámico. Estos tres últimos sistemas , constituyen el componente extralemniscal, que proyecta hacia el grupo nuclear posterior del tálamo (cuerpo geniculado medial), y los núcleos intralaminares y paramediales, que a su vez reciben aferencias del N. reticular gigantocelular, y del Centrum Medianum. (Eyzaguirre, C., Fidone, S., 1977)

SISTEMAS DESCENDENTES DE CONTROL NOCICEPTIVO

Frente al sistema de aferencias nociceptivas ya expuesto existe otro, de carácter descendente, cuya misión es la de modular la señal dolorosa .

TRONCOENCEFALICO: está mediado por fibras de naturaleza serotoninérgica, cuyo origen parece estar en la Sustancia Gris Periacueductal, Núcleos del Rafe (sobre todo el N. Magno). Otras estructuras troncoencefálicas implicadas son las reticuloespinales, provenientes en su mayor parte del Núcleo Reticular Paragigantocelular y el N. Parabraquial. Estas últimas estructuras tiene naturaleza péptidérgica de origen encefalinérgico, gabérgicas, e incluso por sustancia P.



DIENCEFALICO: Esta vía neuromoduladora ,lo es a expensas de encefalinas y endorfinas, siendo sus áreas más notables las tálamicas e hipotálamicas.Liebeskind, J.C. et al. (1985)

ESPINAL: El sistema que hasta ahora hemos comprobado es el de la existencia de numerosas interneuronas influyendo entre sí y entre los mensajes tanto ascendentes como intersegmentarios, sin embargo la médula espinal recibe por vía descendente influencias procedentes de los dos niveles mencionados más arriba ,es decir, de niveles troncoencefálicos y diencefálicos. (Gonzalo, L., 1987).

MATERIAL Y METODO

MATERIAL

Las especiales características de nuestro trabajo experimental han hecho necesaria la concurrencia de muy diverso material, sin el que no hubiésemos podido desarrollarlo sobre la médula cervical del gato , objetivo de nuestra investigación. Por lo tanto empleamos una serie de elementos que van desde los animales, pasando por material quirúrgico y anestésico, material fungible, bibliográfico e iconográfico, de microscopía, estimulador de E.A.A. y material de laboratorio, incluyendo reactivos y productos químicos. Todo el anteriormente citado material, lo iremos describiendo de manera pormenorizada , teniendo como soporte gráfico la iconografía que se adjunta. Creemos necesario aclarar que todo el material que se irá desglosando ha sido aportado por fuentes muy diversas , que de una manera incondicional y desinteresada , nos han permitido superar los obstáculos de tipo económico y material que de otra manera hubiesen hecho imposible nuestra tarea.

A. ANIMALES

Para nuestro trabajo fueron utilizados como animales de experimentación gatos comunes, de peso y pelaje variado así como de ambos sexos , en numero de 10, de los que ocho fueron estimulados con E.A.A. y dos fueron utilizados como animales de control .Aunque inicialmente dispusimos de uno más , éste último no pudo ser utilizado por haber sido la perfusión deficiente.El problema de los animales fué el primer obstáculo que tuvimos que superar. Inicialmente pensabamos que serian asequibles en los diferentes animalarios de la ciudad (Facultad de Medicina, Ciudad Sanitaria, Hospital Militar, etc.), pero nuestra sorpresa fué enorme al comprobar que no tenian ningún animal disponible. Puestas así las cosas tuvimos que recurrir a algunos compañeros que gentilmente y por razón de su residencia en algún pueblo próximo a Sevilla nos proporcionaron el "substrato animal" fundamental para nuestra investigación. Los animales fueron depositados en el animalario del Departamento de Anatomía a la espera de la fase experimental , y durante este periodo se les suministró alimentación standard.

B. QUIROFANO EXPERIMENTAL

Gracias a la existencia de un quirófano experimental en el Departamento , pudimos disponer del "espacio de trabajo" imprescindible para el desarrollo de gran parte de la fase experimental.

En este quirófano se utilizó material de diversa índole, así:

Fármacos: Atropina, Ketamina, Heparina y Adrenalina.

Fungible: Trócares, Agujas, Jeringas, guantes, etc...

Material de corte, disección, sutura y hemostasia.

Biomicroscópio tipo Zeiss OPMI-I y sus anejos para microcirugía.

Guantes de cuero para reducir el animal.

Peso para ponderar al animal y poder calcular la cantidad de anestésico a aplicar.

C. MATERIAL DE ELECTRO-ACUPUNTURA

Para la realización de la estimulación del animal, se empleó el material clínico usado habitualmente para la E.A.A. constituido por los siguientes elementos:

Agujas de Acupuntura

Para este tipo de animales y debido a su corpulencia inferior a la de un adulto humano, era imprescindible la utilización de agujas de las que se emplean en niños, o cuando se punturan zonas de poca musculatura. Así en nuestro caso optamos por agujas de 0.32 mm de \emptyset y 25 mm de longitud (descontada la del mango), construidas en acero inoxidable con mango de plata, de fabricación china, marca HWATO de Shanghai.

Aparato de Electrodetección y Estimulación

Para esta fase consideramos idónea la utilización de un equipo de E.A.A. con el que estamos familiarizados en su manejo desde hace años, en concreto el modelo POINTER F-1 [®], de la marca ITO Co. Ltd. fabricado en Japón, que consta de varios componentes:

1.- Detector de puntos de acupuntura:

Consta de una sonda de detección de punta metálica y roma, y mango aislado, y de una masa o electrodo de referencia, cilíndrico, completamente metálico y sin aislantes. Una vez establecido el contacto con la piel, un potenciómetro permite hacer un ajuste preciso del umbral de detección o sensibilidad de medida. La exacta localización del punto se aprecia por la emisión, por parte del aparato, de una señal acústica a la vez que por el desplazamiento de la aguja de un galvanómetro, que trae incorporado el equipo, a través de una escala directamente proporcional a la caída de resistencia cutánea.

2.- Estimulador eléctrico

El aparato emite una señal eléctrica según el modelo conocido como "onda china", es decir onda doble direccional cuadrada y espiciforme (por la antionda o semionda negativa que sucede a una onda cuadrada monopolar). Chan, P. (1974), Fung, T.Y. (1967).

La Intensidad máxima con una carga de 500 Ω (ohmios) es de 23 mA., siendo la utilizada en nuestro caso de 8 mA. \pm 2,5.

La frecuencia del impulso puede variarse de 1,5 a 20 Hz. \pm 1, con tren de impulsos variables o continuos.

El equipo se alimenta de seis baterías de 1,5 volts. Presenta además dos salidas tipo "jacks" para dos agujas cada una, con potenciómetros para el voltaje independientes para cada salida , los terminales estan constituidos por pinzas de cocodrilo.

Una de las características imprescindibles para nuestro trabajo era la exigencia de un tiempo de estimulación constante en cada caso, así como la invariabilidad de los parámetros de estimulación durante la fase. Andersson, S.A., Holgrem, E. (1976). Para ello el equipo esta dotado de un cronómetro-interruptor que desconecta la estimulación transcurrido el tiempo prefijado .Por otro lado está dotado de un sistema de seguridad que desconecta el aparato en caso de que se modifique algún parámetro, a la vez que emite una señal de alarma.

D. MATERIAL DE LABORATORIO

Estuvo constituido por: balanza de precisión METTLER, mod. H-10 ®, agitador rotatorio ATOM 85 ®, balanza para gramos marca COBBOS ®, un pH-metro marca RADIOMETER COPENHAGEN ®, micropipetas de 1 a 1000 µl de la marca OXFORD ®, reloj cronómetro, matraces, pipetas, gradillas, pocillos, matraces aforados, tubos de ensayo de diferentes capacidades y un frigorífico para la conservación del material biológico y químico utilizado y que pasamos a exponer:

1.- Material biológico

Anticuerpo 1 : Anti-Met-Encefalina, que nos fué cedido de manera altruista por el Dr. Coveñas, Profesor de la Universidad de Salamanca.

Anticuerpo 2 : Anti-IgG (H+L) de conejo marcado con peroxidasa.

Suero de carnero.

2.- Material Químico

Diaminobencidina (D.A.B).

Hidróxido Sódico

Tampón fosfato Sørensen

Suero fisiológico

Tritón X-100

Sacarosa

Agua destilada

Peróxido de Hidrógeno

Hidróxi-metil-amino-metano

Glicerina

E. MATERIAL DE MICROSCOPIA OPTICA

Para la realización de los cortes se utilizó un microtomo LEITZ 1320 ®, portaobjetos y cubreobjetos marca SUPEREVAGLASS ®. El microscopio óptico estuvo constituido por uno de la marca ZEISS ®, con cámara fotográfica incorporada modelo C-35-M. Las preparaciones se archivaron en un archivador COMBIBOX.

F. MATERIAL FOTOGRAFICO

Constituido por una cámara MAMIYA modelo Z-E2 ®, y por la máquina adaptada al microscopio ZEISS, ya descrita..

Aunque no se trate de material fotografico, pero dado que su utilización ha servido para realizar esquemas y diagramas, incluimos el soporte informático utilizado, formado por un Ordenador AMSTRAD Mod. PCW8256 ®, procesador de textos LOCOSCRIP versión 1.21 de Locomotiv Software Ltd. y Lápiz Optico y Paquete de programas gráficos de The Electric Studio de SUPERGRAFIX Ltd.

G. MATERIAL BIBLIOGRAFICO

Los artículos, separatas e información requerida se han obtenido de las siguientes fuentes:

Servicio de Información y Documentación Automatizada de la Biblioteca de la Universidad de Sevilla.

Servicio de Teledocumentación informatizada de la ciudad de Gedruckt, R.F.A.

Biblioteca-Hemeroteca de la Facultad de Medicina de Sevilla.

Biblioteca del Departamento de Anatomía.

Biblioteca de la Ciudad Sanitaria "Virgen del Rocío" de Sevilla.

Biblioteca particular del Profesor Vázquez Tápioles.

METODO

En nuestra tarea de investigación el método de aplicación supuso el diseño de una línea de trabajo, cuyo objetivo era enlazar dos técnicas dispares y sin relación aparente como la de la analgesia por electroacupuntura con aquella de la inmunocitoquímica. La técnica de perfusión sirvió de nexo entre ambas , lo que implicó indefectiblemente a otras técnicas como la anestesia, procedimientos quirúrgicos , técnicas de fijación, microscopía óptica, de cortes histológicos, y la configuración de mapas cartográficos como resultado final del proceso , para poder llegar a concretar las conclusiones pertinentes y merecedoras de ser elevadas a la categoría de Tesis.

Pasamos al desarrollo de las diez fases que constituyen la dinámica experimental de nuestra Tesis Doctoral, quedando claro que la exposición de las mismas no sigue con exactitud el orden en tiempo real. Por otro lado, dejamos constancia de lo sutil de cada uno de los pasos de todo el protocolo experimental, ya que el proceso de cada una de las fases requiere una minuciosidad y exactitud exquisitas, que en la fase de inmunocitoquímica se hacen aún más precisas y elaboradas.

Para facilitar la tarea expositiva hemos convenido en numerar las fases en diez periodos o bloques de trabajo (TABLA IV).

1. TECNICA ANESTESICA

Se inicia con la reducción física del animal. Esta tarea que en principio parece fácil, en la práctica se comprueba que requiere unas dotes de valor y pericia por parte del experimentador que no siempre son dadas. Una vez reducido por medio del guante de cuero, el animal es introducido en una bolsa de tejido resistente y transpirable, para pesar al animal y poder de esta manera calcular la dosis de anestésico. Nosotros administramos la Ketamina por vía I.M. a dosis de 35 a 50 mg./Kg. de peso. Nos decidimos por la Ketamina por la facilidad de su empleo, la seguridad de la misma y la coincidencia de este anestésico en otros trabajos preliminares. Conrath-Verrier, M. et

TABLA IV

METODO. SECUENCIA DE APLICACION DE TECNICAS

- 1.- TECNICA ANESTESICA
- 2.- ESTIMULACION E.A.A.
- 3.- TECNICA QUIRURGICA ----- TIEMPO A
- 4.- PERFUSION ----- TIEMPO B
- 5.- FIJACION
- 6.- CORTE
- 7.- INMUNOCITOQUIMICA
 - a.- INMERSION 1ª: Sörensens + H₂O₂
 - b.- INMERSION 2ª: Sörensens
 - c.- LAVADO A: Sörensens + Suero de Carnero + Triton X100
 - d.- 1º ANTICUERPO: 2.5 µl. + Mezcla Lavadora
 - e.- LAVADO B: Sörensens + Suero de Carnero + Triton X100
 - f.- 2º ANTICUERPO: 8 µl. AntiIgG marcada con Peroxidasa
 - g.- LAVADO C: Sörensens + Suero de Carnero + Triton X100
 - h.- INMERSION 3ª: Solución de TRIS clorhídrico ph 7.6
 - i.- REVELADO: D.A.B.+ TRIS + H₂O₂
 - j.- CONSERVACION
- 8.- MONTAJE
- 9.- MICROSCOPIA
- 10.- CARTOGRAFIA

al. (1986), Muñoz, M. (1986), Morgado, A. (1987), Valseca, F.J. (1988)

Una vez anestesiado el gato , lo situamos sobre la mesa de quirófano en la posición de decúbito supino con la cabeza lateralizada en ángulo de 45º para evitar la retracción de la base de la lengua ,y fijando y separando las extremidades por medio de hilos de tracción, para así poder mantener la posición del animal durante toda la fase.

