

Los opioides endógenos en el proceso de habituación*

Francisco Pellicer Graham**

Summary

The habituation phenomena in the central nervous system consists of a progressive reduction of the response, produced by iterative stimulation. Although the habituation is phenomenologically well documented, i.e. the description of how the organisms respond to iterative low frequency stimulation, and how bioelectrical and behavioural responses change when modifying the stimulation parameters, it is not yet clear the intrinsic process of the mammal spinal cord. The oldest report concerning the behavioural description of habituation is that of Sherrington a century ago. He found that the electrical and mechanical repetitive stimulation of the skin produced a decrement of the scratch reflex in the dog. He also observed, after a resting time, the restoration of the reflex -deshabituation-. In order to simplify the research, given the complexity of neural system preparations in vertebrates, some groups have used the neural ganglia of an invertebrate, *Aplysia californica*, to study the fine neural circuitry and possible mechanisms involved in habituation phenomena. This simplification poses, *per se* difficulties in the extrapolation of the results for all nervous systems. At least three possible hypotheses for the explanation of habituation have been proposed: a) synaptic depression, b) build-up inhibition, c) postsynaptic desensitization. The first hypothesis presumes that the decrement of the efficiency of the sensory neuron is determined by the progressive reduction in the amount of the excitatory neurotransmitter released with each stimulus, due to a reduction in an inward Ca^{++} current. The second one proposes a progressive inhibitory action of interneurons upon motoneurons, i.e. in the neural pathway being habituated; in the spinal cord there is evidence that the neurons of Rexed's laminae IV and V can play a role in inhibitory build-up. The third one suggests a progressive loss of response of the postsynaptic receptor produced by the progressive inactivation of specific ionic channels. Some observations demonstrated the direct effects of opioid peptides upon sensorial and motor processes in the spinal cord. The systemic administration at low doses of these peptides produces a selective decrement of ventral root responses, elicited by nociceptive thermal stimulation. The local administration of opiates and opioids inhibit the evoked unit activity produced by noxious stimuli and in contrast, the naloxone administration enhances the same responses. The role of opioid peptides in the modulation of nociceptive and cutaneous information in the mammal spinal cord are widely documented by physiological, pharmacological and neuroanatomical data. The opioid peptides have been recently postulated as the possible substances involved in the mechanisms of habituation. The present work is the state of affairs of an old problem and its relation with opioid peptides.

* Este trabajo está subvencionado parcialmente por el IMP, proyecto 3230; por CONACYT, proyecto P228CCOX-880256 y por el Sistema Nacional de Investigadores, 88-2297.

** Investigador de tiempo completo del Departamento de Neurofisiología de la División de Neurociencias del Instituto Mexicano de Psiquiatría. Calzada México-Xochimilco 101, Delegación Tlalpan, 14370, México, D.F.

Resumen

El fenómeno de habituación en el sistema nervioso central consiste en la disminución progresiva de la respuesta que se produce cuando un estímulo, en un principio nuevo, se presenta repetidamente a intervalos fijos. Aunque la habituación está bien documentada a nivel fenomenológico, aún no están claros los mecanismos mediante los cuales se lleva a cabo en la médula espinal del mamífero. Se han propuesto tres hipótesis, por lo menos, para la explicación de este fenómeno: a) depresión sináptica, b) inhibición activa, c) desensibilización postsináptica. La primera propone la disminución progresiva de la salida de neurotransmisor de la neurona sensitiva presináptica, producida por la estimulación repetida; la segunda propone una acción inhibitoria progresiva de interneuronas sobre motoneuronas efectoras; la tercera implica la falta de respuesta del elemento postsináptico, es decir, la desensibilización del receptor. El papel de los péptidos opioides en la modulación de la información sensorial nociceptiva y cutánea en la médula espinal del mamífero está ampliamente documentado, con trabajos fisiológicos, farmacológicos y neuroanatómicos. Estos péptidos han sido recientemente postulados como los posibles mediadores en el mecanismo responsable de la habituación en la médula espinal.

Introducción

La habituación es un fenómeno general del Sistema Nervioso Central (SNC), que consiste en la disminución progresiva de la respuesta bioeléctrica y conductual que se produce cuando un estímulo, en un principio nuevo, se presenta repetidamente a intervalos fijos (33).

El fenómeno de la habituación fue descrito inicialmente, de manera conductual, por Pavlov (49), quien utilizó el término de "inhibición interna" para connotar la disminución paulatina de una función o de un patrón conductual. Otros trabajos pioneros fueron el de Dodge (20), que describe la habituación al reflejo de *nistagmus* postrotatorio, y el de King (40), donde se reporta la influencia de la rotación repetida en pichones ciegos.

Una vez instalado el fenómeno de habituación, es posible recobrar las respuestas bioeléctricas o conductuales mediante la suspensión del estímulo, o por la modificación de cualquiera de los parámetros con los que se instauró, es decir, con un cambio en la intensidad o en la frecuencia del mismo (64, 33, 65).

El fenómeno de la habituación se presenta de manera general en el SNC, con casi cualquier modalidad sensorial, inclusive mediante la estimulación repetitiva que produce dolor soportable (16) y está presente en especies que van desde los insectos (68) hasta el hombre (41). De aquí que la habituación varíe depen-

diendo de los parámetros con los que se instaure, el sujeto experimental que se utilice, el sitio del SNC en el que se estudie, etc. Se han hecho distinciones entre los procesos de habituación a corto plazo, que van de minutos a horas (63), y los de largo plazo, durante días e inclusive semanas (10). También se ha caracterizado a la habituación como un modelo de aprendizaje negativo (35, 36), es decir, el fenómeno mediante el cual se aprende, de manera paulatina, a dejar de responder a un estímulo que carece de significado funcional o que es prescindible para la supervivencia. Dada la diversidad de expresiones y la complejidad en los cambios que produce el fenómeno de la habituación en el SNC, sobre todo a largo plazo, se le ha situado en el campo de la plasticidad neuronal (42, 33).

