

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
del Instituto Politécnico Nacional

UNIDAD ZACATENCO

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias

Tesis de Doctorado

“Cambios en el control de la eficacia sináptica de las aferentes articulares en el gato anestesiado durante la inflamación cutánea inducida por la inyección intradérmica de capsaicina”

Presenta:

M. en C. Adrian Octavio Ramírez Morales

para obtener el Grado de:

Doctor en Ciencias

en la Especialidad de

Neurobiología Celular y Molecular

Director de tesis:

Dr. Pablo Rudomin Zevnovaty

Agradecimientos

Quiero agradecer al CONACYT por la beca que me brindó, apoyo indispensable para la realización de mis estudios de doctorado. También, por los donativos asignados a nuestro laboratorio, que nos permiten seguir realizando proyectos de investigación que contribuyen a la base del conocimiento científico del país y del mundo.

Agradecer al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, que a través del departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, me ha brindado una educación de la más alta calidad en sus programas de maestría y doctorado.

En particular, me gustaría agradecer al Dr. Pablo Rudomin por darme la oportunidad de formar parte de su laboratorio de investigación y del equipo de trabajo que se ha vuelto como una familia. Le agradezco al Dr. Rudomin por todos los conocimientos y experiencias que ha compartido conmigo. Por las enseñanzas que me han ayudado a formarme como doctor y que me ayudarán a ser un mejor científico en el futuro. Muchas gracias a todo el equipo de trabajo del laboratorio. Al maestro Edson Hernández y al buen amigo Cirilo León, con quienes he tenido una gran amistad y la oportunidad de aprender metodologías experimentales fundamentales para mi investigación. A mi compañero de estudios Enrique Contreras, amigo y maestro. A Diógenes Chávez, Elizabeth Rosales, Israel León, Porfirio Reyes, Enrique , Leonardo Moreno y Narek Palmenov, quienes forman parte de nuestro equipo y contribuyen a la realización de este logro con su trabajo continuo.

Quiero agradecer a mis asesores por su guía y buenos consejos durante mi preparación y en el desarrollo de este proyecto de investigación. A los doctores Jorge Quevedo, Miguel Condés Lara, Ismael Jiménez, Rodolfo Delgado y Ranier Gutiérrez, por sus valiosos comentarios para mejorar siempre mi trabajo doctoral. A todos los doctores del departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, por los conocimientos que han compartido conmigo a través de sus cursos.

A todos mis amigos, que me han brindado su amistad incondicional y su apoyo cuando lo he necesitado.

Me gustaría agradecer y dar un reconocimiento especial a toda mi familia. Este trabajo se los dedico, esperando que sea un estímulo para todos a seguir siempre adelante. A mis padres y hermanos que siempre me enseñaron a ser mejor. Muchas gracias por todo su apoyo, sin duda fue lo que me permitió lograr el objetivo de doctorarme. Los quiero a todos.

Finalmente, agradecer al Instituto Politécnico Nacional que me ha formado como profesionista. Espero que los conocimientos adquiridos a lo largo de este trabajo me permitan ser un mejor elemento dentro del Instituto y retribuir a la sociedad todo lo bueno que he obtenido durante mi preparación, siguiendo siempre el lema con el que fue fundado "*La técnica al servicio de la patria*".

Muchas gracias a todos.

Abreviaturas

5-HT	Serotonina
CAP	Capsaicina
CDP	Potencial del dorso de la médula
CGRP	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
DA	Dopamina
DRG	Ganglio de la raíz dorsal
DRP	Potencial de raíz dorsal
DRR	Reflejo de raíz dorsal
FR	Formación reticular
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
IFP	Potencial de campo intraespinal
NA	Noradrenalina
NRM	Núcleo del rafé magnus
NS	Nociceptivas específicas (neuronas)
PAD	Despolarización de las aferentes primarias
PAH	Hiperpolarización de las aferentes primarias
PAN	Nervio Articular Posterior
Saph	Safeno (nervio)
SP	Peroneo Superficial (nervio)
SU	Sural (nervio)
TDI	Inhibición tónica descendente
TRPV1	Receptor de potencial transitorio a Vanillodes 1
WRD	Amplio rango dinámico (neuronas)
xT	Veces umbral

Índice

	Página
I	<i>Resumen</i> 11
	<i>Abstract</i> 14
II	<i>Introducción</i> 17
	Percepción Sensorial 17
	Neuronas del ganglio de la raíz dorsal 19
	Neuronas del cuerno dorsal de la médula espinal 20
	Procesamiento de la información sensorial a nivel presináptico 22
	Despolarización de las aferentes primarias e inhibición presináptica 22
	El mecanismo de la despolarización de aferentes primarias (PAD) 25
	Patrones de despolarización de las fibras aferentes primarias 27
	Aferentes musculares del grupo I 27
	Despolarización autogénica en las aferentes musculares del grupo Ib 29
	Aferentes musculares del grupo II 32
	Aferentes cutáneos 32
	Aferentes articulares 33
	Cambios en los patrones de la PAD de las aferentes primarias producido por la lesión de nervios sensoriales 36
	Dolor 38
	Dolor nociceptivo 39
	Modulación del dolor nociceptivo 39
	Efectos de la aplicación directa de capsaicina sobre las aferentes primarias 40
	Efectos de la aplicación intradérmica de capsaicina sobre las aferentes primarias 42
	Efecto de la inyección intradérmica de capsaicina sobre la actividad de neuronas con entradas de aferentes articulares del PAN 43
	Efectos de la capsaicina sobre los circuitos que modulan la eficacia sináptica de las aferentes articulares 47
	Cambios en la depresión post-activación de las aferentes articulares Inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina 49
	Vías descendentes involucradas en el control de la nocicepción 50
III	<i>Planteamiento del problema</i> 52
	Relevancia del proyecto 55

IV	<i>Hipótesis</i>	56
V	Objetivo general	56
	Objetivos particulares	56
VI	<i>Metodología</i>	58
	Preparación	58
	Estimulación y registro	59
	Bloqueo espinal reversible	61
	Inyección de capsaicina	62
	Análisis de los datos	62
	Cálculo del umbral periférico de las aferentes articulares registradas	64
	Velocidad de conducción	64
	Histología	64
	Análisis estadístico	65
VII	<i>Resultados</i>	66
	Sección I Cambios en los potenciales de campo del PAN inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina durante la aplicación de bloqueos espinales reversibles	66
	Efecto de la aplicación de bloqueos espinales sucesivos sobre las respuestas producidas por la estimulación de aferentes articulares	66
	La facilitación de las respuestas articulares inducida por capsaicina aumenta en forma selectiva durante el bloqueo espinal	66
	Curso temporal de los cambios en la inhibición descendente inducida por la inyección intradérmica de capsaicina	71
	Distribución intraespinal de los efectos producidos por la capsaicina y el bloqueo espinal sobre los componentes N2 y N3 del PAN	75
	Resumen de los cambios en los potenciales de campo del PAN inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina durante la aplicación de bloqueos espinales sucesivos	81
	Sección II Cambios en los patrones de umbral intraespinal de aferentes articulares inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina	83
	Cambios en los patrones de PAH y PAD autógena de las aferentes articulares inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina	84
	Resumen de los efectos producidos sobre la PAH y PAD autógena de	91

	aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina	
	Cambios producidos en los patrones de la PAD autogénica vs la PAD heterogénica en aferentes articulares después de la inyección intradérmica de capsaicina	94
	Caracterización funcional y localización de las terminales de las aferentes articulares que presentaron cambios en los patrones de PAD y PAH autogénica por la inyección intradérmica de capsaicina	96
	La inyección intradérmica de capsaicina aumenta gradualmente el umbral intraespinal de las aferentes articulares	98
VIII	<i>Discusión</i>	103
	Aumento de la inhibición tónica descendente sobre los potenciales de campo del PAN inducido por la inyección intradérmica de capsaicina	103
	Cambios producidos en los patrones de PAD y PAH autogénica en aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina	108
	Efecto del bloqueo espinal sobre los patrones de PAD y PAH autogénica de las aferentes articulares	111
	Cambios producidos en los patrones de PAD heterogénica en aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina	112
	Cambios tónicos de la excitabilidad de aferentes articulares producidos por la inyección intradérmica de capsaicina	113
	Limitaciones metodológicas en la medición de los cambios del umbral de activación intraespinal de aferentes articulares únicas	115
	Discusión general	117
	Circuito neuronal que podría explicar los procesos de facilitación e inhibición sináptica de las fibras aferentes articulares del PAN producidos por la inyección intradérmica de capsaicina	119
IX	<i>Perspectivas y trabajo futuro</i>	125
X	<i>Apéndice</i>	127
XI	<i>Referencias</i>	129

Índice figuras y tablas

		Página
Figura 1	Anatomía de la vía del dolor	18
Figura 2	Conectividad entre las fibras aferentes primarias y la médula espinal	21
Figura 3	Mecanismo de la PAD	26
Figura 4	Diagramas que muestran los posibles sitios de acción de entradas Segmentales y descendentes sobre las interneuronas que median los tipos de PAD en las fibras de los grupos A, B y C.	29
Figura 5	Inhibición por estimulación autogénica de las aferentes del grupo Ib	31
Figura 6	Cambios en el umbral de activación intraespinal producidos por la estimulación de nervios sensoriales en dos aferentes únicas del PAN estimuladas intraespinalmente a nivel segmental L6	34
Figura 7	PAD y PAH en las aferentes articulares	35
Figura 8	Diagrama ilustrando el modelo propuesto del mecanismo del dolor provocado por contacto	38
Figura 9	La inyección intradérmica de capsaicina incrementa los potenciales de campo del PAN producidos por la estimulación de las aferentes mielinizadas de intermedio y alto umbral	44
Figura 10	Cambios en los potenciales de campo N2 y N3 del PAN y el grosor de la pata del animal a diferentes tiempos después de la inyección intradérmica de capsaicina	45
Figura 11	Ilustración esquemática de la relación entre vías descendentes y poblaciones intrínsecas involucradas en la transmisión y modulación de información nociceptiva	51
Figura 12	Diagrama esquemático del modelo experimental	59
Figura 13	Distribución de las proyecciones segmentales e intraespinales de las aferentes articulares y del nervio plantar	60
Figura 14	Diagrama del arreglo experimental	63
Figura 15	La inhibición tónica descendente del PAN no aumenta por la aplicación repetida de bloqueos espinales reversibles	68

Figura 16	Aumento en la facilitación producida por la inyección de capsaicina sobre los IFPs del PAN durante el bloqueo espinal reversible	70
Figura 17	Aumento de la inhibición tónica descendente sobre los IFPs del PAN por la inyección intradérmica de capsaicina	72
Figura 18	Cambios en la amplitud de los componentes N2 y N3 de los IFPs del PAN producidos durante los bloqueos espinales reversibles aplicados antes y después de la inyección intradérmica de capsaicina	74
Figura 19	Efectos sobre los componentes N2 y N3 de los potenciales de campo del PAN durante el bloqueo espinal reversible, antes y después de la inyección intradérmica de capsaicina	77
Figura 20	La inhibición tónica descendente aumenta principalmente en regiones de la médula espinal donde hay una mayor facilitación sináptica producida por la inyección intradérmica de capsaicina	79
Figura 21	Cambio de PAH a PAD autógena en una aferente articular por la inyección intradérmica de capsaicina	86
Figura 22	Facilitación de la PAD autógena y heterogénea por la inyección intradérmica de capsaicina.	88
Figura 23	Facilitación de la PAD autógena en las aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina	89
Figura 24	Cambios en los patrones de PAH y PAD autógena por la inyección intradérmica de capsaicina en aferentes articulares únicas	93
Figura 25	Relación entre el porcentaje de cambio en el umbral intraespinal producido por la estimulación autógena del PAN respecto al porcentaje de cambios en el umbral intraespinal producido por la estimulación heterogénea del nervio SP	95
Figura 26	Caracterización funcional y ubicación anatómica de las aferentes articulares analizadas	97
Figura 27	Cambios fásicos y tónicos de la excitabilidad de aferentes articulares únicas por la inyección intradérmica de capsaicina	100
Figura 28	Cambios tónicos del umbral de activación intraespinal de las aferentes articulares inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina	102
Figura 29	La aplicación sistémica de lidocaína revierte el incremento en la correlación inducida por la capsaicina de la actividad espontánea entre diferentes segmentos de la médula espinal	105
Figura 30	Circuito representativo del sistema somatosensorial	120
Figura 31	Estimulación nociceptiva por la inyección intradérmica de capsaicina	122

Figura 32	Aumento de la actividad de neuronas de proyección por la estimulación nociceptiva. CUT, fibras cutáneas	122
Figura 33	Estado de sensibilización central facilitado por el aumento en la actividad de células ON. CUT, fibras cutáneas	123
Figura 34	Aumento de la inhibición descendente por el aumento de células OFF y facilitación sináptica de los circuitos interpuestos en la vía de la PAD autogénica de aferentes articulares de alto umbral.	124
Tabla 1	Características de las aferentes articulares	127
Tabla 2	Cambios tónicos en el umbral de activación intraespinal	128

Resumen

En trabajo previo de nuestro laboratorio hemos encontrado que, la inyección intradérmica de capsaicina en el cojinete central de la pata del gato anestesiado facilita los potenciales de campo intraespinales (IFPs) producidos por la estimulación de las fibras aferentes articulares mielinizadas de intermedio y alto umbral del nervio articular posterior (PAN). Este efecto se presentó principalmente en el segmento espinal L6 en comparación con el L7, alcanzando su máximo efecto entre 120 y 180 minutos posteriores a la inyección de capsaicina. Sin embargo, después de este tiempo, la facilitación se redujo de forma significativa aun cuando la inflamación cutánea persistió por un tiempo más prolongado (Rudomin y Hernández 2008). Fue entonces cuando se propuso que la facilitación de los IFPs del PAN inducida por la capsaicina se revirtió por la acción de vías inhibitorias descendentes activadas por la estimulación nociceptiva (ver también Schaible et al. 1991; Ren y Dubner 1996, 2002). Sin embargo, no quedó claro si esta inhibición descendente se activó cuando la facilitación sináptica del PAN superó un umbral o bien si se trataba de una inhibición tónica que actuando de forma continua, se incrementó gradualmente después de la inyección de capsaicina, manteniendo así el nivel de actividad neuronal dentro de límites funcionales.

Con el propósito de evaluar los cambios en la inhibición descendente inducidos por la capsaicina, en la primera parte de esta Tesis se presenta el análisis de los cambios en la amplitud de los IFPs del PAN producidos durante bloqueos espinales reversibles sucesivos, aplicados a diferentes tiempos antes y después de la inyección intradérmica de capsaicina. Hemos encontrado que después de la inyección de capsaicina, la amplitud de los IFPs registrados en el asta dorsal al estimular las fibras mielinizadas de alto umbral ($A\delta$) del PAN aumentó de forma gradual durante los bloqueos espinales sucesivos, sin que se modificasen mayormente las respuestas producidas por estimulación de fibras de bajo umbral ($A\beta$).

Estas observaciones sugieren que durante el estado de sensibilización central inducido por la capsaicina, hay un aumento del tono inhibitorio descendente sobre la actividad sináptica de neuronas espinales que reciben contacto de aferentes nociceptivas del PAN, y no sobre neuronas que reciben información de posición

articular transmitida por aferentes de bajo umbral. Esta propuesta implica en cierta forma que la inhibición descendente activada por la inyección de capsaicina podría reducir, por mecanismos presinápticos, la eficacia sináptica de los aferentes articulares de alto umbral prácticamente sin modificar la eficacia de los aferentes de bajo umbral.

A la fecha se sabe que las aferentes articulares de bajo umbral son fuertemente despolarizadas por la activación de aferentes musculares y cutáneas, así como por la estimulación de la formación reticular y el núcleo del rafé (Rudomin y Lomelí 2207). Por otro lado la información disponible muestra que la estimulación de las aferentes del PAN produce una fuerte despolarización (PAD) de aferentes cutáneas y musculares del grupo I. Sin embargo, llama la atención que la estimulación del PAN produjo una escasa PAD o PAH autógena en otras fibras (Jankowska et al. 1993; Rudomin et al. 2004; Rudomin y Lomelí 2007).

Esta situación contrasta con las observaciones de Jami y cols. en donde muestran que la estimulación de aferentes Ib provenientes de los órganos tendinosos produjo una fuerte PAD autógena (Lafleur et al., 1992; Zytnicki y Jami 1998). Los autores sugieren esta PAD autógena introduce en el circuito del reflejo tendinoso un componente de retroalimentación negativo filtrando la información que llega a las motoneuronas del músculo homónimo, lo cual reduce la inhibición posináptica no recíproca, permitiendo contracciones musculares sostenidas (Lafleur et al., 1992).

Con base a la propuesta que la inhibición descendente activada por la inyección de capsaicina reduce, por mecanismos presinápticos, la eficacia sináptica de los aferentes articulares de alto umbral prácticamente sin modificar la eficacia de los aferentes de bajo umbral propusimos como hipótesis adicional que esta influencia descendente activaría en forma diferencial los circuitos neuronales que median la PAD autógena de las fibras articulares.

Las observaciones que hemos realizado muestran que, en efecto, después de la inyección intradérmica de capsaicina, aumenta la PAD autógena generada en fibras aferentes articulares de alto umbral ($A\delta$).

Es muy probable que los circuitos interpuestos en las vías que median la PAD autógena de las fibras de bajo umbral sean poco excitables y que el efecto

descendente esté sobre todo focalizado en los grupos neuronales que median la PAD autogénica de las fibras de alto umbral. Esta facilitación podría ser parte de un mecanismo de autorregulación que limita la activación excesiva de los circuitos neuronales en respuesta a la activación nociceptiva, básicamente sin modificar la información propioceptiva sobre posición articular transmitida por aferentes de bajo umbral.

En relación a los cambios en la PAD heterogénica inducidos por capsaicina, observamos que esta también se facilita en las fibras de alto umbral. Esta facilitación se observa sobre todo en la PAD producida en los aferentes articulares por la estimulación del sural y del peroneo superficial que inervan regiones donde se produce la inflamación por la inyección de capsaicina, básicamente sin afectar la PAD producida por la estimulación del safeno. Esto sugiere que los mecanismos de control sináptico son altamente focalizados, dirigiéndose a regiones de la médula espinal en donde se han inducido cambios por la estimulación nociceptiva.

Abstract

In previous work of our laboratory we have found that in the anesthetized cat intradermal injection of capsaicin in the footpad increased the intraspinal field potentials (IFPs) produced by the stimulation of the intermediate and high threshold myelinated joint afferents of the posterior articular nerve (PAN). This effect occurs mainly in the spinal segment L6 compared to L7, reaching its maximum effect between 120 and 180 minutes after capsaicin injection. However, after this time, the facilitation was significantly reduced even when the skin inflammation persisted for a longer time (Rudomin and Hernández 2008). It was proposed by the authors that the facilitation of capsaicin-induced PAN IFPs was reversed by the action of a descending inhibitory component activated by nociceptive stimulation (see also Schaible et al. 1991; Ren and Dubner 1996, 2002). However, it was not clear if this descending inhibition was activated when the synaptic facilitation of the PAN exceeded a certain threshold or if it was a tonic inhibition acting continuously and gradually increased after capsaicin injection, maintaining the level of neuronal activity within functional limits.

To evaluate the changes in the descending inhibition induced by capsaicin, in the first part of this thesis is presented the analysis of the changes in the amplitude of the PAN IFPs produced during successive reversible spinal blocks, applied at different times before and after intradermal injection of capsaicin. We have found that after the injection of capsaicin, the amplitude of the IFPs produced by the stimulation of the myelinated high-threshold articular afferents ($A\delta$) increased gradually during the successive spinal blocks, without major changes in the responses produced by stimulation of low threshold fibers ($A\beta$).

These observations suggest that during the state of central sensitization induced by capsaicin, there is an increase in descending inhibitory influences on the synaptic activity of spinal neurons that receive contact from nociceptive PAN afferents, and not on neurons that receive joint position information transmitted by low-threshold afferent. This hypothesis implies that the descending inhibition activated by capsaicin injection reduces the synaptic efficacy of high threshold joint afferents by presynaptic mechanisms without modifying practically the efficacy of low threshold afferents.

So far it is known that low threshold joint afferents are strongly depolarized by the activation of muscular and cutaneous afferents, as well as by the stimulation of the reticular formation and the nucleus raphe magnus (Rudomin and Lomelí 2207). On the other hand, the available information shows that the stimulation of the afferents of the PAN produces a strong depolarization (PAD) of cutaneous and group I muscular afferents. Yet, it is rare that the stimulation of the PAN produced a scarce autogenic PAD or PAH in other fibers (Jankowska et al. 1993; Rudomin et al. 2004; Rudomin and Lomelí 2007).

This situation contrasts with the observations of Jami et al. who showed that stimulation of Ib muscular afferents from tendon organs produced a strong autogenic PAD (Lafleur et al. 1992; Zytnicki and Jami 1998). The authors suggest this autogenic PAD introduces a negative feedback component into the tendon reflex circuit by filtering the information that reaches the motor neurons of the homonymous muscle which reduces non-reciprocal post-synaptic inhibition, allowing sustained muscle contractions (Lafleur et al., 1992).

Based on the assumption that descending inhibition activated by capsaicin injection reduces the synaptic efficacy of high threshold articular afferents by presynaptic mechanisms without modifying practically the efficacy of low threshold afferents, we proposed as an additional hypothesis that this descending influence would differentially activate the neural circuits that mediate the autogenic PAD of the articular fibers.

Our observations show that after intradermal injection of capsaicin, the autogenic PAD generated in high-threshold articular afferent fibers ($A\delta$) actually increases.

It seems that the circuits interposed in the autogenic PAD pathways of the low-threshold fibers have low synaptic efficacy and that the descending influences are mainly focused on the neural groups that mediate the autogenic PAD of the high-threshold fibers. This facilitation could be part of a self-regulation mechanism that limits the excessive activation of neuronal circuits in response to nociceptive activation, basically without modifying proprioceptive information about joint position transmitted by low threshold afferents.

Regarding the changes in heterogeneous PAD induced by capsaicin, we observe that this is also facilitated in high threshold fibers. This facilitation is observed mainly in the PAD produced in the afferent joints by the stimulation of the sural and superficial peroneal nerves that innervate regions where inflammation occurs by the injection of capsaicin, basically without affecting the PAD produced by the stimulation of saphene nerve. This suggests that the synaptic control mechanisms are highly focused, targeting regions of the spinal cord where changes have been induced by nociceptive stimulation.

Introducción

Percepción sensorial

La percepción sensorial es una función del sistema nervioso que les permite a los organismos adquirir información de su propia estructura y del medio exterior. Con esta información, los organismos controlan sus procesos metabólicos y ejecutan movimientos de manera exitosa. Para adquirir información del medio, el sistema nervioso cuenta con receptores sensoriales que responden a estímulos físicos de diferentes modalidades, como químicos, térmicos, mecánicos y lumínicos. Estos receptores sensoriales son neuronas que transducen los estímulos físicos en señales eléctricas en respuesta a los estímulos externos. Las neuronas sensoriales, generan respuestas eléctricas activas, conocidas como potenciales de acción, que propagan a través de la membrana, transmitiendo la información sensorial desde la periferia hasta el sistema nervioso central, en donde esta información es integrada. El sistema somatosensorial es la parte del sistema sensorial encargada de transmitir y procesar la información de tacto, presión, vibración, posición, movimiento, temperatura y dolor, que proviene de las articulaciones, los músculos y la piel.

El sistema somatosensorial es una vía trisináptica compuesto por las fibras aferentes primarias que transmiten la información sensorial a neuronas de segundo orden ubicadas en el cuerno dorsal de la médula espinal. Parte de estas neuronas son de proyección y envían la información a núcleos de relevo en el tálamo, desde donde se distribuye a las diferentes regiones de la corteza sensorial primaria (figura 1). El sistema somatosensorial codifica las diferentes cualidades que conforman la información sensorial que son la modalidad, el origen, la intensidad y la duración.

La modalidad hace referencia al tipo de estímulo al que responden los receptores. Existen receptores que son altamente selectivos y responden a un solo tipo de estímulo. En este grupo se encuentran los mecanorreceptores que tienen la capacidad de responder a deformaciones mecánicas como la presión y la vibración. Estos receptores participan en la percepción del tacto, del sonido, la posición corporal y del equilibrio. Los quimiorreceptores tienen la capacidad de responder a estímulos químicos, como en los sentidos del gusto y el olfato. Los fotorreceptores que responden a las ondas electromagnéticas en la región ultravioleta, la luz visible y el infrarrojo.

Finalmente, los termorreceptores responden a temperaturas por arriba (calor) o por abajo (frío) de la temperatura corporal. Los nociceptores son receptores polimodales que responden a estímulos nocivos que son capaces de dañar los tejidos, estos estímulos pueden ser químicos, o mecánicos y térmicos de alta intensidad.

Para detectar el origen del estímulo, el sistema sensorial está organizado en una estructura somatotópica. Esto quiere decir que existe una representación de las distintas regiones del cuerpo sobre la corteza somatosensorial primaria, representación conocida como homúnculo de Penfield (Penfield y Rasmussen 1950). Por lo tanto, el sistema nervioso es capaz de la localizar los estímulos que provienen de los diferentes tejidos y órganos, como la piel, los músculos, las articulaciones, las vísceras, etc.