Se comprobaron las constantes del animal, así : grado de dilatación pupilar por los reflejos fotomotores, reflejos corneales, tono muscular, respiración, frecuencia cardiaca y valoración de la profundidad de la anestesia por exploración de la sensibilidad del animal (reflejo a la presión, pinzamiento y pinchazo). En todos los casos prestamos especial atención a la presencia de efectos parasimpaticomiméticos derivados de la Ketamina, sobre todo la hipersalivación y la posible bradicardia. Para sosloyarlo se hizo uso de Atropina a dosis media de 0.05 cc/Kg. de peso por via I.M. a dosis inicial y única.

2. TECNICA DE ESTIMULACION POR E. A. A.

Una vez anestesiado y fijado el animal, se procede a la localización de los puntos de Acupuntura, para lo cual se colocó la masa del detector en la cara interna de uno de los pabellones auriculares, con el objeto de mantener el contacto del electrodo indiferente con una zona cutánea desprovista de pelaje.

Tras esto se procede a la localización anatómica del punto que en nuestro caso eran los siguientes:

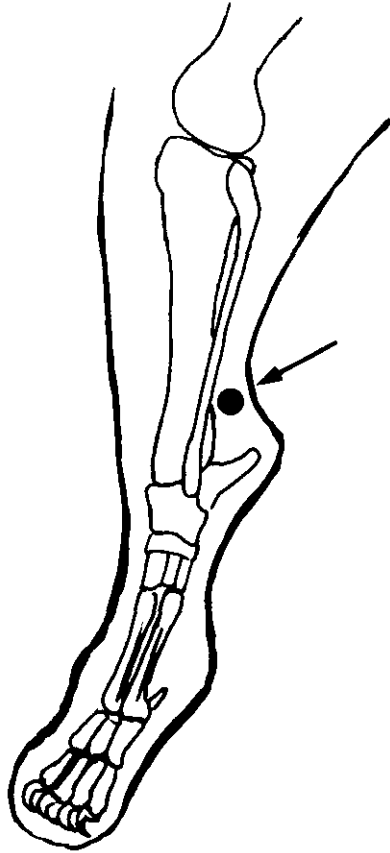
1.- HEGU -(LI 4 , según la Standard Acupuncture Nomenclature, 1984). También denominado como 4 de Intestino Grueso. A nivel del espacio interdigital entre los dos primeros metacarpianos. En profundidad se sitúan ramos superficiales del nervio radial y del nervio mediano.

2.- KUNLUN -(B 60 , según la Standard Acupuncture Nomenclature, 1984). También conocido como 60 de Vejiga. En la zona delimitada por el tendón del músculo gastrecnemius y la fíbula. En profundidad, vena safena menor, arteria y vena maleolar lateral y nervio sural. Roustan, C., (1977). Esquema 1.

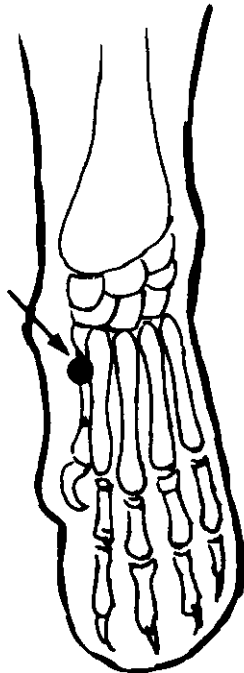
Quando tenemos noción del área aproximada , procedemos a pasar la punta del electrodo de búsqueda teniendo la precaución de haber prefijado la resistencia cútanea basal del animal (sensibilidad) ajustandola por la colocación de la sonda de búsqueda , en la línea de implantación del pabellón del animal en el cráneo. Pasamos la sonda con extremada suavidad ya que la piel de estos animales es fácilmente efraccionable. Niboyet, J.E.H., (1973). Una vez detectado el punto, lo cual apreciamos por la señal del aparato. Sin separar el puntal del detector y guiandonos por él, insertamos las agujas a una profundidad media de 5 mm, tras lo cual rotamos las agujas para confirmar la real situación del punto que se aprecia por la retención de la aguja en el plano profundo. Niboyet, J.E.H., (1973) , Borsarello, J.F., (1987).

ESQUEMA 1





LOCALIZACION ANATOMICA DEL PUNTO KUNLUN



LOCALIZACION ANATOMICA DEL PUNTO HINGU

Una vez colocadas las agujas bilateralmente, dos en los miembros superiores y otras dos para los inferiores, se fijan las pinzas de los electrodos a las agujas y el conjunto aguja-electrodo se cubre con cinta adhesiva. Tras esto se fijan los parámetros de estimulación: 3 Hz para una intensidad de 8 mA. con periodo de estimulación continua de 20 minutos. Linzer, M., et al. (1973), Andersson, S.A. et al. (1976), Gonzalo, L.M., (1979). Cuando se pone en marcha el sistema se aprecia ocularmente por la aparición de fasciculaciones y contracciones rítmicas de los miembros del animal y en los grupos musculares próximos a las agujas. Las contracciones desaparecen coincidiendo con la desconexión del equipo pasados los veinte minutos. Durante toda la fase se comprueban las constantes, apreciando en todos los animales una actitud apacible.

3. TECNICA QUIRURGICA

Esta fase la realizamos en dos tiempos que denominaremos A y B, separados entre sí por la técnica de perfusión.

Tiempo A: incluye el abordaje quirúrgico previo y necesario para la realización de la perfusión por vía del ventrículo izquierdo.

Tiempo B: permite la extracción en bloque del encéfalo, tronco y médula.

Tiempo A

Es imprescindible para poder realizar la perfusión.

Practicamos una incisión supraumbilical y media que nos permite realizar una laparotomía abdominal, realizamos la disección por planos, para abordar el peritoneo parietal y la cavidad peritoneal, que nos da acceso al diafragma, a cuyo nivel realizamos una sección oblicua seguida de toracotomía inferior izquierda, lo que nos permite la entrada a mediastino anterior. Abrimos el pericardio que eventra la masa cardiaca y punzamos el ventrículo izquierdo con un trócar de 2 mm de Ø que irá conectado al sistema perfusor.

Se procede a la ligadura de la aorta torácica descendente , tras lo cual practicamos una incisión en la orejuela de la aurícula derecha, que permite la salida del contenido hemático. En este momento y sin solución de continuidad procedemos a la perfusión por lo que después de ésta se desarrolla la segunda fase quirurgica que hemos denominado B.

4. PERFUSION

Parte imprescindible de este proceso es la preparación previa del liquido fijador, lo cual realizamos en el laboratorio según el siguiente procedimiento.

Se calientan 1000 cc. de agua destilada a la que se añaden antes de la ebullición 80 grs. de Paraformaldehído , se agita de manera constante y lentamente. A la preparación precedente se le añaden unas gotas de hidróxido sódico 1 N hasta conseguir que la mezcla se torne totalmente transparente. En este proceso hay que cuidar el no añadir demasiado NaOH para evitar la precipitación.

Se deja enfriar la solución y la filtramos. Añadimos el tampon Sörensen (1000 cc.) que previamente ha sido preparado, dando como resultado el liquido fijador.

La perfusión se inicia al pasar 500 cc de suero salino a través del trócar que habíamos colocado en ventrículo izquierdo. Como consecuencia del paso del suero se observa por la abertura de la orejuela, la salida de liquido sanguinolento progresivamente más claro de hematíes, lo cual indica dos hechos importantes para la buena marcha de la perfusión, de una parte el buen funcionamiento del sistema y de otra el correcto arrastre de hematíes del árbol circulatorio.

Tras el paso del suero, se perfunde el liquido fijador del que objetivamos la correcta actividad por dos hechos: la salida del liquido por la incisión practicada en el labio superior del animal y por la aparición de rigidez generalizada y sobre todo endurecimiento de los folículos pilosebáceos.

Fase quirurgica B

Consiste en la extracción del encéfalo del gato, para lo cual procedemos a la disección por planos de la región occipito-parieto-frontal. Se realiza una incisión de la membrana occipito-atloidea, lo que permite la entrada de los dientes de la pinza-gubia, la cual moveremos con enorme cuidado, de abajo arriba, de atrás adelante y de adentro afuera, resecaando los huesos occipital, parietales y frontal.

Una vez descubierta la zona del encéfalo procedemos a despegar , de la base del cráneo, con suavidad el encéfalo de adelante atrás , seccionando el tallo hipofisario y liberando el cerebelo de su tienda, que en el caso del gato es una lámina totalmente osificada , lo que exige su resección por medio de la pinza-gubia.

Finalizada la resección de la tienda, se practica la laminectomía de las vertebra cervicales por disección reglada de los planos anatomicos, tras lo cual extraemos la médula cervical previa sección de las raíces correspondientes de los primeros pares raquídeos. Con un solo movimiento obtenemos en una pieza, encéfalo, tronco y médula, que por medio de pinzas y ayudados por el microscopio operatorio liberamos de las cubiertas meningeas, para permitir una mejor fijación posterior.

5. TECNICA DE FIJACION

Introducimos la pieza en la solución fijadora durante 12 horas, lo que provoca su endurecimiento.

Pasadas las doce horas , que pueden aumentarse en caso de endurecimiento insuficiente, se realizan cinco trasvases de la pieza a soluciones crecientes de Sacarosa, en el siguiente orden: 10-15-20-25-30 %, el criterio para pasar de una solución a otra es la objetivación de que la pieza toca el fondo del recipiente donde se ha instalado. En la última solución se mantiene conservada la preparación anatómica a 4° C., hasta la siguiente fase.

6. TECNICA DE CORTE

Realizamos cortes transversales al eje vertical, en un microtomo de congelación. El grosor es de aproximadamente 80 μ m.

Las piezas se agruparon por secciones (mielomeros) para su posterior más fácil identificación, se introdujeron en solución Sörensen y se marcaron los tubos de las muestras según un código de identificación

7. TECNICA DE INMUNOCITOQUIMICA

Esta fase es sin duda la más compleja de todas y la más mínima perturbación de las normas experimentales hace fracasar la misma. Dada la alta especificidad de los reactivos (97,8 %) el margen de errores es impropcedente.

Para la realización práctica de esta técnica tan compleja nos vimos obligados a procesarla en diez tiempos, lo que da idea de lo prolijo de la misma.

Las fases se desarrollaron según el siguiente esquema (TABLA IV) cronológico.

INMERSION 1ª

Se introducen los cortes en tampon Sörensen y peróxido de hidrógeno al 1%, durante media hora, se observa desprendimiento de burbujas.

INMERSION 2ª

Se sumergen los cortes en tampon Sörensen a pH 7.4 durante treinta minutos.

LAVADO A

Se procede a lavar los cortes con la solución siguiente:

Solución Sörensen

Suero de carnero

Tritón X-100

Manteniendo por treinta minutos los cortes en la solución.

1º ANTICUERPO

Se toman 2 cc de Mezcla de Lavado , a los que se les añaden 2,5 µl. de Anticuerpo Anti-Met-Encefalina, los cortes se mantienen en esta solución en agitación suave durante 18 horas.

LAVADO B

Los cortes se mantiene en agitación durante 30 minutos en la Mezcla Lavadora.

2º ANTICUERPO

A 2 cc. de Mezcla Lavadora se añaden 8 µl. de Anti Ig G (H+L) de conejo, marcada con peroxidasa, tras lo cual se introducen los cortes que se mantienen en agitación suave y uniforme durante 60 o 90 minutos.

LAVADO C

En agitación, se introducen los cortes en Mezcla Lavadora durante 30 minutos.

IMERSION 3ª

Se prepara una solución constituida por:

TRIS..... 22 grs.

ClH..... Añadir hasta pH 7,6

Agua destilada..... 1000 cc.

y se lavan los cortes manteniéndolos en la solución durante 5 minutos.

REVELADO

Los cortes son introducidos en una solución reveladora constituida por :

D.A.B. 15 mg.

TRIS..... 50 cc.

H2O2 (10%)..... 50 µl.

los cortes se mantienen aislados de la luz 20 minutos

CONSERVACION : Los cortes ya procesados se conservan en solución Sørensen a 4° C.