Las características fenomenológicas y paramétricas de la habituación están bien documentadas (67); a continuación las describimos:

1. La habituación se produce cuando se estimula el Sistema Nervioso (SN) en forma monótona. El resultado del decremento de la respuesta provocada por la estimulación, es la habituación. Este decremento es usualmente una función exponencial negativa del número de veces que se estimula.

2. Si el estímulo es suspendido o se modifica su patrón, esto es, se aumenta o disminuye la frecuencia de estimulación o su intensidad, la respuesta tiende a recobrase.

3. Si se dan series repetidas de estímulos que habi-túen y deshabitúen, las habituaciones sucesivas se presentan más rápidamente, lo que se denomina potenciación de la habituación.

4. Si se aumenta la frecuencia de estimulación, la habituación se hace más rápida y más pronunciada. Esto depende del sitio del SNC en donde se esté estimulando.

5. Los estímulos débiles producen habituación más rápida o más pronunciada.

6. Los efectos de la habituación pueden prolongarse más abajo de cero o del nivel de respuesta sintótica, es decir, cuando se estimula de forma monótona por tiempo prolongado, inclusive después de la desaparición de la respuesta.

7. La habituación de las respuestas puede estar dada por cualquier tipo de estímulo.

8. La presencia de otro estímulo, distinto al utilizado para producir habituación, recupera la respuesta habituada.

9. Si se aplica repetidamente un estímulo deshabitua-te, este estímulo de deshabitua-ción puede produ-cir en sí mismo habituación.

El proceso de habituación en la médula espinal

El primero en analizar la disminución de las respuestas espinales reflejas, en una preparación aguda de perro, fue Sherrington (64); aunque no utilizó el término habituación, sino el de fatiga, para describir este proceso, encontró que la estimulación mecánica o eléctrica repetida aplicada en la piel, tenía como consecuencia el decremento de los reflejos de rascado y de flexión en el animal espinal. También observó que la

recuperación de los reflejos ocurría después de algunos segundos de descanso —deshabitua-ción—.

Prosser y Hunter (54) realizaron un estudio extenso sobre la habituación y la deshabitua-ción del reflejo de flexión con la preparación de rata espinal crónica, utilizando estímulos eléctricos o mecánicos en las patas, cola y nervios del tren posterior. Demostraron que es posible la habituación de las respuestas, la recuperación espontánea y la deshabitua-ción causada por un estímulo más fuerte que el habitua-te; también puntualizaron que los estímulos débiles producen habituación más rápidamente que los de mayor intensidad.

Buchwald y col. (5) realizaron experimentos en gatos espinales agudos, en los que reportaron habituación de la descarga unitaria de motoneuronas registradas en la raíz ventral. Encontraron que unidades eferentes silentes, sin actividad espontánea, con respuestas fásicas de gran amplitud, presentaban un decremento progresivo en su respuesta a la estimulación repetitiva. En cambio las unidades de descarga tónica presentaban, en algunos casos, disminución en su respuesta y en otros, facilitación. Estos autores puntualizaron que los cambios en la respuesta refleja espinal están mediados centralmente, y que no interviene en ella la adaptación de los receptores. También encontraron que los cambios en la presión arterial de los animales de experimentación no se acompañan de cambios en la descarga de las unidades eferentes.

Spencer, Thompson y Neilson (65), trabajando también con gatos en preparación espinal aguda, coincidieron con los resultados de Buchwald y col. (5), y de Prosser y Hunter (54), en que la habituación y la recuperación de los reflejos no depende de factores sistémicos como la presión arterial o agentes químicos circulantes, y que este proceso es de naturaleza enteramente neuronal. Reportaron que los grandes decrementos en las respuestas reflejas se obtienen con estímulos de baja intensidad (umbrales). Por otra parte, mostraron que el proceso de habituación está presente aun cuando se interrumpa la entrada o la salida del sistema gama eferente. Sus resultados sugieren que la restauración de la respuesta por extraestímulos es el resultado de un transiente facilitador, relacionado con la interrupción del proceso responsable del decremento. En otro trabajo, Thompson y Spencer (67) concluyen que el proceso de habituación del reflejo flexor espinal puede representar un efecto acumulativo de la depresión polisináptica de baja frecuencia y que la deshabitua-ción es un tipo de sensibilización superpuesta, como resultado de una postdescarga facilitatoria.

Los procesos de habituación y sensibilización se han vinculado estrechamente, aunque existen puntos contradictorios en cuanto a si comparten mecanismos neuronales o bien implican procesos diferentes. En este sentido, Groves y col. (31) y Groves y Thompson (32) proponen un substrato anatómico distinto para cada proceso. En concordancia con el trabajo de Thompson y Spencer (67) antes citado, Groves reportó que las células que se encuentran entre las láminas II-IV de Rexed (57), se habitúan y las que se encuentran en las láminas VI-VII, presentan los dos procesos: sensibilización y habituación. Posteriormente Egger

(22) encontró una diferencia de localización entre las respuestas celulares que se habitúan y las que presentan los dos procesos y reportó que las respuestas celulares que producen el patrón de sensibilización-habitación en el reflejo plantar se localizan entre las láminas V-VII y son de umbral intermedio y de latencia larga, a diferencia de las que se habitúan, que se localizan en las láminas III-IV, también de umbral intermedio pero de latencia corta. Concluye que el modelo de "proceso dual" que relaciona circuitos neuronales independientes es innecesario para explicar la sensibilización-habitación del reflejo plantar. En este mismo sentido Farel (24), con experimentos realizados en médula espinal de rana, propone que el "proceso dual" se puede llevar a cabo en la misma sinapsis, aunque no descarta vías anatómicas distintas para estos fenómenos en otras preparaciones.