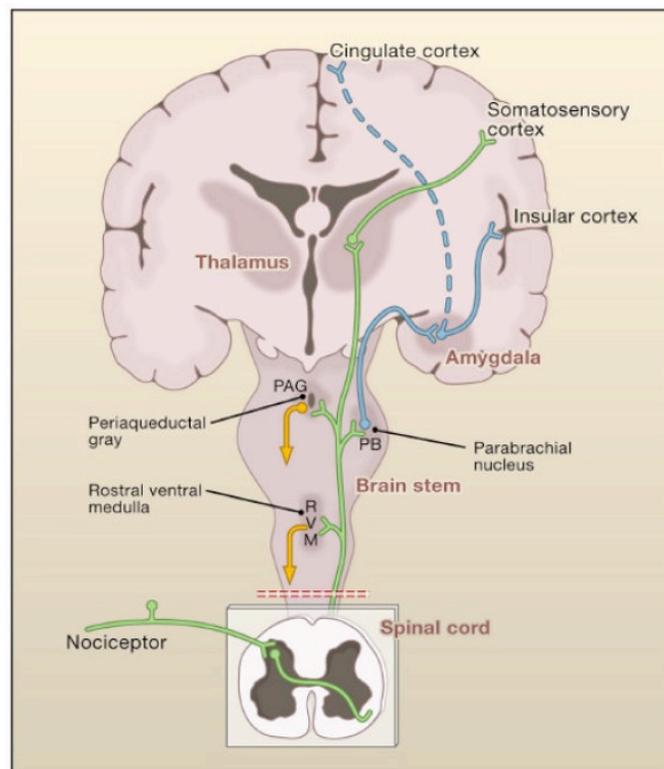


Figura 1. Anatomía de la vía del dolor. Las fibras aferentes primarias envían la información nociceptiva a neuronas de proyección dentro del cuerno dorsal en la médula espinal. Un subgrupo de estas neuronas de proyección transmite la información a la corteza somatosensorial a través de un relevo en el Tálamo, acarreando información de la ubicación y la intensidad del estímulo doloroso. Otro grupo de neuronas de proyección alcanzan las cortezas cingulada e insular a través del tallo cerebral (núcleo parabraquial) y la amígdala, contribuyendo al componente emocional de la experiencia del dolor. Esta información ascendente también llega a neuronas de la región rostroventral del tallo cerebral y a la sustancia gris periacueductal para activar sistemas de retroalimentación descendentes que regulan la salida de información de la médula espinal (Modificado de Basbaum et al. 2009).

La intensidad está asociada a la amplitud de la respuesta generada durante el estímulo. Una respuesta de mayor amplitud será producida si se incrementa el número de receptores activados. La intensidad está referenciada al estímulo de menor magnitud capaz de generar una respuesta, lo que es conocido como umbral de activación. En función de este umbral es posible determinar la sensibilidad de los receptores, y si su respuesta es producida por estímulos de baja o alta intensidad. En receptores mecánicos y térmicos, la intensidad de activación de los receptores le permite al organismo identificar si el estímulo es nociceptivo. Los estímulos de baja intensidad informan de las condiciones físicas del medio interno y externo (interocepción y exterocepción), de la posición de los segmentos corporales (propiocepción), del grado de contracción muscular, del contacto con otros cuerpos, etc. Los estímulos de alta intensidad mecánicos y térmicos, alertan al organismo de potenciales daños al tejido (nocicepción).

Finalmente, la duración indica el tiempo de activación del receptor, marcando el inicio y el final del estímulo.

Neuronas del ganglio de la raíz dorsal

Las neuronas que tienen sus cuerpos celulares en los ganglios de la raíz dorsal forman parte del sistema nervioso periférico. Estas neuronas son denominadas pseudounipolares pues cuentan con un único axón que se bifurca en dos segmentos. El segmento periférico inerva los distintos tejidos y órganos del cuerpo. El segmento central establece sinapsis con neuronas del sistema nervioso central a nivel de la médula espinal. Estos axones transmiten información desde la periferia hacia el sistema nervioso central y son conocidos como fibras aferentes primarias. El conjunto de fibras aferentes primarias forma los nervios aferentes.

Las fibras aferentes transmiten información desde los diferentes tejidos u órganos que inervan. En el sistema somatosensorial encontramos aferentes cutáneas, musculares, articulares y viscerales. Estas aferentes se clasifican de acuerdo al tipo de información que transmiten, lo cual está asociado a su tamaño y estructura.

Las fibras aferentes musculares se dividen en los grupos I ($A\alpha$), II, III y IV, mientras que las aferentes cutáneas y articulares se clasifican en fibras $A\beta$, $A\delta$ y C. Las

fibras aferentes I ($A\alpha$) son fibras mielinizadas gruesas con diámetros entre 13 a 20 μm y velocidades de conducción entre 80 y 120 m/s. Estas fibras aferentes transmiten información del grado de contracción muscular. Las aferentes II y $A\beta$ son fibras mielinizadas gruesas con diámetros alrededor de 6 a 12 μm y velocidades de conducción entre 45 y 75 m/s. Estas fibras aferentes tienen umbrales de activación bajos y transmiten información de tensión muscular, propiocepción y tacto. Las aferentes III y $A\delta$ son fibras mielinizadas delgadas con diámetros entre 2 y 5 μm y con velocidades de conducción entre 5 y 35 m/s. Las aferentes IV y C son fibras delgadas amielínicas que tienen diámetros alrededor de 1 μm y velocidades de conducción de 0.5 a 2 m/s. Estos dos últimos grupos de aferentes tienen umbrales de activación altos y transmiten información nociceptiva mecánica, térmica y química, con la diferencia que las fibras $A\delta$ (III) informan en forma precisa la localización del estímulo mientras que las fibras C (IV) lo hacen de forma difusa.

Neuronas del cuerno dorsal de la médula espinal

La médula espinal es la estructura del sistema nervioso central que comunica a todos los tejidos y órganos periféricos con el encéfalo. Está dividida en cuatro niveles en dirección rostro-caudal que son: cervical, torácica, lumbar y sacra. Estas regiones reciben y envían información desde y hasta distintas partes del cuerpo a través de los nervios aferentes y eferentes, respectivamente. Por ejemplo, la columna cervical inerva las regiones de la cabeza, el cuello y las extremidades superiores, la columna torácica inerva la región del tórax y la columna lumbar inerva la región abdominal, la espalda baja y las extremidades inferiores.

La médula espinal está organizada en dos regiones. En la parte interna se encuentra la sustancia gris formada por los cuerpos de las neuronas y de las células gliales. Esta estructura tiene forma de H o mariposa y sus prolongaciones son conocidas como los cuernos ventrales (anteriores) y dorsales (posteriores). Está dividida en diez núcleos funcionales denominados láminas de Rexed. En el cuerno ventral se localizan los cuerpos neuronales de las motoneuronas que envían sus proyecciones hacia los músculos a través de los nervios eferentes que salen por las raíces ventrales. En el cuerno dorsal, formado por las primeras seis láminas de Rexed (I-VI), se localizan las neuronas involucradas en la transmisión y el procesamiento de la

información sensorial, Estas neuronas reciben entradas sinápticas de los nervios aferentes, que entran a través de las raíces dorsales, de forma estructurada y diferencial en las distintas láminas (figura 2).

Láminas I (núcleo marginal): neuronas de proyección que transmiten información de dolor y temperatura al tálamo. Estas neuronas son activadas por fibras aferentes nociceptivas A δ .

Lámina II (sustancia gelatinosa): neuronas que reciben información nociceptiva mecanorreceptoras. Estas neuronas son activadas por fibras aferentes C.

Lámina III-IV (núcleo propio): neuronas que reciben información de tacto grueso y presión. Estas neuronas son activadas principalmente por fibras A β .

Lámina V (y zona intermedia): neuronas que reciben información de propiocepción y nocicepción mecánica y térmica. Estas neuronas son activadas por fibras A β y A δ .

Lámina VI: neuronas que reciben información de propiocepción. Estas neuronas son activadas por fibras A β .

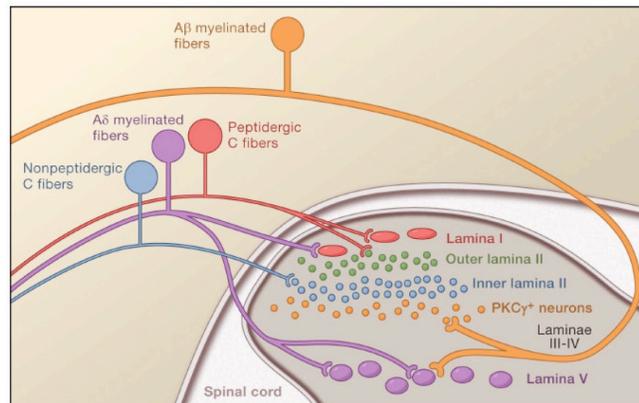


Figura 2. Conectividad entre las fibras aferentes primarias y la médula espinal. Existe una organización laminar muy precisa en el cuerno dorsal de la médula espinal, subgrupos de fibras aferentes primarias establecen contacto sináptico con neuronas espinales dentro de láminas específicas. Las fibras nociceptivas amielínicas peptidérgicas C (rojo) y las mielinizadas A δ (morado) tienen sus terminales en láminas más superficiales, haciendo sinapsis con neuronas de proyección (rojas) localizadas en la lámina I. Los nociceptores amielínicos no peptidérgicos (azul) establecen contacto sináptico con interneuronas (azules) en la parte profunda de la lámina II. En contraste, los estímulos inocuos transmitidos por fibras mielinizadas A β terminan en interneuronas en la ventral profunda de la lámina II. Un Segundo grupo de neuronas de proyección en la lámina V (moradas) reciben entradas convergentes de fibras A δ y A β (Modificado de Basbaum et al., 2009).

La parte periférica de la médula espinal está formada por la sustancia blanca, que son los axones que integran los tractos ascendentes y descendentes que comunican a la médula espinal con el encéfalo. Estos tractos están divididos en las columnas dorsales, laterales y ventrales. Las columnas dorsales son tractos ascendentes que transmiten información sensorial desde la médula espinal hasta el tallo cerebral. Las columnas laterales y ventrales son tractos ascendentes y descendentes que comunican a la médula espinal con el tallo cerebral y la corteza cerebral.

Procesamiento de la información sensorial a nivel presináptico

Evidencia experimental ha mostrado que existe una modulación de la actividad sináptica de las fibras aferentes primarias y de las neuronas espinales de proyección con las que establecen contacto a nivel de la médula espinal, antes de transmitir la información sensorial a núcleos supraespinales (Basbaum y Fields 1978; Millan 2002; Basbaum et al. 2009). En particular, las fibras aferentes primarias son moduladas por un control a nivel presináptico que involucra circuitos con interneuronas GABAérgicas de último orden que establecen sinapsis axo-axónicas con las fibras aferentes. Cuando las interneuronas GABAérgicas son activadas producen la despolarización de las fibras aferentes primarias (PAD) a nivel de las terminales intraespinales, lo que reduce su eficacia sináptica (Eccles et al. 1961, 1962).

Despolarización de las aferentes primarias e inhibición presináptica

En 1933, Gasser y Graham observaron que en respuesta al estímulo de las raíces dorsales se registraba sobre la superficie del dorso de la médula un potencial negativo lento (onda N) seguido de un potencial positivo (onda P) de larga duración, de aproximadamente 200 ms (Gasser y Graham 1933). En estudios posteriores, Barron y Matthews (1938) observaron que al estimular una raíz dorsal se registraba un potencial negativo de larga duración propagado en dirección antidrómica, tanto en la raíz estimulada como en raíces adyacentes, con el mismo curso temporal de la onda P registrada en el dorso de la médula previamente por Gasser y Graham (Barron y Matthews 1938). Con base en estas observaciones, dichos autores propusieron que los

potenciales, denominados potenciales de raíz dorsal (DRPs), eran los responsables de la generación de la onda P registrada en la superficie del dorso de la médula.

En 1956, Wall y cols. encontraron que los DRPs podían ser producidos por la estimulación directa de las fibras aferentes utilizando microelectrodos de estimulación intraespinal insertados en los cuernos dorsal y ventral (Wall et al. 1956). Utilizando esta técnica, Wall demostró que la estimulación condicionante de los nervios aferentes cutáneos y musculares producía un aumento en la amplitud de los DRPs. La conclusión de este trabajo fue que la estimulación condicionante de los nervios aferentes reduce el umbral de activación de las fibras aferentes, incrementando su excitabilidad, lo cual recluta un mayor número de fibras aferentes ante un estímulo intraespinal constante (Wall 1958). Con esta técnica desarrollada por Wall en 1958, es posible determinar los cambios en la excitabilidad de las aferentes primarias a partir de los cambios en el umbral de activación intraespinal.

Estos cambios en la excitabilidad de las fibras aferentes por la estimulación condicionante fueron comprobados por Frank y Fourtes estudiando las respuestas del reflejo monosináptico (Frank y Fourtes 1957). Estos investigadores encontraron que los potenciales excitatorios posinápticos (EPSPs) producidos en las motoneuronas por la estimulación de aferentes del grupo la de músculos extensores, eran deprimidos por la estimulación condicionante de nervios de músculos flexores. Esta disminución en la amplitud de los EPSPs se producía sin detectar cambios en las propiedades eléctricas de la membrana de las motoneuronas, lo que sugirió a los autores que la reducción en los EPSPs de las motoneuronas producida por la estimulación condicionante se debía a cambios en la eficacia sináptica de las fibras aferentes, es decir, "inhibición presináptica" (Frank y Fourtes 1957).

Una propuesta alternativa fue presentada por Frank en 1959, exponiendo que los efectos inhibitorios de la estimulación condicionante sobre los EPSPs de las motoneuronas eran producidos por la activación de interneuronas inhibitorias que establecían sinapsis con dendritas distales del elemento posináptico (motoneurona). Debido a que este fenómeno de depresión de los EPSPs se presentaba a nivel presináptico o en regiones distantes de la motoneurona, este fenómeno fue denominado como "inhibición remota" (Frank 1959). Granit y cols. apoyaron esta teoría,

encontrando que al producir la depresión de los EPSPs de las motoneuronas por la estimulación de las aferentes musculares del grupo I, también disminuía la frecuencia de disparo de la motoneurona, sugiriendo cambios en las propiedades intrínsecas de la membrana del elemento posináptico (Granit et al. 1964).

Sin embargo, Eccles y cols. en 1961 aportaron evidencia en favor de la teoría de la inhibición presináptica, demostrando que los EPSPs deprimidos no sufrían cambios detectables en el curso temporal al aplicar la estimulación condicionante a diferentes tiempos con respecto al estímulo de prueba (entre 2.5 y 10.2 ms), indicando que el efecto de depresión no tenía origen en el elemento posináptico (Eccles et al. 1961). Más tarde, la evidencia aportada por Eide y cols. apoyó esta hipótesis, demostrando que la misma estimulación condicionante responsable de deprimir los EPSPs provocados por la estimulación de fibras del grupo I no afectaba de ninguna forma los potenciales de membrana producidos por la estimulación con pulsos de corriente intracelular aplicados directamente en la motoneurona (Eide et al. 1968).

La despolarización de las aferentes primarias (PAD) fue registrada de manera directa por Eccles y Krnjevic en 1959 insertando un microelectrodo en el axón, cerca de la terminal intraespinal de estas fibras aferentes (Eccles y Krnjevic, 1959). Las investigaciones hechas por Eccles y su grupo de trabajo en 1961 demostraron que el curso temporal de la PAD registrada en las raíces dorsales era similar a la depresión de los EPSPs debido a la misma estimulación condicionante de las fibras aferentes, concluyendo que la PAD es el agente causante de la disminución de la eficacia sináptica de las fibras aferentes descrito previamente por Frank y Fourtes en 1957 denominado inhibición presináptica.

Estudios farmacológicos hechos por Eccles y su grupo de trabajo demostraron que la aplicación local sobre el dorso de la médula de ácido gamma-aminobutírico (GABA) aumentaba el número de potenciales antidrómicos en las raíces dorsales, denominados reflejos de la raíz dorsal (DRRs), provocado probablemente por la despolarización sostenida de las fibras aferentes (Eccles et al. 1963). Además, la aplicación vía intravenosa de picrotoxina (PTX), un bloqueador de canales $GABA_A$ permeables a cloro, disminuyó los efectos de la estimulación condicionante sobre la depresión de los EPSPs, mostrando también una clara reducción de los DRPs y de la

onda P registrada en el dorso de la médula, lo cual indicó una disminución de la inhibición presináptica. En conjunto, estas evidencias farmacológicas mostraron que la inhibición presináptica producida por la estimulación condicionante de los nervios aferentes estaba mediada en parte por sinapsis GABAérgicas, las cuales despolarizaban a las fibras aferentes primarias. Evidencias histológicas posteriores demostraron la existencia de sinapsis axo-axónicas de terminales con alta densidad de vesículas GABAérgicas con aferentes musculares de los grupos Ia, Ib, II y fibras cutáneas de bajo umbral de activación (Maxwell et al. 1984; Maxwell y Riddell 1999; Watson y Bazzaz 2001; Sutherland et al. 2002).

Con el propósito de investigar la organización de los circuitos involucrados en la despolarización de las aferentes primarias, Eccles y otros grupos de trabajo utilizaron microelectrodos de registro para determinar la localización de las interneuronas que reciben contacto de aferentes musculares y cutáneas activadas durante la generación de los DRPs en la médula espinal (Eccles et al. 1962a; Jankowska et al. 1981; Rudomin et al. 1987). Utilizando como referencia el disparo de las interneuronas que median la despolarización en las fibras aferentes, se estimularon los nervios sensoriales y se registró la latencia del inicio de la PAD. Con este protocolo se determinó que la latencia mínima para producir la despolarización en las aferentes primarias es de 1.7 a 2 ms, indicando que la vía de la PAD está formada por al menos dos interneuronas, es decir, que es trisináptica. Además, se encontró que estas interneuronas están localizadas principalmente en las láminas III-IV y V-VI del cuerno dorsal, en el núcleo intermedio y en el núcleo motor de la médula espinal, de las cuales el último elemento sería una interneurona GABAérgica que establece contacto axo-axónico con la terminal aferente.

El mecanismo de la despolarización de aferentes primarias (PAD)

Por medio del registro intra-axonal de las aferentes primarias, se estableció que la despolarización de las fibras sensoriales se debía a un cambio transitorio en el potencial interno de las propias terminales aferentes con respecto al medio extracelular (Eccles y Krnjevic 1959). Las fibras aferentes primarias expresan en sus terminales un co-transportador de $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ (NKCC1) que establece el potencial de equilibrio del ion cloruro por encima del potencial de reposo de la membrana en la terminal intraespinal de la fibra aferente (figura 3, ver Álvarez-Leefmans et al. 1998).

La liberación de neurotransmisor por las interneuronas GABAérgicas, excitadas por la estimulación de aferentes sensoriales, activa receptores GABA_A permeables a Cl⁻ en las terminales intraespinales de las fibras aferentes con las cuales establecen sinapsis axo-axónicas, provocando la salida del ion cloruro de la terminal y, por lo tanto, su despolarización (Álvarez-Leefmans et al. 1998). La despolarización disminuye la cantidad de neurotransmisor liberado por las aferentes primarias, disminuyendo así la eficacia sináptica de estas vías, ya sea por la reducción en la amplitud del potencial de acción que arriba a la terminal o por la inactivación de canales de sodio o de calcio dependientes de voltaje, lo que reduce la entrada de calcio necesario para la exocitosis del neurotransmisor (Graham y Redman 1994; Dunlap 1998).

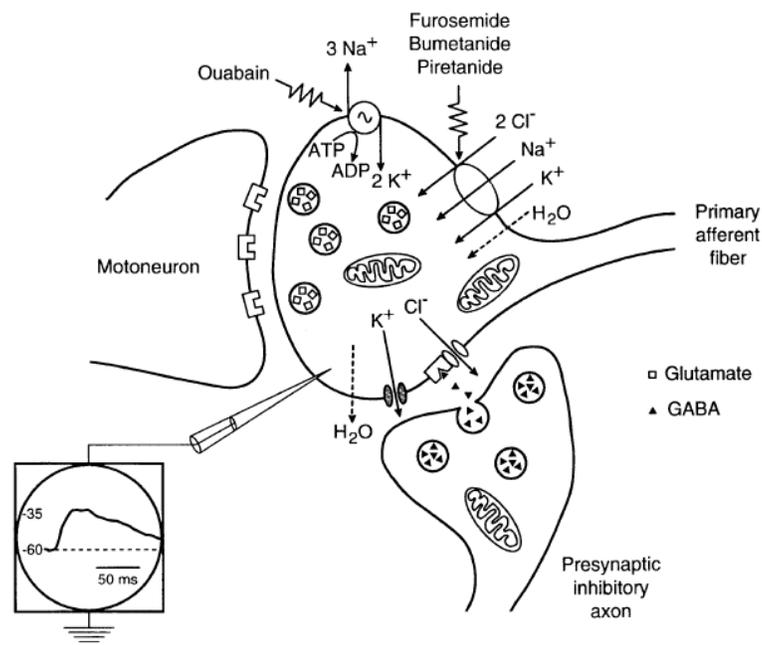


Figura 3. Mecanismo de la PAD. Representación esquemática de un axón de inhibición presináptica estableciendo contacto con la terminal de una aferente primaria, la cual a su vez está haciendo contacto sináptico con la dendrita de una motoneurona. Un microelectrodo insertado en la terminal de la fibra aferente registra la despolarización producida por el GABA. Esta despolarización es debida a un flujo de Cl⁻. La despolarización activa canales de K⁺ que provocan un flujo de K⁺. La salida de Cl⁻ de la terminal favorecida por el gradiente es restablecida por la actividad del transportador Na⁺-K⁺-2Cl⁻ (Modificado de Álvarez-Leefmans et al. 1998).

Patrones de despolarización de las fibras aferentes primarias

A partir del registro de los DRPs producidos por la estimulación de nervios sensoriales, se encontró que la estimulación de aferentes cutáneas y musculares de los grupos Ib y II (Eccles et al. 1963; Devanandan et al. 1965) y de aferentes articulares con altas frecuencias (Quevedo et al. 1993), también producían la despolarización de las fibras aferentes, e incluso algunas eran más efectivas en comparación con las fibras cutáneas y musculares del grupo Ia (Eccles et al. 1962, 1963). Estructuras supraespinales con proyecciones descendentes hacia la médula espinal, como la corteza motora (Lundberg 1964), la formación reticular bulbar (Carpenter et al. 1963; Lundberg y Vyklicky 1966), el núcleo vestibular (Cook et al., 1969), el núcleo rojo (Hongo et al., 1972) y el núcleo del rafé (Proudfit et al., 1980) también son capaces de producir DRPs.

Con el propósito de realizar estudios más específicos sobre los cambios en la excitabilidad de fibras aferentes únicas, diferentes grupos de trabajo han registrado los cambios en el potencial intraespinal de fibras aferentes provocados por la estimulación condicionante de circuitos con entradas segmentales y de estructuras supraespinales capaces de producir DRPs. Utilizando una técnica modificada a partir de la técnica desarrollada por Wall en 1958, es posible medir los cambios en la excitabilidad de las fibras aferentes únicas a partir de los cambios en el umbral de activación intraespinal. El umbral es calculado con base en la corriente eléctrica mínima necesaria para producir un potencial de acción antidrómico, aplicada con un microelectrodo de estimulación posicionado en la vecindad de la terminal espinal de la fibra aferente y registrado en el nervio sensorial (Madrid et al., 1979). Con esta técnica se han estudiado los efectos de la estimulación condicionante de nervios sensoriales y estructuras supraespinales sobre la excitabilidad de los distintos tipos de fibras aferentes, musculares de los grupos I y II, cutáneas y articulares (ver el resumen en Rudomin y Schmidt, 1999).

Aferentes musculares del grupo I

Las aferentes musculares del grupo I se componen de los husos musculares (fibras Ia) y los órganos tendinosos de Golgi (fibras Ib). Los aferentes musculares Ia transmiten información del grado de contracción muscular, es decir, de los cambios en

la longitud del músculo; mientras que los aferentes musculares Ib envían información al sistema nervioso central sobre el grado de tensión muscular. Los aferentes Ia, tanto de músculos flexores como extensores, son despolarizados principalmente por la estimulación de aferentes Ia y Ib de músculos flexores. Los aferentes Ib son despolarizados únicamente por aferentes Ib de músculos flexores y extensores.

Con base en los efectos producidos por la estimulación condicionante de fibras cutáneas y de estructuras supraespinales como la formación reticular, la corteza motora, el núcleo rojo y el núcleo del rafe (Jiménez et al. 1988; Enríquez et al. 1996a; Quevedo et al. 1995), las aferentes musculares Ia y Ib han sido separadas en 3 grupos (figura 4). El tipo A está conformado por fibras musculares Ia despolarizadas por la estimulación condicionante de aferentes musculares del grupo I, principalmente las provenientes de los músculos flexores, y no por la estimulación de nervios cutáneos, ni por la estimulación de la corteza motora, el núcleo rojo, la formación reticular bulbar y el núcleo del rafe. La estimulación del núcleo del rafe incluso es capaz de inhibir la PAD generada por la estimulación de las aferentes musculares. El tipo B son fibras musculares Ib despolarizadas por la estimulación de aferentes cutáneos y musculares, y por la estimulación del núcleo rojo, la formación reticular y la corteza motora. El tipo C son fibras musculares Ia y Ib despolarizadas por la estimulación de las mismas estructuras supraespinales que en el tipo B y de nervios musculares, pero a diferencia de estas fibras, la estimulación de nervios cutáneos no induce PAD, pero sí es capaz de inhibir la PAD inducida previamente por otras vías (Jiménez et al. 1988; Enríquez et al. 1996a; Quevedo et al. 1995).

Con base en estos resultados, los autores han propuesto que el control de la eficacia sináptica de forma específica para los dos tipos de aferentes musculares del grupo I tiene implicaciones funcionales. Utilizando diferentes circuitos de control, el sistema nervioso puede modular la información transmitida sobre el grado de contracción muscular en aferentes musculares Ia, con origen en diferentes músculos, y en forma particular en la información transmitida por aferentes musculares Ib, tanto de longitud del músculo como de tensión muscular (Rudomin et al. 1986).