8. MONTAJE

Para el montaje fué necesaria la preparación de una solución con Sørensen y glicerol en proporción 1/1. Los cubreobjetos se fijaron con laca.

El sistema de montaje fue el siguiente :

Extensión de la pieza en el porta y secado.

Gota gruesa de la solución de montaje.

Cubreobjetos sellado con laca.

9. TECNICA DE MICROSCOPIA

Para levantar la cartografía, nos movimos a nivel de estructura por medio de la microscopía óptica.

Nos orientamos en el campo, enfocando de menor a mayor aumento, anotando las fisuras y surcos que nos permiten localizar espacialmente el corte.

Con el máximo grado de resolución que nos permitió el microscopio ($\times 10, \times 25$) realizamos barridos de arriba abajo y de dentro afuera, de milímetro en milímetro.

10. CARTOGRAFIA

Sobre mapas de la médula y comparando diversos autores. Rexed, B. (1952), Crosby, E.C. et al. (1962), Curtis, B.A. et al. (1972), constatamos la localización de las estructuras y áreas implicadas y las modificaciones encontradas.

Los resultados en función de la inmunorreactividad encontrada se valoraron en 5 grados de menor a mayor según la escala de colores que aparece en los mapas.

RESULTADOS

Con criterio racionalizador, y para una correcta exposición de nuestros resultados, hemos de hacer las siguientes puntalizaciones.

Cartográficamente, nos hemos movido en los niveles topográficos de los mielomeros de C3-C4. Para una correcta identificación de las áreas, motivo de nuestro estudio, hemos seguido el modelo laminar de la sustancia gris medular propuesto por Rexed. Rexed, B. (1952).

La valoración del grado de inmunorreactividad, lo hemos cuantificado según una escala similar a la de autores precedentes. Conrath-Verrier, M. et al. (1983). Dicha escala es la que se expone simultaneamente en nuestros mapas.

- 5..(COLOR ROJO)..... inmunorreactividad intensa...++++
- 4..(COLOR AZUL)..... inmunorreactividad moderada...+++
- 3..(COLOR AMARILLO)..... inmunorreactividad débil.....++
- 2..(COLOR VERDE)..... inmunorreactividad muy débil....+
- 1..(COLOR BLANCO)..... tinción de fondo inespecifica

△ somas

Exponemos a continuación los resultados obtenidos sobre los animales que no fueron estimulados con E.A.A. y por lo tanto hemos tomado como controles.

FUNICULO DORSOLATERAL

En el borde lateral, en el límite del asta posterior con la sustancia blanca y recorriendo en dirección dorsomedial el vértice del asta, aparecen fibras con una inmunorreactividad moderada.

LAMINA I

Muestra fibras con una intensa inmunorreactividad , estando situadas transversalmente a la superficie de la lámina.

LAMINA II

A este nivel, y sobre todo en su capa más superficial, se visualizan multitud de fibras, con inmunorreactividad intensa.

LAMINA III

Se objetivan fibras inmunorreactivas en menor proporción que en la II, con una tinción moderada. Estas fibras, en la región mediodorsal del asta posterior, toman un sentido longitudinal en dirección hacia la lámina IV.

LAMINA IV

Sólo la zona más mediodorsal, mostró una inmunorreactividad fibrilar entre moderada y débil, en dirección a la región próxima a la X lámina.

LAMINA V

La región dorsoventral de ésta lámina presenta fibras con una inmunorreactividad débil. Prolongándose hacia la región limitante con la sustancia blanca y adentrándose en la misma, en plena formación reticular medular, muestra fibras con inmunorreactividad moderada.

LAMINA VI

Esta lámina, mostró una escasa presencia de fibras en la región medial, siendo su inmunorreactividad de débil a muy débil.

LAMINA VII

Con trayectos de dirección mediolateral, y en las proximidades de la X lámina, se visualizan fibras de inmunorreactividad débil o muy débil.

LAMINA VIII

A este nivel se objetivaron grupos de fibras en formaciones anulares orientadas dorsoventralmente con inmunorreactividad débil.

LAMINA IX

Aparecen fibras de inmunorreactividad, débil muy esparcidas.

LAMINA X

En las proximidades del conducto epéndimario, aparecen fibras con un grado moderado de inmunorreactividad. Estas fibras son de situación lateromedial.

Hemos de destacar que en ninguna de nuestras preparaciones cartografiadas, aparecieron somas inmunorreactivos.

En aquellos animales estimulados con E.A.A., cabe destacar de manera global, un descenso marcado de la inmunorreactividad. Así:

FUNICULO DORSOLATERAL

No mostró inmunorreactividad.

LAMINA I

Muestra fibras muy esparcidas con una inmunorreactividad débil.

LAMINA II

Aparecen fibras en sentido transversal a la superficie de la lámina con inmunorreactividad moderada.

LAMINA III

Aparecen fibras inmunorréactivas, con débil grado de tinción.

LAMINA IV

No mostró inmunorréactividad.

LAMINA V

Sólo la región mas externa y próxima a la región reticular mostró fibras con inmunorréactividad muy débil.

LAMINA VI

En las proximidades del límite de la lámina con la sustancia gris intermedia, se objetivan fibras con inmunorréactividad muy débil.

LAMINA VII

Sigue un patrón fibrilar de inmunorréactividad casi inexistente.

LAMINA VIII

Se visualizan fibras de muy débil inmunorréactividad.

LAMINA IX

Presenta fibras con inmunorréactividad muy débil.

LAMINA X






Presenta fibras con inmunorréactividad moderada.

En ninguna de nuestras cartografías de animales estimulados con E.A.A. aparecen somas inmunorréactivos.

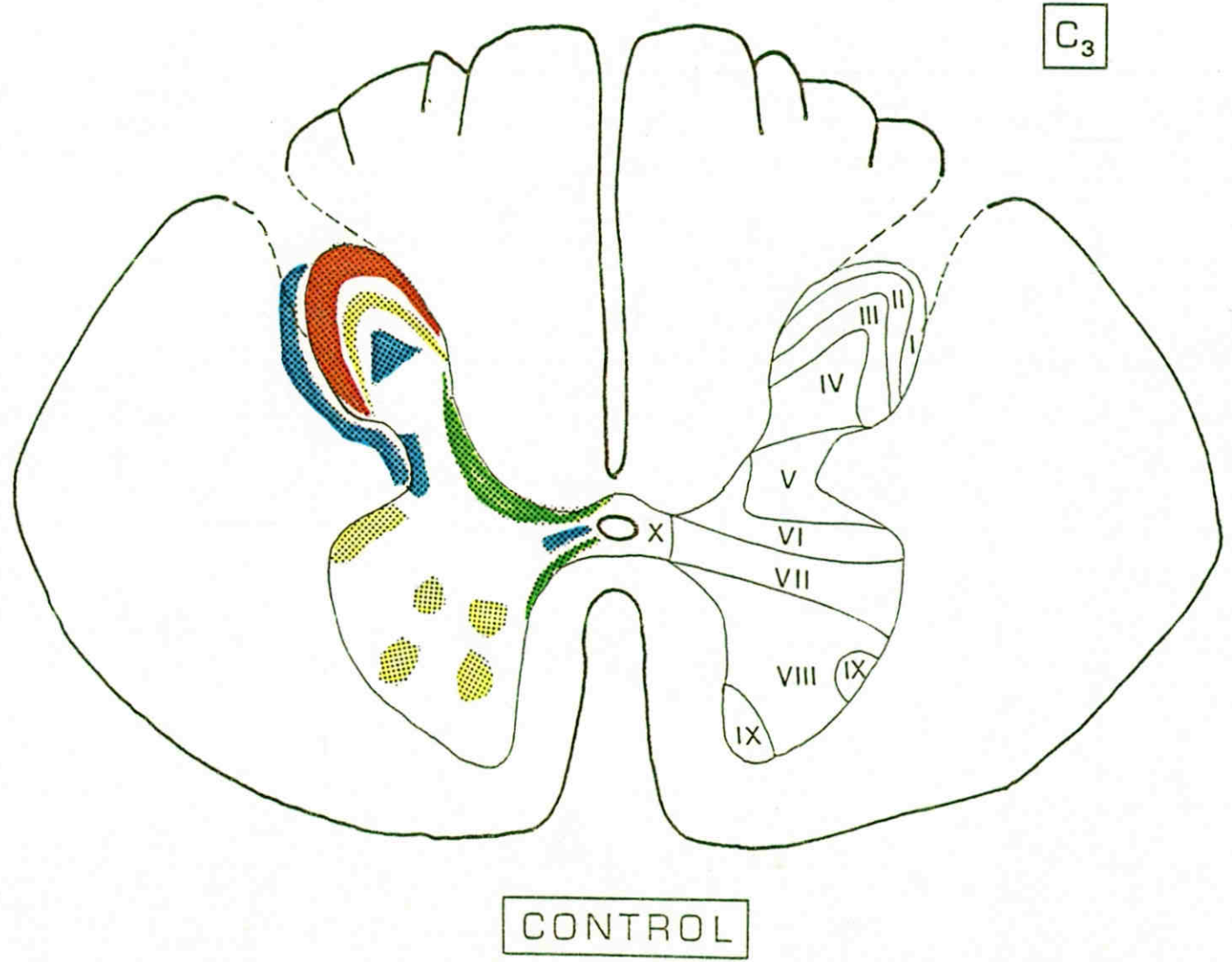
CARTOGRAFIA

C₃

INTENSIDAD I.R.
FIBRAS

- 5 
- 4 
- 3 
- 2 
- 1 

SOMAS 



CONTROL

INTENSIDAD I. R.
FIBRAS

5



4



3



2



1



SOMAS



TABLA VRESULTADOS

LAMINA	CONTROL (Cobos, R. 1988)		E. A. A (Cobos, R. 1988)	
	Fibras	Somas	Fibras	Somas
I	++++	0	++	0
I I	++++	0	+++	0
I I I	++	0	+	0
I V	+++ / ++	0	0	0
V	++ / +	0	++	0
V I	++ / +	0	+	0
V II	++ / +	0	++	0
V III	++	0	+	0
I X	++	0	+	0
X	+++	0	+++	0
F. D. L	+++	0	0	0

<u>CLAVES:</u>	INMUNORREACTIVIDAD INTENSA,	++++
	INMUNORREACTIVIDAD MODERADA,	+++
	INMUNORREACTIVIDAD DEBIL,	++
	INMUNORREACTIVIDAD MUY DEBIL,	+
	INMUNORREACTIVIDAD NULA,	0

ICONOGRAFIA

Fig. Nº 1

Material empleado en el
quirófano experimental.

Fig. Nº 2

Detección del punto HEGU.

Fig. Nº 3

Estimulación con E.A.A.

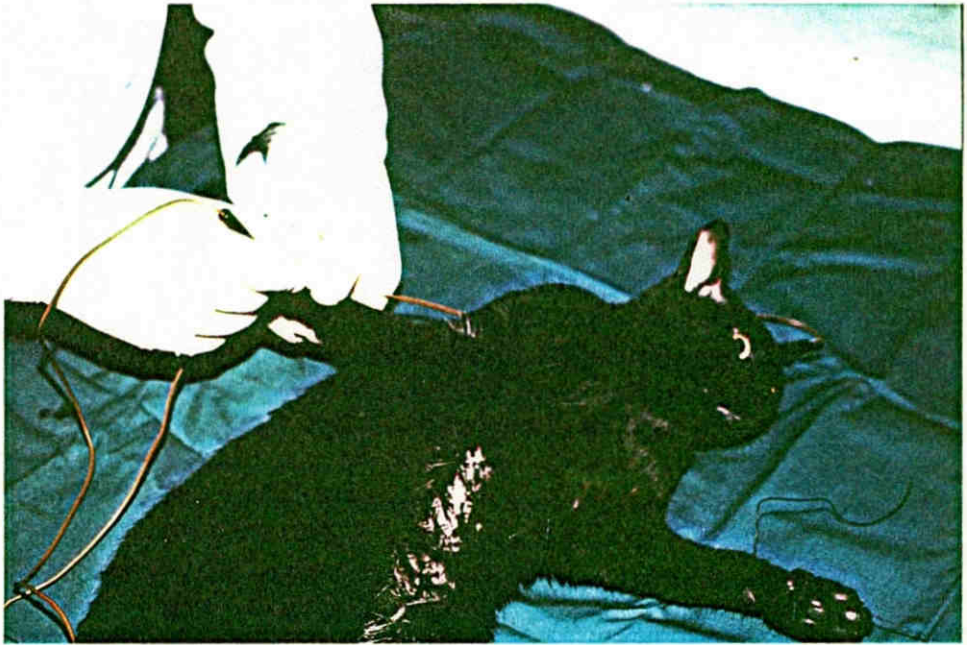


Fig. № 4
Detalle de la fase de
estimulación con E.A.A.