Por otro lado, se han buscado organismos con sistemas nerviosos menos complejos para estudiar este fenómeno. El grupo de Kandel (39), Carew y col. (9), en experimentos realizados en *Aplysia*, aportan pruebas de que el mismo circuito neuronal con el que se produce la habituación, produce sensibilización a largo plazo, ya que los dos procesos son el resultado de cambios en la liberación del neurotransmisor en la neurona sensorial.

Castellucci y col. (10, 11) han estudiado el fenómeno de habituación en el ganglio neural de la *Aplysia californica*, y proponen que la habituación se debe a la disminución en la liberación del neurotransmisor de la neurona presináptica sensitiva, provocada por la estimulación iterativa, que tiene como consecuencia la falta de activación progresiva de la motoneurona. Esta forma de plasticidad neuronal es llamada homosináptica, por estar restringida a la vía sináptica estimulada. Con base en estas evidencias se generó la hipótesis de la depresión sináptica.

Otra hipótesis propuesta para la explicación del fenómeno de la habituación es la de la "inhibición activa" (72, 50), la cual propone que dentro de la cadena de interneuronas relacionada con la habituación—vía de la habituación— existe una interneurona inhibitoria que al activarse progresivamente da lugar al fenómeno.

Citoarquitectura de la sustancia gris medular. Localización de las opioides endógenos

Los estudios anatómicos, inmunohistoquímicos y neurofarmacológicos sobre las relaciones que tienen las neuronas de la sustancia gris medular, y las sustancias que median la transmisión de las distintas aferencias de ésta, han aportado datos importantes para entender el papel que juegan en la transmisión de la información neuronal, así como el de los procesos fisiológicos fundamentales del sistema nervioso.

Rexed (57) efectuó un estudio en la sustancia gris de la médula espinal, en el que la describe como una estructura formada por capas celulares similares a las de la corteza cerebral o el tálamo, y hace hincapié en la base citoarquitectónica del estudio. Divide a la sustancia gris medular en diez capas celulares que deno-

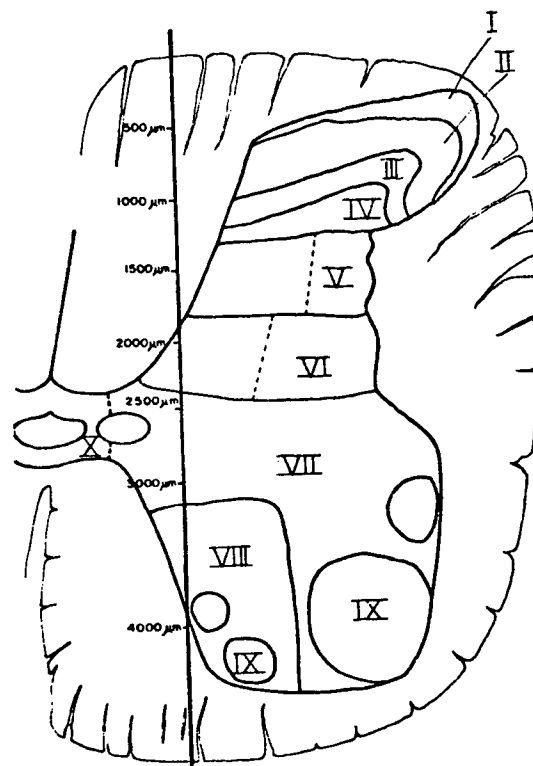


FIGURA 1. Esquema modificado de Rexed donde se muestra la organización laminar en un corte transversal de médula espinal de gato, a nivel lumbosacro. La graduación sobre la barra vertical corresponde a la profundidad en micrómetros a la que se encuentran las láminas. Rexed (1952); J. Cell. Comp. Neurol., 96:415-466.

mina láminas, como se muestra en la figura 1. Rexed describió estas láminas como conglomerados reconocibles de cuerpos celulares, con una profusa red de interconexiones entre ellas, como lo demostraron trabajos posteriores de Proshansky y Egger (53) y de Scheibel y Scheibel (62).

A continuación se describirán las características morfológicas principales de las células que componen las diversas láminas, con base en los trabajos de Rexed (57, 58), agregando algunas características fisiológicas fundamentales.

Lámina I. Los cuerpos neuronales se encuentran formando la parte más superficial (dorsal) de la sustancia gris; son de tamaño pequeño y medio y en ellas se lleva a cabo el primer relevo de la información sensorial. Por esta delgada lámina cruzan múltiples fibras delgadas y medias (A delta y C). Diversos autores han documentado (19, 45, 17, 77), usando técnicas variadas como la inmunohistoquímica, el radioinmunoensayo (RIA) y la degeneración por rizotomía, que los aferentes primarios que hacen sinapsis en estas células contienen sustancias P; aunque existen reportados otros neuromoduladores, como el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y la somatostatina, no se les ha relacionado directamente con la transmisión de información nociceptiva.

Lámina II. Esta estructura, junto con la lámina III, se denomina "sustancia gelatinosa de Rolando", y es de

hecho la única lámina que tiene representación continua desde el tallo cerebral hasta el *filum terminale*. La lámina II se ha dividido en dos porciones: la externa, que situada dorsalmente, está constituida por células más pequeñas y con fibras amielínicas, y la porción interna, con fibras mielínicas de pequeño diámetro y amielínicas. Las prolongaciones de estas neuronas se extienden, tanto rostro-caudalmente como a láminas adyacentes (IV-V), en sentido dorso-ventral. A estas neuronas se les atribuye un papel relevante en los mecanismos de transmisión nociceptiva (47, 14, 78).

Lámina IV. Las células de esta capa se diferencian poco de las de la III y su borde ventral es difuso con la lámina V; los cuerpos neuronales son estelares o triangulares, de tamaño pequeño y medio, aunque en ocasiones se observan de gran tamaño. A estas células se les denomina de amplio rango dinámico (69) por responder a distintas modalidades sensoriales no dolorosas.