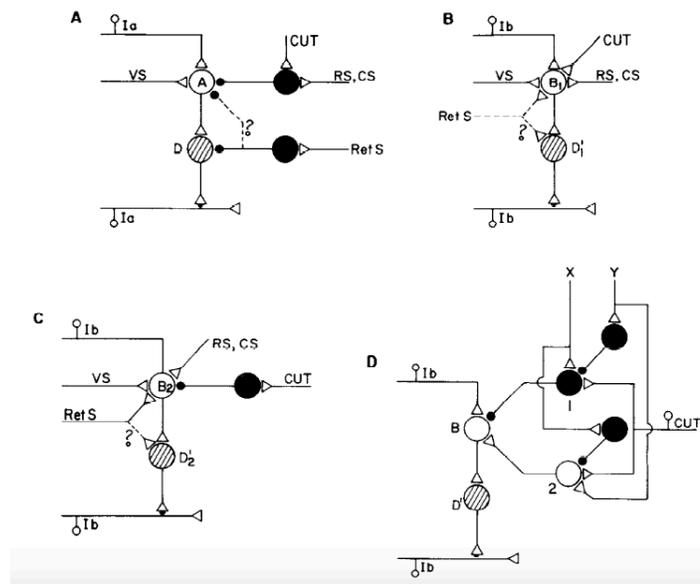


Figura 4. A, B y C, diagramas que muestran los posibles sitios de acción de entradas sementales y descendentes sobre las interneuronas que median los tipos de PAD en las fibras de los grupos A, B y C, respectivamente. Los signos de interrogación en A, B y C muestran las conexiones, que de estar presentes, no pueden ser incluidas o excluidas debido a la técnica empleada en el presente estudio. D Posible arreglo neuronal que explica la existencia de fibras musculares del grupo Ib con los patrones e despolarización B y C, asumiendo que un solo grupo de fibras Ib en el que las aferentes cutáneas pueden producir o inhibir la PAD, dependiendo del balance en la actividad de los sistemas descendentes con conexiones recíprocas en las interneuronas espinales. Cut, fibras cutáneas; CS, fibras cortico-espinales; RS, fibras rubro-espinales; VS, fibras vestibulo-espinales; y RetS, fibras retículo-espinales (Modificado de Rudomin et al. 1986).

Despolarización autogénica en las aferentes musculares del grupo Ib

Las aferentes musculares del grupo Ib (órganos tendinosos de Golgi) son parte del reflejo tendinoso, en el cual activan interneuronas inhibitorias que provocan potenciales posinápticos inhibitorios (IPSPs) en las motoneuronas de músculos homónimos y sinergistas con las que establecen contacto sináptico. Se ha propuesto que este mecanismo inactiva a las fibras musculares sinergistas durante contracciones musculares sostenidas para prevenir un daño en el propio tejido muscular.

En experimentos realizados por Jami y cols. se encontró que durante la estimulación tetánica del musculo extensor gastrocnemius medialis (GM), había una reducción en la inhibición de las motoneuronas homónimas y agonistas (Lafleur et al. 1992; Zytnicki y Jami 1998). En la figura 5A se muestra el potencial inhibitorio posináptico de una motoneurona del músculo gastrocnemius soleus provocado por la estimulación tetánica de una fibra Ib del músculo gastrocnemius medialis (GM). De

forma interesante, el potencial inhibitorio de la motoneurona se reduce después de aplicar varios estímulos de alta frecuencia. Con base en las observaciones de la despolarización de los aferentes Ib de músculos extensores observada durante la contracción de músculos heterónimos (Devanandan et al. 1966), los autores pensaron que una posible explicación para la reducción de la inhibición de las motoneuronas del GM se debía a la PAD de las aferentes Ib por la estimulación tetánica de las fibras musculares del mismo músculo, fenómeno que no había sido descrito hasta ese momento.

Para contestar esa pregunta, Jami y cols. registraron los cambios en el potencial intra-fibra de las aferentes musculares Ib durante la estimulación tetánica de la misma aferente Ib, así como por la contracción de las fibras musculares del propio músculo GM. En la figura 5B se muestra que la estimulación tetánica de la fibra muscular del GM o directamente del órgano tendinoso provoca la despolarización de la aferente Ib, aún en presencia de potenciales de acción ortodróxicos. Esta despolarización, asociada a la inhibición presináptica, puede reducir la inactivación de la aferente Ib (figura 5B1), lo que impide la activación de las interneuronas inhibitorias y, por lo tanto, disminuye los IPSPs en las motoneuronas de los músculos homónimos durante la estimulación tetánica (Lafleur et al. 1992; Zytnicki y Jami 1998).

Esto llevó a concluir a los autores que la inhibición autogénica de los órganos tendinosos es un mecanismo de autocontrol que disminuye la inhibición en las motoneuronas de los músculos homónimos y agonistas del reflejo tendinoso, actuando como un mecanismo de filtrado de la información sobre el grado de contracción muscular. Es decir, debido al aumento en la inhibición presináptica de las terminales intraespinales del grupo Ib por su propia estimulación, se puede bloquear la transmisión sináptica de algunas de estas aferentes musculares con las interneuronas espinales inhibitorias, disminuyendo así la inhibición sobre las motoneuronas de los músculos sinergistas, y permitiendo al músculo reclutar más fibras y de esta forma mantener contracciones musculares sostenidas (Lafleur et al. 1992; Zytnicki y Jami 1998).

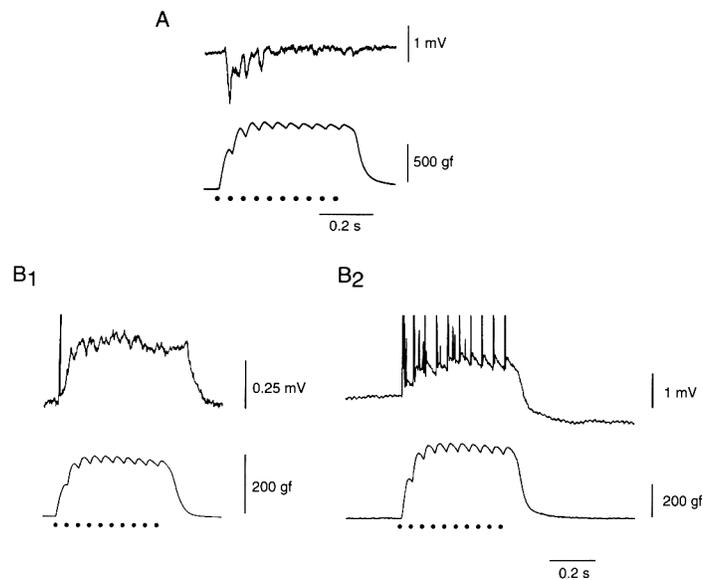


Figura 5. Inhibición por estimulación autogénica de las aferentes del grupo Ib. A Respuesta de una motoneurona del músculo gastrocnemius lateralis-soleus (GI-Sol) (trazo superior) debido a la estimulación tetánica (trazo inferior) del músculo gastrocnemius medialis (GM) aplicando 20 estímulos/s (puntos) a una rama seccionada del nervio muscular. Note la rápida disminución de los potenciales inhibitorios después del inicio de la contracción. B Respuesta de dos fibras del grupo Ib del GM por la contracción del músculo homónimo debido a la estimulación tanto de una rama seccionada del nervio muscular con 20 estímulos/s (B1) como por la estimulación directa de las fibras musculares en una preparación curarizada (B2). Los trazos superiores son el potencial de membrana del axón con potenciales de acción de las fibras Ib montados. En B1, solo un potencial de acción fue evocado al inicio del estímulo tetánico. En B2, la descarga persiste a través de la contracción. Los trazos inferiores representan la fuerza muscular. La estimulación está representada con puntos por debajo de los trazos de la fuerza muscular (Modificado de Zytnicki y Jami, 1998).

Estos resultados plantean la pregunta si esta inhibición autogénica se presenta en otros grupos de aferentes primarias por ejemplo musculares, cutáneas y articulares; pues estaría asociada a mecanismos de autorregulación de la información sensorial transmitida por las fibras aferentes hacia el sistema nervioso central. Si bien hasta ahora el único caso reportado de inhibición autogénica ha sido en las aferentes musculares del grupo Ib, se sabe que las neuronas cuentan con mecanismos de autorregulación para limitar su propia eficacia sináptica. Tal es el caso de los autoreceptores presinápticos dopaminérgicos, GABAérgicos, noradrenérgicos, serotoninérgicos y opioides. Las terminales axónicas expresan receptores a través de los cuales el neurotransmisor puede limitar su propia liberación. Es decir, estos receptores generan una retroalimentación negativa a nivel presináptico (Starke et al. 1989).

Aferentes musculares del grupo II

Las aferentes musculares del grupo II son moduladas por dos sistemas neuronales diferentes. En el primero de tipo GABAérgico, las fibras del grupo II son despolarizadas fuertemente por la estimulación condicionante de otras fibras aferentes del grupo II, por fibras cutáneas y por fibras articulares, y son débilmente despolarizadas por aferentes del grupo I. Además, la estimulación del locus coeruleus, de la línea media del núcleo del raquí y de la corteza motora, también produce PAD en estas fibras (Harrison y Jankowska 1989). El segundo tipo de modulación está mediado por neuronas monoaminérgicas de núcleos supraespinales como el locus coeruleus y subcoeruleus, el núcleo de Kölliker-Fuse y el núcleo del raquí. A través de la excitación de noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) o dopamina (DA) por la estimulación de estos núcleos se ha observado la despolarización de las aferentes del grupo II, principalmente por 5-HT en el cuerno dorsal y por NA en la zona intermedia y en el cuerno ventral (Bras et al. 1990; Riddell et al. 1993).

Aferentes cutáneas

Las fibras cutáneas son despolarizadas de manera específica por la estimulación de otras fibras cutáneas, es decir, la estimulación de fibras cutáneas de adaptación rápida despolarizan a otras fibras cutáneas de adaptación rápida, mientras que la estimulación de fibras cutáneas de adaptación lenta despolarizan a otras fibras cutáneas de adaptación lenta (Jänig et al. 1968). Esto aporta evidencia de que el mecanismo de inhibición presináptica en estas aferentes es muy selectivo y, al controlar la información transmitida por el mismo tipo de fibras, puede eliminar un aumento de excitación generado en la periferia o localizar de forma precisa el sitio de estimulación.

Las aferentes cutáneas de bajo umbral son también despolarizadas por la estimulación de las fibras aferentes musculares de los grupos Ib, II y III (Eccles 1962, Rudomin y Schmidt 1999), y por la estimulación de estructuras supraespinales como la corteza motora (Carpenter et al. 1963), la formación reticular, el núcleo del raquí y el núcleo rojo (Martin et al., 1979, Jiménez et al., 1987). En las aferentes cutáneas mielinizadas y no mielinizadas de alto umbral no hay evidencias histológicas de sinapsis axo-axónicas GABAérgicas en sus terminales. La despolarización en estas aferentes

podría estar mediada por otros mecanismos, como el aumento extracelular en la concentración de iones potasio (K^+), debida a la activación repetida de otras terminales en la vecindad (comunicación paracrina).

Aferentes articulares

El nervio articular posterior (PAN) está compuesto por fibras aferentes de neuronas ganglionares y por eferentes de neuronas postganglionares del sistema nervioso simpático. El 78% de las fibras son amielínicas, con una proporción de 1:1 entre aferentes y eferentes. El 22% restante pertenece a fibras aferentes mielinizadas. En conjunto, las aferentes articulares del PAN tienen velocidades de conducción entre 10 y 110 m/s (Gardner et al. 1949; Burgess y Clarck 1969; Langford y Schmidt 1983; Hildebrand et al. 1991).

Los primeros estudios realizados para caracterizar el tipo de información transmitida a través del PAN se basaron en las propiedades de sus receptores periféricos. Se sabe que hay aferentes articulares con receptores fásicos que responden a los movimientos continuos de la articulación de la rodilla. Otro grupo de fibras con receptores tónicos responden con patrones característicos dependiendo del ángulo de flexión de la articulación. Estos dos tipos de fibras informan en todo momento la posición y los movimientos de la articulación (Burgess y Clarck 1969; O'Connor y Seipel 1982; Ferrell 1987), y es muy probable que esta información este asociada a la actividad de fibras gruesas mielínicas de aproximadamente 16 μm de diámetro (Gardner et al. 1949). Un tercer grupo de fibras articulares con velocidades de conducción entre 10 y 35 m/s responden únicamente cuando la articulación es forzada a extensión o flexión máxima. Debido a que la intensidad del estímulo para la activación de estos receptores es mayor, comparada con los receptores activados en el rango de movimiento de la articulación, se concluyó que las fibras de mayor umbral transmiten información nociceptiva (Burgess y Clarck 1969; Quevedo et al. 1993; Messlinger 1996). Finalmente McIntyre y cols. aportaron evidencia de que el PAN podría ser un nervio mixto con algunas fibras aferentes de órganos tendinosos y husos musculares del músculo poplíteo (McIntyre 1978).

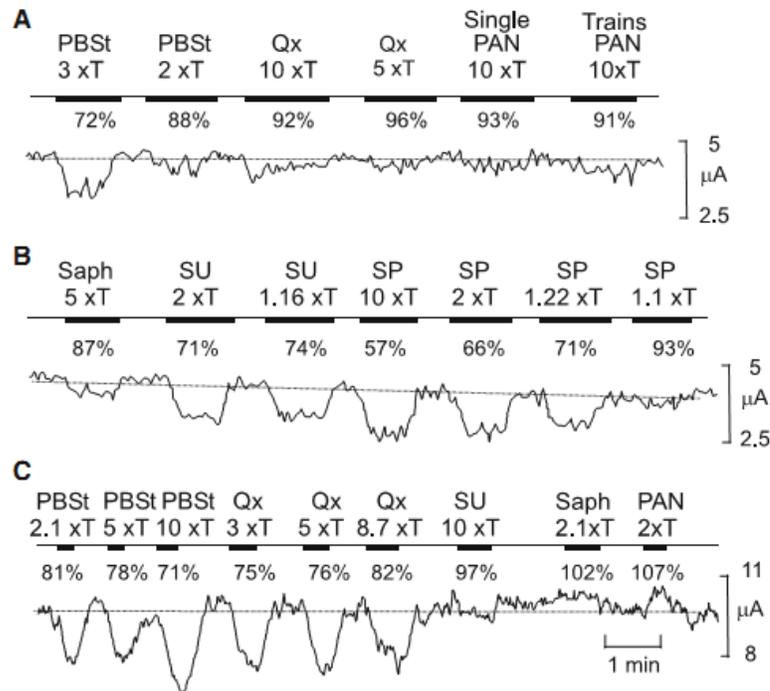


Figura 6. Cambios en el umbral de activación intraespinal producidos por la estimulación de nervios sensoriales en dos aferentes únicas del PAN estimuladas intraespinalmente a nivel segmental L6. a, b Cambios en el umbral de activación intraespinal producidos por la estimulación de los nervios PBSt, Qx, PAN, Saph, SU y SP, con las intensidades indicadas. La fibra con velocidad de conducción de 45 m/s. c Cambios en el umbral de activación intraespinal de otra fibra. La estimulación de los nervios PBSt y Qx producen una marcada PAD, SU produce una PAD muy pequeña y Saph y PAN producen una pequeña PAH. Esta fibra tiene una velocidad de conducción de 51 m/s. Los números indican el porcentaje de los cambios del valor de umbral producidos por la estimulación condicionante en relación al umbral basal (Modificado de Rudomin y Lomelí 2007).

Las aferentes articulares son despolarizadas fuertemente por la estimulación de aferentes musculares y cutáneas (figura 6), así como por la estimulación de la formación reticular y de la línea media del núcleo del rafé (figura 7, ver Jankowska et al. 1993; Rudomin y Lomelí 2007). Estudiando el grado de despolarización provocado por la estimulación de aferentes musculares sobre dos colaterales de una misma fibra articular, Rudomin y su grupo de trabajo encontraron que la PAD producida en las terminales que proyectan entre los niveles segmentales L6-L7 es mayor que en las terminales proyectadas a nivel L3 (Clarck 1972; Craig et al. 1988; Rudomin y Lomelí 2007). Las aferentes musculares del grupo II fueron más efectivas produciendo PAD en las aferentes articulares que las aferentes del grupo I. En algunas fibras, la estimulación condicionante de los nervios cutáneos (Saph) o del propio nervio articular provoca la

hiperpolarización de la fibra articular (PAH, figura 6C), lo que implica un incremento en el umbral de activación intraespinal de las fibras del PAN (Rudomin y Lomelí 2007).

En el gato anestesiado, se sabe que las fibras articulares muestran un escaso efecto de PAD autógena (Jankowska et al. 1993; Rudomin y Lomelí 2007). Esto contrasta con la fuerte despolarización en las aferentes articulares provocada por la estimulación de nervios cutáneos y musculares (Figura 6), y con la PAD autógena reportada en las aferentes musculares del grupo Ib (Lafleur et al. 1992).

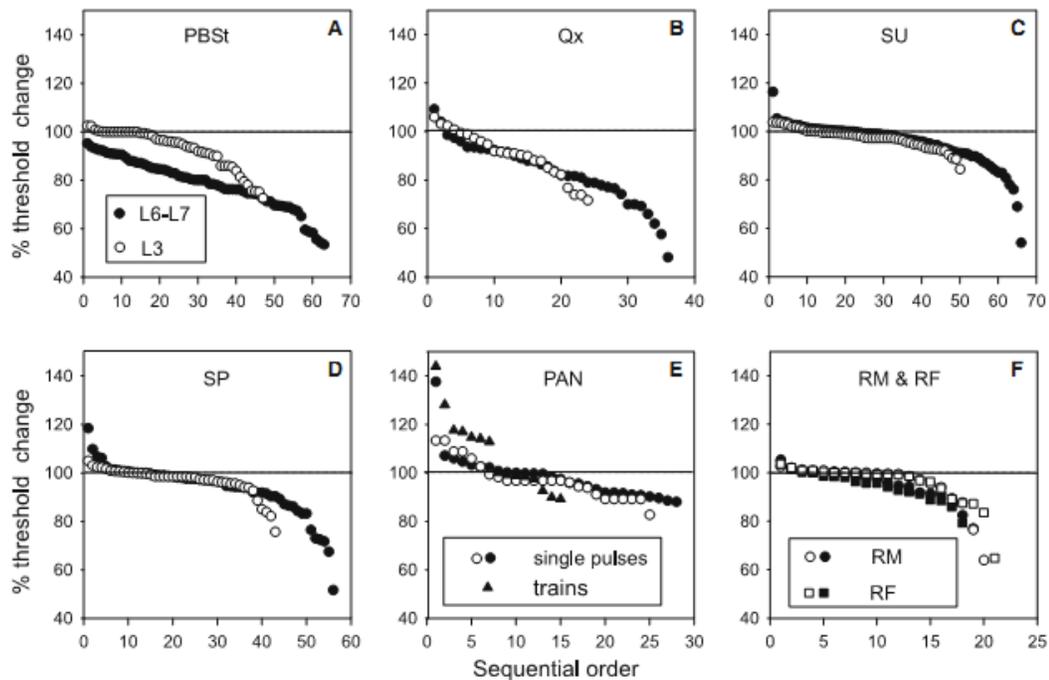


Figura 7. PAD y PAH de las aferentes articulares. a-f Gráficas del cambio en el umbral de activación intraespinal producido por la estimulación sensorial y supraespinal de aferentes únicas del PAN estimuladas intraespinalmente a niveles segmentales L3 y L6-L7 como se indica. Los cambios en el umbral de activación intraespinal producidos por los estímulos condicionantes en cada terminal fueron ordenados en forma decreciente y graficados secuencialmente. Gráficas separadas fueron hechas para observar los cambios en fibras estimuladas intraespinalmente a nivel segmental L6-L7 y L3. Los valores por arriba del 100% indican PAH y valores por debajo de 100% indican PAD. Los datos obtenidos de las terminales en los segmentos L6-L7 y en L3 son indicados con círculos rellenos y vacíos, respectivamente. (Modificado de Rudomin y Lomelí 2007)

Es probable que los escasos efectos de PAD autógena en las aferentes articulares tenga implicaciones funcionales. Las aferentes articulares de bajo umbral informan en todo momento al sistema nervioso central de la posición de las extremidades en el espacio con respecto al cuerpo. La información transmitida en

tiempo real por estas fibras aferentes es necesaria para ejecutar movimientos en la extremidad, por lo que su actividad es modulada por nervios cutáneos y musculares, y por núcleos supraespinales involucrados en el control motor, como la formación reticular y el núcleo del rafé. Es posible entonces que en condiciones fisiológicas normales, los escasos efectos de PAD autogénica en aferentes de bajo umbral se deba a que la información propioceptiva transmitida es importante para la correcta ejecución de movimientos en las extremidades, por lo que el sistema busca transmitir una mayor cantidad de información propioceptiva sin alteraciones hasta circuitos segmentales y a estructuras supraespinales para su procesamiento.

Cambios en los patrones de la PAD de las aferentes primarias producidos por la lesión de nervios sensoriales

A partir del registro de los cambios en el potencial intra-fibra registrados por Eccles y Krnjevic (1959), se sabe que no todas las fibras aferentes están sujetas al mismo control a nivel presináptico por circuitos segmentales. Estudiando los efectos de la estimulación condicionante sobre la excitabilidad de los distintos tipos de aferentes primarias, se han encontrado diferentes patrones de PAD que han sido asociados a la función de circuitos neuronales involucrados en el procesamiento de la información sensorial. Por ejemplo, las fibras musculares del grupo I son fuertemente despolarizadas por otras fibras musculares del grupo I, por aferentes cutáneas y por estructuras supraespinales involucradas en el control motor. Con base en estos patrones de despolarización, que indican la selectividad de los estímulos capaces de producir PAD, las aferentes musculares del grupo I han sido separadas en tres grupos A, B y C (Jiménez et al. 1988; Enríquez et al. 1996a; Quevedo et al. 1995).

Sin embargo, la evidencia experimental ha mostrado que estos patrones de PAD pueden cambiar por daños provocados por la lesión del nervio muscular GM por machacamiento. Entre 2 y 12 semanas de recuperación de la lesión hubo una disminución en la proporción de la población del grupo A, fibras musculares la despolarizadas por aferentes musculares del grupo I y no por nervios cutáneos o estructuras supraespinales. Por otro lado, hubo un aumento del número de aferentes del grupo B, fibras Ib despolarizadas por la estimulación de fibras musculares y cutáneas, y por estructuras supraespinales; así como un aumento del grupo C,

compuesto por fibras Ia y Ib con el mismo patrón de despolarización del grupo B por la estimulación de aferentes musculares y de estructuras supraespinales, pero que no son afectadas por la estimulación de fibras cutáneas (Enríquez et al. 1996). Esto sugiere que los patrones de PAD pueden ser dinámicos, cambiando durante la lesión del nervio en forma selectiva para los distintos tipos de fibras musculares, tal vez por la activación específica de los circuitos interpuestos en la vía de la PAD para las aferentes musculares Ia y Ib.

A este respecto, se sabe que la estimulación de los mecanorreceptores de bajo umbral $A\beta$, que transmiten información para la percepción de la sensación táctil, pueden producir la despolarización de aferentes de alto umbral $A\delta$ y C. En condiciones normales, esta despolarización produce la inhibición presináptica de la información nociceptiva, y por lo tanto, una reducción en la sensación de dolor (Calvillo 1978). Este mecanismo, ilustrado en la figura 8, es parte de la “teoría de la compuerta del dolor” propuesto por Melzack y Wall (1965). Después de una lesión, los nociceptores que inervan la región cercana al daño del tejido se activan, y esta actividad sostenida provoca su sensibilización, lo cual se traduce en una sensación de dolor prolongada en la región de la lesión. En este estado, la actividad de mecanorreceptores $A\beta$ de los sitios cercanos a la lesión pueden producir un aumento en la PAD de las aferentes nociceptivas (figura 8, ver Cervero et al. 2003), llegando incluso a producir potenciales de acción que se propagan antidrómicamente como reflejos de la raíz dorsal (DRRs), provocando la liberación de agentes pro inflamatorios en la periferia y contribuyendo a la inflamación (Willis 1999). Por lo tanto, la estimulación de fibras de bajo umbral podrían también activar neuronas de segundo orden que reciben contacto sináptico de aferentes nociceptivas, provocando también su sensibilización y permitiendo que estímulos inocuos produzcan respuestas nociceptivas (alodinia). Además, la sensibilización de las neuronas de segundo orden por la actividad de los nociceptores en el área de la lesión puede explicar el aumento de las respuestas producidas por estímulos nociceptivos provenientes de otras regiones (hiperalgesia secundaria). Esto plantea la hipótesis que en condiciones de daño en el tejido también podrían presentarse cambios en los patrones de PAD de fibras aferentes, principalmente de aferentes de alto umbral asociadas a la transmisión de información nociceptiva moduladas por aferentes de bajo umbral (Melzack y Wall 1959).

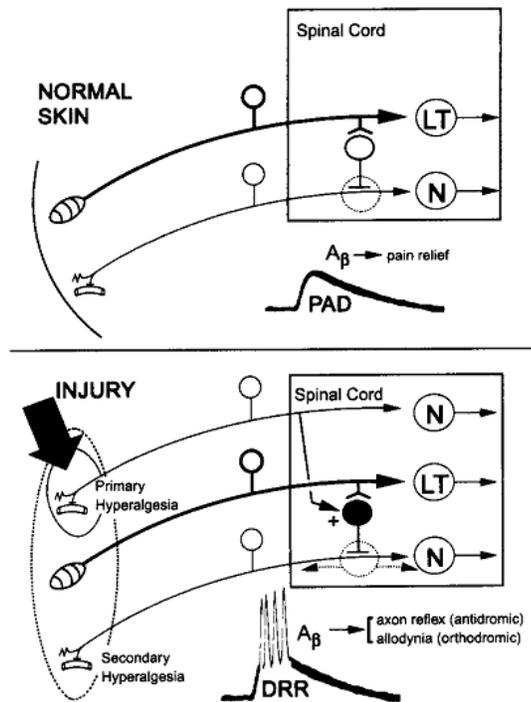


Figura 8. Diagramas ilustrando el modelo propuesto del mecanismo de dolor provocado por contacto. Arriba: tejido normal. Abajo: Tejido después de la lesión. Dos tipos de fibras aferentes son ilustradas: fibras gruesas, conectadas a mecanorreceptores de bajo umbral de activación, y fibras finas conectadas a nociceptores (y mostrando un arreglo de reflejo axónico). Claves: LT = células de bajo umbral de activación, N = células nociceptivas (tanto NS como WDR), PAD = despolarización de las aferentes primarias. DRR = reflejo de la raíz dorsal. En el tejido normal, la estimulación de las aferentes $A\beta$ evoca PAD en las fibras C e inhibe el dolor; en el tejido con hiperalgesia las interneuronas son sensibilizadas (neurona negra) por la ráfaga de las fibras nociceptivas y la estimulación de fibras $A\beta$ evoca DRRs antidrómicos (y ardor) y la activación ortodrómica de las terminales de las fibras C (y alodinia, Modificado de Cervero y Laird, 1996).