Fig. № 5
Fase de perfusión.

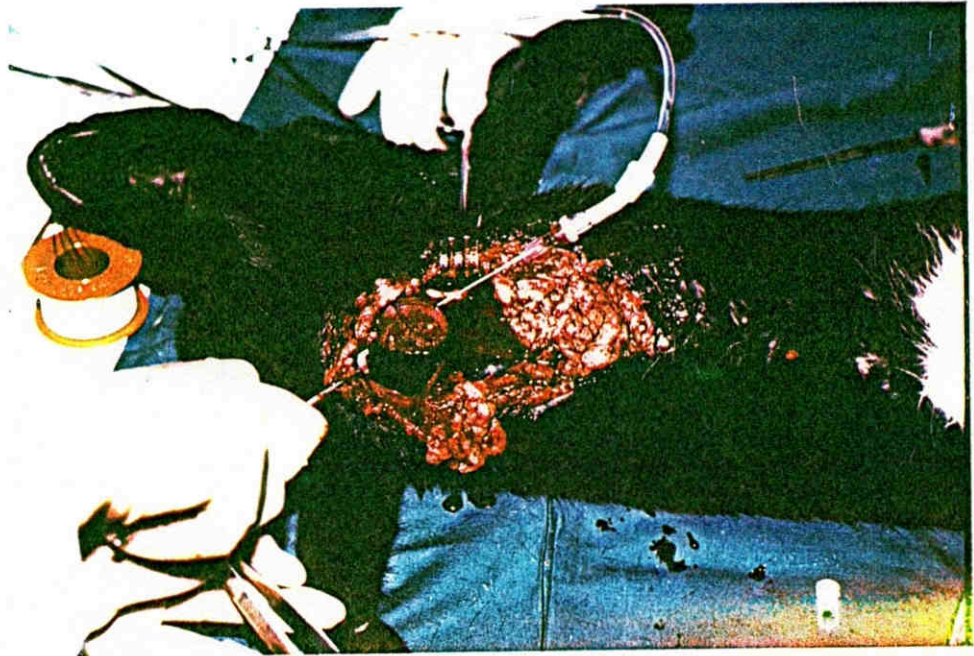


Fig. Nº 6

Funiculo Dorsolateral. (Control)
(Magnificación real = 156.25 aumentos).

Fig. Nº 7

Sustancia reticular espinal. (Control)
(Magnificación real = 156.25 aumentos).

Fig. Nº 8

Sustancia reticular espinal. (E. A. A.)
(Magnificación real = 156.25 aumentos).

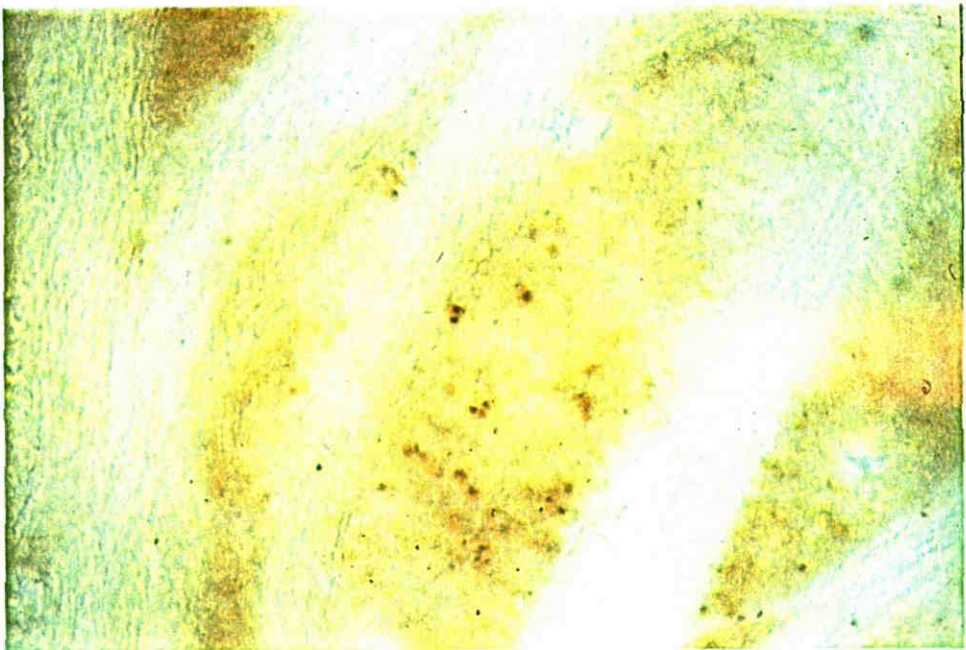
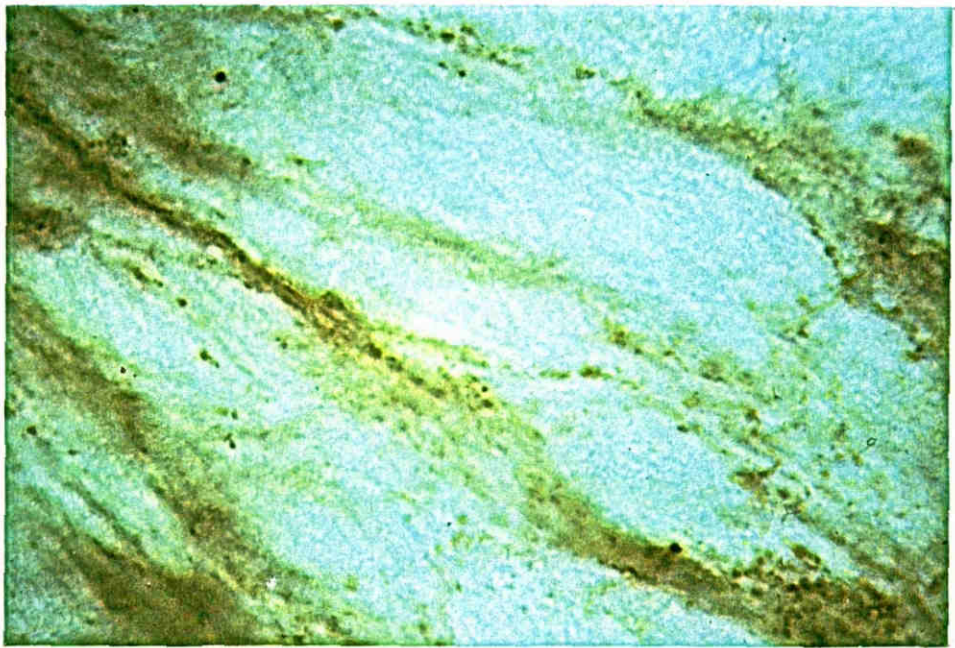
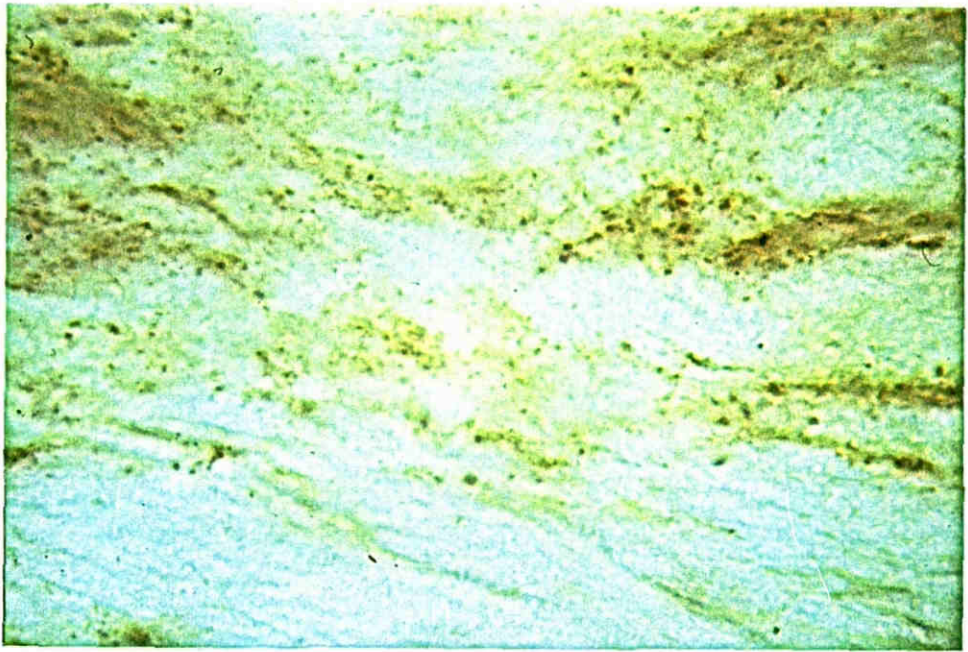


Fig. Nº 9

Láminas I-II-III. (E.A.A.)
(Magnificación real = 62.50 aumentos).

Fig. Nº 10

Región periependimaria (X lámina) (E.A.A.)
(Magnificación real = 62.50 aumentos).

Fig. Nº 11

Fibra alrededor de motoneurona.
(VIII y IX lámina). (Control).
(Magnificación real = 156.25 aumentos).