Lámina V. Esta se localiza en la parte denominada cuello del asta dorsal. Se divide en una zona lateral que ocupa el tercio externo, con una apariencia reticulada, y una zona medial, con los dos tercios internos. Muchas fibras cruzan la lámina en forma transversal hacia la parte reticulada. La forma de las células es triangular y de gran tamaño en la *pars* lateral, y de tamaño medio en la *pars* medial; a diferencia de las neuronas de la lámina IV, que no presentan una orientación definida, las células de ésta se encuentran orientadas en dirección mediolateral. Algunas de las neuronas forman el haz espino-talámico-lateral y juegan un papel importante en el sistema de compuerta de la información aferente nociceptiva (47, 59, 70, 76).

Lámina VI. Esta lámina tiene su representación típica en los engrosamientos medulares (cervical y lumbar) y se divide, al igual que la V, en una zona medial, ocupando un tercio, una lateral. La zona medial tiene células conglomeradas y de menor tamaño que la lateral. Las formas que presentan estas células son triangulares o estrelladas. Esta lámina recibe información propioceptiva originada en el movimiento de las articulaciones, y también cutánea (69).

Lámina VII. Ocupa la mayor parte de la zona intermedia de la sustancia gris; en los engrosamientos medulares se vuelve más compleja, limitando medialmente con la lámina VIII y lateralmente con la IX. Las células están homogéneamente distribuidas y son de forma estelar o triangular de tamaño medio. Esta lámina es particularmente importante por dos hechos: i) en su parte lateral llegan las fibras del núcleo rubro espinal, y ii) en su parte más ventral y lateral, es decir, junto al núcleo motor de la lámina IX, se encuentran unas fibras recurrentes, estudiadas en un inicio por Cajal (6), que inhiben la actividad de las motoneuronas mediante una interneurona inhibitoria (55, 56).

Lámina VIII. Se encuentran situada en la parte medial ventral de la sustancia gris. Tiene células de diversos tamaños aunque las más grandes son menores que las motoneuronas de la capa IX. Se encuentran numerosas fibras que cruzan, vía transcomisural, a la lámina VIII contralateral. Su papel funcional es determinante en la integración del reflejo cruzado.

Lámina IX. Está localizada en la parte más ventral y

lateral de la sustancia gris. En ella se encuentran varios núcleos motores, que aunque tienen representación a lo largo de toda la médula espinal, aumentan en los engrosamientos a causa de las grandes masas musculares que inervan en las regiones cervical y lumbar. En esta capa se encuentran las neuronas más grandes de la médula espinal, de forma triangular o poliédrica. Estas neuronas están ampliamente conectadas con otras láminas, principalmente con la VI, VII y VIII, y recientemente se han reportado conexiones de láminas dorsales con estos núcleos motores (2, 46).

Lámina X. También se le denomina sustancia gris central y está constituida por células gliales y fibras amielínicas.

Existen amplias evidencias que indican que la médula espinal es un sitio importante de proceso de información, en el que intervienen sistemas peptidérgicos, en especial los opioides (1). Hunt y Kelly (38) realizaron estudios de microscopía electrónica e inmunohistoquímicos donde localizaron metionina-enkefalina y sustancia P en las láminas I y II.

Existen también pruebas de la existencia de péptidos opioides en las neuronas relacionadas con la transmisión y modulación de la información sensorial y nociceptiva en la médula espinal (48). Ruda (59) utilizando una técnica combinada de inmunohistoquímica y marcado retrógrado con peroxidasa de rábano, encontró que las células de la lámina V, que proyectan al tálamo, tienen en su soma receptores a enkefalinas. Estas observaciones demostraron que el principal sitio sináptico de modulación encefalinérgica en la transmisión de información nociceptiva es la lámina V. Por su parte, Fields y col. (27) reportaron que dos tipos de receptores a opiáceos (el MU, con mayor afinidad por la morfina y el DELTA, con mayor afinidad por las enkefalinas) se encuentran en los aferentes primarios de pequeño diámetro y apoyan la idea de que existen dos poblaciones separadas de receptores, una pre y otra postsináptica, con una proporción más grande del DELTA en los elementos postsinápticos del asta dorsal de la médula espinal. Por otro lado, Lamotte y col. (44) reportaron que además de una gran cantidad de receptores a opiáceos en las láminas II y III, se encuentran receptores en el asta ventral. Glazer y Basbaum (29) realizaron un estudio de localización inmunohistoquímica de Leucina-enkefalina en médula espinal de gato, en el que reportaron una gran distribución en el pericarion de células de la lámina I, II y X, especialmente en la *pars* interna de la II. La lámina V presentó inmunoreactividad moderada, por lo que concluyeron que muchas de estas células son morfológicamente similares y convergen en regiones conocidas de proyección.

En un trabajo reciente, Yaksh y col. (77), mediante el método de RIA, hicieron un estudio comparativo en cuatro especies diferentes, de la distribución de varios péptidos, incluida la met-enkefalina, y encontraron que en los segmentos lumbo-sacros de todos los animales estudiados existe una relación de 2:1 y 3:1 de met-enkefalina entre la *pars* dorsal y la ventral. Estos resultados concuerdan con la distribución de péptidos opioides obtenidos por inmunohistoquímica, e inclusive niegan la existencia de cuerpos neuronales que

contengan péptidos opioides en el asta ventral (48, 60).

Hasta aquí se han descrito algunas de las evidencias morfológicas de la existencia y distribución de endorfinas y dinorfinas en la médula espinal; a continuación nos ocuparemos de estos péptidos y de sus análogos sintéticos en la función espinal.

Algunas observaciones han demostrado claramente que los opioides ejercen un efecto directo en el procesamiento de la información sensorial y motora en la médula espinal. La administración sistémica de opiáceos a dosis bajas reduce selectivamente los reflejos de la raíz ventral evocados por estimulación térmica nociceptiva y por fibras A-delta y C (4). También se ha demostrado la disminución de la actividad inducida por estimulación de aferentes de bajo umbral, es decir, no nociceptivos (23, 75).