Dolor

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor define que "el dolor es una experiencia sensorial o emocional desagradable asociada a un daño real o potencial en un tejido, o descrito en términos de dicho daño". Existen diferentes sensaciones asociadas al dolor, por ejemplo ardor, punción, picazón, palpitación, etc. Por lo tanto, el dolor es una señal de alarma que sirve al organismo para identificar estímulos de amenaza o dañinos que debe evitar o a los que debe enfrentarse.

Dentro de las funciones del sistema nervioso, una muy importante es la de informar al organismo de posibles amenazas o daños en el tejido. El sistema nervioso periférico transmite información nociceptiva desde el exterior hacia el sistema nervioso

central a través de las fibras aferentes de alto umbral mielinizadas (A δ) y no mielinizadas (C). De esta forma, el organismo obtiene información de daños que provienen tanto del medio ambiente como de su propia estructura. Los nociceptores son receptores que responden de manera selectiva a estímulos de alta intensidad, activados por estímulos mecánicos, térmicos o químicos, que pueden ser nocivos para el organismo. Esta información es transmitida hasta núcleos supraespinales de integración sensorial, como la corteza somatosensorial, en donde se genera la percepción del dolor.

Dolor nociceptivo

Debido a que el dolor es una respuesta de integración sensorial, la correlación entre la nocicepción y el dolor no siempre se expresa igual en todos los individuos. El dolor también puede ser producido por daños o alteraciones en las estructuras del sistema nervioso involucradas en la percepción del dolor, tanto en los nociceptores como en neuronas de segundo orden que reciben contactos sinápticos de aferentes de alto umbral, conocido como dolor neuropático. Los nociceptores establecen contacto sináptico con neuronas de proyección y propioespinales del cuerno dorsal que se ubican principalmente en las láminas superficiales I-II de Rexed, así como en la parte profunda del cuerno dorsal en la lámina V (Brown 1982; Cervero e Iggo 1980; Light y Perl 1979a, b). Por lo tanto, es en la médula espinal en donde se hace la primera integración de la información nociceptiva en el sistema nervioso central, antes de alcanzar centros superiores de integración sensorial involucrados en la percepción del dolor (Fields y Basbaum 1978; Dubner y Bennett 1983). La actividad conjunta entre nociceptores y mecanorreceptores permiten informar al organismo sobre la modalidad del estímulo nocivo, así como su intensidad y localización.

Modulación del dolor nociceptivo

La evidencia de la modulación del dolor surge de las observaciones en que soldados con heridas graves reportaban bajos niveles de dolor durante situaciones de combate, incluso en daños como fracturas, o heridas en el abdomen, tórax o cráneo (Beecher 1946). Ahora se sabe que existe un sistema endógeno que modula la percepción del dolor a través de una inhibición que tiene origen en estructuras supraespinales (Gebhart

2004; Ossipov et al. 2010). La modulación del dolor tiene origen en estructuras como el hipotálamo, la amígdala y la corteza cingulada anterior, que activan a la sustancia gris periacueductal, la cual a su vez estimula neuronas del núcleo del rafé magnus y de la formación reticular que envían proyecciones hacia el cuerno dorsal de la médula espinal, en donde de manera directa o indirecta aumentan o disminuyen la transmisión de la información nociceptiva, modificando la sensación de dolor (Handwerker et al. 1975; Fields y Basbaum 1978; Ossipov et al. 2010). Estas influencias descendentes también modifican la actividad de circuitos neuronales involucrados en la ejecución de movimientos y reflejos espinales, principalmente enfocados en evitar el daño tisular (Porreca et al. 2002).

Los estudios sobre el dolor y la nocicepción se han abordado a partir de diversos modelos experimentales. En preparaciones *in vivo* en animales y humanos, se ha observado que la inyección de agentes pro inflamatorios como la carragenina, el adyuvante completo de Freund y la capsaicina, así como la estimulación eléctrica y mecánica nociceptiva, incrementa las respuestas sinápticas de fibras aferentes primarias (Lin et al. 2000), de neuronas espinales únicas y de poblaciones (Cervero et al. 1991; Schaible et al. 1991), y de núcleos supraespinales y cortezas primarias y de integración sensorial (Derbyshire et al. 1997). Además, a nivel conductual, se ha estudiado que la estimulación nociceptiva aumenta las respuestas defensivas y protectoras de los organismos (Grönroos et al. 1993), y en algunos casos inducen el desarrollo de neuropatías como la hiperalgesia secundaria y la alodinia, fenómenos asociados con estados de sensibilización a nivel central (Sandkühler 2009; Dray 1992; Campbell y Meyer 2006; Sluka 1997; LaMotte et al. 1991).

Efectos de la aplicación directa de Capsaicina sobre las aferentes primarias

La capsaicina (CAP, 8-metil-N-vanillil-6-nonenamida) es el compuesto activo causante del sabor picante y el efecto irritante de una variedad de pimientos rojos. A partir de los trabajos realizados por Jancsó y Jancsó-Gábor, en los años 40s se estableció que en animales adultos, los efectos inmediatos o agudos provocados por la aplicación de dosis únicas en concentraciones bajas (μM) de capsaicina eran claramente diferenciables de aquellos ocasionados por su aplicación durante tiempos prolongados o crónicos (Jancsó et al. 1967). Este grupo de trabajo también estableció

que la aplicación de capsaicina con altas concentraciones en animales neonatos provoca la degeneración rápida de poblaciones de fibras A δ y C de neuronas del ganglio de la raíz dorsal (Nagy 1982).

Las fibras A δ y C sensibles a capsaicina, expresan tanto en sus terminales periféricas como en las centrales el receptor TRPV1, que es un canal catiónico no selectivo permeable principalmente a calcio y sodio. Al ser activado directamente por la capsaicina, la entrada de Ca²⁺ en la terminal provoca la liberación neuropéptidos pro-inflamatorios, como la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) de las terminales periféricas de estas fibras, provocando inflamación neurogénica local (Nemeth et al. 2003, Lin et al. 1999). Al mismo tiempo, la activación de estos receptores también provoca la liberación al sistema circulatorio de somatostatina, que ejerce efectos antiinflamatorios y antinociceptivos, inhibiendo directamente la respuesta periférica de aferentes sensoriales nociceptivas (Carlton et al., 2001a, b, 2003; Helyes et al. 2000, 2004; Szolcsányi et al., 1998a, b; Heppelmann y Pawlak 1997).

Está bien establecido que en animales adultos, la inyección de capsaicina o carragenina en la capsula articular de la rodilla induce estados de sensibilización central que podrían estar implicados en la aparición de respuestas anormales del sistema nervioso ante estímulos periféricos nociceptivos e inocuos (Neugebauer y Schaible 1990; Cervero et al. 1991; Schaible et al. 1991). En la figura 8 se muestra el modelo de la teoría de la compuerta del dolor, propuesta por Melzack y Wall en 1965, en donde están representadas las interacciones inhibitorias activadas por la estimulación de fibras mecanorreceptoras de bajo umbral de activación (fibras A β) sobre las aferentes nociceptivas (fibras C). Aunque este modelo ha sido discutido por algunos autores como Burke, Rudomin y Vyklicky, quienes demostraron que la activación por estímulos nociceptivos de aferentes cutáneas finas mielinizadas con calor radiante despolarizan a fibras gruesas mielinizadas (Burke et al., 1971). En condiciones de daño en el tejido, un aumento en la actividad de las neuronas inhibitorias, debido a la estimulación de las fibras A β provenientes de las áreas adyacentes a la lesión tisular, producen una PAD de mayor amplitud en las aferentes nociceptivas, lo cual es capaz de evocar potenciales de acción en las fibras C. La conducción antidrómica en forma de reflejos de la raíz dorsal (DRR) puede activar las terminales periféricas de fibras nociceptivas que inervan

regiones distintas a las lesionadas (hiperalgesia secundaria), mientras que la conducción ortodrómica podría activar neuronas de segundo orden que normalmente no son activadas por nociceptores (alodinia) contribuyendo al aumento de la información nociceptiva transmitida hacia estructuras supraespinales (Melzack y Wall 1965; Cervero y Laird 1996).

Además del incremento en la actividad neuronal a nivel periférico y espinal, se ha demostrado que la inflamación articular produce un aumento en la actividad de núcleos supraespinales que ejercen una acción inhibitoria sobre la transmisión de la información nociceptiva facilitada en un principio (Schaible et al. 1991a, b). Durante la inflamación articular, hay un incremento considerablemente de la actividad basal y provocada de las neuronas espinales de segundo orden ipsilaterales a la inflamación, y aumenta aún más durante el bloqueo espinal reversible (Cervero et al., 1991, Schaible et al. 1991). Esto ha sido interpretado como un aumento en la inhibición tónica descendente (TDI) sobre neuronas de segundo orden que reciben información proveniente de las articulaciones durante el proceso inflamatorio (Cervero et al. 1991; Schaible et al. 1991).

Efectos de la aplicación intradérmica de capsaicina sobre las aferentes primarias

La inyección intradérmica de capsaicina provoca la despolarización de aferentes primarias mielínicas delgadas A δ y amielínicas C, lo cual produce la generación DRRs en las estas fibras aferentes y no en aferentes de bajo umbral A β (Willis et al. 2000, Lin et al. 2003). Esta actividad contribuye al desarrollo de la inflamación neurogénica debido a la liberación de elementos pro inflamatorios en la periferia como la sustancia P (Lembeck y Gamse 1982; Levine et al. 1985).

La inflamación neurogénica puede participar a su vez en la generación de dolor neuropático. Este tipo de dolor está caracterizado por daños en el sistema nervioso y por cambios a nivel central que modifican el grado de sensibilidad. Los cambios a nivel central en estados de dolor crónico pueden tener tres orígenes distintos. El primero, debido a un estado de sensibilización central persistente en respuesta al aumento de información transmitida por fibras C proveniente del sitio del daño tisular o de neuronas DRG. El segundo, debido a un decremento en la inhibición por daño en la transmisión

como resultado de la disminución de los niveles de GABA liberados o por la pérdida de neuronas inhibitorias. El tercero, debido a la reorganización de las conexiones sinápticas en la médula espinal, donde se sabe que existe un aumento en el número de terminales en las láminas superficiales del cuerno dorsal, principalmente en las láminas I y II, en donde se localizan las neuronas que normalmente reciben sinapsis de fibras nociceptivas A δ y C, y de esta forma contribuir a la aparición de alodinia (Woolf, 1995). La actividad transmitida por las vías nociceptivas es transferida, después de un procesamiento activo en el cuerno dorsal de la médula espinal, hacia el tálamo, desde donde se envía a la corteza somatosensorial en donde se percibe la sensación de dolor, ya sea directamente o a través de núcleos de relevo a nivel del tallo cerebral (Willis y Coggeshall, 1991).

Efecto de la inyección intradérmica de capsaicina sobre la actividad de neuronas con entradas de aferentes articulares del PAN

La estimulación eléctrica del PAN activa neuronas espinales a lo largo del cuerno dorsal con las cuales establecen contacto sináptico localizadas principalmente en las láminas I, IV-VI y VIII. La actividad de estos grupos de neuronas puede ser registrada desde la superficie de la médula espinal o intraespinalmente (Schaible et al. 1986, Quevedo et al. 1993, Rudomin et al. 2007). Los potenciales de campo intraespinal (IFPs) producidos por la estimulación del PAN presentan varios componentes que corresponden a la actividad de grupos de fibras de diferentes velocidades de conducción y umbral de activación, llamados N1, N2 y N3, de acuerdo a su latencia. El componente N1 es producido por la actividad de fibras con velocidad de conducción de 70 a 120 m/s y con umbral de activación periférico bajo, posiblemente se trate de fibras del grupo I procedentes del músculo poplíteo (McIntyre et al. 1978). El componente N2 es producido por la estimulación de fibras con velocidad de conducción de 35 a 70 m/s y bajo umbral de activación, características de fibras mecanorreceptivas A β . Finalmente, el componente N3 es generado por fibras con velocidad de conducción de 9 a 35 m/s y umbral de activación alto, por lo que es muy probable se traten de fibras nociceptivas A δ (Schaible et al. 1986, Quevedo et al. 1993, Rudomin et al. 2007).

En estudios previos de nuestro laboratorio se ha encontrado que la inyección intradérmica de capsaicina en el cojinete central de la pata del gato anestesiado, facilita

principalmente el componentes N3 de los IFPs producidos por la activación de las aferentes articulares alto umbral del PAN comparado con el ligero aumento producido sobre del componente N2 provocado por la estimulación de aferentes articulares de menor umbral (figura 9, Rudomin y Hernández, 2008). El aumento en la amplitud de los IFPs del PAN es gradual y se presenta principalmente en el segmento espinal L6 en comparación con el segmento L7, siguiendo el curso temporal del proceso inflamatorio y llegando a su máximo efecto alrededor de los 120 a los 180 minutos después de la inyección de capsaicina (Figura 10). En estos experimentos, el PAN fue seccionado antes de la inyección de la capsaicina, por lo que la facilitación de los potenciales del PAN fue atribuida a cambios sinápticos a nivel central en la médula espinal, y no a cambios en las propiedades de los receptores en la periferia.

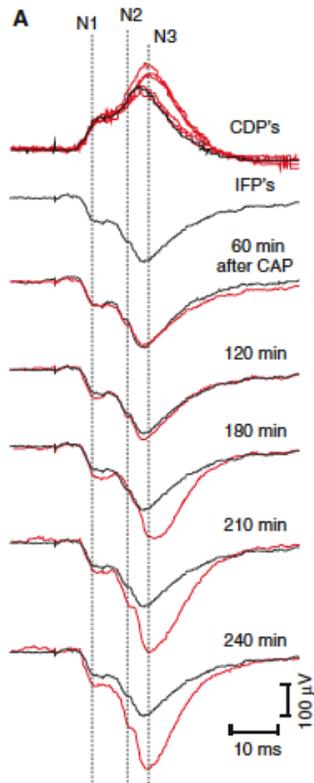


Figura 9. La inyección intradérmica de capsaicina incrementa los potenciales de campo del PAN producidos por la estimulación de las aferentes mielinizadas de intermedio y alto umbral. a La estimulación del PAN con pulsos únicos 3 xT produce CDPs e IFPs con diferentes componentes N1, N2 y N3, como se indica en las líneas verticales discontinuas. Los IFPs fueron registrados del segmento L6 rostral dentro de la zona intermedia del cuerno dorsal. Los trazos en color negro muestran las respuestas en condición control. Los trazos en color rojo fueron obtenidos a diferentes tiempos indicados después de la inyección de capsaicina en el cojinete de la pata. Note que a los 180 min después de la inyección de capsaicina, los componentes N2 y N3 han sido facilitados, mientras que el componente N1 sólo se ha incrementado ligeramente. La facilitación de los componentes N2 y N3 persiste por lo menos hasta los 285 min (Modificado de Rudomin y Hernández, 2008).

Dentro de los primero 180 minutos, la facilitación de los potenciales de campo del PAN sigue el curso temporal del desarrollo de la inflamación en la extremidad del gato (figuras 10). Sin embargo, alrededor de los 190 y 330 minutos posteriores a la inyección de la capsaicina, los componentes N2 y N3 de los potenciales de campo del PAN se reducen en amplitud aun cuando la inflamación cutánea de la extremidad persiste por

un tiempo más prolongado (figura 10). Es posible que la inhibición de la actividad sináptica del PAN, previamente facilitada por la capsaicina, sea el resultado de la activación de circuitos supraespinales o segmentales que inhiban tanto a neuronas espinales (inhibición posináptica), como directamente a las terminales de las fibras aferentes primarias (inhibición presináptica).

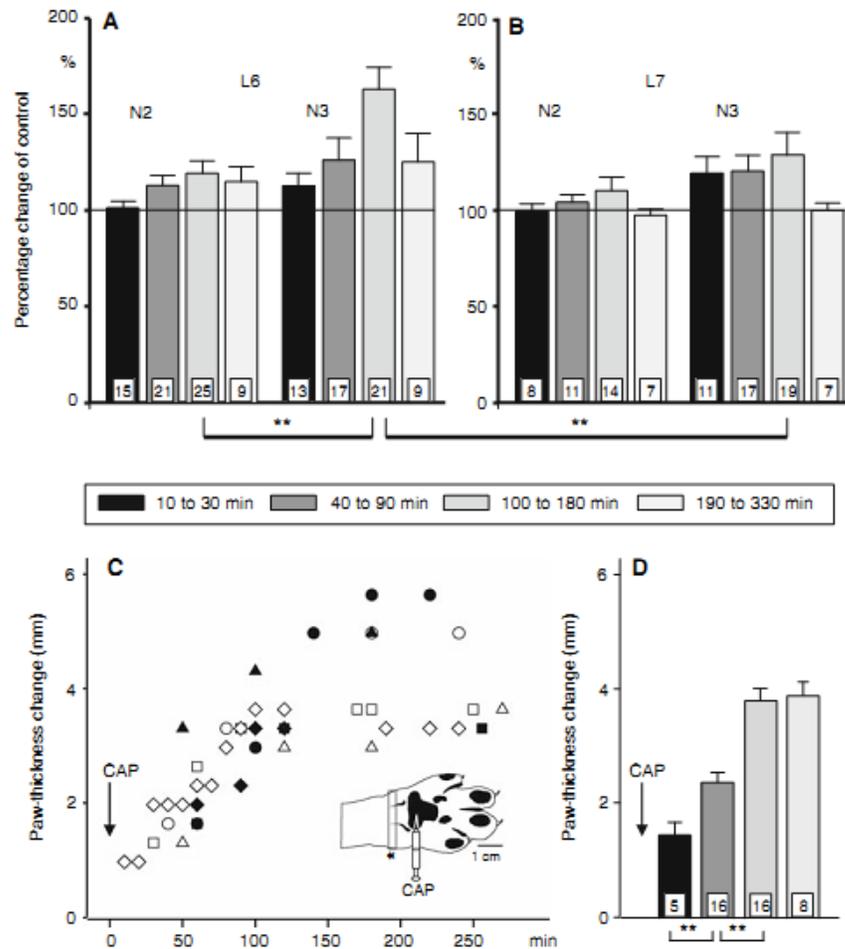


Figura 10. Cambios en los potenciales de campo N2 y N3 del PAN y en el grosor de la pata del animal a diferentes tiempos después de la inyección intradérmica de capsaicina. a, b Promedio del curso temporal de los efectos de la capsaicina inyectada en el cojinete central de la extremidad posterior izquierda sobre la amplitud de los potenciales de campo N2 y Ne del PAN ipsilateral registrados a nivel segmental L6 y L7, como se indica. En cinco experimentos, las respuestas fueron registradas simultáneamente de ambos niveles L6 y L7, y en tres experimentos solo de L6. El promedio y el SEM son expresados como porcentaje de cambio respecto al control y son agrupados en cuatro categorías de tiempo (10-30, 40-90, 100-180 y 190-330 min después de la inyección de la capsaicina). Los números en las cajas indican el número de muestras. c Curso temporal de los incrementos inducidos por capsaicina en el grosor de la pata del animal medidos en el sitio indicado por el asterisco en el diagrama. Los datos fueron obtenidos de ocho experimentos diferentes. d El promedio y el SEM de los datos desplegados en c, agrupados en cuatro diferentes grupos como se indica. Los corchetes con dos asteriscos indican diferencias significativas entre las medias ($P < 0.05$, Modificado de Rudomin y Hernández, 2008).

La capsaicina activa de forma selectiva receptores nociceptivos TRPV1 que se expresan en fibras aferentes A δ y C (Nagy 1982; Winter et al. 1995; Lynn 1990; Szolcsányi 2004; Kenins 1982; Dray 1992; Baumann et al. 1991). Debido a la proyección de estas fibras aferentes en la médula espinal, la inyección intradérmica de capsaicina provoca un incremento en la actividad tanto de neuronas nociceptivas específicas (NS) en las capas superficiales, como en neuronas de amplio rango dinámico (WDR) en la parte profunda del cuerno dorsal (Simone et al. 1989; Sun et al. 2004; Winter et al. 1995; Dougherty y Willis 1992). Por lo tanto, es probable que la facilitación diferencial a nivel segmental de los potenciales de campo del PAN, observada al inyectar capsaicina de forma intradérmica en el cojinete de la pata del gato, sea derivado de la co-activación de neuronas espinales que reciben contacto sináptico tanto de fibras aferentes articulares como cutáneas, estas últimas provenientes de la región en donde se desarrolla la inflamación por la inyección de capsaicina, ya que existe una convergencia de sus terminales sobre neuronas de segundo orden a nivel de la médula espinal (Craig 1988, Millan 1998, Rudomin et al. 2008).

Hasta ahora, se han reportado diversos mecanismos descendentes involucrados en la modulación (inhibición/facilitación) de neuronas espinales que participan en la transmisión de información nociceptiva de forma tónica o durante estados de nocicepción (ver Millan 1998, Moreno-López et al. 2013; Xian-Min 1990). Por ejemplo, se sabe de la presencia de una inhibición tónica descendente que actúa sobre neuronas espinales de segundo orden que reciben contacto sináptico de aferentes articulares, y que dicha inhibición aumenta gradualmente durante la fase aguda del desarrollo de la inflamación articular (Cervero et al. 1991; Schaible et al. 1991). A nivel de las aferentes primarias, se sabe que la inyección intradérmica de capsaicina aumenta la aparición de reflejos de la raíz dorsal principalmente en fibras aferentes A δ y C durante el desarrollo de la inflamación cutánea (Lin et al. 2000), lo que sugiere cambios en las propiedades intrínsecas de membrana a nivel central, probablemente asociado con mecanismos GABAérgicos sinápticos y extrasinápticos (Hernández-Reyes et al. 2019), que modifican el grado de excitabilidad de las terminales presinápticas. Sin embargo, no hay evidencia experimental que muestre que existan cambios en los patrones de PAD de las aferentes articulares durante estados de nocicepción.

Efectos de la capsaicina sobre los circuitos que modulan la eficacia sináptica de las aferentes articulares

Desde principios de los años 60s se sabe que la despolarización de aferentes primarias (PAD) está asociada con la inhibición presináptica (Eccles y Krnjevic, 1959; Eccles et al., 1961; Eccles et al., 1962a; b). Este mecanismo de control sináptico fue descrito por Frank y Fourtes en 1957 (Frank y Fuortes, 1957). El hecho de que la inhibición presináptica se dé a través de sinapsis axo-axónicas entre interneuronas específicas y las aferentes primarias hace de ella un mecanismo altamente selectivo para el control del flujo de información, que es transmitida desde la periferia hacia el sistema nervioso central, filtrando la información sensorial de las fibras aferentes antes de que arribe a neuronas de segundo orden. La estimulación de estructuras supraespinales como el núcleo del rafé magnus (NRM) y la formación reticular (FR), y de algunos nervios musculares como el Bíceps posterior y semitendinoso (PBSt), son capaces de producir PAD en diferente medida sobre colaterales de una misma fibra aferente (Rudomin et al., 2004; Rudomin y Lomelí, 2007). Es decir, no todas las fibras aferentes, e incluso no todas las terminales de una misma fibra, están sometidas al mismo grado de inhibición.

En particular, se sabe que las aferentes articulares son fuertemente despolarizadas por la estimulación de estructuras supraespinales como la formación reticular (RF) y el núcleo del rafé magnus (NRM), También, por la estimulación de los nervios cutáneos peroneo superficial (SP) y sural (SU), y musculares como el cuádriceps (Qx) y el bíceps posterior y semitendinoso (PBSt). En contraste a esta fuerte despolarización, la estimulación del nervio articular posterior (PAN) tiene escasos efectos de PAD autogénica sobre las propias aferentes articulares (Jankowska et al. 1993; Rudomin y Lomelí 2007).

Contrario a la PAD autogénica, en muchos casos la estimulación del PAN produce la hiperpolarización de las aferentes articulares (Jankowska et al. 1993; Rudomin y Lomelí 2007). La hiperpolarización de las aferentes primarias (PAH) puede tener distintas interpretaciones. Por un lado, es posible que el potencial basal en la terminal de la fibra se establezca en un valor más negativo durante la hiperpolarización y al arribar los potenciales de acción ortodróxicos a la terminal hay un aumento en su

amplitud y como resultado una mayor liberación de neurotransmisor (Eccles y Krnjevic 1959). Por otro lado, la hiperpolarización podría reflejar la inhibición de alguna PAD tónica de fondo que actúa sobre las aferentes articulares (Rudomin y Lomelí 2007). En ambos casos, la PAH estaría asociada con el aumento de la eficacia sináptica (Rudomin et al. 1974) y, por lo tanto, con la facilitación de estas vías durante la estimulación autogénica.

De forma interesante, los escasos efectos de PAD autogénica en las aferentes articulares contrastan con la fuerte despolarización producida por la estimulación de aferentes cutáneas y musculares. Esto plantea diferentes hipótesis. En primer lugar, que los circuitos interpuestos en la vía de la PAD autogénica de las aferentes articulares fueran de baja eficacia sináptica. Dada la evidencia de la fuerte despolarización ejercida por las aferentes articulares sobre aferentes musculares y cutáneas, y también de la despolarización de aferentes cutáneas y musculares sobre aferentes articulares (Jankowska et al. 1993, Quevedo et al. 1995; Rudomin y Lomelí 2007), es probable que haya un menor número de aferentes articulares que activan los circuitos de la PAD autogénica en comparación con las aferentes articulares que producen PAD sobre otras aferentes.