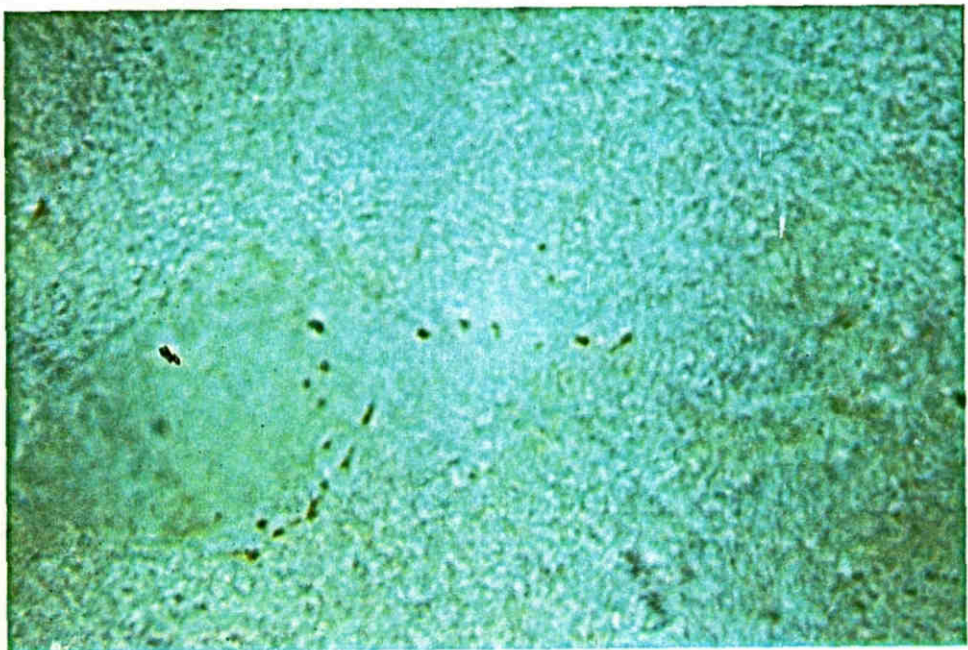
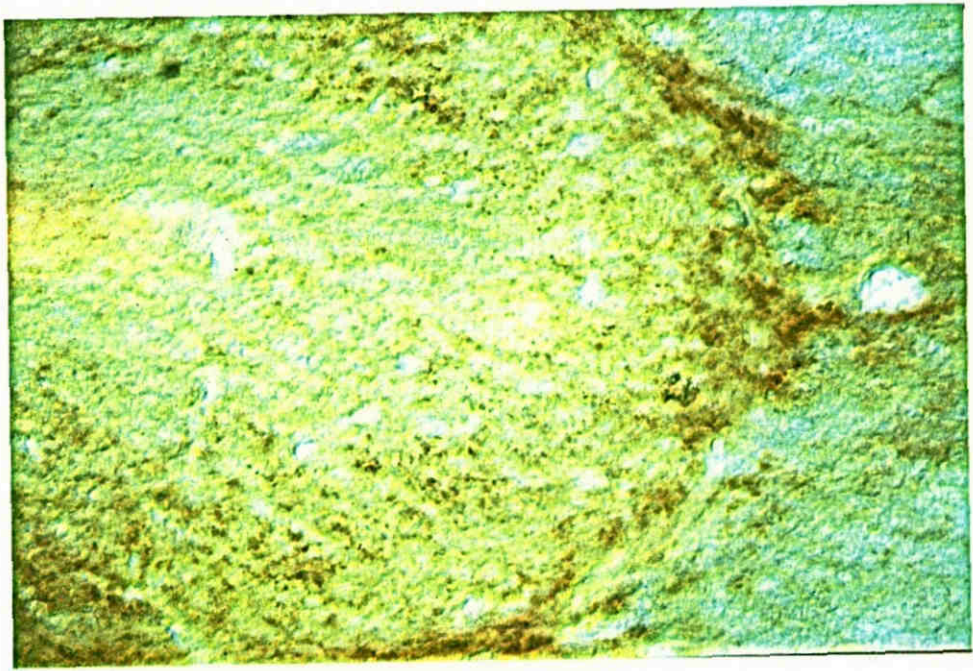
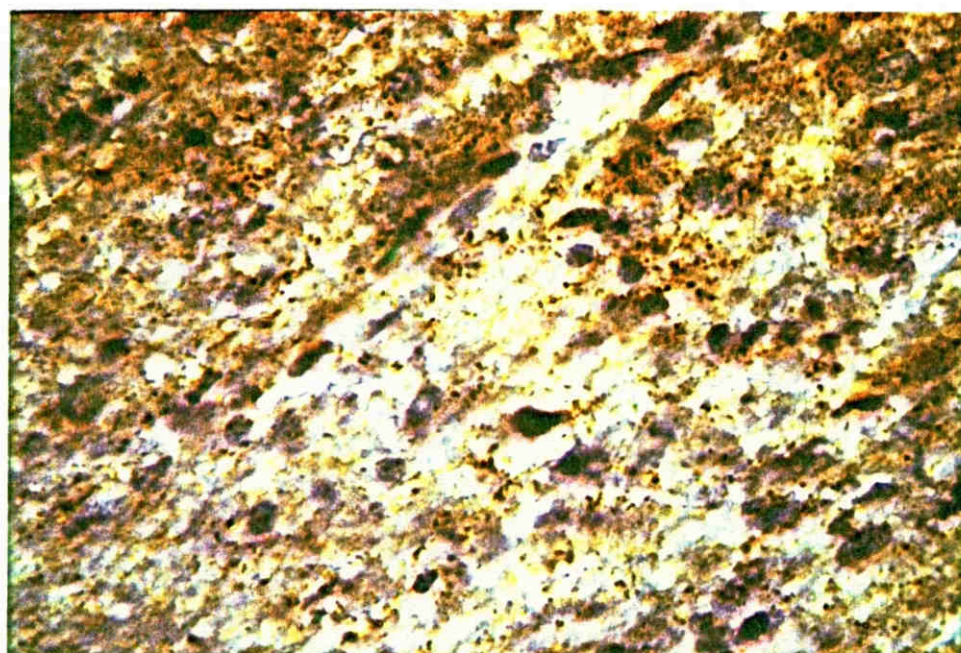
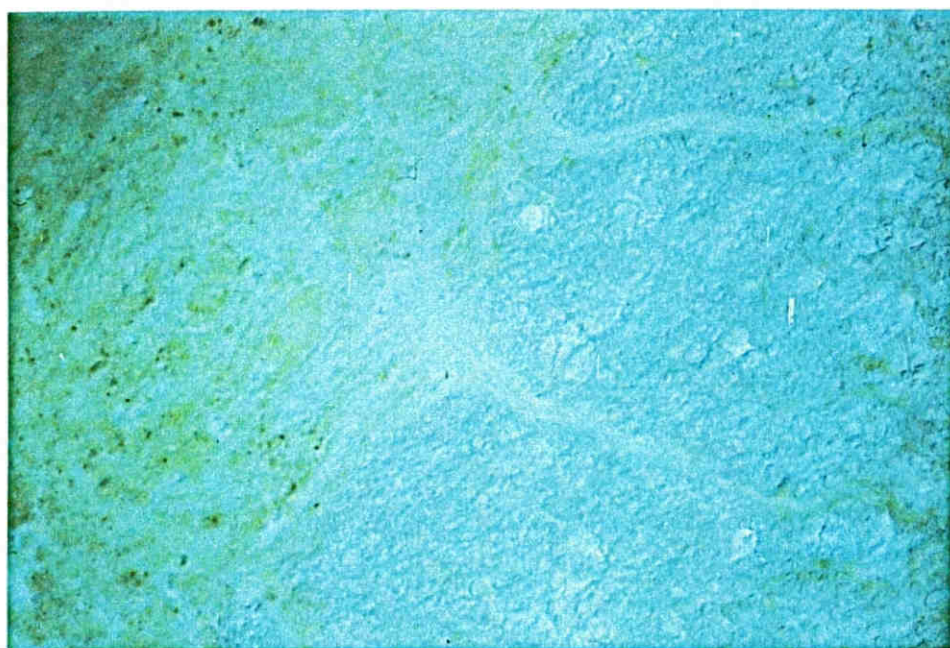


Fig. Nº 12

Láminas VIII y IX (E.A.A.).
(Magnificación real = 62.50 aumentos).

Fig. Nº 13

II lámina. (Control).
Tinción con Hematoxilina.
(Magnificación real = 156.25 aumentos).



ABREVIATURAS

ABREVIATURAS, SIGNOS Y SIMBOLOS UTILIZADOS

Hz. = Hertzio
R.F.A. = República Federal de Alemania.
I.M. = Intramuscular
mg. = milígramo
Kg. = Kilogramo
c.c. = centímetro cúbico
 μm . = micra
 μl . = microlitro
CCC = CCK = Colecistoquinina
PIV = VIP = Péptido Intestinal Vasoactivo
E.A.A. = Electroacupuntura Analgésica
I.N.O. = Instituto Nacional de Oncología
 α = letra "alfa"
 μ = letra "mu"
 β = letra "beta"
 δ = letra "delta"
 K = letra "kappa"
 K^+ = Ión potasio
 \emptyset = diámetro o sección
 $\text{\textcircled{R}}$ = marca registrada
mA. = miliamperio
 Ω = ohmio.
SNC = Sistema Nervioso Central
SGR = Sustancia gelatinosa de Rolando
ME = Metionina-Encefalina
LE = Leucina-Encefalina
SP = Sustancia P
FDL = Funiculus Dorsolateralis
IR = Inmunorreactividad

DISCUSSION

Como introducción a nuestra discusión , debemos aclarar una serie de extremos, sin los cuales no podríamos centrar adecuadamente la misma.

Nuestra tarea experimental ha partido de unos antecedentes metodológicos, de los que no se ha renunciado en ningún momento, para así poder extender nuestras conclusiones a otros trabajos precedentes y establecer de esta manera las oportunas comparaciones.

Estos antecedentes a los que nos referimos podemos agruparlos en tres grandes grupos: de índole inmunocitoquímica, neurobiológicos y experimentales. Originalmente, la técnica de inmunocitoquímica indirecta para la Metionina Encefalina fué utilizada, según el mismo procedimiento que nosotros hemos empleado, por el equipo del Laboratorio de Citología de la Universidad Pierre et Marie Curie de Paris. Conrath, M. et al. (1983).

El anticuerpo anti-met-encefalina que hemos manejado, cedido gentilmente por el Prof. Coveñas, de la Universidad de Salamanca, es el mismo empleado por el equipo citado y que ha demostrado las siguientes (posibles) reacciones cruzadas:

0.4% con Leu-Encefalina

1.7% con β -Endorfina

0.01% con Sustancia P, CCC, PIV, y dinorfina.

Todo lo cual da un rango de seguridad como control inmunocitoquímico muy elevado. Respecto al uso del resto del proceder de técnica, no se ha modificado la de trabajos equivalentes. Muñoz, M. (1986), Morgado, A (1987), Valseca, F.J. (1988). Se ha descartado el uso de colchicina, empleada como elemento de bloqueo del flujo axonal. Conrath, M. et al. (1983). Nuestros controles (es decir, los animales no estimulados con E.A.A.), han exhibido la inmunorreactividad que debe aparecer en las condiciones basales de anestésia, que fué idéntica en todos los casos. La dosificación anestésica de la Ketamina, que es

recomendada por algunos autores, para cirugía pediátrica, hemos tenido la oportunidad de comprobar, que en el caso del gato tiene grandes diferencias no sólo interespecíficas, sino intraespecíficas. Conseiller, C.H., Levante, A. (1970). Leleu, J., Liagre A. (1976).

Pese a la existencia de pruebas, precedentes de control inmunocitoquímico del anticuerpo anti-met-encefalina, nosotros sometimos a una serie completa de cortes histológicos a controles de falsos positivos, realizando en ellos los mismos procesos inmunocitoquímicos pero eliminando en unos el 1º anticuerpo y en otros el 2º. Todos los casos de controles inmunocitoquímicos resultaron negativos. De esta forma completamos en la medida de nuestras posibilidades materiales, los controles exigidos, por diversos autores, para garantizar la fiabilidad de cualquier proceder inmunocitoquímico. Montero, C. (1981).

Cuando hablamos de antecedentes neurobiológicos nos referimos aquí al hecho comprobado de que la mayoría de estudios realizados con finalidades similares a las nuestras han optado por el sustrato biológico animal que nosotros elegimos, es decir, el gato. Glazer, E.J., Basbaum, A.I. (1981). Coveñas, R. et al. (1986). Además la citoarquitectura medular mejor estudiada es la del gato. Rexed, B. (1952).

La E.A.A. es un proceder clínico terapéutico, en la actualidad en vías de fundamentación científica, que ha sido utilizado de una manera intensiva en los últimos años, como elemento experimental, capaz de desencadenar respuestas directas

en las vías nociceptivas. Vacca, G.L. et al. (1985).

Nuestra investigación se ha centrado en comprobar las modificaciones del sistema met-enkefalínérgico de la médula cervical del gato, cuando se aplica E.A.A. de baja frecuencia y se hace uso de técnicas de inmunocitoquímica. La experimentación llevada a cabo nos ha servido para confirmar una serie de hechos, originales unos y otros confirmando los descritos con anterioridad. Las búsquedas bibliográficas que hemos realizado, por medio de los Servicios de Documentación Informatizada, conectados con los principales Bancos de Datos, sobre todo la MEDLINE, con fecha de 28 de Octubre de 1987, tras realizar una búsqueda exhaustiva sobre los datos de nuestra Tesis Doctoral, dió como resultado cero, lo cual significa la ausencia de referencia respecto a la existencia de trabajos experimentales con idénticas características, salvo las Tesis Doctorales de Muñoz, M. (1986), Morgado, A (1987), Valseca, F.J. (1988). Los estudios realizados respecto a la presencia de péptidos opioides, en el cuerno dorsal de la médula, se han centrado en la sustancia gelatinosa de Rolando como zona de paso de aferencias múltiples e interacción de componentes nociceptivos diversos. Basbaum, A.I., Fields, H.L. (1984). Nosotros confirmamos este hecho por haber comprobado que los cambios más evidentes y llamativos los hemos observado a ese nivel. Coincidimos con Conrath, M. et al. (1983), en cuanto a la disposición general y grado de inmunorreactividad de fibras, en los casos de animales control, sin embargo nuestro estudio no ha permitido demostrar la presencia de somas

inmunorreactivos. Pensamos que el elemento diferencial entre ambos resultados, es la utilización de la colchicina. La colchicina bloquea el flujo axonal y dendrítico, lo cual permite concentrar el péptido a nivel de los somas y aumenta la intensidad inmunorreactiva de las fibras y terminales. Conrath, M. et al. (1983). Es por ello que nosotros no hemos visualizado la presencia del péptido en somas, ni en animales control ni tras E.A.A., (ver TABLA VI). Vacca, G.L., L. et al. (1985), utilizando como animal de experimentación la rata, y con técnicas de inmunocitoquímica indirecta para la sustancia P, LE y ME, sometió a los animales a una determinación del umbral de dolor, para posteriormente aplicarles E.A.A. de baja frecuencia y al cabo de la cual determinó el umbral resultante. Sus resultados, aún con diferencias importantes con nuestro proceder experimental, son similares, en el sentido de que la aplicación de E.A.A. provocó disminución de la inmunoreactividad fibrilar de la sustancia gelatinosa de Rolando para la ME. Un elemento experimental diferencial muy importante es el hecho de haber dispuesto de densitometría lo cual le permitió diferenciar estadísticamente las modificaciones observadas, sin embargo nosotros hemos rastreado toda la médula cervical, mientras que los autores citados sólo se han ceñido a la zona de la Sustancia gelatinosa de Rolando y FDL. Este equipo ha comprobado que la disminución de la inmunoreactividad para la ME se correlaciona con aumento de la sustancia P inmunorreactiva. Vacca, G.L., L. et al. (1985). De acuerdo con esto último, pensamos que la coincidencia entre la

TABLA VI

CONTROLES

CONRATH et al. (1983) COBOS (1987)

LAMINA	Fibras	Somas(*)	Fibras	Somas
I	++++	++++	++++	0
I I	++++	++++	++++	0
III	+++	+++	+ +	0
I V	+++	+	+++//++	0
V	+++//++	+ +	++/+	0
V I	++/+	+++	++/+	0
VII	++/+	+ +	++/+	0
VIII	+ +	+	+ +	0
I X	+ +	0	+ +	0
X	+++	+ +	+++	0
F.D.L.	++++	0	++++	0