La aplicación local de opiáceos (morfina, levorfanol, etc.) y de péptidos opioides (Met-enkefalina, Leu-enkefalina, etc.) en el asta dorsal, inhibe la actividad evocada en neuronas por estímulos nociceptivos, térmicos o mecánicos, aplicados en campos sensoriales cutáneos (7, 8, 61).

En la mayoría de estos estudios la naloxona, antagonista de los opiáceos, administrada sistémicamente o por iontoforesis, revierte la supresión producida por opiáceos y opioides. Godfarb y Hu (30) reportaron que la administración sistémica de naloxona produce un aumento en la amplitud de la respuesta refleja medular en el gato. En este sentido, Henry (34) reportó que con dosis intravenosas bajas de naloxona (0.05-0.15 mg/kg) se produce un incremento en la descarga unitaria de neuronas del asta dorsal (láminas I, IV, V y VI) en el gato, y sugiere que el efecto de la naloxona es específico sobre la actividad unitaria nociceptiva. Sobre este punto existen reportes contradictorios, que se analizarán en extenso en la conclusión.

De la misma manera, la aplicación iontoforética de agonistas opiáceos y de naloxona en neuronas de las láminas IV, V y VI, producen inhibición de la frecuencia de disparo con los primeros y aumento con la segunda (79, 80). Estos trabajos confirman el papel modulador inhibitorio de los opioides endógenos medulares. Catley y col. (1980, 1984) demostraron un aumento en relación al control, de más del doble en la amplitud de la actividad medular refleja extensora, y del 130% en la flexora, producidos con dosis bajas de naloxona (2.5 ug/kg i.v.); atribuyen el aumento al antagonismo producido sobre la liberación tónica inhibitoria de los opioides endógenos.

En trabajos realizados en nuestro laboratorio (25, 51) se demostró que la estimulación tetanizante repetida a intervalos fijos, cada 20 min, en aferentes cutáneos y musculares del gato, produce un aumento progresivo de la respuesta de la raíz ventral mono y polisináptica, que se acentúa con la administración de naloxona (0.2-1.0 mg/kg i.v.). Este incremento progresivo de la amplitud de los reflejos mono y polisinápticos es revertido por la administración i.v. de pentazocina, un opiáceo sintético.

Conclusión

A pesar de los múltiples trabajos encaminados a la comprensión del fenómeno de la habituación, y a casi un siglo del inicio sistemático de su estudio, sólo se han resuelto algunos puntos: está bien documentado, como se ha descrito, el nivel paramétrico (67) y nos referimos a estas características como la forma en que el organismo responde al estímulo iterativo de baja frecuencia y los cambios de la respuesta, bioeléctrica o conductual, cuando se modifican las condiciones de estimulación. La controversia continúa en los mecanismos sinápticos o subsinápticos relacionados con la disminución gradual de la respuesta. Al revisar la literatura nos hemos percatado de, por lo menos, tres teorías propuestas para la explicación del fenómeno de la habituación, y en ocasiones una de éstas excluye en su totalidad a las otras. Aunque con los resultados obtenidos en nuestras investigaciones experimentales (26, 52) nos pronunciamos por una en particular, no perdemos de vista la posibilidad de que las demás operen o coexistan, sobre todo en organismos más complejos como el mamífero. A continuación se discutirán.

Recientemente Wood (73, 74) propone como mecanismo de habituación a la contracción, en el protozoo *Stentor coeruleus*, la reducción en la amplitud del potencial en el mecanoreceptor. Este autor encontró que durante la repetición del estímulo mecánico, la amplitud del potencial de acción no cambia; la reducción en el potencial receptorial es voltaje dependiente, de tal manera que los canales en su forma despolarizada, aumentan con respecto a los que se encuentran en la forma hiperpolarizada.

En la década de los 70, diversos investigadores (11, 81) propusieron a la depresión homosináptica como el mecanismo subyacente a la habituación; es decir, la estimulación iterativa produce la inactivación progresiva de la conductancia al Ca^{++} sensible al voltaje, descartando toda participación del elemento postsináptico. Con el fin de precisar el mecanismo, Glanzman y Thompson (28) analizaron la actividad espontánea de los potenciales miniatura de una vía monosináptica durante la habituación en la médula espinal de la rana, y encontraron un aumento en la amplitud y en la frecuencia de los potenciales miniatura cuando la respuesta motora está habituada. Los autores propusieron que sus resultados eran incompatibles con la hipótesis del decremento o depleción del neurotransmisor acumulado. En contraposición, Bailey y Chen (3), en un estudio morfológico de la presinapsis del ganglio abdominal de *Aplysia*, reportaron una reducción en la población de las vesículas listas para ser liberadas, como consecuencia de la depresión homosináptica en la habituación a corto plazo; es decir, una disminución de la zona activa. La tercera hipótesis es la de la depresión activa; ésta propone el aumento creciente de la actividad de una interneurona inhibitoria (o grupo de ellas), que actuando sobre la vía de la habituación, sería la responsable de la disminución de la respuesta motora (37, 72). Esta hipótesis implica considerar de entrada tanto a los neurotransmisores como a la citoarquitectura de la vía en la que se produce la

habituaación. En este sentido, es de relevancia lo reportado por Wall (71) de que las células situadas en las láminas IV-V no se habitúan fácilmente. Otro hecho importante es lo reportado por Egger (22), que encontró diferencias en la localización entre las neuronas que se habitúan y las que presentan el patrón de sensibilización-habituaación; estas últimas las localiza entre las láminas V-VII, de umbral intermedio y de latencia larga. Por otro lado, Glazer y Basbaum (29) reportaron que las neuronas de la lámina V no sólo mandan sus axones lateralmente para formar el fascículo espino-talámico-lateral, sino que algunas mandan sus prolongaciones a láminas más profundas, lo que sustenta la posibilidad anatómica de la conexión con neuronas situadas en la *pars* motora.