También, sería posible que algunas estructuras supraespinales inhiban de forma tónica estos circuitos neuronales. En experimentos realizados en gatos anestesiados, se ha mostrado la presencia de un componente inhibitorio tónico descendente que inhibe neuronas espinales que reciben contacto sináptico de fibras aferentes articulares. La inhibición se presenta tanto en neuronas superficiales como de las láminas profundas del cuerno dorsal (Cervero et al. 1991; Schaible et al. 1991), y es probable entonces que dentro de las neuronas inhibidas se encuentren algunas que participan en la PAD autogénica de estas fibras aferentes.

Con base en estos antecedentes, es probable que durante la inflamación cutánea producida por la inyección intradérmica de capsaicina, haya un aumento en la actividad de núcleos supraespinales con proyecciones a la médula espinal involucrados en el control de la nocicepción. Esta inhibición descendente podría tener dos componentes, el primero posináptico que inhibe a neuronas nociceptivas de proyección, y otro presináptico, que inhibe a las propias aferentes articulares. En combinación, esta

modulación descendente es capaz de revertir la facilitación sináptica de las aferentes del PAN provocada en un principio por la inyección intradérmica de capsaicina (Rudomin y Hernández, 2008). Por lo tanto, es probable que durante este estado de sensibilización central se produzca la facilitación sináptica de los circuitos interpuestos en la vía de la PAD autogénica de las aferentes articulares (inhibición presináptica), como uno de los posibles mecanismos capaz de filtrar la información probablemente interpretada como nociceptiva, y evitar estados patológicos de dolor crónico, como es el caso de la hiperalgesia secundaria y la alodinia.

Además, la facilitación de un mecanismo como la PAD autogénica es muy interesante desde el punto de vista dinámico del sistema nervioso central. Esta evidencia nos habla de su capacidad para activar circuitos neuronales específicos que le dan al sistema la propiedad de autorregularse (en sistemas de control es conocido como realimentación o feedback negativo). En este caso, limitando la cantidad de información que fluye desde la periferia hacia los núcleos de procesamiento sensorial durante ciertas condiciones fisiológicas como el dolor.

Cambios en la depresión post-activación de las aferentes articulares inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina

Un resultado que sugiere cambios a nivel presináptico de las aferentes articulares, por la inyección intradérmica de capsaicina, es la reducción en el tiempo de recuperación de la depresión post-activación producida por la estimulación de alta frecuencia del PAN (Rudomin y Hernández, 2008). Se sabe que la estimulación a alta frecuencia de aferentes musculares del grupo I reduce la amplitud del reflejo monosináptico (Lloyd y Wilson, 1957; Hultborn et al., 1996). Esta depresión ha sido registrada también como una disminución de los potenciales de campo intraespinal producidos por la estimulación de fibras musculares del grupo II, cutáneas de bajo umbral (Hammar et al., 2002) y articulares de alto umbral (Rudomin et al., 2007). En todos los casos, esta depresión es dependiente de la frecuencia de estimulación y puede durar por varios minutos. Pero, la depresión post-activación de las aferentes primarias no se presenta en el mismo grado en diferentes niveles segmentales ni a distintas profundidades de la médula espinal (Hammar et al., 2002; Rudomin et al., 2007), esto llevó a sugerir que dicha depresión es un fenómeno que depende de las

características intrínsecas de las terminales de las fibras aferentes (Hultborn et al. 1996). Por tanto, este fenómeno se ha atribuido a la disminución en la probabilidad de liberación de neurotransmisor de las terminales como resultado de la activación de las fibras aferentes del grupo Ia a altas frecuencias, lo que implica que su carácter inhibitorio se produce a nivel presináptico (Hultborn y Nielsen 1998). Sin embargo, aunque se ha propuesto que este mecanismo no está asociado a la actividad de interneuronas GABAérgicas que producen la despolarización de las aferentes primarias, hay evidencia de algunos autores que sugieren que la depresión post-activación puede estar influenciada por elementos supraespinales o espinales (Rossi et al. 1988).

Vías descendentes involucradas en el control de la nocicepción

En 1965, Melzack y Wall aportaron evidencia de que las vías involucradas en la transmisión nociceptiva proveniente de la piel, vísceras y otros tejidos, que inciden sobre el cuerno dorsal de la médula espinal modulan la información antes de transmitirla hacia estructuras supraespinales (Melzack y Wall 1965). El modelo de la compuerta del dolor probó la existencia de un procesamiento integrado en las terminales de las fibras aferentes primarias, y en las neuronas de proyección con las que establecen contacto sináptico, modificando así la información nociceptiva antes de alcanzar centros de integración sensorial. En la figura 11 se muestran las posibles vías involucradas en la facilitación e inhibición de la información nociceptiva con los diferentes tipos de interacciones a nivel pre o posináptico en cada uno de los elementos implicados. Las vías mediadoras de la inhibición descendente disminuyen la liberación de agentes pro-nociceptores de las fibras aferentes nociceptivas (acciones presinápticas) y, directa o indirectamente (a través de interneuronas inhibitorias), deprimen la actividad de las neuronas de proyección del cuerno dorsal (acciones posinápticas). Dentro de los núcleos supraespinales con vías descendentes involucrados en la inhibición de la información nociceptiva se encuentra el núcleo paraventricular (vasopresina, oxitocina), posterior periventricular (dopamina) y arcuato (β -Endorfina) del hipotálamo, el núcleo parabraquial, el núcleo del tracto solitario, la región rostro ventromedial del tallo cerebral (acetilcolina), el núcleo del rafé magnus (NRM, serotonina), la corteza cerebral y la sustancia gris periacueductal (Millan 2002).

Rudomin y cols. han reportado que la estimulación del NRM y la FR despolariza las terminales intraespinales de las aferentes articulares a diferentes niveles segmentales (L3 y L6-L7), aunque con efectos reducidos. Debido al aumento del flujo de información a estructuras supraespinales por la inyección de capsaicina o carragenina, es probable que durante la inflamación la actividad de alguno de estos núcleos se facilite y participe en el control de la actividad sináptica de las aferentes articulares a nivel presináptico, disminuyendo directamente la eficacia sináptica y/o facilitando vías involucradas en la PAD de las aferentes articulares, contribuyendo así al control en el aumento de la información nociceptiva transmitida al sistema nervioso central durante la inflamación.

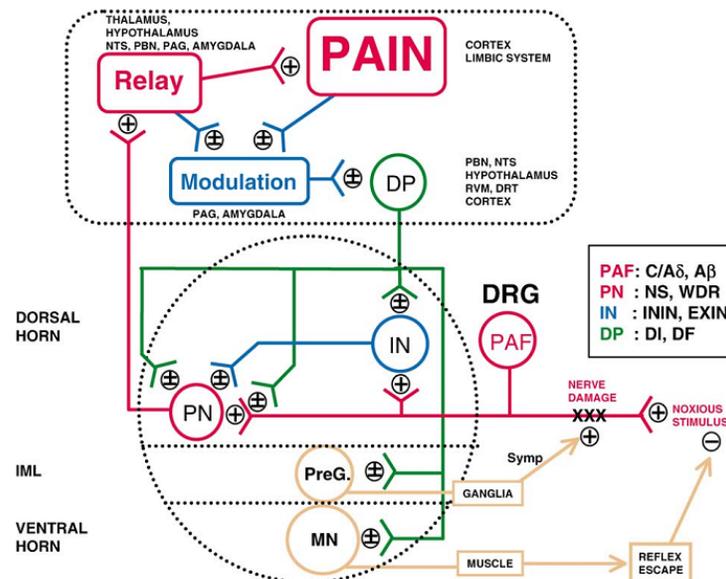


Figura 11. Ilustración esquemática de la relación entre vías descendentes y poblaciones intrínsecas involucradas en la transmisión y modulación de información nociceptiva. Las terminales de las vías descendentes (DP) provenientes de la región rostroventral (RVM) y otros núcleos del tallo cerebral, del núcleo del tracto solitario (NTS), del núcleo parabraquial (NPB), del núcleo dorso reticular (DRT), del hipotálamo y de la corteza interactúan con fibras aferentes (PAF), interneuronas (INs) y neuronas de proyección (PNs) en el cuerno dorsal. Las acciones en estos sitios, como una función de la influencia de receptores individuales sobre la excitabilidad celular, suprime y potencia el paso de información nociceptiva hacia la sustancia gris periacueductal (PAG), el tálamo, el hipotálamo, PBN, NTS, la amígdala y otras estructuras cerebrales involucradas en su procesamiento secundario. Estas estructuras transmiten información nociceptiva a regiones corticolímbicas, e interactúan con otros centros para modular la actividad de las propias vías descendentes. Las vías descendentes modulan la actividad sináptica ejerciendo acciones sobre neuronas simpáticas preganglionares (PreG) en las células de la columna intermediolateral (IML). Después de una lesión de las aferentes primarias, eferentes simpáticas modifican las entradas nociceptivas del cuerno dorsal a través de acciones en los ganglios de la raíz dorsal (DRG). Dentro del cuerno ventral, las acciones de las vías descendentes sobre las motoneuronas (MN) pueden indirectamente modificar las entradas nociceptivas a través de la iniciación de conductas motoras apropiadas. Abreviaciones: NS, nociceptivo-específico, WDR, amplio rango dinámico, ININ, interneurona inhibitoria, EXIN, interneurona excitatoria (Modificado de Millan, 2002).

Planteamiento del Problema

Estudios previos de nuestro laboratorio han mostrado que la inyección intradérmica de capsaicina facilita los componentes N2 y N3 producidos por la activación de aferentes articulares intermedio y alto umbral del PAN, respectivamente. Dicha facilitación, registrada en la parte profunda del cuerno dorsal, se presentó principalmente en el componente N3, y fue mayor en el segmento espinal L6 en comparación con el segmento L7. El aumento en los IFPs del PAN inducido por la capsaicina aumentó de forma gradual siguiendo el curso temporal del proceso inflamatorio en la pata del gato, llegando a un su máximo efecto alrededor de los 120 a los 180 minutos después de la inyección de la capsaicina (Rudomin y Hernández, 2008). En estos experimentos, el PAN fue seccionado previo a la inyección de la capsaicina, por lo que la facilitación de los potenciales del PAN fue atribuida a cambios sinápticos a nivel central en la médula espinal, y no a cambios en las propiedades de los receptores en la periferia.

Se sabe que las fibras de bajo umbral del PAN, que producen los componentes rápidos N1 y N2, transmiten información propioceptiva, es decir, de la posición de la articulación de la rodilla cuando se encuentra dentro de su rango de movimiento (Burgess y Clarck 1969; O'Connor y Seipel 1982; Ferrell 1987). Por otro lado, las fibras de alto umbral, que producen los componentes tardíos N3, transmiten información nociceptiva, activándose cuando el movimiento de la rodilla se encuentra fuera de su rango natural de movimiento (Burgess y Clarck 1969; Quevedo et al. 1993; Messlinger 1996). Por lo tanto, los cambios observados en la actividad sináptica en los componentes N2 y N3 del PAN durante la inflamación cutánea inducida por la capsaicina (Rudomin y Hernández, 2008), podrían estar asociados con alteraciones en la ejecución de movimientos en la extremidad y con alteraciones en la percepción sensorial en estados como la alodinia y la hiperalgesia secundaria (Neugebauer y Schaible 1990; Cervero et al. 1991; Schaible et al. 1991).

De forma interesante, la facilitación de los IFPs del PAN producida por la inyección intradérmica de capsaicina disminuye gradualmente después de alcanzar su máximo efecto a los 180 minutos, regresando incluso a valores control, a pesar de que la inflamación en la extremidad persiste por un tiempo más prolongado (Rudomin y

Hernández, 2008). Estos resultados experimentales plantean la posibilidad que la reversión de los efectos producidos por la capsaicina sobre las respuestas del PAN podría deberse al aumento de un componente inhibitorio descendente con origen en núcleos supraespinales involucrados en la modulación de la información nociceptiva a nivel de la médula espinal, como el núcleo del rafé magnus, la formación reticular y la sustancia gris periacueductal (Gebhart 2004; Ossipov et al. 2010).

Evidencia experimental de otros grupos de trabajo ha mostrado que, durante estados de sensibilización inducidos por la aplicación de agentes nociceptivos o pro inflamatorios, hay un aumento gradual de las influencias inhibitorias descendentes sobre neuronas de la médula espinal. En preparaciones de ratas con inflamación articular producida por la inyección intra-articular de carragenina, se ha observado que la actividad de neuronas espinales de segundo orden, que reciben contactos sinápticos de las aferentes articulares de la rodilla, aumenta gradualmente durante la aplicación de bloqueos espinales sucesivos (Cervero et al. 1991; Schaible et al. 1991). Si bien estos estudios han aportado información sobre la presencia de un tono inhibitorio descendente, poco se sabe sobre la dinámica de estos procesos de modulación supraespinal, en particular del curso temporal del desarrollo de dicha inhibición descendente durante estados de nocicepción (Cervero et al. 1991; Schaible et al. 1991), y el grado de selectividad en los mecanismos de acción ejercidos sobre las distintas poblaciones de las neuronas espinales involucradas en la transmisión de información nociceptiva, tanto a nivel posináptico sobre neuronas de segundo orden, como a nivel presináptico sobre las fibras aferentes primarias.

A nivel presináptico, existen circuitos en la médula espinal que modulan la eficacia sináptica de las fibras aferentes. Uno de los mecanismos ampliamente estudiados, por su alto grado de selectividad, es la despolarización de aferentes primarias (PAD), el cual está asociado a la inhibición presináptica (Eccles y Krnjevic, 1959; Eccles et al. 1961). Este mecanismo disminuye la eficacia sináptica de las fibras aferentes a través de circuitos neuronales que tienen como elemento de último orden interneuronas GABAérgicas que establecen contactos axo-axónicos con las propias fibras aferentes. Al ser activadas, las interneuronas GABAérgicas despolarizan las terminales de las fibras aferentes, reduciendo la cantidad de neurotransmisor liberado. Estos circuitos neuronales, activados por la propias aferentes primarias, también

pueden recibir influencias de núcleos supraespinales con proyecciones descendentes a la médula espinal (Enríquez et al. 1996; Eguibar et al. 1997; Rudomin et al. 2004).

En particular, se sabe que las aferentes articulares son fuertemente despolarizadas por la estimulación de fibras cutáneas y musculares, y por estructuras supraespinales como la formación reticular y el núcleo del rafé magnus (Jankowska et al. 1993; Rudomin y Lomelí 2007), probablemente modulando su actividad durante la ejecución de movimientos en las extremidades. Pero de forma interesante, las aferentes articulares presentan efectos muy escasos de PAD autogénica. Esto contrasta con los órganos tendinosos (fibras musculares Ib), en los cuales esta característica ha sido propuesta como un mecanismo que contribuye al autocontrol de su eficacia sináptica, disminuyendo la inhibición no recíproca que reciben las motoneuronas para permitir contracciones musculares sostenidas (Lafleur et al. 1992; Zytnicki y Jami 1998).

Por lo tanto, en la presente Tesis nos hemos preguntado si la facilitación del componente N3 del PAN, inducida por la inyección intradérmica de capsaicina, disminuye por el aumento de un tono inhibitorio descendente ejercido sobre las neuronas del cuerno dorsal que reciben entradas sinápticas de aferentes articulares de alto umbral. En estas condiciones, también es probable que sean facilitados los circuitos interpuestos en la vía de la PAD autogénica de las aferentes articulares. La PAD autogénica podría participar como un sistema de autocontrol con retroalimentación negativa, capaz de reducir (filtrar) la información transmitida por el nervio articular antes de activar neuronas de segundo orden, con lo cual se podría disminuir la cantidad de información que es interpretada como nociceptiva, previniendo así alteraciones en la percepción del dolor o el establecimiento de un estado de dolor crónico. Estos resultados podrían indicar que los escasos efectos de PAD autogénica en las aferentes articulares se deben a la inhibición tónica y/o a la baja eficacia sináptica de estos circuitos, pero que pueden ser activados durante estados de sensibilización central, en este caso producido por la estimulación nociceptiva por la inyección de capsaicina.

Relevancia del Proyecto

La inyección intradérmica de capsaicina facilita la actividad sináptica de las fibras aferentes articulares de intermedio y alto umbral del PAN (Rudomin y Hernández 2008). Este fenómeno podría estar relacionado con condiciones como la hiperalgesia secundaria y la alodinia, estados asociados con dolor por alteraciones en la actividad de neuronas del sistema nervioso central, involucradas en el procesamiento y la transmisión de la información nociceptiva. Estos estados se caracterizan por una localización difusa del dolor e incluso puede estar referido a tejidos intactos (Helliwell y Taylor 2005; Globe et al. 2009). La persistencia de la actividad nociceptiva por tiempos prolongados podría generar incluso un estado de dolor crónico. A diferencia del dolor agudo, el cual tiene la función de protección para el propio organismo, el dolor crónico es considerado un estado patológico. Por lo tanto, el desarrollo de mecanismos de inhibición focalizados y específicos, como es la inhibición presináptica, a través del mecanismo de la PAD, podrían ser blancos para investigaciones relacionadas con el tratamiento y el control del dolor.

Actualmente, una de las terapias utilizadas para aliviar el dolor en pacientes provocado por artritis, herpes zóster o neuropático, consiste en la aplicación tópica en dosis únicas de capsaicina en altas concentraciones (Simpson et al. 2008; Anand y Bley 2011; Backonja et al. 2008), con lo cual existe una depleción de terminales periféricas de alto umbral y, por lo tanto, una reducción en la entrada de información nociceptiva. Otra terapia consiste en la aplicación tópica repetitiva de capsaicina en concentraciones bajas (Derry y Moore 2012), lo cual reduce el dolor significativamente, pero en este caso aún se desconoce el mecanismo de acción. Es probable entonces que el aumento de la información nociceptiva en la piel active sinápticamente vías supraespinales involucradas en la modulación del dolor, y que dentro de estos circuitos también sean facilitados los interpuestos en la vía de la PAD de las fibras aferentes primarias, favoreciendo la inhibición de la información nociceptiva en aferentes de alto umbral a nivel presináptico.

Hipótesis

1.- La estimulación nociceptiva producida por la inyección intradérmica de capsaicina produce un aumento gradual de la inhibición tónica descendente.

Esta inhibición afecta sobre todo las respuestas neuronales producidas en el asta dorsal por la estimulación de aferentes articulares de alto umbral (nociceptivos), básicamente sin alterar las respuestas producidas por aferentes de bajo umbral (propioceptivos).

2.- La PAD autogénica de fibras aferentes articulares de alto umbral es facilitada durante el estado sensibilización central inducido por la inyección de capsaicina.

Objetivo

Investigar si la inyección intradérmica de capsaicina aumenta la inhibición tónica descendente ejercida sobre las fibras aferentes articulares del nervio articular posterior (PAN) y, si en estas condiciones de sensibilización central, son facilitados sinápticamente los circuitos interpuestos en la vía de la PAD autogénica (inhibición presináptica) de las fibras aferentes articulares.

Objetivos Particulares

1. Analizar el curso temporal en los cambios producidos por la capsaicina sobre la inhibición tónica descendente ejercida sobre neuronas de segundo orden con entradas sinápticas de aferentes articulares.

La magnitud de la inhibición descendente será inferida a partir de los cambios producidos durante la aplicación de bloqueos espinales aplicados antes y después de la inyección de capsaicina sobre los IFPs y los CDPs provocados por la estimulación del PAN con distintas intensidades (1.2 - 5 xT).

2. Analizar la selectividad de la inhibición tónica descendente ejercida sobre las diferentes poblaciones de neuronas de segundo orden con entradas sinápticas de aferentes articulares (nociceptivas específicas y de amplio rango dinámico) a partir de los cambios de amplitud de los distintos componentes de los IFPs y CDPs producidos por la estimulación del PAN a diferentes profundidades del cuerno dorsal.
3. Estudiar los posibles cambios en los patrones de PAD y PAH del PAN durante el estado de sensibilización central producido por la inyección intradérmica de capsaicina, a partir de los cambios fásicos en el umbral de activación intraespinal de fibras aferentes articulares únicas producidos por la estimulación condicionante autógena (PAN) y heterogénea de nervios cutáneos (SP, SU y Saph).
4. Caracterizar las aferentes articulares por su velocidad de conducción, umbral de activación periférico y posición anatómica, para determinar si los cambios de excitabilidad producidos por la inyección intradérmica de capsaicina están asociados a clases específicas de aferentes articulares.

Metodología

Preparación

Todos los experimentos fueron realizados con la autorización del Comité de Ética Institucional para la investigación en Animales (Protocolo no. 126-03) en cumplimiento con las políticas de ética y las regulaciones mexicanas (NOM-062-ZOO-1999). Los experimentos fueron realizados en gatos adultos de entre 2.4 y 4.6 kg de peso. Los animales fueron anestesiados inicialmente con Pentobarbital 40 mg/kg de forma intraperitoneal. Dosis adicionales fueron aplicadas de manera intravenosa para mantener al animal en anestesia profunda (2 mg/kg en una hora). La presión arterial y la temperatura fueron monitoreadas de forma continua durante el experimento manteniéndolas entre 100-120 mm Hg y 36 °C, respectivamente. Las venas radiales fueron canuladas para suministrar dosis de anestésico adicional, solución de bicarbonato de sodio 100 mM y glucosa al 5% (0.03 ml/min) para prevenir la acidosis, y bromuro de pancuronio 0.4 mg/kg para paralizar al animal. Cuando la presión arterial disminuye, se administró por esta vía dextrán al 10% o etilefrina (Effortil, Boering-Ingelheim) para mantener la presión arterial por arriba de 100 mm Hg. La arteria carótida fue canulada para el registro de la presión arterial. Después de ser paralizado muscularmente, el animal se mantuvo oxigenado con un ventilador artificial conectado por una cánula a la tráquea. El volumen corriente fue ajustado para tener una concentración de CO₂ del 4% en el aire expirado. Se realizó una toracotomía bilateral para evitar el movimiento de la médula espinal durante el experimento producido por la ventilación mecánica. La vejiga fue canulada para la liberación de la orina.

La médula espinal fue expuesta por una laminectomía entre los niveles segmentales S1 a T10. El animal fue fijado en un estereotáxico metálico. Para el registro de los potenciales del dorso de la médula (CDPs) la duramadre fue expuesta. Para prevenir la desecación del tejido, las pocetas de la médula y la pata del animal fueron llenadas con aceite mineral. Los nervios sural (SU), safeno (Saph), posterior articular (PAN) y peroneo superficial (SP) del miembro posterior izquierdo fueron disectados. Los nervios PAN y SU fueron seccionados. El segmento central del nervio SU y los nervios SP y Saph fueron montados en un electrodo de gancho para su estimulación. El segmento central del PAN fue montado en un par de electrodos de

gancho, uno para su estimulación y el otro para el registro de las respuestas antidrómicas provocadas por microestimulación intraespinal. El cojinete central de la pata del gato fue estimulado con un par de electrodos de aguja insertados en la zona donde se inyecta la capsaicina (figura 12).

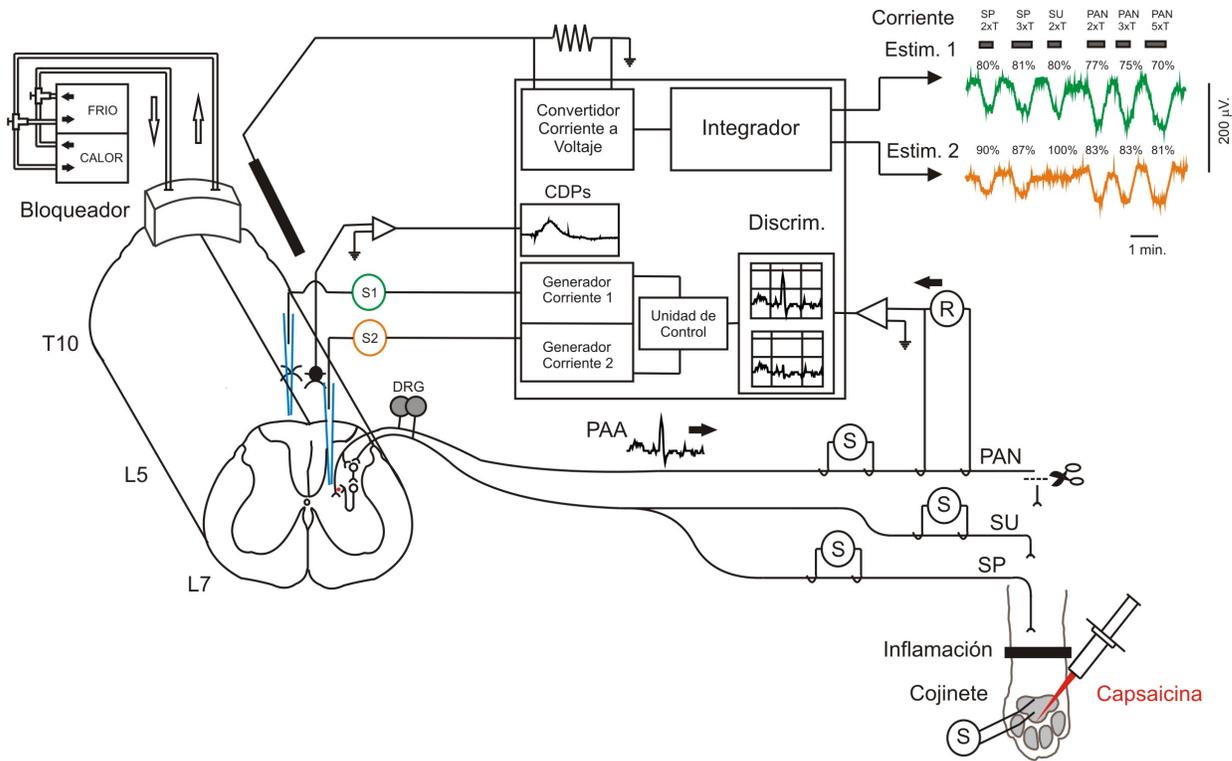


Figura 12. Diagrama esquemático del modelo experimental. PAA Potencial de acción antidrómico. S Electrodo de estimulación periféricos. S1 y S2 microelectrodos de estimulación y registro. R Electrodo de registro periférico. PAN Nervio Articular Posterior. SU Nervio Sural. SP Nervio Peroneo Superficial. Laminectomía de los segmentos lumbares L5-L7 para el registro y estimulación, y a nivel torácico T10 para el bloqueo espinal reversible. Revisar la metodología para más detalles.