<u>CLAVES:</u>	INMUNORREACTIVIDAD INTENSA.....	++++
	INMUNORREACTIVIDAD MODERADA.....	+++
	INMUNORREACTIVIDAD DEBIL.....	++
	INMUNORREACTIVIDAD MUY DEBIL.....	+
	INMUNORREACTIVIDAD NULA.....	0

(*) Con Colchicina

disminución de la inmunorreactividad de las fibras conteniendo ME y el incremento de fibras inmunorreactivas para sustancia P, muestra la estrecha relación entre ambos neurotransmisores. No podemos aportar datos morfométricos al respecto, pero confirma nuestra sospecha respecto a esta cuestión, el hecho de que la liberación de sustancia P es inhibida, a nivel de la médula espinal, por la aplicación intratecal de morfina, en animales "in vivo". Yaksh, T.L. et al. (1980). De otra parte la implicación de la sustancia P en la transmisión del dolor ha sido objetivada clínicamente en pacientes con sensibilidad al dolor disminuida, en el síndrome de disautonomía (Síndrome de Riley-Day) en los que se ha demostrado, por técnicas de inmunocitoquímica, depleción de sustancia P en los axones de la sustancia gelatinosa de Rolando. Pearson, J. et al. (1982). La participación del péptido ME, en los circuitos del asta dorsal, ha sido observada con técnicas de microscopía óptica y por microscopía electrónica, demostrándose que los terminales de los axones encefalinérgicos sinapsan con neuronas y dendritas de las neuronas de proyección talámica del asta dorsal, con lo que se confirma el papel que las encefalinas de localización espinal juegan en la transmisión de las señales nociceptivas, de la periferia hacia centros superiores del neuroeje, modulando la respuesta de las células de proyección talámica. Ruda, M.A. (1982). Por último, la administración "in vitro" de ME sobre neuronas de la sustancia gelatinosa de Rolando, provoca la hiperpolarización de las mismas, lo cual viene a señalar el papel inhibitorio de la ME sobre

las láminas medulares que reciben y proyectan la sensibilidad nociceptiva. Yoshimura, M., North R.A. (1983). Los cambios que hemos objetivado en el grado de inmunorreactividad de las láminas I, II y III, no hacen sino confirmar el hecho de que la E.A.A. actúa directamente sobre los mecanismos de neuromodulación del dolor presentes a nivel medular en la sustancia gelatinosa, autentico "relais" de la información nociceptiva, actuando como un filtro de señales. Por lo tanto, se plantean dos posibles mecanismos respecto al lugar de acción de la interacción entre ME y sustancia P. Las características inhibitorias de la ME es, según algunos autores, (Jessel, T.M., Iverson, (1977)) producto de una actuación presináptica. Así existiría una inhibición presináptica, por la interneurona met-enkefalina localizada en la sustancia gelatinosa de Rolando, sobre la aferente nociceptiva primaria reactiva a la sustancia P. Así el impulso no es capaz de continuar hacia la vía espinotalámica. Según esto la E.A.A. actúa en primer lugar sobre las interneuronas conteniendo ME, presentes en la sustancia gelatinosa de Rolando, donde la liberación de ME bloquearía la liberación de sustancia P por interacción con los receptores del preterminal opiáceo con aferentes dependientes de sustancia P. La disminución observada por nosotros sería una deplección intraxonal. Sin embargo, otros autores (Henry, J.L. (1982)), propugnan, otro modelo, según el cual, las interneuronas con ME, sinaptan con neuronas nociceptivas postsinápticas del cuerno dorsal, no aferentes de la sustancia P. Confiamos que en trabajos posteriores, estos

supuestos puedan ser objetivados.

La observación que hemos comprobado, respecto a la presencia de modificaciones en la inmunorreactividad de fibras en la lámina VIII, alrededor de somas neuronales, correspondientes a motoneuronas, nos conduce a la confirmación de que la E.A.A., no sólo actúa a nivel de analgesia. El origen de esas fibras puede estar localizado en las láminas próximas, superiores, o bien proceder de vías bulboespinales. Yaksh, T.L. (1987). También hay que tener en cuenta que trabajos precedentes (Homma, S., Hori, Y., Yonezawa, T. (1985)), han puesto de manifiesto que los dos tipos de respuestas reflejas (mono y polisinápticas), son disminuidas por la E.A.A., por lo que la vía común del reflejo, la excitabilidad de la motoneurona, es atenuada por la E.A.A., siendo reversible dicha disminución por la naloxona, lo que indica una interacción de tipo opiáceo.

Las pruebas acerca de la relación entre E.A.A. y naturaleza opiácea de su mecanismo son múltiples. Los efectos de carácter morfínico de ésta analgesia, llegan a producir tolerancia. Jisheng, H. et al. (1979). Por otro lado, se ha determinado la existencia de tolerancia cruzada entre la morfina y la ME. Waterfield, D.A. et al. (1976). De igual manera, que la aplicación de ME intraventricular, genera una analgesia tan intensa como la producida por la morfina, aunque de menor latencia. Belluzzi, J.D., et al. (1976). Creemos que un elemento fundamental a la hora de obtener una analgesia de naturaleza opiácea con la E.A.A., está en los parámetros empleados,

intensidad, frecuencia y tiempo. Andersson, S.V. et al. (1973). De manera empírica y por observaciones clínicas, se considera que para obtener una analgesia duradera, las bajas frecuencias eran las más adecuadas. Wang, Z. et al. (1979). Para nuestro trabajo, empleamos los parámetros propugnados por Gonzalo, L.M. (1979), como capaces de desencadenar una analgesia opiácea. Tras la realización de nuestro trabajo, afirmamos con Gonzalo, que la E.A.A. de baja frecuencia actúa en sentido analgésico, modificando el sistema metencefalínérgico medular. Los puntos de Acupuntura Hegu y Kunlun, fueron elegidos por ser capaces de modificar los potenciales evocados de las neuronas talámicas. Linzer, M., Van Atta, L. (1974). Posteriormente se ha comprobado que modifican el comportamiento de las poblaciones neuronales y fibras metencefalínérgicas, del tálamo, hipotálamo y protuberancia. Muñoz, M. (1986), Morgado, A. (1987), Valseca, F.J. (1988).

Hay constancia de que la E.A.A. no sólo modifica la ME, según algunos autores, Cheng, R.S.S., Pomeranz, B. (1981), dependiendo de la frecuencia aplicada, se producen también cambios en el sistema monoaminérgico. Otros mecanismos pueden estar implicados, lo que justifica que ciertos autores, Kenyon, J.N. et al. (1983) demuestren que la analgesia provocada por la Acupuntura Tradicional (manual), determinada en estudios dobleciego sobre enfermos de dolor crónico, no es reversible por la Naloxona. La E.A.A., de baja frecuencia, por su acción sobre el sistema metencefalínérgico, muestra posibilidades de tratamiento

sobre ciertos cuadros en los que se implican interrelaciones entre receptores morfínicos y ciertos derivados opiáceos. Clement-Jones, V. et al. (1979). Según esto, son múltiples los trabajos tendentes a mostrar las posibilidades de tratamiento de la drogadicción por morfínicos, haciendo uso de la E.A.A. Wenn, H.L., Cheung, S.Y.C. (1973)., Valseca, F.J. (1988).. Independientemente, la E.A.A, muestra grandes expectativas en el tratamiento del dolor crónico, fundamentandose en correctos diseños experimentales. Kiser, R.S. et al. (1983)..

Entendemos que nuestra Tesis Doctoral contribuye, junto a trabajos previos Muñoz, M. (1986), Morgado, A (1987), Valseca, F.J. (1988), realizados en la línea de investigación que dirige el Prf. Vázquez Tapioles, a la fundamentación inmunohistoquímica de la analgesia por E.A.A., elevándola a la categoría de proceder terapéutico científico y en definitiva, separándola de una vez para siempre del empirismo oscurantista en el que ha estado sumergida durante cinco mil años.

RESUMEN

La finalidad de nuestro trabajo ha estado centrada en la búsqueda de elementos experimentales, capaces de fundamentar las bases neuro-histoquímicas de la E.A.A.

El animal de experimentación empleado ha sido el gato, en un número total de 10, dos de los cuales no fueron estimulados para ser utilizados de control. La técnica empleada como agente de estimulación ha sido la E.A.A. de baja frecuencia. La inmunocitoquímica indirecta a nivel de microscopía óptica, ha servido de factor revelador de los cambios producidos en las estructuras.

Tras anestesiar y estimular con E.A.A. a los animales, salvo a los dos controles, se realizó perfusión intracardiaca, para posteriormente extraer en bloque, encéfalo, tronco y médula.

Una vez fijadas correctamente las piezas anatómicas, se procedió a realizar cortes transversales al eje vertical medular, por medio de un microtomo de congelación.

Más tarde , procesamos los cortes obtenidos con la técnica de inmunocitoquímica indirecta con Anticuerpos Anti-Metencefalina. Concluída la fase de revelado y procesado de las preparaciones , éstas fueron estudiadas mediante microscopía óptica , lo que nos permitió objetivar los resultados y de esta forma poder levantar la cartografía correspondiente. Los resultados fueron cotejados entre los de los animales de control y aquéllos estimulados con E.A.A., y a la vez fueron confrontados con los obtenidos por autores precedentes.

Finalizada la cartografía y las comparaciones, reflejadas en el capítulo de Resultados y Discusión, cumplimentamos nuestro trabajo con la presencia del material iconográfico representado por :

Tablas.....	6
Fotografías.....	13
Esquemas.....	1
Mapas.....	2

La bibliografía ha permitido establecer los criterios propios, en la discusión con los autores precedentes, y llegar a las consideraciones que sirvieron de fundamento a nuestras conclusiones que debidamente valoradas y profundamente meditadas, elevadas a la categoría de definitivas, respetuosamente pasamos a leer al docto tribunal.

CONCLUSIONES

- 1ª.- La E.A.A. de baja frecuencia modifica la estructura del sistema met-enkefalínérgico de la médula cervical del gato.
- 2ª.- La E.A.A. , a nivel de la médula cervical, determina la liberación de met-enkefalina.
- 3ª.- La E.A.A. determina en la médula cervical un descenso del grado de inmunorreactividad fibrilar , presente en condiciones de normalidad.
- 4ª.- La E.A.A. , actúa como factor multiplicador del transporte axonal de las vesículas metencefalínérgicas.

- 5ª.- Determinadas áreas medulares metencefalinérgicas, como la región periependimaria (X lámina de Rexed), no experimentan modificaciones significativas tras E.A.A., por lo que deben estar en relación con otras funciones no influenciadas por dicha estimulación.
- 6ª.- Confirmamos que la estimulación con E.A.A. de baja frecuencia actúa positivamente en sentido analgésico.
- 7ª.- La presencia de met-enkefalina en las láminas VIII y IX de los controles y la disminución del grado de inmunorreactividad fibrilar de las mismas, tras E.A.A., implica a la E.A.A. en otras funciones al margen de las estrictamente analgésicas.
- 8ª.- No existe una correspondencia exacta entre la cartografía anatómica clásica y la correspondiente al sistema metencefalinérgico.
- 9ª.- Dada la realidad incuestionable de la existencia del sistema metencefalinérgico, deben ser revisados, a la luz de las nuevas investigaciones, los conceptos clásicos referidos a las vías nociceptivas.
- 10ª.- La analgesia producida por la E.A.A. de baja frecuencia es de tipo opiácea endógena.

- 11ª.- Elevamos a la categoría de rango terapéutico y científico a la E.A.A.
- 12ª.- La modificación estructural del sistema metencefalinérgico a nivel medular, contribuye a fundamentar las bases neurohistoquímicas de la E.A.A.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALIAGA FONT, L., LIBKIND ALPER, A., CANTALLOPS PERICAS, B.,-
CANET CAPETA, J.1983."Sistemática de la Clínica del Do-
lor".Jano Nº 565: 47-54.
- 2.- ALBE-FESSARD, D., LEVANTE, A., LAMOUR, Y. 1974. "Origin of
spinothalamic tract and spinoreticular pathways in
cats and monkeys ". Advances in Neurology, 4: Pain.:
157-166
- 3.- ALVAREZ SIMÒ, E. 1973."Tratado de Acupuntura".Maisonneuve.--
Francia.
- 4.- ANDERSSON, S.V., ERICSON, T., HOLGREN, E., LINDQUIST, G.---
1973. "Electro-Acupuncture.Effect of pain thresold mea-
sured with electrical stimulation of teeth." Brain
Research, 63:393-396.Elsevier Scientific Publishing Co.
Amsterdam.
- 5.- ANDERSSON, S.A., HOLMGREN, E. 1976. "Pain thresold effects

of peripheral conditioning stimulation". Advances in Pain Research and Therapy. Vol. 1:761-767.