Hemos reportado que dosis bajas de naloxona (0.8 mg/kg i.v.) interrumpen el proceso de habituaación e inclusive lo impiden, cuando se administra antes de iniciar la estimulación iterativa (26); esto sugiere, dada la especificidad de este fármaco por los receptores a opiáceos (34), que la habituaación está mediada de manera inhibitoria por células endorfinérgicas, situadas en las láminas IV-V de Rexed.

Chung y col. (15) reportaron una inhibición de larga duración del reflejo de flexión en el gato, producida por estimulación a los nervios peroneo o tibial (A-delta y fibras C) a una frecuencia de 2 Hz, que es revertida por dosis bajas de naloxona. Encontraron un incremento en el voltaje del reflejo, mayor al control por la administración de naloxona, que concuerda con los resultados obtenidos por nosotros, e interpretaron este incremento como una respuesta del efecto sumado de la sección espinal y la estimulación nerviosa periférica que libera opioides endógenos.

Un punto muy importante que completa la evidencia electrofisiológica y farmacológica de la participación de neuronas endorfinérgicas en el proceso de habituaación, es el microanatómico obtenido de los trabajos realizados por León-Olea y col. (46). Sus resultados inmunohistoquímicos muestran fibras reactivas a leucina-enkefalina en contacto estrecho con motoneuronas de la lámina IX y con neuronas de las láminas VII y VIII, lo que sugiere una amplia modulación endorfinérgica en las respuestas motoras. En este sentido Atsumi y Sacamoto (2) también han reportado inmunoreactividad a metionina-enkefalina en terminales axónicas que hacen sinapsis con alfa motoneuronas en el pollo. Esta evidencia, aunada a la reportada por Glazer y Basbaum (29) de que los procesos de neuronas de la lámina V alcancen láminas ventrales profundas, hace posible el control de respuestas motoras por estas células.

Por otro lado, es bien conocido el papel del GABA como neurotransmisor inhibitorio en la médula espinal (43). Varios autores (18, 21, 66) han demostrado recientemente la interacción funcional entre las endorfinas y el GABA, y no se descarta la posibilidad de una interacción sinérgica en el proceso de habituaación de las respuestas medulares, producida por estimulación iterativa de aferentes sensoriales, aunque en esta revisión no está contemplada.

Existen pues sólidas evidencias fisiológicas y anatómicas que sugieren la relación de los péptidos opioídes con el fenómeno de la habituaación de las respuestas aferentes sensoriales no dolorosas, mediante un proceso de inhibición activa situado en las láminas IV-V, que se propaga hasta las motoneuronas.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARONINI N, DIFIGLIA M, LIOTTA A S, MARTIN J B: Ultrastructural localization and biochemical features of immunoreactive leu-enkephalin in monkey dorsal horn. *Neuroscience*, 1:561-577, 1981.
2. ATSUMI S, SAKAMOTO H: Enkephalin like immunoreactive axon terminals make synapses with alpha-motoneurons in the chicken. *Brain Res*, 409:187-192, 1987.
3. BAILEY C H, CHEN M: Morphological basis of short-term habituation in Aplysia. *J Neuroscience*, 8:2452-2459, 1988.
4. BELL J A, MARTIN W R: The effect of narcotic antagonists naloxone, naltrexone and nalorphine on spinal cord C-fiber reflexes evoked by electrical stimulation or radiant heat. *Eur J Pharmacol*, 42:147-154, 1977.
5. BUCHWALD J S, HALS E S, SCHRAMM S: Progressive changes in efferent unit responses to repeated cutaneous stimulation in spinal cats. *Brain Res*, 28:200-215, 1965.
6. CAJAL S R: *Histologie du Systeme Nerveux de l'homme et des Vertevres*. Maloine, París, pág. 986, 1910.
7. CALVILLO O, HENRY J L, NEUMAN R S: Effects of morphine and naloxone on dorsal horn neurons in the cat. *Can J Physiol Pharmacol*, 52:1207-1211, 1974.
8. CALVILLO O, HENRY J L, NEUMAN R S: Actions of narcotic analgesics and antagonists on spinal units responding to natural stimulation in the cat. *Can J Physiol Pharmacol*, 61:652-663, 1979.
9. CAREW T, CASTELLUCCI V F, KANDEL E R: Sensitization in Aplysia: Restoration of transmission in synapses inactivated by long-term habituation. *Science*, 205:417-419, 1979.
10. CASTELLUCCI V F, CAREW T J, KANDEL E R: Cellular analysis of long-term habituation of the gill withdrawal reflex of Aplysia Californica. *Science*, 202:1306-1308, 1978.
11. CASTELLUCCI V F, PINSKER H, KUPFERMANN F, KANDEL E R: Neuronal mechanisms of habituation and dishabituation of the gill-withdrawal reflex in Aplysia. *Science*, 167:1745-1748, 1970.
12. CATLEY D M, CLARKE R W, PASCOE J E: Inhibition of a reflex by activity in large-diameter cutaneous afferent fibres. *J Physiol*, 310:50, 1980.
13. CATLEY D M, CLARKE R W, PASCOE J E: Post-tetanic depression of spinal reflexes in the rabbit and the possible involvement of opioid peptides. *J Physiol*, 352:483-493, 1984.
14. CERVERO F, IGGO A: The substantia gelatinosa of the spinal cord. *Brain*, 103:717-772, 1980.
15. CHUNG J M, FENG Z R, CARGILL C L, WILLIS W D: Prolonged, naloxone-reversible inhibition of the flexion reflex in the cat. *Pain*, 15:35-53, 1983.
16. CONDES-LARA M, CALVO J M, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Habituation to bearable experimental pain elicited by tooth pulp electrical stimulation. *Pain*, 11:185-200, 1981.
17. CUELLO A C: Peptides as neuromodulators in primary sensory neurons. *Neuropharmacology*, 26:971-979, 1987.
18. CUPELLO A, HYDEN H: On the presence of Met5-enkephalin receptors on the plasma membrane of Deiter's neurons and their modulation of GABA transport. *J Neuroscience Res*, 6:579-583, 1981.