Estimulación y registro

Los potenciales de campo intraespinales (IFPs) y del dorso de la médula (CDPs) fueron registrados en la parte izquierda de la médula espinal, de forma ipsilateral a la disección de los nervios. La estimulación eléctrica de los nervios PAN, SU, SP, Saph y el cojinete de la pata se produjo con pulsos únicos de 0.1 ms a diferentes intensidades, referidos a la intensidad más baja para producir una respuesta detectable o umbral (xT). Los nervios sensoriales fueron estimulados con diferentes intensidades desde 1.2 hasta 10 xT, a una frecuencia de 1 Hz. Los CDPs fueron registrados con electrodos de esfera de plata posicionados en contacto con la superficie de la médula espinal entre

los niveles segmentales S1 a L4. Para el registro de los IFPs y para la estimulación intraespinal, se insertaron dos micropipetas con diámetro de punta de 3 μm y llenas con una solución de NaCl (2 M) en los segmentos donde los CDPs producidos por la estimulación del PAN fueron máximos (figura 13). Los IFPs fueron registrados a diferentes profundidades del cuerno dorsal, utilizando un par de micromanipuladores con una resolución de avance y retroceso de 1 μm . El registro de los CDPs e IFPs se hizo con referencia a un electrodo ubicado entre los músculos paravertebrales y con un filtro pasa-bandas entre 0.3 Hz y 10 kHz.

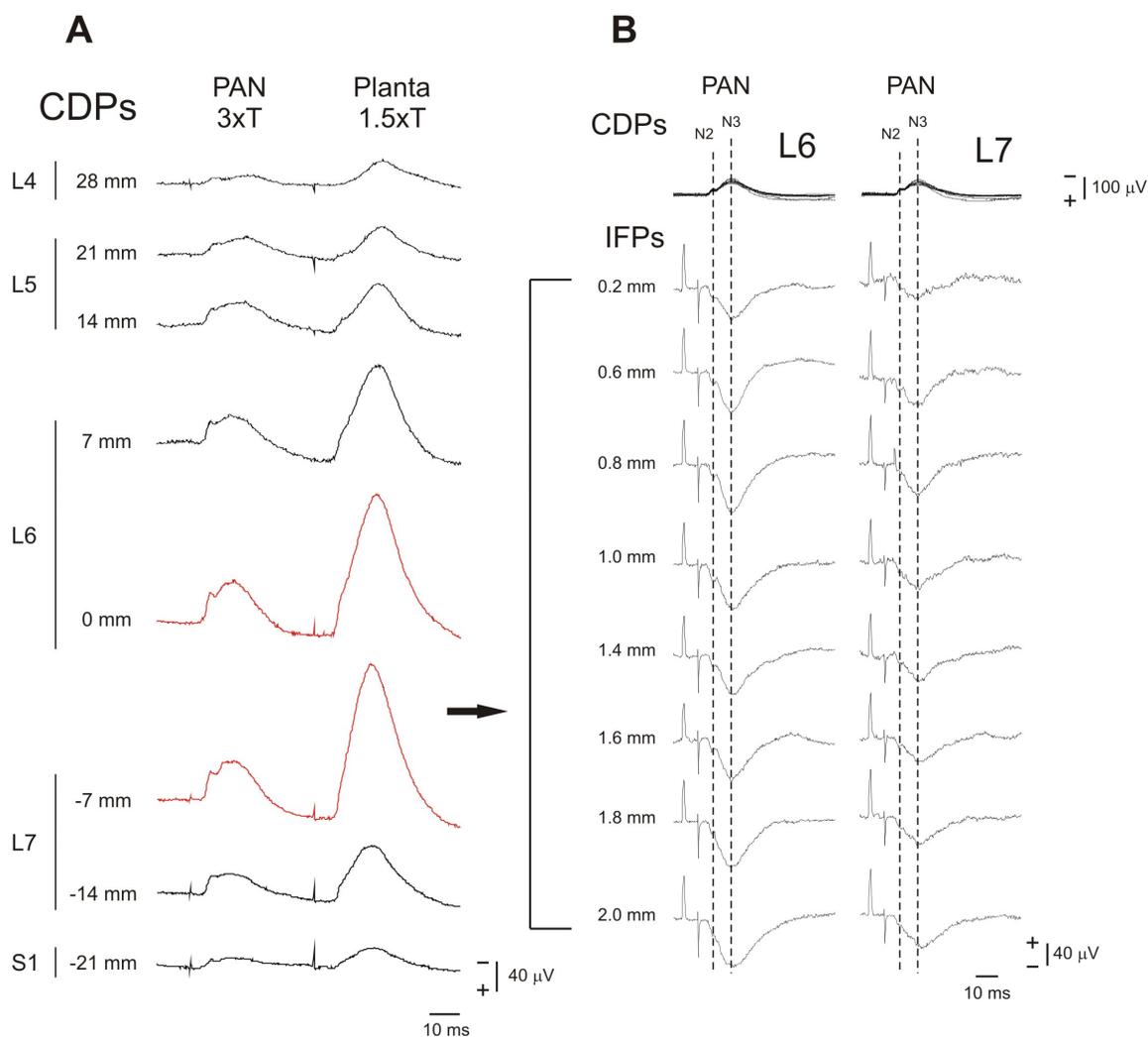


Figura 13. Distribución de las proyecciones segmentales e intraespinales de las aferentes articulares y del nervio plantar. a CDPs producidos en los segmentos L4-S1 por la estimulación ipsilateral del PAN y del cojinete de la pata con pulsos únicos de intensidad 3 xT y 1.5 xT, respectivamente. La distancia en milímetros es relativa al sitio donde los CDPs del PAN tuvieron la amplitud máxima. b CDPs e IFPs producidos por la estimulación del PAN con pulsos únicos 3 xT registrados a diferentes profundidades dentro del cuerno dorsal en los segmentos L6 y L7 en donde los CDPs fueron máximos (trazos rojos). Los trazos superpuestos de arriba muestran los CDPs en ambos segmentos.

Para posicionar los microelectrodos de estimulación en la vecindad de las aferentes articulares estudiadas durante todo el protocolo de cada experimento, se buscó la profundidad dentro del cuerno dorsal en donde la corriente de estimulación intraespinal para producir el potencial antidrómico era mínima. Para calcular el umbral intraespinal de forma continua, se aplicaron pulsos de corriente de 0.1 ms a 1 Hz de forma independiente y alternante en cada micropipeta, ajustando la intensidad (umbral) de los pulsos de manera automática por una computadora para producir en cada terminal de las aferentes articulares un potencial antidrómico con una probabilidad de disparo del 50 por ciento. El umbral intraespinal de las aferentes articulares puede cambiar al activar los circuitos interpuestos en la vía de la PAD por la estimulación condicionante de las aferentes cutáneas o del propio nervio articular. Los estímulos condicionantes de los nervios cutáneos SP, SU y Saph fueron aplicados con pulsos únicos de 0.1 ms con intensidades de 1.2 - 10 xT, mientras que el PAN fue estimulado con trenes de 4 pulsos a 700 Hz con intensidades entre 1.2 - 10 xT. Los estímulos condicionantes fueron aplicados entre 35 y 45 ms antes de aplicar el estímulo de prueba del umbral de activación intraespinal.

Bloqueo espinal reversible

Para eliminar temporalmente las influencias entre estructuras supraespinales y los circuitos segmentales de la médula espinal, se bloqueó el paso de información enfriando la médula espinal hasta el punto de congelamiento (figura 12). Para ello, se colocó un termodo con laca aislante en contacto con la superficie de la médula espinal a nivel segmental T10. El termodo tiene adherido un termopar que permite medir la temperatura en la superficie de la médula. Un sistema de enfriamiento hace circular un fluido a través del termodo que cambia su temperatura de 37 a -22 °C para disminuir la temperatura de la médula entre 0 y -2.5 °C. Después del registro de los IFPs del PAN o del umbral de activación intraespinal de las aferentes articulares durante el bloqueo espinal, la temperatura del tejido nervioso se regresó a 37 °C al pasar un fluido caliente a través del termodo. Esto restablece el paso de información a través de la médula espinal en unos minutos (ver Quevedo et al., 1993). Dependiendo del protocolo experimental, los bloqueos espinales duraron entre 5 y 20 minutos, aproximadamente. Este método permite realizar varios bloqueos espinales sucesivos en el mismo

experimento (ver Laird and Cervero 1990; Cervero et al. 1991; Schaible et al. 1991; Quevedo et al . 1993).

Inyección de capsaicina

Para estudiar los efectos de la capsaicina sobre la eficacia sináptica de las aferentes articulares, se inyectaron 30 μ l de capsaicina en solución al 1%, disuelta en 10% de Tween® y 90% de solución salina, intradérmicamente en el cojinete central de la pata del gato en la cual se practicó la disección de los nervios (figura 12). La capsaicina fue inyectada una sola vez en cada experimento para prevenir la desensibilización de los receptores periféricos (Sorkin y McAdoo 1993; Sakurada et al. 2005).

Análisis de los datos

Para estudiar los cambios en la inhibición descendente ejercida sobre las neuronas que reciben contacto sináptico de las aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina, se analizaron los cambios en la amplitud de los componentes N2 y N3 de los IFPs y CDPs producidos por la estimulación del PAN antes, durante y después de los bloqueos espinales reversibles. Los IFPs y CDPs fueron registrados y almacenados digitalmente para su análisis fuera de línea. La digitalización de los potenciales se hizo con una tarjeta de adquisición de National Instruments con frecuencia de muestreo de 10 kHz. Los cambios en el nivel de inhibición se calculan de manera relativa a la amplitud de los IFPs y CDPs previo a la aplicación del bloqueo espinal.

El grado de despolarización e hiperpolarización en cada terminal de las aferentes articulares se determina a partir del cambio en la corriente mínima (umbral) intraespinal producido por la estimulación condicionante de los nervios SP, SU, Saph y PAN, con respecto a la corriente basal previa a la estimulación condicionante (figura 14). Los valores de corriente intraespinal son registrados y almacenados en una computadora para su análisis fuera de línea. Por lo tanto, los cambios en el umbral de activación intraespinal de las fibras aferentes es una relación expresada en el porcentaje de cambio de dicha corriente.

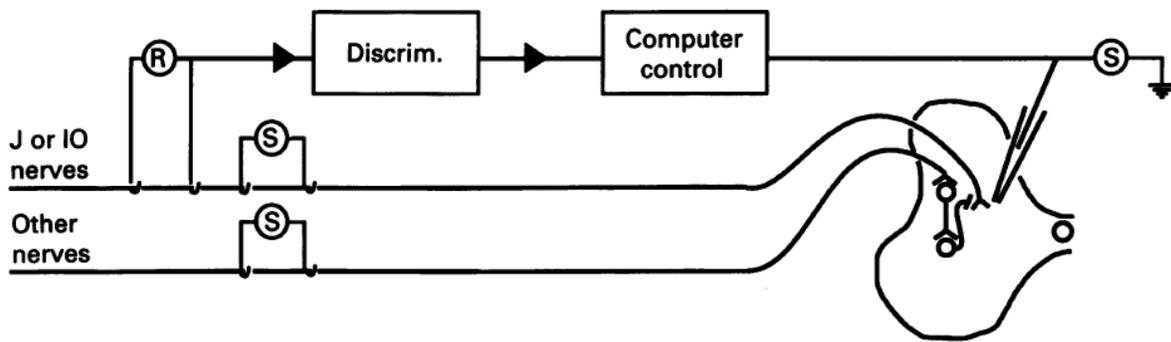


Figura 14. Diagrama del arreglo experimental. R, electrodo de registro del potencial de acción antidrómico. S, electrodos de estimulación intraespinal y periféricos. J, nervio articular. Discrim. Discriminador del potencial de acción antidrómico por amplitud. Computer control, sistema automático de ajuste de corriente de estimulación intraespinal para encontrar el umbral intraespinal de forma automática. Modificado de Jankowska et al. 1993.

La despolarización de una terminal aferente provoca una reducción en el umbral intraespinal y, por lo tanto, un porcentaje menor al 100%. La hiperpolarización de una terminal aferente provoca un aumento en el umbral intraespinal y, por lo tanto, un porcentaje mayor al 100%. Si la estimulación condicionante no tiene ningún efecto sobre el umbral intraespinal de la terminal aferente, el porcentaje será igual al 100%.

Expresar los cambios de excitabilidad de las aferentes articulares en función del porcentaje y no del valor absoluto elimina el error producido por la variación en el umbral intraespinal provocado por el cambio en la distancia entre la micropipeta de estimulación y la terminal de la fibra aferente (Eguibar et al. 1997), debido a posibles movimientos de la médula espinal provocados por la ventilación mecánica artificial o por los cambios en la presión arterial.

En cada experimento es posible registrar los cambios en el umbral de activación intraespinal de una o dos fibras aferentes de forma independiente. Una vez seleccionadas las fibras en la condición control, la posición de los microelectrodos de estimulación se mantiene para registrar los cambios en el umbral de activación intraespinal de las aferentes articulares durante varias horas (aprox. 5 horas a partir del registro control). Esto nos permite comparar los efectos de la estimulación condicionante sobre las terminales intraespinales de las mismas fibras articulares del PAN en condiciones control, durante el bloqueo espinal reversible y posterior a la inyección intradérmica de capsaicina en cada experimento.

Cálculo del umbral periférico de las aferentes articulares registradas

Para la identificación del tipo de aferente articular estudiada en cada experimento de acuerdo a su umbral de activación periférico, se realizó su caracterización en función de la prueba de colisión (figura 23). El protocolo consiste en aplicar un pulso de corriente constante a 1 Hz a través de la micropipeta insertada en la médula espinal suficiente para producir el potencial de acción antidrómico en la aferente articular. Este potencial es registrado en la periferia en el electrodo distal sobre el cual es montado el nervio articular. Con el electrodo proximal se aplican estímulos condicionantes al PAN con intensidades de estimulación que se incrementan de manera gradual a partir de valores subumbral. El estímulo condicionante se aplica alrededor de 2 ms previo al estímulo de prueba intraespinal. La intensidad del estímulo periférico se incrementa hasta alcanzar el umbral de activación periférico de la misma fibra activada intraespinalmente. Cuando la fibra articular es activada por el estímulo condicionante, ésta se encuentra en estado refractario cuando se aplica el estímulo intraespinal. Por lo tanto, la intensidad del estímulo periférico en el cual el potencial antidrómico deja de ser registrado es el valor del umbral de activación periférico de la aferente articular estimulada intraespinalmente.

Velocidad de conducción

De forma complementaria al umbral periférico para la identificación del tipo de fibra aferente, se midió la velocidad de conducción de cada aferente articular. Este parámetro se calculó con la relación entre la distancia medida desde el nivel segmental donde se aplicó la microestimulación intraespinal hasta el punto de registro periférico del potencial de acción antidrómico en el nervio articular y el tiempo que le toma al potencial de acción antidrómico recorrer dicha distancia.

Histología

Al final de cada experimento, el animal de experimentación fue sacrificado con una sobredosis de anestésico. La médula espinal fue removida dejando los microelectrodos en su posición. Después de fijar el tejido en formaldehído y deshidratarlo, los segmentos de la médula espinal con los microelectrodos fueron transparentados con salicilato de metilo. Subsecuentemente, la médula espinal fue

cortada para obtener las secciones que contenían las micropipetas de registro. El recorrido dejado por las micropipetas fueron dibujadas en un microscopio óptico.

Análisis estadístico

Los registros de los IFPs y los CDPs producidos por la estimulación con diferentes intensidades (1.2-10 xT) fueron promediados en línea (32 muestras a 1 Hz) y los resultados fueron almacenados para su procesamiento fuera de línea. Para evaluar los efectos producidos por la capsaicina y el bloqueo espinal sobre la amplitud de los componentes N2 y N3 del PAN, los IFPs de todos los experimentos producidos con las diferentes intensidades (generalmente de 3-5 xT) fueron agrupados. Todos los valores están dados como la media \pm el error estándar de la media (SEM). Las pruebas t de Student, t de Student pareado y U de Mann-Whitney fueron utilizadas para la comparación estadística. Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados como significativos y marcados en las figuras con asteriscos de la siguiente forma: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$.

Resultados

En trabajo previo de nuestro laboratorio se encontró que la inyección intradérmica de capsaicina en el cojinete central de la pata del gato anestesiado facilita los potenciales de campo intraespinal (IFPs) producidos por la estimulación eléctrica del nervio articular posterior (PAN), principalmente del componente N3 en comparación con el componente N2, y en mayor medida a nivel segmental L6 en comparación con el segmento L7. Aproximadamente 180 minutos después de la inyección de la capsaicina, esta facilitación disminuye a pesar de que la inflamación cutánea en la extremidad persiste por un tiempo más prolongado (Rudomin y Hernández 2008). Debido a que la facilitación de los potenciales del PAN sigue el curso temporal del proceso inflamatorio en la extremidad, los autores propusieron que la reversión tardía de la facilitación podría estar mediada por un mecanismo sináptico, probablemente un componente inhibitorio descendente.

Con el propósito de identificar la presencia de un componente inhibitorio descendente facilitado por la estimulación nociceptiva, hemos analizado los cambios en los potenciales de campo del PAN durante la aplicación de bloqueos espinales reversibles, antes y después de la inyección intradérmica de capsaicina.

Sección I Cambios en los potenciales de campo del PAN inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina durante la aplicación de bloqueos espinales reversibles

Efecto de la aplicación de bloqueos espinales sucesivos sobre las respuestas producidas por la estimulación de aferentes articulares

Para establecer un control, primero se realizaron bloqueos espinales sucesivos antes de la aplicación de la capsaicina. En la figura 15 se muestran los registros de los CDPs y los IFPs producidos por la estimulación del PAN antes, durante y después de tres bloqueos espinales reversibles de un experimento. Los potenciales fueron producidos con tres intensidades de estimulación distintas de 1.75, 2 y 3 xT, y registrados tanto en la superficie de la médula como en la parte profunda del cuerno dorsal del segmento L6, a 2.0 mm por debajo de la superficie de la médula. Los

cambios fueron medidos como el porcentaje de cambio del componente N3 con respecto a su valor en la condición control (columna de la izquierda, trazos negros).

Durante la aplicación de los bloqueos espinales (trazos azules), se observa que el porcentaje de cambio de la amplitud de los potenciales del PAN es mayor con intensidades de estimulación bajas comparado con intensidades de estimulación más altas, en este experimento de 219% para 1.75 xT, 152% para 2 xT y 140% para 3 xT, probablemente por un fenómeno de saturación en el componente N3 con intensidades de estimulación mayores. De forma interesante, la facilitación de los IFPs y de los CDPs durante cada bloqueo espinal alcanzó la misma magnitud con las tres intensidades de estimulación. Al retirar el bloqueo espinal, la amplitud del componente N3 vuelve a valores control casi en todas las intensidades, lo que sugiere que se ha restablecido la inhibición descendente ejercida sobre las neuronas espinales con entradas de aferentes articulares (figura 15).

Si bien estos resultados muestran que la facilitación de los potenciales del PAN es revertida cuando se retiran los bloqueos espinales de corta duración (aproximadamente 5 min), se observa que en los potenciales producidos con la intensidad de estimulación más baja (1.75 xT) hay un ligero aumento en la amplitud después de retirar el último bloqueo espinal. Este cambio sugiere que la aplicación repetida de bloqueos espinales podría inducir cambios en la actividad de circuitos neuronales a nivel de la médula espinal, provocados por la interrupción de la comunicación de dichos circuitos con estructuras supraespinales.

Otra observación importante que surge de este experimento es que durante el bloqueo espinal también hay un aumento en el componente positivo (onda positiva) de los CDPs y de los IFPs del PAN al final del componente N3 (Quevedo et al. 1993). La onda positiva, asociada con los potenciales de raíz dorsal (Barron y Matthews 1938; Wall 1958), es producida por la activación de neuronas GABAérgicas que despolarizan a las fibras aferentes primarias (Eccles et al. 1961), indicando que también los circuitos involucrados en modular la eficacia sináptica de las fibras aferentes articulares por el mecanismo de la inhibición presináptica son controlados desde estructuras supraespinales (Enríquez et al. 1996; Eguibar et al. 1997; Rudomin et al. 2004). Estos resultados coinciden con estudios previos que muestran la presencia de un tono

inhibitorio descendente ejercido sobre neuronas que reciben entradas sinápticas de las aferentes articulares (Quevedo et al. 1993), dentro de los cuales se podrían encontrar los circuitos de la PAD, lo que explicaría que los escasos efectos de la PAD autogénica observados en el PAN (Jankowska et al. 1993; Rudomin y Lomelí 2007) se deben a su inhibición desde estructuras supraespinales.

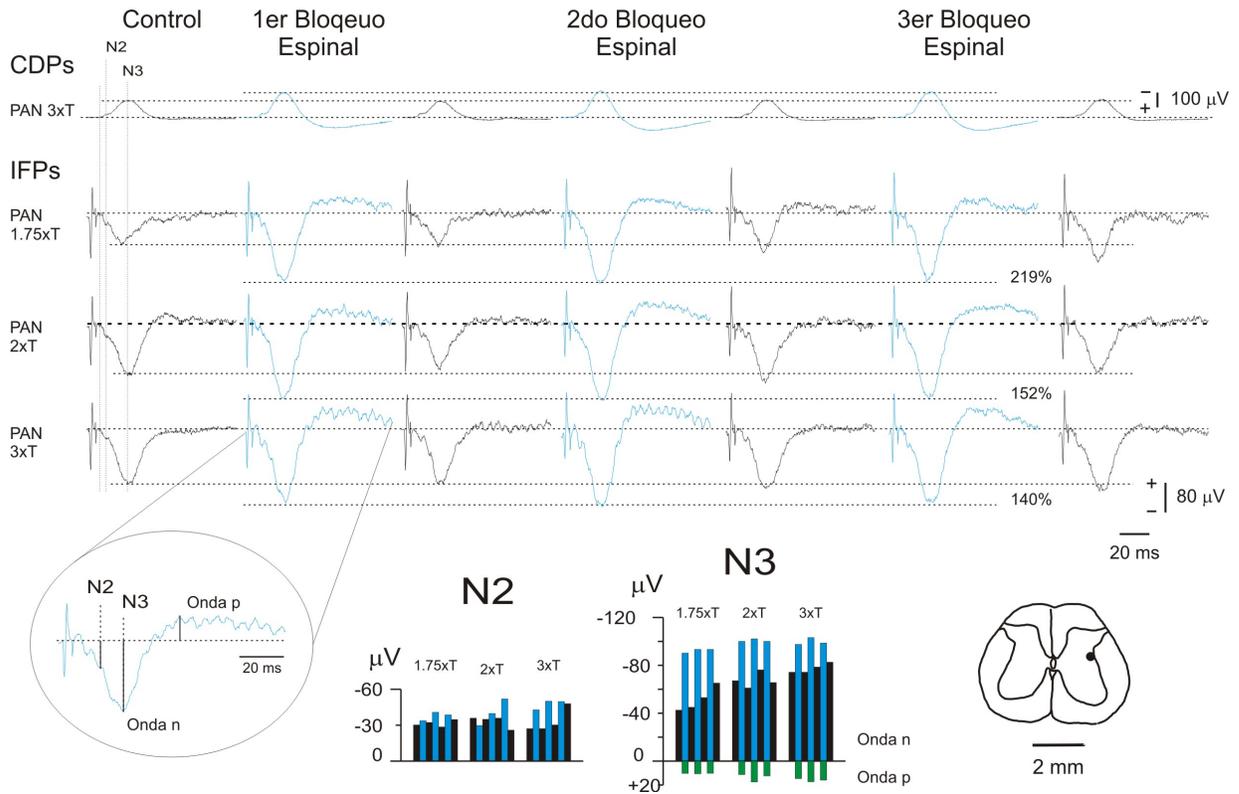


Figura 15. La inhibición tónica descendente del PAN no aumenta por la aplicación repetida de bloqueos espinales reversibles. Potenciales del dorso de la médula (CDPs) producidos por la estimulación del PAN 3xT y de campo (IFPs) producidos por la estimulación del mismo nervio con diferentes intensidades 1.75, 2 y 3xT, registrados a una profundidad de 2.0 mm por debajo de la superficie de la médula espinal en el segmento L7 (ver histología). En azul se muestran los registros obtenidos durante tres bloqueos espinales diferentes. Note que, aunque hay una clara facilitación de los potenciales de campo del PAN, esta facilitación no aumenta entre los diferentes bloqueos espinales.

La facilitación de las respuestas articulares inducida por capsaicina aumenta en forma selectiva durante el bloqueo espinal

Con el propósito de comprobar si la inhibición descendente ejercida sobre las neuronas con entradas sinápticas del PAN es parte de un mecanismo inducido por la capsaicina, se estudiaron los cambios en la amplitud de los potenciales de campo del PAN durante la aplicación de bloqueos espinales después de la inyección intradérmica

de capsaicina. La figura 16 muestra los registros de los IFPs del PAN producidos con una intensidad de estimulación 5 xT a distintas profundidades del cuerno dorsal, en el segmento espinal L6. Los registros fueron obtenidos en condición control (trazos negros), 160 minutos después de la inyección intradérmica de capsaicina (trazos rojos) cuando se ha reportado que su efecto es máximo sobre las respuestas del PAN (Rudomin y Hernández 2008), durante el bloqueo espinal por frío (trazos azules) y después de retirar el bloqueo espinal (trazos verdes). En condición control, la amplitud de los componentes N2 y N3 tienen sus máximos valores entre 1.2 y 1.6 mm (figura 16C, círculos blancos). Esta distribución de la amplitud de los potenciales concuerda con observaciones previas donde fueron utilizadas técnicas de marcaje anterógrado (Craig et al. 1988) y la estimulación eléctrica con diferentes intensidades (Rudomin et al. 2007), encontrando que las aferentes articulares de bajo umbral, que producen los componentes N1 y N2, proyectan principalmente en la parte profunda del cuerno dorsal, entre las láminas III a VI; mientras que las aferentes articulares de alto umbral, que producen el componente N3, proyectan a lo largo de todo el cuerno dorsal, teniendo un máximo en la parte superficial, entre las láminas I y II, y otro en la parte profunda, alrededor de la lámina V (ver también figura 12).