- 6.- ANDERSSON, S.A., HANSSON, G., HOLMGREM, E., RENBERG, O. 1976
" Evaluation of the pain suppressive effect of different frequencies of peripheral electrical stimulation in chronic pain conditions". Act. Orthop. Scand. 47:149-157.
- 7.- BAPTISTE, R. 1962. "L'Acupuncture et son Histoire". Edit. Maloine. Paris.
- 8.- BARRAQUER. B.L. 1986. "Conocimiento actual de los mecanismos neurales del dolor (1ª parte)." Dolor, Vol. 1, Nº. 1: 19-35
- 9.- BASBAUM, A.I., FIELDS, H.L. 1984. "Endogenous pain control systems: Brainstem, spinal pathways and endorphin circuitry". Ann. Rev. Neurosci. 7: 309-338.
- 10.- BEAU, G. 1965. "La Médecine Chinoise". Editions du Seuil. Paris.
- 11.- BELLET, M., ELGHOZI, J.L. 1980. "Les edorphines: neuromodulateurs et hormones". La Nouvelle Presse Médicale. 10 Mai 9, Nº. 21:1503-1508. Masson. Paris.

- 12.- BELLUZZI, J.D., GRANT, N., GARSKY, V., SARANTAKIS, D., WISE C.D., STEIN, L. 1976. "Analgesia induced in vivo by - central administration of enkephalin in rat". Nature.- Vol. 260:625-626.
- 13.- BESSOU, P., BURGESS, P.R., PERL, E., TAYLOR, C.B. 1971. "Dynamics properties of mechanoreceptors with unmyelinated (C) fibers." J. Neurophysiol. 34:116-131.
- 14.- BISHOP, G.H., HEINBECKER, P., O'LEARY, J.L. 1933. "The function of the nonmyelinated fibers of the dorsal roots". Am. J. Physiol., 106: 647-669.
- 15.- BONICA, J.J. 1985. "History of Pain Concepts and Pain Therapy". Seminars in Anesthesia, Vol. IV, Nº 3:189-209. (September).
- 16.- BORSARELLO, J.F. 1984. "Dictionnaire de **Medicine** Chinoise Traditionnelle. **Masson**. Paris.
- 17.- BORSARELLO, J.F. 1987. "Cahiers d'Acupuncture". Vol. 3. **Masson**. Paris.
- 18.- BOSSY, J. 1985. "Bases Neurobiologicas de las Reflexoterapias" **Masson**. Barcelona.

- 19.- BOUCHET, A., GUILLERET, J. 1978."Anatomia descriptiva, topografica y funcional. Sistema nervioso central. Edit. - Médica Panamericana. Buenos Aires.
- 20.- BOUREAU, F., WILLER, J.C. 1982."La douleur: exploration, traitement par neurostimulation et electroacupuncture". Masson. Paris.
- 21.- BURGESS, P.R., PERL, E.R. 1967."Myelinated afferent fibres responding specifically to noxious stimulation of the skin". J. Physiol. 190: 541-56.
- 22.- CERVERO, F., IGGO, A. 1980. "The Substantia Gelatinosa of the spinal cord. A critical review". Brain, 103:717-772
- 23.- CLEMENT-JONES, V., McLOUGHLING, L., LOWRY, P.J. BESSER, G.M. REES, L.H. 1979. "Acupuncture in heroin-addicts: changes in Met-Enkephalin and β -Endorphin in blood and cerebrospinal fluid". The Lancet, 25:380-382.
- 24.- CONRATH, M., DIETL, M., ARLUISON, M., CESSSELIN, F., BOURGOIN S., HAMON, M. 1983. "Localization of Met-Enkephalin-like immunoreactivity within pain-related nuclei of cervical spinal cord, brainstem and midbrain in the cat". Brain Research Bulletin. Vol. 11: 587-604.

- 25.- CONRATH, M., COVENAS, R., ROMO, R., CHERAMY, A., BOURGOIN, S.
HAMON, M. 1986. "Distribution of Met-Enkephalin immunor-
reactive fibers in the thalamus of the cat.". Neurosc---
ciences Letters, 65: 299-303.
- 26.- COUSINS, M. J., MATHER, L. E. 1984. "Intrathecal and epidural -
administration of opioids." Anesthesiology. 61:276-310.
- 27.- COVENAS, R., AGUIRRE, J. A., BURGOS, M. C., LOPEZ-CAMPOS, J. L.
1986. "Estudio inmunocitoquímico de la distribución de -
de la sustancia P en el diencefalo del gato". IV Re-
unión Nacional de la Sociedad Española de Histoquímica.
Valencia.
- 28.- CONSEILLER, C. H., LEVANTE, A. et al. 1970. "Ketamine nouvel a-
gent anesthésique.". Anesth. Anal. Rean. Nº. 1, Tome XX-
VII. 43-54.
- 29.- CROSBY, E. C., HUMPHREY, J., LAUER, E. W. 1962. "Correlative
Anatomy of the Nervous System". Macmillan.
- 30.- CURTIS, B. A., JACOBSON, S., MARCUS, E. 1972. "An Introduction
to the Neurosciences". Ed. Saunders Company. Toronto. Ca-
nada.
- 31.- CHAN, P. 1974. "Electroacupuncture." Its clinical applications
in therapy". Edit. John F. Chow. Los Angeles.

- 32.- CHANG, C.C. 1980."Los puntos de Acupuntura en los animales".
Edit. Cabal.Madrid.
- 33.- CHU, L.Y. 1972."Electroacupuncture therapy".Shih Yung Pub.--
Hong-Kong.
- 34.- CHENG, R.S.S., POMERANZ, B. 1981. "Monoaminergic mechanisms
of electroacupuncture analgesia. Brain Res., 215: 77-92
- 35.- CHUSID, J. 1983. "Neuroanatomía correlativa y Neurología Fun-
cional".6ª Edición. Edit. "El Manual Moderno", S.A. Mé-
xico. D.F.
- 36.- D'AMOUR, F.E., SMITH, D.L. 1941."Method for determining loss
of pain sensation." J. Pharmacol. Exp. Ther.72: 74.
- 37.- DELMAS, A. 1976. Vías y centros nerviosos. 7ª Edición. Edit.
Toray-Masson. Barcelona.
- 38.- DENNIS, S.F., MELZACK, R.1977. "Pain signalling systems in
the systems in the dorsal and ventral spinal cord". -
Pain, 4: 97-13.
- 39.- ECO, U. 1985. "Como se hace una Tesis. Técnicas y procedi-
mientos de investigación, estudio y escritura". 6ª Ed.
Edit. Gedisa. Mexico.



- 40.- ELWYN, A. 1929. "The structure and development of the proprioceptors". Assoc. Res. Nerv. & Ment. Dis., 6: 244-280
- 41.- EYZAGUIRRE, C., FIDONE, S.J. 1977. "Fisiología del Sistema Nervioso". Edit. Médica Panamericana. México.
- 42.- FIELDS, H.L. 1987. "Pain". McGraw-Hill Book Company. S. Francisco. California.
- 43.- FLOREZ, J. 1981. "Una hermosa historia sobre el dolor". Lección inaugural del curso académico 1981-82. Edit. Universidad de Santander.
- 44.- FLOREZ, J., MARTINEZ-LAGE, I.M. 1983. "Neurofarmacología - fundamental y clínica". Tomo I. Edit. EUNSA. Pamplona.
- 45.- FUNG, T.Y. 1967. "Electro-Acupuncture". The Commercial Press, Ltd. Hong-Kong.
- 46.- GLAZER, E.J., BASBAUM, A.I. 1980. "Leucine Enkephalin : Localization in and Axoplasmic Transport by sacral Parasympathetic Preganglionic Neurons". Science. Vol.208:1479-1480.

- 47.- GLAZER, E.J., BASBAUM, A.I. 1981. "Immunohistochemical localization of leucine-enkephaline in the spinal cord of the cat; Enkephalin containing marginal neurons and pain modulation". J. Comp. Neur. 196 (3): 377-391.
- 48.- GOLDSTEIN, A. 1976. "Opioid Peptides (Endorphins) in Pituitary and Brain". Science. Vol. 193. Nº 4285:1081-1086.
- 49.- GONZALO, L.M. 1979. "La Acupuntura en el Tratamiento del Dolor". EUNSA. Pamplona.
- 50.- GONZALO, L.M. 1987. "Bases Neurológicas de la modulación del dolor". Forum Medico. Vol. 0. Nº 0:5-8.
- 51.- GRAY, H., WILLIAMS, P.L., WARWICK, R. 1985. "Anatomía". Tomo II. 36ª Edición. Ed. Salvat. S.A. Barcelona.
- 52.- GREEP, R.O., WEISS, L. 1975. "Histología". 3ª Ed. Editorial El Ateneo. Argentina.
- 53.- GUILLAUME, M.J., de TYMMOWSKI, J.C., FIEVET-IZARD, M. 1979. "Que és la Acupuntura". E.D.A.F. Madrid.
- 54.- GULLNER, H.G. 1985. "Endorfinas y control del Dolor". The Lancet, (Ed. Español). Vol. 6. Nº 1: 88.

- 55.- HAO LI, C., CHUNG, D. 1976. "Primary structure of human β -li-
potropin". Nature. Vol. 260:622-624.
- 56.- HENRY, J.L. 1982. "Relation of substance P to pain transmis-
sion: neurophysiological evidence." Substance P in the
nervous system. Edited by R. Porter & M. O'Conner. Pit-
man Books Ltd. England.
- 57.- HOANG-TI . "Nei-King". Versión traducida al castellano por
Julio Garcia Lozano. 1982. Las Mil y Una Ediciones. Madrid
- 58.- HÖKFELT, T., JOHANSSON, O., LJUNGDAHL, A., LUNDBERG, J.M.,
SCHULTZBERG, M. 1980. "Peptidergic Neurones". Nature.--
Vol. 284: 515-521.
- 59.- HOMMA, S., HORI, Y., YONEZAWA, T. 1985. "The antagonistic e-
ffects of naloxone on acupuncture inhibition of the vi-
bration-induced grasp reflex in man." Neurosciences Le-
tters, 61:227-232.
- 60.- HUARD, P., WONG, M. 1959. "La Médecine Chinoise au cours des
siècles". Edit. Roger Dacosta. Paris.
- 61.- HUARD, P., WONG, M. 1964. "La Médecine Chinoise". Colec. "Que
sais-je?". P.U.F. Paris.

- 62.- HUGHES, J. 1975. "Isolation of an endogenous compound from the brain with pharmacological properties similar to morphine". Brain Res. 88: 295-308.
- 63.- HUGHES, J., SMITH, T.W., KOSTERLITZ, H.W., FOTHERGILL, L.A. MORGAN, B.A., MORRIS, H.R. 1975. "Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity." Nature (Lond.) 258: 577-579.
- 64.- HYODO, M. MASAYAMA, K. 1976. "Acupuncture anaesthesia and pain threshold. Adv. in P.R.T. 787-795.
- 65.- IVERSEN, L.L. 1983. "Neurotransmisores y Enfermedades del Sistema Nervioso central. Introducción". The Lancet -- (ed. esp.) 2: 187-192.
- 66.- IGGO, A. 1974. "Cutaneous receptors". Peripheral Nervous System. Ed. J.I. Hubbard. Plenum Press. New York.
- 67.- JESSEL, T.M., IVERSON, L. 1977. "Opiate analgesics inhibit substance P release from a trigeminal nucleus." Nature 268: 549-551.
- 68.- JIMENEZ- CASTELLANOS, J. 1975. "Lecciones de Neuroanatomía Clínica". 3ª Ed. Universidad de Sevilla.

- 69.- JISHENG, H., JIAN, T., BAOSHAN, H., XINAN, L., NAIHENG, Z.
1979."Acupuncture Tolerance in rats.Antiopiote Substrates implicated".Chinese Medical Journal .92(9):625-627.
- 70.- KENYON, J.N., KNIGHT, C.J., WELLS, C. 1983."Randomised double-blind trial on the immediate effects of naloxone on classical chinese Acupuncture Therapy for chronic pain" Acupuncture & Electrotherapeutics Res., Int., J., Vol.8 17-24.Pergamon Press Ltd. U.S.A.
- 71.- KISER,R.S., KHATAMI, M.,GATCHEL, R.J. BATHIA, K., HUANG, X. Y., ALTHUSER, K.Z.1983. "Acupuncture relief of chronic pain sindrome correlates with increased plasma met-Enkephalin concentrations". The Lancet. Vol 11.No 8364:1394-1396.
- 72.- KLIDE, A., KUNG, S. 1977."Veterinary Acupuncture".University of Pennsylvania Press.Philadelphia.
- 73.- KNIGGE, K.M., JOSEPH, S.A.1984."Anatomy of the opioid systems of the Brain.". Can. J. Neurol. Sci. Vol. 11, No.1 February:14-23.
- 74.- KOSTERLITZ, H.W., WATERFIELD, A.A. 1975. "In vitro models in the study of the structure-activity relationships of narcotic analgesics." Ann. Rev. Pharmacol. 15: 29-47.