19. DIFIGLIA M, ARONIN N, LEEMAN S E: Light microscopic and ultrastructural localization of immunoreactive substance P in the dorsal horn of the monkey spinal cord. *Neuroscience*, 7:1127-1139, 1982.
20. DODGE R: Habituation to rotation. *J Exp Psychol*, 6:1-36, 1923.
21. DINGLEDINE R: Possible mechanisms of enkephalin action on hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neuroscience*, 1:1022-1035, 1981.
22. EGGER M D: Sensitization and habituation of dorsal horn cells in cats. *J Physiol*, 279:153-166, 1978.
23. EINSPAHR F J, PIERCEY M F: Morphine depresses dorsal horn neuron responses to controlled noxious and non-noxious cutaneous stimulation. *J Pharmacol Exp Ther*, 213:456-461, 1980.
24. FAREL P B: Dual process control response habituation across a single synapse. *Brain Res*, 72:323-327, 1974.
25. FERNANDEZ-GUARDIOLA A, CALVO J M, BARRAGAN, L A, ALVARADO R, CONDES-LARA M: Kindling in the spinal cord: Differential effects on mono- and polysynaptic reflexes and its modifications by atropine and naloxone. *Electroenceph Clin Neurophysiol Suppl*, 36:257-263, 1982.
26. FERNANDEZ-GUARDIOLA A, PELLICER F, LEON-OLEA M, ASAI M, SANCHEZ-ALVAREZ M: Habituation and dehabituation of the spinal polysynaptic reflex responses: Modifications by naloxone and opiates and their anatomical correlates. *Neuropeptides* 14:115-120, 1989.
27. FIELDS H L, EMSON P C, LEIGH B K, GILBERT R F T, IVERSEN L L: Multiple opiate receptor sites on primary afferent fibers. *Nature*, 284:351-353, 1980.
28. GLANZMAN D L, THOMPSON R F: Alterations in spontaneous miniature potentials activity during habituation of a vertebrate monosynaptic pathway. *Brain Res*, 189:377-390, 1980.
29. GLAZER E J, BASBAUM A I: Immunohistochemical localization of leucine-enkephalin in the spinal cord of the cat: Enkephalin-containing marginal neurons and pain modulation. *J Comp Neurol*, 169:377-389, 1981.
30. GODFARB J, HU J W: Enhancement of reflexes by naloxone in spinal cats. *Neuropharmacol*, 15:785-792, 1976.
31. GROVES P M, DeMARCO R, THOMPSON R F: Habituation and sensitization of spinal interneuron activity in acute spinal cat. *Brain Res*, 14:521-525, 1969.
32. GROVES P M, THOMPSON R F: Habituation: A dual-process theory. *Psychol Rev*, 77:419-450, 1970.
33. HARRIS J D: Habituation response decrement in the intact organism. *Psychol Bull*, 40:385-422, 1943.
34. HENRY J L: Naloxone excites nociceptive units in the lumbar dorsal horn of the spinal cat. *Neuroscience*, 4:1485-1491, 1979.
35. HERNANDEZ-PEON R: Neurophysiological correlates of habituation and other manifestations of plastic inhibition (internal inhibition). En: H H Jasper, G D Smirnov (eds): The Moscow colloquium on electroencephalography of higher nervous activity. *Electroenceph Clin Neurophysiol Suppl*, 13:101-114, 1960.
36. HERNANDEZ-PEON R, GUZMAN-FLORES C, ALCARAZ M, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Habituation in the visual pathway. *Act Neurol Lat*, 4:121-129, 1958.
37. HOLMGREN B, FRANK S: Inhibitory phenomena and habituation at the neuronal level. *Nature*, 192:1294-1295, 1961.
38. HUNT S P, KELLY J S, EMSON P C, KIMMEL J R, MILLER R J, WU J Y: An immunohistochemical study of neuronal population containing neuropeptides or amino-butyrate within the superficial layers of the rat dorsal horn. *Neuroscience*, 6:1883-1898, 1981.
39. KANDEL E R: Neuronal plasticity and the modification of behavior. En: J M Brookhart, V B Mountcastle (eds): *Handbook of Physiology. The Nervous System*. Am Physiol Soc, pp. 1137-1182, 1977.
40. KING B C: The influence of repeated rotation on decerebrated and on blinded squabs. *J Comp Psychol*, 6:399-421, 1926.
41. KNOTT J R, HENRY, C E: The conditioning of the blocking of the alpha rhythm of the human electroencephalogram. *J Exp Psychol*, 28:134-144, 1941.
42. KONORSKI J: *Conditioned Reflexes and Neuron Organization*. Cambridge University Press, Nueva York, 1948.
43. KRNEVIC K: Nature of synaptic transmission in vertebrates. *Physiol Rev*, 54:418-440, 1974.
44. LAMOTTE C, CANDACE B, SOLOMON H: Opiate receptor binding in primate spinal cord: Distribution and changes after dorsal root section. *Brain Res*, 112:407-412, 1988.
45. LANEROLLE N C, LAMOTTE C: Ultrastructure of chemically defined neuron systems in the dorsal horn of the monkey. I Substance P immunoreactivity. *Brain Res*, 274:31-49, 1983.
46. LEON-OLEA M, SANCHEZ-ALVAREZ M, MARTINEZ-SERVIN M, PELLICER F: Demostración inmunohistoquímica de terminales encefalínérgicas sobre motoneuronas de la médula espinal del gato. Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. XXXI: M 05, Querétaro, Qro., 1988.
47. MELZAK R, WALL P D: Pain mechanisms: A new theory. *Science*, 150:971-979, 1965.
48. MILLER K E, SEYBOLD V S: Comparison of Met-enkephalin, Dinorphin-A, and Neurotensin-immunoreactive neurons in the cat and rat spinal cords: I. lumbar cord. *J Comp Neurol*, 255:293-304, 1987.
49. PAVLOV I: *Conditioned Reflexes. An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex*. Oxford University Press, Nueva York, 1927.
50. PEARSON J A, MACDONALD J F: Habituation of the flexor reflex: Inhibitory build-up or synaptic depression? *Brain Res*, 53:451-454, 1973.
51. PELLICER F: Cambios plásticos en la médula espinal del gato producidos por estimulación eléctrica repetida en aferentes cutáneos y musculares. México UACP y P UNAM: tesis de maestría en ciencias fisiológicas, pp. 1-69, 1988.
52. PELLICER F, CALVO J M, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Habituation and dehabituation of the spinal polysynaptic reflex responses: Modifications produced by naloxone and opiates. *Society for Neuroscience*, 10:486, 1984.
53. PROSHANSKY E, EGGER M D: Dendritic spread of dorsal horn neurons in cat. *Exp Brain Res*, 28:153-166, 1977.
54. PROSSER C L, HUNTER W S: The extinction of startle responses and spinal reflexes in the white rat. *Amer J Physiol*, 117:609-618, 1936.
55. RENSHAW B: Influence of discharge of motoneurons upon excitation of neighboring motoneurons. *J Neurophysiol*, 4:167-183, 1941.
56. RENSHAW B: Central effects of centripetal impulses in axons of spinal ventral roots. *J Neurophysiol*, 9:191-204, 1946.
57. REXED B: The citoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol*, 96:415-466, 1952.
58. REXED B: Some aspects of the cytoarchitectonics and synaptology of the spinal cord. En: J C Eccles, J P Schade (eds): *Progress in Brain Research. Organization of the Spinal Cord*. Elsevier, pp. 58-92, Amsterdam, 1964.
59. RUDA M A: Opiates and pain pathways. Demonstration of enkephalin synapses on dorsal horn projection neurons. *Science*, 215:1523-1524, 1982.
60. SAR M, STUMPF W E, MILLER R J, CHANG K J, CUATRECASAS P: Immunohistochemical localization of enkephalin in rat brain and spinal cord. *J Comp Neurol*, 182:17-38, 1979.
61. SATOH M, KAWAJIRI S I, UKAI Y, YAMAMOTO M: Selective and non-selective inhibition by enkephalins and noradrenaline of nociceptive responses of lamina V type neurons in the spinal dorsal horn of the rabbit. *Brain Res*, 177:384-387, 1979.
62. SCHEIBEL M E, SCHEIBEL A B: Terminal patterns in cat spinal cord. Primary afferent collaterals. *Brain Res*, 13:417-443, 1969.
63. SHARPLESS S, JASPER H H: Habituation of the arousal reaction. *Brain*, 79:665-680, 1956.