A los 160 minutos después de la inyección intradérmica de capsaicina, es clara la facilitación del componente N3 desde la superficie hasta la zona intermedia del cuerno dorsal (0.8 a 1.8 mm), en comparación con los escasos efectos observados sobre el componente N2, que sólo se ven ligeramente facilitados en 0.8 y 1.4 mm (figura 16C, círculos rojos). Es probable que la falta de efectos de la capsaicina sobre el componente N2 se deba que estos circuitos no se encuentran bajo la acción de la inhibición tónica descendente facilitada por la capsaicina, o que se haya producido un fenómeno de saturación en dicho componente debido a la alta intensidad de estimulación eléctrica del PAN (5 xT) utilizada en este experimento.

Posterior a este tiempo, alrededor de los 180 minutos de la inyección de la capsaicina, se aplicó el bloqueo espinal reversible por frío. Durante el bloqueo espinal, la amplitud de los potenciales de campo del PAN aumentó comparados con los registros previos. El componente N2 se facilitó ligeramente en la parte profunda, entre 1.2 y 1.6 mm, mientras que el componente N3 aumentó en todas las profundidades del cuerno dorsal, desde 0.6 hasta 1.8 mm (figura 16C, cuadros azules). Al retirar el

bloqueo espinal, la amplitud de los potenciales de campo del PAN disminuyó, regresando a sus valores previos en ambos componentes, prácticamente en todas las profundidades (figura 16C, círculos verdes).

El aumento de los potenciales de campo del PAN durante la aplicación de los bloqueos espinales ha sido interpretado como la interrupción de un componente inhibitorio descendente que reciben neuronas del cuerno dorsal con entradas sinápticas de las aferentes articulares. Esta inhibición tónica, que controla la eficacia sináptica de las aferentes articulares en todo momento, puede aumentar entonces con la inyección intradérmica de capsaicina para limitar la actividad de las neuronas que reciben contactos sináptico de las aferentes articulares de alto umbral.

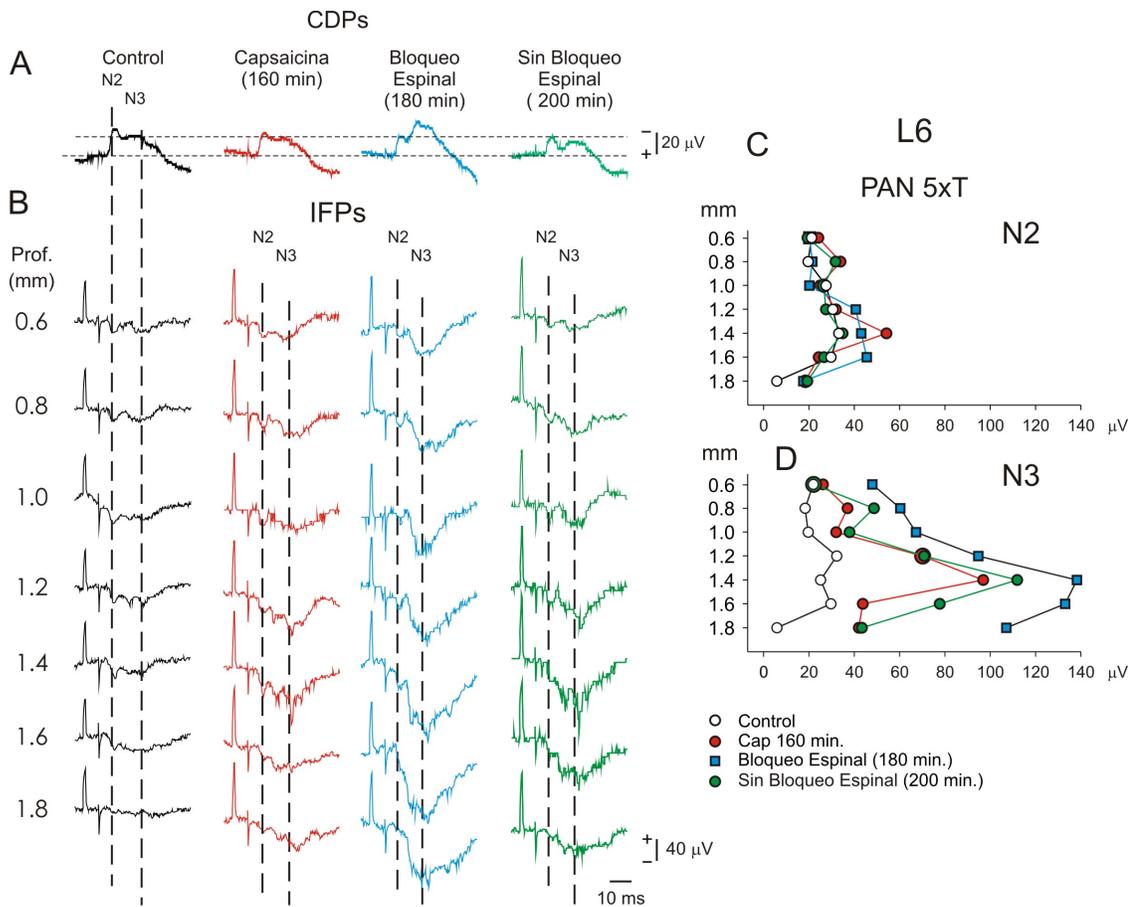


Figura 16. Aumento en la facilitación producida por la inyección de capsaicina sobre los IFPs del PAN durante el bloqueo espinal reversible. **A**, **B** Registros de los CDPs e IFPs en condición control (trazos negros), después de 160 minutos de la inyección de capsaicina (trazos rojos), durante el bloqueo espinal reversible (trazos azules) y al retirar el bloqueo espinal (trazos verdes). El tiempo posterior a la única inyección de capsaicina está indicado en minutos. Los potenciales fueron producidos con una intensidad de estimulación de 5xT y fueron registrados a distintas profundidades a partir de la superficie de la médula espinal cada 0.2 mm, en el segmento espinal L6. **C** Gráficas de los cambios en la amplitud de los componentes N2 y N3 (marcados con líneas verticales en A y B).

Curso temporal de los cambios en la inhibición descendente inducida por la inyección intradérmica de capsaicina

Los resultados obtenidos a partir de los cambios en la amplitud de los potenciales de campo del PAN durante los bloqueos espinales aplicados antes y después de la inyección intradérmica de capsaicina plantean la pregunta si hay un aumento en la inhibición tónica descendente ejercida sobre las neuronas que reciben entradas sinápticas del PAN por la estimulación nociceptiva. Por lo tanto, para responder esta pregunta, se analizaron los efectos producidos sobre los potenciales de campo del PAN durante la aplicación de bloqueos espinales sucesivos a diferentes tiempos después de la inyección intradérmica de capsaicina.

En la figura 17 se observan los registros obtenidos en un experimento de forma simultánea en dos niveles segmentales diferentes (L6 y L7), y a dos distintas profundidades del cuerno dorsal, el primero en las láminas superficiales I-II (0.6 mm) y el segundo en las láminas profundas V-VI (2.0 mm). Durante el primer bloqueo espinal, aplicado antes de la inyección de capsaicina, hay una ligera facilitación de los componentes N2 y N3, que se revierte al retirar el bloqueo espinal. De hecho, la amplitud del componente N3 después de retirar el bloqueo es menor en comparación con la condición control (ver figura 18, barras azules), probablemente como resultado de un aumento en la inhibición descendente después de realizar la desconexión momentánea entre estructuras supraespinales y neuronas del cuerno dorsal debido al bloqueo del paso de información a través de la médula espinal.

A los 40 minutos de la inyección de capsaicina, la amplitud de los potenciales del PAN aumentó en comparación con el registro control (figura 17), lo que sugiere que la capsaicina facilitó la actividad sináptica de estos circuitos espinales. En esta condición, se aplicó un segundo bloqueo espinal a los 120 minutos de inyectar la capsaicina, durante el cual la amplitud del componente N3 volvió a incrementar en ambas profundidades de los dos segmentos espinales L6 y L7. Al retirar el bloqueo, el efecto de la facilitación se revirtió, y la amplitud del componente N3 disminuyó nuevamente por debajo de la amplitud producida antes del bloqueo espinal. Finalmente, la amplitud del componente N3 fue mucho mayor durante un tercer bloqueo espinal aplicado a los 200

minutos después de la inyección de capsaicina, comparado incluso con la facilitación observada durante la aplicación del segundo bloqueo espinal.

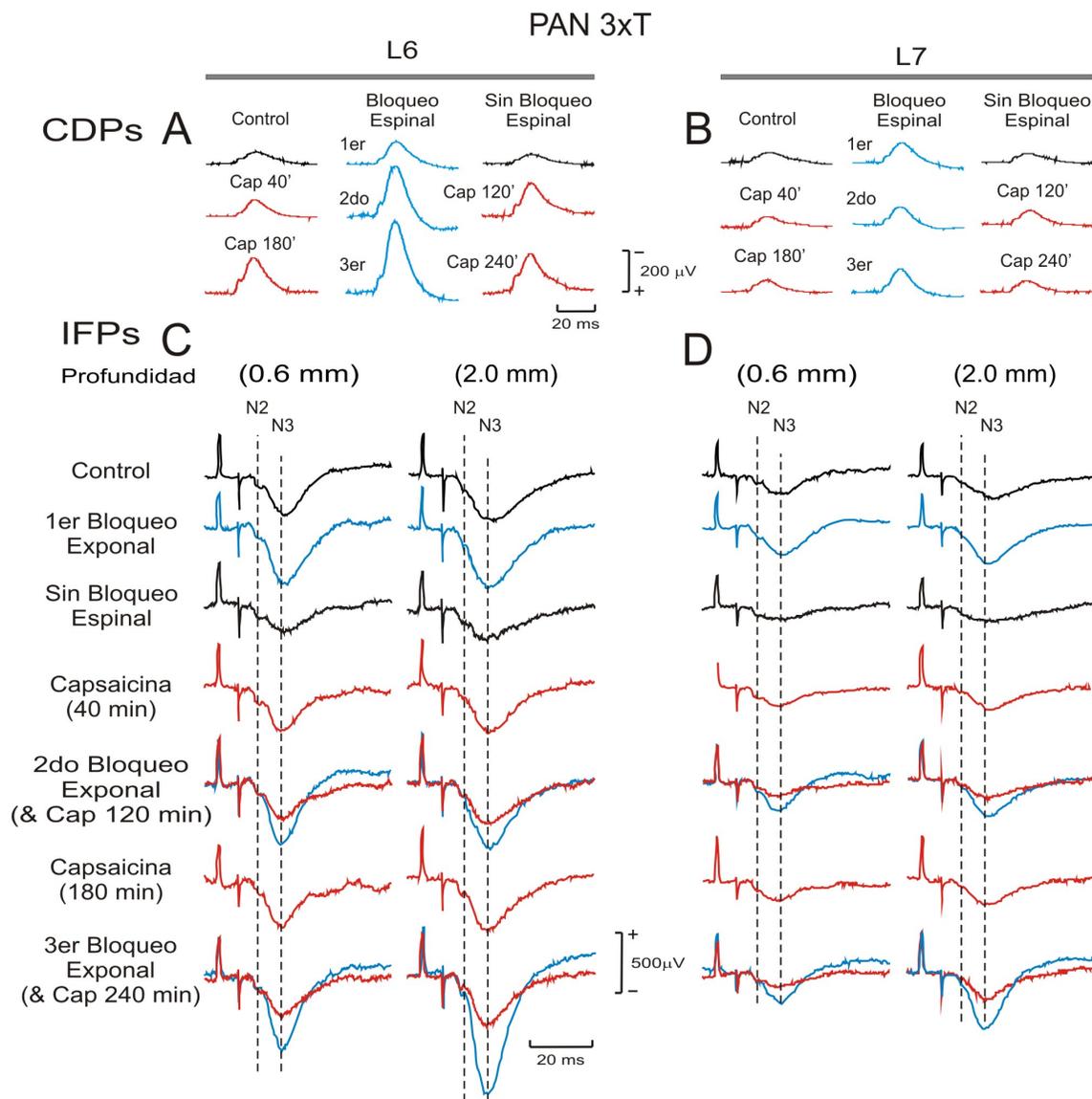


Figura 17. Aumento de la inhibición tónica descendente sobre los IFPs del PAN por la inyección intradérmica de capsaicina. A y B. Potenciales del dorso de la médula (CDPs) producidos por la estimulación del PAN con intensidad 3xT y registrados en dos niveles segmentales L6 y L7, respectivamente. C y D. Potenciales de campo producidos por la estimulación del PAN 3xT y registrados a dos profundidades (0.6 y 2.0 mm) y a dos niveles segmentales (L6 y L7) de forma simultánea. El tiempo después de la inyección intradérmica de Capsaicina se muestra en minutos. Los trazos para ambos potenciales CDPs e IFPs muestran en color negro los registros en la condición control. En color rojo aparecen los registros producidos después de la inyección de Capsaicina. En azul se muestran los registros en los diferentes bloqueos espinales, el primero previo, el segundo a los 100 min y el tercero a los 180 min después de la inyección intradérmica de capsaicina. En color verde se muestran los registros producidos después de retirar el bloqueo espinal. E. Las barras muestran las medidas de las amplitudes de los componentes N2 y N3 en ambos sitios. Note que la facilitación de los potenciales se presenta principalmente en el segmento L6 y sobre todo en la parte profunda del cuerno dorsal (2.0 mm).

El análisis cuantitativo (μV) de los cambios en la amplitud de los potenciales de campo del PAN por la inyección de capsaicina relativos al control representados en la figura 17, muestra nuevamente que la facilitación se presenta principalmente en el componente N3 (barras rojas, figuras 18A-B), comparado con los escasos efectos provocados sobre el componente N2 (barras rojas, figuras 18C-D). De forma interesante, a diferencia del aumento de los IFPs del PAN hasta un valor constante durante los tres bloqueos espinales sucesivos aplicados sin inyectar la capsaicina (figura 15), la amplitud del componente N3 aumentó gradualmente durante cada bloqueo espinal aplicado después de la inyección de capsaicina, alcanzando hasta los 963 y 478 μV en la parte profunda de ambos segmentos L6 y L7, respectivamente (barras azules, figura 18C-D).

Comparando los cambios porcentuales con los cambios absolutos en voltaje (figura 18), se observa que a pesar de que la facilitación de la amplitud del componente N3 durante los bloqueos espinales fue mayor en el segmento L6 comparado con el segmento L7 y también fue mucho mayor en las láminas profundas del cuerno dorsal (2.0 mm) en comparación con las láminas superficiales (0.6 mm), los cambios en el componente N3 son muy similares en porcentaje, alcanzando niveles de facilitación de 236 % y 256 % en la parte profunda de los segmentos L6 y L7, respectivamente (barras azules, figura 18C-D). Estos resultados sugieren que la capsaicina facilita un componente inhibitorio descendente que actúa principalmente sobre una mayor población de neuronas que reciben entradas del PAN en la parte profunda del cuerno dorsal del segmento L6.

Adicionalmente, en este experimento también se observó un aumento en la onda positiva durante los bloqueos espinales aplicados después de la inyección intradérmica de capsaicina, tanto en los CDPs (figura 18A-B) como en los IFPs (figura 18C-D), sugiriendo que hay un aumento en la actividad de los circuitos que median la PAD de las aferentes articulares a nivel de la médula espinal y sean inhibidos por estructuras supraespinales. Es probable que parte de estos circuitos sean los interpuestos en la vía de la PAD autógena de las aferentes articulares, y son facilitados durante el estado de nocicepción inducido por la capsaicina.

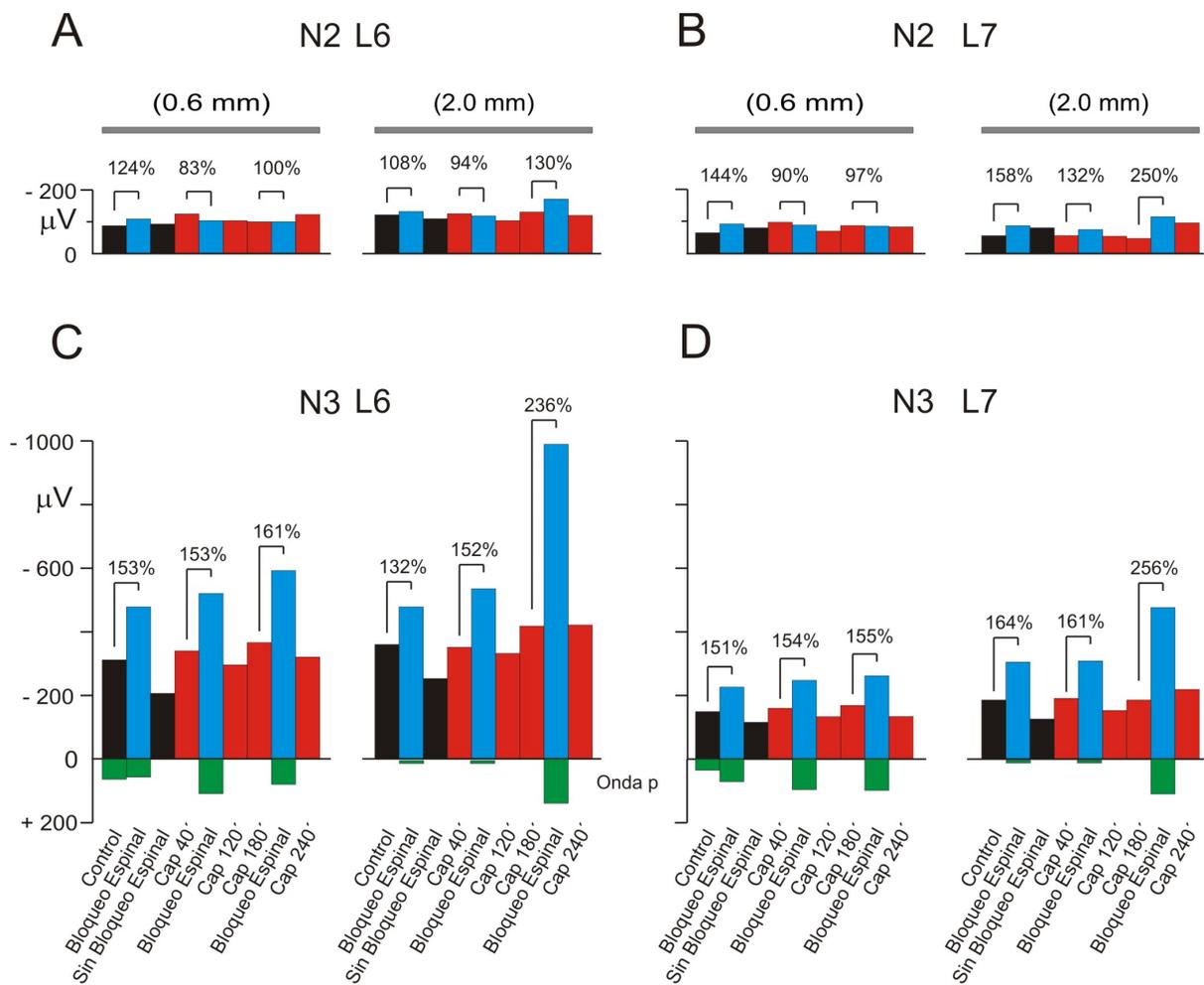


Figura 18. Cambios en la amplitud de los componentes N2 y N3 de los IFPs del PAN producidos durante los bloqueos espinales reversibles aplicados antes y después de la inyección intradérmica de capsaicina. Los datos fueron obtenidos del mismo experimento de la figura 16. a, b Efectos de la capsaicina y de la espinalización reversible del componente N2 registrado en la parte superficial (0.6 mm) y profunda (2.0 mm) del cuerno dorsal en los segmentos L6 y L7. Los valores por encima de las barras indican el porcentaje de cambio relativo a la amplitud del componente N2 registrado antes de cada bloqueo espinal. Barras negras, respuestas control obtenidas antes y después del primer bloqueo espinal. Barras azules, respuestas obtenidas durante cada bloqueo espinal reversible. Barras rojas, respuestas obtenidas a diferentes tiempos después de la inyección única de capsaicina, indicados en minutos. c, d Lo mismo pero para el componente N3. Barras verdes, respuestas de la onda positiva (p).

Este resultado experimental concuerda con la evidencia mostrada por Schaible y cols., quienes encontraron que la actividad de neuronas espinales con entradas sinápticas de aferentes articulares aumentaba de forma gradual durante la aplicación de bloqueos espinales reversibles debido a la inflamación aguda inducida por la inyección de carragenina en la cápsula articular de la rodilla (Cervero et al. 1991; Schaible et al. 1991). Sin embargo, en estos experimentos desarrollados por Schaible y cols. no es posible determinar el efecto provocado por la posible sensibilización de las aferentes

articulares debido a su activación directa con carragenina o por cambios producidos a nivel central. En contraste, en nuestro modelo experimental, la capsaicina se inyectó intradérmicamente en el cojinete de la pata una sola vez y, adicionalmente, el nervio articular fue seccionado previo a la inyección de la capsaicina, reduciendo la posibilidad de un efecto de sensibilización periférica de los receptores. Esto sugiere que, tanto el aumento de la actividad sináptica de las neuronas con entradas de aferentes articulares como el aumento de la inhibición descendente sobre estas mismas neuronas provocado por la inyección de la capsaicina es un efecto producido a nivel central.

Distribución intraespinal de los efectos producidos por la capsaicina y el bloqueo espinal sobre los componentes N2 y N3 del PAN

Con el propósito de estudiar si el aumento del tono inhibitorio descendente facilitado por la inyección intradérmica de capsaicina se presenta en forma selectiva sobre diferentes poblaciones de neuronas espinales con entradas sinápticas del PAN, se analizaron los cambios en la amplitud de los componentes N2 y N3 de los IFPs del PAN en diferentes regiones del cuerno dorsal durante la aplicación de bloqueos espinales reversibles antes y después de la inyección intradérmica de capsaicina.

Para este propósito, los IFPs del PAN fueron separados en tres grupos. En el primero grupo se analizaron los potenciales de campo registrados en las primeras láminas del cuerno dorsal. Esta actividad está relacionada principalmente con neuronas nociceptivas específicas (NS) ubicadas en las láminas I-II de Rexed que reciben entradas sinápticas de aferentes de alto umbral (0.2 a 0.6 mm). En el segundo grupo se analizaron los potenciales de campo registrados en la parte intermedia del cuerno dorsal. Esta actividad está relacionada con neuronas que reciben información propioceptiva de aferentes de bajo umbral ubicadas en las láminas III-IV de Rexed (0.8 a 1.2 mm). En el tercer grupo se analizaron los potenciales de campo registrados en la parte profunda del cuerno dorsal. En esta zona, la actividad está relacionada con neuronas de amplio rango dinámico (WDR) ubicadas en las láminas V-VI de Rexed que reciben contactos sinápticos de fibras aferentes tanto propioceptivas como nociceptivas (1.4 a 3.0 mm).

En la figura 19 se observa que los cambios en la amplitud del componente N2 durante los bloqueos espinales reversibles son reducidos en la parte superficial y en la zona intermedia del cuerno dorsal en comparación con los efectos del componente N3. Sin embargo, hay que notar que en la parte profunda del cuerno dorsal si hay un aumento en la amplitud del componente N2 por la inyección intradérmica de capsaicina, como había sido reportado previamente por Rudomin y Hernández (2008), y durante la aplicación de los bloqueos espinales.

En cambio, el componente N3 se facilita durante todos los bloqueos espinales reversibles a lo largo de todo el cuerno dorsal. Antes de la inyección de la capsaicina, el aumento del componente N3 llega aproximadamente a los mismos valores en la parte superficial 176%, 155% y 163% y en la parte profunda de 194%, 183% y 172% durante tres bloqueos espinales sucesivos, respectivamente; lo que sugiere que los efectos del bloqueo espinal son reversibles y que el aumento de los IFPs del PAN durante los bloqueos espinales este asociado a la inhibición tónica descendente ejercida sobre un número relativamente constante de neuronas que reciben contactos sinápticos de aferentes de alto umbral del PAN. Después de retirar el bloqueo espinal, la amplitud de los potenciales del PAN regresa a valores control, indicando que las influencias descendentes han sido restablecidas. Estos resultados sugieren que la aplicación de bloqueos espinales de corta duración (aproximadamente 5 minutos) permiten la completa reversibilidad de las condiciones previas al bloqueo, sin generar aparentemente cambios significativos en la actividad de las neuronas del cuerno dorsal.

Después de la inyección intradérmica de capsaicina, los potenciales N3 del PAN aumentan de forma gradual durante cada bloqueo espinal subsecuente. Esta facilitación es mayor en la parte profunda del cuerno dorsal en donde alcanza valores de 186%, 291% y 523%; en comparación con la zona intermedia que alcanza valores de 345%, 337% y 229%, y las láminas superficiales donde alcanza valores de 125%, 239% y 343% para el primer, segundo y tercer bloqueo espinal, respectivamente (figura 19, barras azules). De forma interesante, aun cuando el aumento en la amplitud del componente N3 fue mayor en la parte profunda del cuerno dorsal, un análisis de los cambios en porcentaje respecto a la condición control muestra que en la región superficial del cuerno dorsal (0.2 – 0.6 mm) también hay un efecto de facilitación sináptica en las aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina y,

adicionalmente, que se encuentran sujetas a un componente inhibitorio descendente que aumenta después de la estimulación nociceptiva.