- 75.- LAVIER, J. A. 1966. "Histoire, Doctrine et Pratique de L'Acupuncture Chinoise". Edit. Tchou. Paris.
- 76.- LAVIER, J. A. 1964. "Les bases traditionnelles de L'Acupuncture Chinoise". Maloine. Paris.
- 77.- LELEU, J., LIAGRE, A. et al. 1976. "Nouvelle Methode de dosage de la Ketamine." Anesth. Anal. Rean. N^o. 2. Tome XXXIII 123-134.
- 78.- LIEBESKIND, J. C., SHERMAN, J. E., CANNON, J. T., TERMAN, G. W. 1985. "Neural and Neurochemical Mechanisms of Pain Inhibition". Seminars in Anesthesia. Vol. IV, N^o. 3:218-222 Ed. Grune & Stratton Inc.
- 79.- LINZER, M., VAN ATTA, L. 1974. "Effects of Acupuncture stimulation on activity of single thalamic neurons in the cat". Advances in Neurology. Vol. 4: 799-811.
- 80.- LUNG, C. N., SUN, A. C., TSAO, C. J., GANG, Y. L., FAN, L. 1973. "An observation of the humoral factor in acupunctural-analgesia in rats". Am. J. Chin. Med., 2:203-205.
- 81.- MADRID ARIAS, J. L. 1984. Comunicación personal en las I Jornadas Andaluzas de Clínicas del Dolor. Sevilla.

- 82.- MARTIN, W.R., EADES, C.G., THOMPSON, J.A., HUPPLER, R.E., --
GILBERT, P.E. 1976. "The effects of morphine and nalor-
phine-like drugs in the nondependent and morphine-depen-
dent chronic spinal dog. J. Pharmacol. Exp. Ther. 197:
517-532.
- 83.- MASPERO, H. 1965."La Chine Antique".P.U.F.Paris.
- 84.- MELZACK, R., WALL, P.D.1965."Pain Mechanisms: A New Theory."
Science. Vol.150; Nº.3669: 971-979.
- 85.- MERRILL, E., WALL, P.D., YAKSH, T.L. 1978. "Properties of
two unmyelinated fibre tracts of the central nervous
system: Lateral Lissauer Tract and parallel fibres of
the cerebellum". Journal of Physiology. 284:127-145
- 86.- MILIN, J. 1980."Planches Anatomiques".Revue des Vet. Acupun-
ct. de France.Vol.2.
- 87.- MILSTEIN, C., CUELLO, A.C. 1983."Hybrid hybridomas and ---
their use in immunohistochemistry". Nature. Vol. 305.-
529-540.October.
- 88.- MONTERO. C.1981."Immunocytochemical Methods and their Achie-
vements in Pathology.". Meth. Achiev. Exp. Pathol. ---
Vol. 10:1-36. Karger . Basel.

- 89.- MORGADO, A. 1987. "Aportaciones a la fundamentacion neuro-histoquímica de la E.A.A. Localización del contenido de met-enkefalina en el hipotálamo del gato, tras estimulación con electro-acupuntura". Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- 90.- MUÑOZ, M. 1986. "Aportaciones a la fundamentacion neuro-histoquímica de la E.A.A. Localización y modificación del sistema met-enkefalinérgico a nivel del tálamo del gato, tras estimulación con electro-acupuntura". Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- 91.- MUÑOZ, M., VAZQUEZ TAPIOLES, J., LOPEZ CAMPOS, J.L. 1987. "Modificación estructural del sistema met-enkefalinérgico en el tálamo del gato, tras estimulación con electroacupuntura". Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Trabajos del Instituto Cajal. Tomo LXXVI Madrid.
- 92.- NEEDHAM, J. 1956. "Science and Civilisation in China". Vol. II. - Cambridge University Press.
- 93.- NIBOYET, J.E.H.. 1973. "L'Anesthesie par L'Acupuncture". Edit. Maisonneuve. France.
- 94.- NICOLL, R.A., ALGER, B.E., JAHR, C.E. 1980. " Enkephalin ---

blocks inhibitory pathways in the vertebrate CNS". Nature. Vol. 287:22-25.

- 95.- NOBACK, C.R., DEMAREST, R.J. 1985. "Sistema Nervioso Humano" Edit. Mcgraw-Hill. Mexico.
- 96.- OLSON, G.A., OLSON, R.D., KASTIN, A.J., COY, D.H. 1981. "Endogenous opiates.". Peptides, 2:349-369.
- 97.- PEARSON, J., BRANDEIS, L., CUELLO, C. 1982. "Depletion of substance P-containing axons in substantia gelatinosa of patients with diminished pain sensitivity". Nature. Vol. 295:61-63.
- 98.- PEIHUA, Z., QUIAN, P. 1979. " A study of the relationships between the points of the channels and peripheral nerves." Nat. Symp. of Acup. & Mox. & Acup. Anaesth. p.302. Beijing.
- 99.- PERALTA DE LA CAMARA, E., GELPI MONTEYS, E. 1983. "Neuroquímica del dolor: los opiáceos endógenos o endorfinas." JANO. Nº. 564:55-61.
- 100.- PEREZ-CASAS, A., BENGOCHEA, M.E. 1977. "Morfología, estructura y función de los centros nerviosos". 3ª Ed. Edit. Paz Montalvo.

- 101.-PERT, A., SNYDER, S.H. 1973. "Properties of opiate receptor binding in rat brain". Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 70: 2243-2247.
- 102.-POMERANZ, B., CHIN, D. 1976. "Naloxone blockade of acupuncture analgesia: Endorphin implicated". Life Sci. 19: 1757-1762.
- 103.- POMERANZ, B., CHENG, D. 1977. "Acupuncture reduces electrophysiological and behavioral responses to noxious stimuli: Pituitary is implicated". Exp. Neurol. 54:172-178.
- 104.- RAMAMURTHY, S., WINNIE, A.P. 1985. "Regional Anesthetic techniques for pain relief.". Seminars in Anaesthesia, vol. IV No. 3 (September):237-246. Grune & Stratton Inc. USA
- 105.- RAMON Y CAJAL, S. 1891. "La Substancia Gelatinosa de Rolando " citado por CERVERO, F., e IGGO, A. (1980)
- 106.- RAMON Y CAJAL, S. 1972. "Histologie du Systeme Nerveux de l'Homme et des Vertébrés". Tomo II. C.S.I.C. Instituto Ramón y Cajal. Madrid.
- 107.- RANSON, S.W. 1913. "The course within the spinal cord of the non-medullated fibers of the dorsal roots: a study of Lissauer's tract in the cat." J. Comp. Neurol., 23:

259-281.

- 108.- REGIONAL WORKING GROUP ON THE STANDARDIZATION OF ACUPUNCTURE NOMENCLATURE. 1984. "Standard Acupuncture Nomenclature". World Health Organization Regional Office for the Western Pacific. Manila.
- 109.- REICHMANIS, M., MARINO, A., BECKER, R. 1975. "Electrical Correlates of Acupuncture points". I.E.E.E. Trans. Biomed. Eng. No 2, November. 533-535.
- 110.- REXED, B. 1952. "The cytoarchitectonic organization of the spinal cord." J. Comp. Neurol. 96: 415-496.
- 111.- REYNOLDS, D.V. 1969. "Surgery in the rat during electrical analgesia by focal brain stimulation." Science, 164: - 444-445.
- 112.- ROUSTAN, C. 1977. "Traité d'acupuncture". Tome 2. Masson. Paris.
- 113.- RUBIN, M. 1976. "Manuel d'Acupuncture Veterinaire". Maloine. Paris.
- 114.- RUDA, M.A. 1982. "Opiates and Pain Pathways: Demonstration of Enkephalin synapses on Dorsal Horn projection Neu--

rons". Science. Vol. 215: 1523-1524. March.

- 115.- SARLANDIERE DE LA, B. 1825. "Memoire sur L'Electropuncture--
consideré comme un moyen de traiter efficacement la --
goutte et sur l'emploi du moxa, suivi d'un traité e la
acupuncture et du moxa". citado por Alvarez-Simó, E.--
1973.
- 116.- SHOENEN (1973). Citado por GRAY, H. et al. (1985)
- 117.- SIMON, E.J., HILLER, J.M., EDELMAN, I. 1973. Stereospecific
binding of the potent narcotic analgesic 3H-Etorphine
to rat brain homogenate." Proc. Natl. Acad. Sci. 70:
1947-1949.
- 118.- SOULIÈ DE MORANT, G. 1972. "L'Acuponcture Chinoise". Maloine.
Paris.
- 119.- SZENTAGOTHAI, J. 1964. "Neuronal and synaptic arrangement
in the substantia gelatinosa Rolandi". Journal of com--
parative Neurology". 122, 219-239.
- 120.- TEREINIUS, L. 1973. "Characteristics of the "receptor" for--
narcotic analgesia in synaptic plasma membrane". Acta-
Pharmacol. Toxicol. 33: 377-384.

- 121.- TESTUT, L., LATARJET, A. 1976. "Anatomía Humana". Tomo II, 9ª Ed. Edit. Salvat. Barcelona.
- 122.- VILLAR LANDEIRA, J.M. 1983. "Historia de las Clínicas del dolor. Estado actual." *Jano*, Nº 564: 40-42.
- 123.- VACCA-GALLOWAY, L.L., NAFTCHI, N.E., ARAKAWA, K., GUAN, X. M., AI, M.K. 1985. "Alterations of immunoreactive Substance P and Enkephalins in rat spinal cord after Electroacupuncture". *Peptides*, Vol.6, Suppl. 1:177-188.
- 124.- VALSECA, F.J. 1988. "Aportaciones a la fundamentación neurohistoquímica de la E.A.A. Localización y modificación del sistema metencefalinérgico en la protuberancia del gato, tras estimulación con electroacupuntura." Tesis - Doctoral. Universidad de Sevilla.
- 125.- VAZQUEZ TAPIOLES, J., MUÑOZ SAEZ, M., MORGADO CUETO, A., VALSECA SOTO, F.J. 1987. "Modificación estructural del sistema met-encefalinérgico en el hipotálamo del gato, tras estimulación con electroacupuntura". Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Trabajos del Instituto Cajal. Tomo LXXVI. Madrid.
- 126.- WALL, P.D., 1967. "The laminar organization of dorsal horn and effects of descending impulses". *J. Physiol.* 188:

403-424.

- 127.- WANG, Z., GU, H., YUE, W. 1979. "The observation on the relationship between the efficacy of acupuncture analgesia and electric stimulating parameters." Nat. Symp. of Acup. & Mox. & Acup. Anaest. pp. 240. Beijing.
- 128.- WATERFIELD, D.A., HUGHES, J., KOSTERLITZ, H.W. 1976. "Cross tolerance between morphine and methionine-enkephalin". Nature Vol.260:624-625.
- 129.- WATERSTON, D. 1933. "Observations on sensation. The sensory functions of the skin for touch and pain." J. Physiol., 77: 251-275.
- 130.- WEN, H.L., CHEUNG, S.Y.C. 1973. "Treatment of drug addiction by acupuncture and electrical stimulation." Asian J. of Med., 9: 138-141.
- 131.- YAKSH, T.L. 1987. "Opioid receptor systems and the endorphins a review of their spinal organization". J. Neurosurg., 67:157-176.
- 132.- YAKSH, T.L., JESSEL, T.M., GAMSE, R., MUDGE, A.W. 1980. "Intrathecal morphine inhibits substance P release from mammalian spinal cord in vivo". Nature. Vol. 286:155-157.

- 133.- YOSHIMURA, M., NORTH, R.A. 1983. "Substantia Gelatinosa -- neurones hyperpolarised in vitro by enkephalin". Nature Vol. 305: 529-530. October.
- 134.- ZONGLIAN, H. 1979. "A study on the histologic structure of Acupuncture points and types of fibers conveying needling sensation". Chinese Medical Journal. 92(4):223-234

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de

D. Rafael Cobo Romana
titulada Localización y modificación del Sistema metencefalicospino en la Modulo Central del feto. Tras estimulación con electroacupuntura.
acordó otorgarle la calificación de Apto cum laude


Sevilla, 27 de Julio 1988

El Vocal,



El Presidente

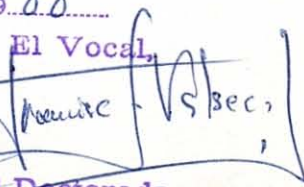
El Vocal,



El Secretario,



El Vocal,



El Doctorado,