64. SHERRINGTON C S: *The Integrative Action of the Nervous System*, Yale University Press, New Haven, 1906.
65. SPENCER W A, THOMPSON R F, NEILSON D R Jr: Decrement of ventral root electrotonus and intracellularly recorded Epp's produced by iterated cutaneous volleys. *J Neurophysiol*, 29:253-274, 1966.
66. STEWART A, BERGMAN R L, WYNN M D, MICHAEL D P, FRIEDA G R: GABA agonists enhance morphine and fentanyl antinociception in rabbit tooth pulp and mouse hot plate assays. *Drug Development Research*, 14:111-122, 1988.
67. THOMPSON R F, SPENCER W A: Habituation: A model phenomenon for the study of neuronal substrate of behavior. *Psychol Rev*, 73:16-43, 1966.
68. THORPE W H: *Learning and Instinct in Animals*. Methuen, Londres, 1956.
69. WALL P D: The laminar organization of the dorsal horn and effects of descending impulses. *J Physiol*, 188:403-423, 1967.
70. WALL P D: The gate control theory of pain. Mechanism a re-examination and re-statement. *Brain*, 101:1-18, 1978.
71. WALL P D: The role of substantia gelatinosa as a gate control. En: J J Bonica (ed): *Pain*. Raven Press, pp. 205-231, Nueva York, 1980.
72. WICKELGREN B G: Habituation of spinal interneurons. *J Neurophysiol*, 30:1424-1438, 1967.
73. WOOD D C: Habituation in stentor: a response-dependent process. *J Neuroscience*, 8:2248-2253, 1988 a.
74. WOOD D C: Habituation in stentor: Produced by mechanoreceptor channel modification. *J Neuroscience*, 8:2254-2258, 1988 b.
75. YAKSH T L: Inhibition by etorphine of the discharge of dorsal horn neurons: Effects upon the neuronal response to both high- and low-threshold sensory input in the decerebrate spinal cat. *Exp Neurol*, 60:23-40, 1978.
76. YAKSH T L: Spinal opiate analgesia: Characteristics and principles of action. *Pain*, 11:293-346, 1981.
77. YAKSH T L, MICHENER S R, BAILEY J E, HARTY G J, LUCAS D L, NELSON D K, RODDY D R, GO L W: Survey of distribution of substance P, Vasoactive intestinal polypeptide, cholecystokinin, neurotensin, met-enkephalin, bombesin and PH1 in the spinal cord of cat, sloth and monkey. *Peptides*, 9:357-372, 1988.
78. YAKSH T L, NOUEIHED R: The physiology and pharmacology of spinal opiates. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 24:433-462, 1985.
79. YAKSH T L, RUDY T A: Narcotic analgesics: CNS sites and mechanisms of action as revealed by intracerebral injection techniques. *Pain*, 4:299-359, 1978.
80. ZIEGLGANSBERGER W, TULLOCH I F: The effects of metionin- and leucine-enkephalin on spinal neurons of the cat. *Brain Res*, 167:53-64, 1979.
81. ZUCKER R S: Crayfish escape behavior and central synapses. II. Physiological mechanisms underlying behavioral habituation. *J Neurophysiol*, 35:621-637, 1972.