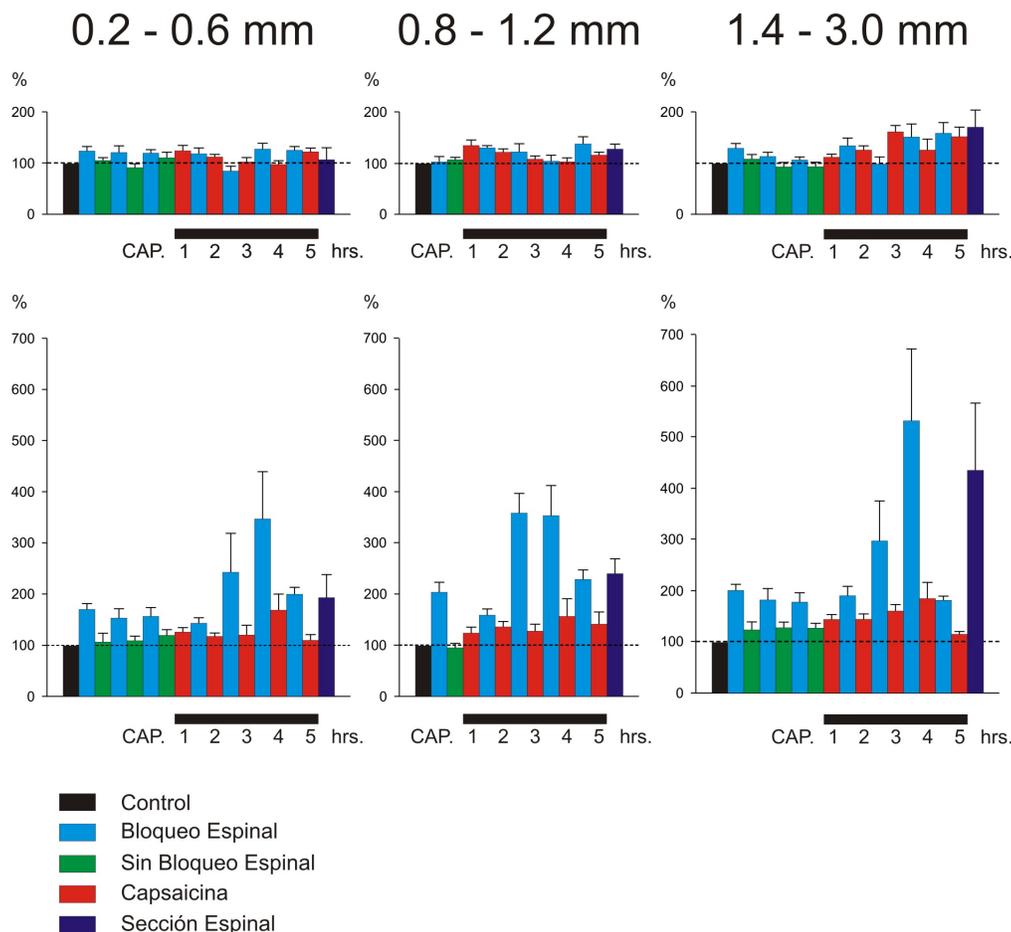


Figura 19. Efectos sobre los componentes N2 y N3 de los potenciales de campo del PAN durante el bloqueo espinal reversible, antes y después de la inyección intradérmica de capsaicina. Promedio y Error Estándar expresado como el cambio en el porcentaje con respecto al control. Los potenciales de campo fueron producidos por la estimulación del PAN con pulsos únicos con intensidades entre 1.5-10xT. Barras negras, condición control. Barras azules, mediciones obtenidas durante los diferentes bloqueos espinales reversibles. Barras verdes, mediciones obtenidas después de retirar el bloqueo espinal previo a la inyección de capsaicina. Barras rojas, primeras cuatro horas posteriores a la inyección de capsaicina. Barras purpuras, mediciones obtenidas después de la sección espinal. El conjunto de datos se obtuvo de 10 experimentos diferentes separados en tres grupos, el primero en la parte superficial (izquierdo), el segundo en la zona intermedia (central) y el tercero en la parte profunda (derecho) del cuerno dorsal, respectivamente (ver histología).

Finalmente, en algunos experimentos se realizó una sección espinal completa a nivel segmental T4 al final de los bloqueos espinales reversibles, con el objetivo de eliminar por completo las influencias descendentes. Se puede observar que tanto en el componente N2 en la parte profunda del cuerno dorsal (1.4 – 3.0 mm), como en el componente N3 a todas las profundidades, la sección espinal produce una facilitación

de los potenciales de campo del PAN en forma similar al bloqueo espinal reversible. Sin embargo, en la parte profunda del cuerno dorsal el aumento fue mayor (1.4 – 3.0 mm), sugiriendo que existen tractos descendentes que viajan probablemente por la región dorso lateral o ventral de la médula espinal que podrían no ser bloqueados por completo durante la espinalización reversible por frío.

El aumento de los potenciales durante los bloqueos espinales tanto en la superficie como en la parte profunda del cuerno dorsal coincide con la superposición de aferentes articulares y cutáneas en las láminas I-II y IV-VI reportada previamente (Craig et al. 1988; Millan 1998; Rudomin et al. 2007). Es probable entonces que la inhibición descendente actúe principalmente sobre regiones de la médula espinal donde la capsaicina aumenta la actividad sináptica de neuronas espinales que reciben entradas de aferentes cutáneas de alto umbral.

Para un análisis más detallado del grado de inhibición descendente sobre la actividad sináptica de las neuronas que reciben entradas sinápticas de aferentes de alto umbral del PAN facilitada por la inyección de capsaicina, se midieron los efectos de los bloqueos espinales reversibles en la amplitud del componente N3 de los IFPs del PAN a distintas profundidades del cuerno dorsal del segmento L6. Para su análisis, las respuestas de los IFPs del PAN fueron separadas en tres grupos, 1) comparando el control contra el efecto del bloqueo espinal dentro de los primeros 120 minutos desde la inyección de capsaicina, 2) el control contra el bloqueo espinal dentro de los 120 a los 240 minutos posteriores a la inyección de la capsaicina y 3) comparando el control contra la sección espinal dentro de los 240 a los 300 minutos de la inyección de la capsaicina (figura 20).

En la figura 20 se observan los cambios producidos en los componentes N2 y N3 del PAN registrados desde 0.4 hasta 2.0 mm por debajo de la superficie de la médula espinal en condición control (barras negras), después de la inyección de la capsaicina (barras rojas) y durante el bloqueo espinal reversible (barras azules) o la sección espinal (barras purpuras). En condición control, la amplitud del componente N3 tiene dos máximos, uno a 0.6 mm y el segundo en un rango de 1.6 a 2.0 mm (ver Rudomin et al. 2007). Estas profundidades corresponden a la actividad de las neuronas localizadas en las láminas superficiales I-II y en las láminas profundas V-VI del cuerno dorsal.

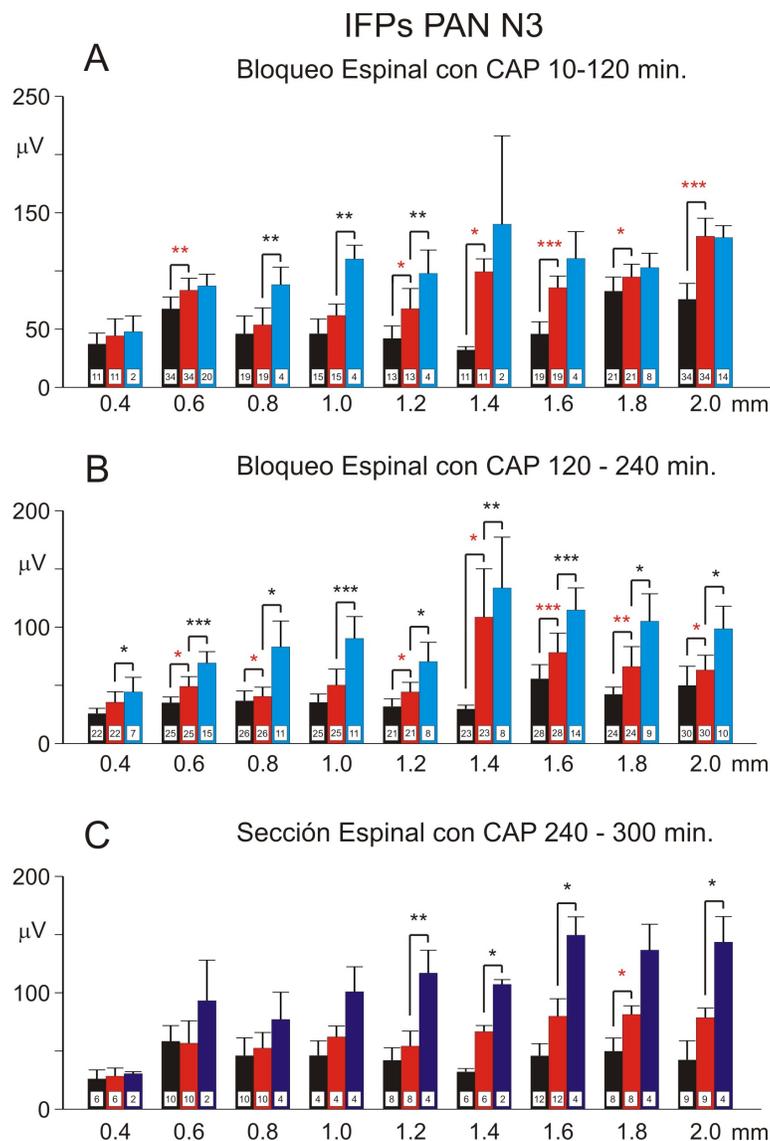


Figura 20. La inhibición tónica descendente aumenta principalmente en regiones de la médula espinal donde hay una mayor facilitación sináptica producida por la inyección intradérmica de capsaicina. El componente N3 de los potenciales de campo del PAN fue registrado durante el bloqueo espinal reversible posterior a la inyección intradérmica de capsaicina a lo largo del cuerno dorsal. En la parte superior se muestran la media y el error estándar de la amplitud del componente N3 registrada distintas profundidades del cuerno dorsal en condición control (negro), durante la segunda y tercera hora posterior a la inyección de capsaicina (rojo) y durante un bloqueo espinal reversible subsecuente (azul). En la parte inferior se muestran la media y el error estándar del cambio porcentual respecto a la condición control del mismo grupo de datos. La profundidad está referida a la superficie de la médula espinal.

El análisis de los cambios en la amplitud indica que es en estas regiones en donde hay un mayor aumento del componente N3 por la inyección intradérmica de capsaicina, teniendo un efecto máximo entre 120 y 240 minutos posteriores a la aplicación del fármaco. En la parte superficial, los cambios en el componente N3 por la estimulación nociceptiva son de menor amplitud, probablemente porque la proporción

de las neuronas de las láminas I-II es menor que las de las neuronas localizadas principalmente en las láminas V-VI. Entre 240 y 300 minutos después de la inyección de la capsaicina, se observa que la facilitación producida por la capsaicina disminuye en forma significativa, pero al realizar la sección espinal se observa que el componente N3 se vuelve a facilitar, lo que poya la hipótesis que el regreso de la actividad de las neuronas que reciben entradas sinápticas de aferentes articulares de alto umbral a valores control se debe a una inhibición descendente ejercida sobre las neuronas espinales.

Resumen de los cambios en los potenciales de campo del PAN inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina durante la aplicación de bloqueos espinales sucesivos

A) Previo a la inyección de capsaicina

1. La amplitud de los componentes N2 y N3 del PAN aumenta durante la aplicación de bloqueos espinales reversibles.

El aumento en la amplitud de los potenciales de campo del PAN durante el bloqueo espinal tiene dos interpretaciones: 1) la supresión de una inhibición descendente ejercida directamente sobre neuronas de segundo orden o 2) la supresión de una activación de interneuronas que inhiben a las neuronas de segundo orden.

En ambos casos, el aumento de las respuestas espinales del PAN durante la aplicación de los bloqueos espinales es interpretada como la supresión de una inhibición tónica descendente.

B) Después de la inyección de capsaicina

1. Durante los bloqueos espinales sucesivos aplicados después de la inyección intradérmica de capsaicina, hubo un aumento gradual en la amplitud del componente N3 del PAN, sin afectar en forma significativa la amplitud del componente N2.
2. El aumento del componente N3 del PAN durante los bloqueos espinales fue mayor en regiones de la médula espinal donde la facilitación de los IFPs del PAN inducidos por la capsaicina fue también mayor, esto es en la parte profunda del cuerno dorsal en el segmento espinal L6.

En conjunto, estos resultados sugieren que:

- La inhibición descendente es ejercida principalmente sobre neuronas del cuerno dorsal con entradas de aferentes articulares de alto umbral, limitando la cantidad

de información nociceptiva que llega a la médula espinal, sin afectar las respuestas producidas por la activación de aferentes articulares de bajo umbral que transmiten información de posición articular.

- El aumento de la inhibición descendente es selectivo y dinámico, dirigiéndose principalmente a neuronas que reciben información nociceptiva localizadas en las láminas V-VI del cuerno dorsal, en segmentos espinales en donde hay un mayor efecto de facilitación inducido por la inyección de capsaicina.
- El aumento de menor amplitud del componente N3 registrado en la parte superficial comparado con la parte profunda del cuerno dorsal durante los bloqueos espinales, puede ser debido a una menor población de neuronas NS localizadas en la zona marginal y la sustancia gelatinosa en comparación con la población de neuronas WDR localizadas en la zona intermedia del cuerno dorsal.

Sección II Cambios en los patrones de umbral intraespinal de aferentes articulares inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina

La inhibición tónica descendente de los potenciales de campo del PAN, facilitada por la inyección intradérmica de capsaicina, podría tener dos componentes. El primero a nivel de las neuronas de segundo orden que reciben contactos sinápticos de las aferentes articulares (inhibición posináptica) y el segundo a nivel de las terminales intraespinales de las propias aferentes articulares (inhibición presináptica). Se sabe que las fibras aferentes articulares son despolarizadas por la estimulación de fibras aferentes cutáneas, musculares y, con efectos muy escasos, por las propias aferentes articulares, este último denominado PAD autogénica. También, las aferentes articulares son despolarizadas por estructuras supraespinales con proyecciones descendentes hacia la médula espinal como la formación reticular y el núcleo del rafé magnus (Jankowska et al. 1993; Rudomin y Lomelí 2007).

Con base en el aumento de la onda positiva de los potenciales de campo del PAN observado durante los bloqueos espinales reversibles aplicados después de la inyección de capsaicina (ver figuras 15 y 17), es razonable pensar que ciertas estructuras supraespinales modulen la actividad de los circuitos interpuestos en la vía de la PAD de las aferentes articulares y, que al inyectar la capsaicina, su actividad sea facilitada como un mecanismo para prevenir el aumento de la información transmitida por aferentes de alto umbral, tanto en neuronas de segundo orden como en las terminales de las aferentes articulares, con el propósito de reducir la eficacia sináptica de las neuronas que transmiten información nociceptiva. Este hecho sería relevante pues en condiciones control las aferentes articulares tienen una escasa PAD autogénica, pero podría aumentar en un estado de sensibilización central como un mecanismo de control.

Para determinar si existen cambios en la eficacia sináptica de las aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina, se registraron los cambios en el umbral de activación intraespinal de aferentes articulares únicas provocados por la estimulación condicionante de los nervios cutáneos sural (SU), peroneo superficial (SP),

safeno (Saph) y del nervio articular posterior (PAN), antes y a distintos tiempos después de la inyección intradérmica de capsaicina.

Cambios en los patrones de PAH y PAD autogénica de las aferentes articulares inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina

En la figura 21 se muestran los registros continuos de los cambios en el umbral intraespinal de una fibra articular provocados por la estimulación de los nervios SP y PAN. En la condición control, la estimulación condicionante del nervio SP produjo una reducción en el umbral intraespinal, mecanismo asociado a la despolarización de la aferente articular. Por el contrario, la estimulación condicionante del PAN provocó un aumento en el umbral intraespinal, fenómeno que algunos autores han asociado a la hiperpolarización de la fibra aferente (figura 21A).

Contrario a la despolarización, la hiperpolarización de aferentes primarias (PAH) es un mecanismo que ha sido asociado con el aumento de la eficacia sináptica de la fibra aferente, ya sea por una hiperpolarización directa de la terminal, lo cual aumenta la amplitud del potencial de acción que llega a la terminal axónica, o por una inhibición de neuronas espinales que producen una PAD tónica sobre las aferentes primarias, en ambos casos la PAH se traduce en una mayor liberación de neurotransmisor y en el aumento de la eficacia sináptica de la fibra aferente (Eccles y Krnjevic 1959; Mendell y Wall 1964; Mendell 1972; Levy y Anderson 1974; Rudomin et al. 1974; Barber et al. 1977).

Durante el bloqueo espinal, la PAH autogénica fue abolida, mientras que la PAD producida por la estimulación del nervio SP no cambió (figura 21B). Después de retirar el bloqueo espinal, la PAH autogénica se recuperó, sugiriendo que los cambios observados durante el bloqueo fueron reversibles (figura 21C). Este hecho es interesante pues podría ser evidencia de que la hiperpolarización puede ser modulada por circuitos neuronales, tal vez de origen supraespinal, y no ser un aumento en el umbral de activación como resultado de la estimulación a alta frecuencia de las fibras aferentes. Este mecanismo, conocido como potenciación post-tetánica, fue descrito en el reflejo monosináptico (Lloyd 1949). Durante la estimulación tetánica, se presentaba la hiperpolarización de las terminales de las fibras aferentes, probablemente por la acumulación de potasio en la vecindad de la terminal (Kuno et al 1970), lo que produce

potenciales de acción con amplitudes mayores, haciendo la transmisión sináptica más efectiva (Eccles y Krnjevic 1959).

Después de retirar el bloqueo espinal, se inyectó capsaicina de forma intradérmica en el cojinete central de la pata del gato. En esta fibra articular, los cambios en los patrones de excitabilidad no se modificaron con respecto a la condición control de inmediato (figura 21D). Sin embargo, una hora después la PAH autogénica desapareció mientras que la PAD provocada por la estimulación del nervio SP se mantuvo (figura 21E). Dos horas después de la aplicación de la capsaicina, la estimulación condicionante del PAN con bajas intensidades ahora provocó PAD autogénica (figura 21F). Los resultados hasta esta fase del experimento parecen ser registrados en la misma fibra, pues el umbral intraespinal cambio muy poco después de la inyección de capsaicina comparado con otros experimentos (ver más adelante), pasando de 5.2 μV en la condición control a 4.9 μV a los 120 minutos de la inyección de la capsaicina. Además, la PAD producida por la estimulación del nervio SP también se mantuvo en un rango de valores casi constantes. Tres horas después de la inyección de capsaicina, la estimulación del PAN produjo una marcada PAD autogénica desde las intensidades más bajas de estimulación (figura 21G), pero en este estado el umbral intraespinal se elevó hasta 9.5 μV . El aumento en el umbral podría implicar la estimulación de más fibras aferentes en la vecindad, por lo que es probable que en ese tiempo los cambios registrados del umbral puedan deberse a una aferente articular diferente a la registrada en tiempos previos.

Debido a la incertidumbre de registrar los efectos en las mismas aferentes articulares obtenidos durante las 5 o 6 horas de registro continuo de cada, y que en algunos experimentos el umbral de activación intraespinal cambió gradualmente después de la inyección de la capsaicina (ver figura 26), se analizaron las características de los potenciales de acción antidrómicos para corroborar que los resultados obtenidos provienen de los cambios en el umbral intraespinal de las mismas aferentes articulares. En la figura 21 se muestran los potenciales de acción antidrómicos registrados en las distintas fases del experimento, en donde se observa una reducción en la amplitud del potencial del 20% y un ligero acortamiento en la latencia de 1.2 ms a los 120 minutos después de la inyección de la capsaicina. Es

probable que estos cambios estén asociados con la degeneración de las aferentes articulares después de varias horas de la sección distal del PAN, por lo que es razonable pensar que hasta este punto, los resultados obtenidos de la facilitación de la PAD fueron registrados en la misma aferente articular

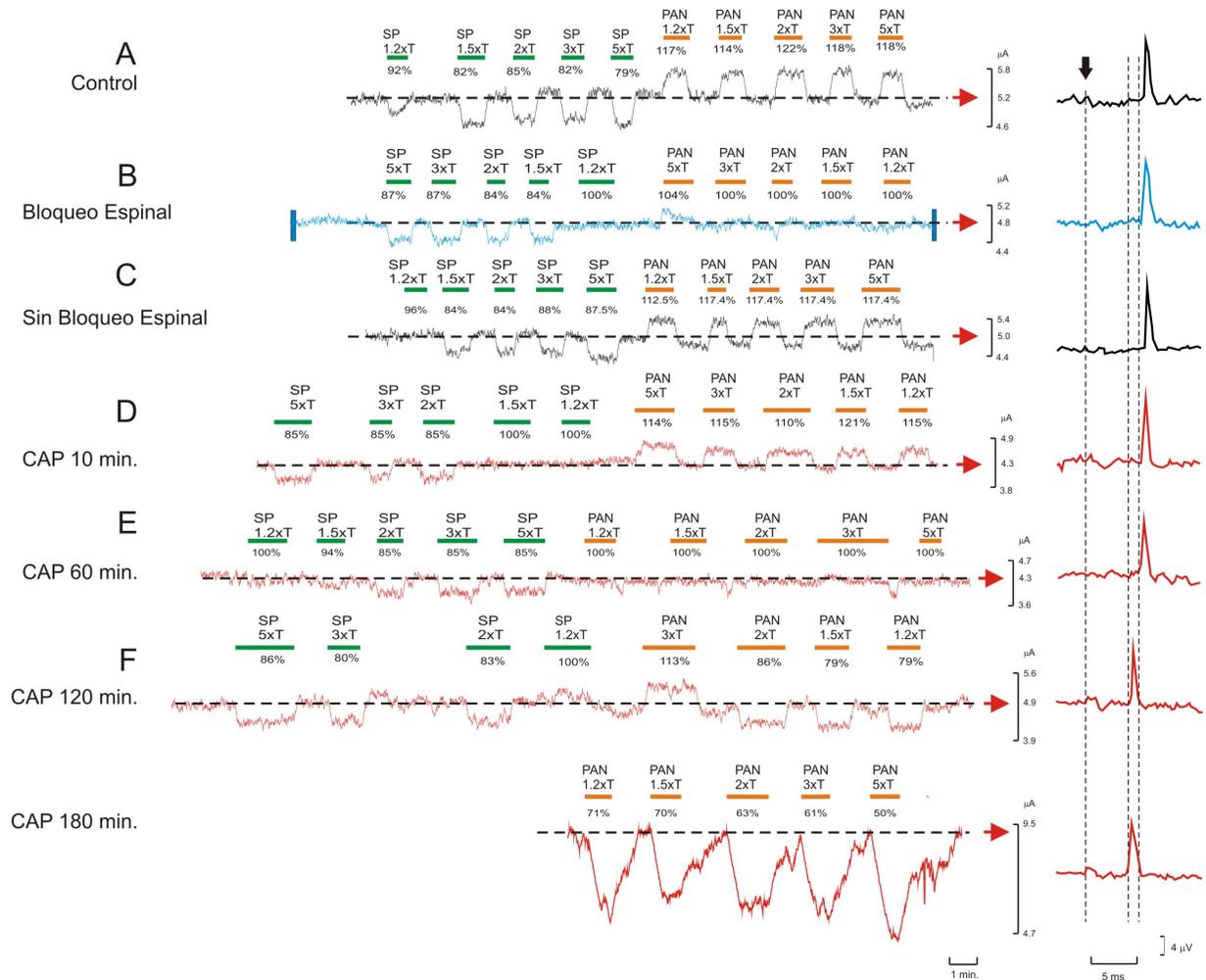


Figura 21. Cambio de PAH a PAD autogénica en una aferente articular por la inyección intradérmica de capsaicina. En la parte superior se muestran los registros de los cambios en el umbral intraespinal de una aferente articular producidos por la estimulación condicionante del PAN y del SP con distintas intensidades. Los números muestran los cambios en porcentaje del umbral de activación intraespinal. El registro de la corriente de estimulación intraespinal se obtuvo en condiciones control, durante el bloqueo espinal reversible y a distintos tiempos después de la inyección intradérmica de capsaicina. De forma interesante la PAH autogénica es abolida durante el bloqueo espinal y a los 120 minutos después de la inyección de capsaicina se transforma en PAD autogénica. Note que hasta los 120 minutos el valor del umbral intraespinal, así como la PAD producida por la estimulación del nervio SP se mantuvieron en valores casi constantes.

La reducción de la PAH autogénica de esta aferente articular, mecanismo asociado con la facilitación sináptica de las fibras aferentes, y su transformación PAD autogénica después de la inyección intradérmica de capsaicina puede ser evidencia de

que la actividad de circuitos que modulan la eficacia sináptica de las fibras aferentes es dinámica, aumentando la inhibición presináptica para disminuir la actividad de vías aferentes facilitadas durante estados de sensibilización central inducidos por la estimulación nociceptiva.

En otro experimento, la estimulación del PAN y de los nervios cutáneos SP, SU y Saph no provocó cambios en umbral intraespinal de la fibra aferente articular durante la condición control (figura 22). Como ha sido propuesto anteriormente, los escasos efectos de PAD autogénica en las aferentes articulares sugieren que estos circuitos puedan ser inhibidos por estructuras supraespinales o ser de baja eficacia sináptica. Por tal motivo, se continuó con el registro de los cambios en la excitabilidad esta aferente articular. A los 120 y 180 minutos después de la inyección de capsaicina, la estimulación del nervio articular ahora provocó una marcada PAD autogénica con intensidades de estimulación desde 2 hasta 10 xT, y aunque en este experimento la corriente estimulación intraespinal subió de 13 a 27 μ A, no hubo un cambio perceptible en la latencia del potencial de acción antidrómico, aunque si se observó una disminución en la amplitud después de tres o cuatro horas de registro.

Además de la facilitación de la PAD autogénica, otro cambio en la fibra aferente articular fue la facilitación de la PAD heterogénica producida por la estimulación de los nervios cutáneos (figura 22C), de forma muy notable por la estimulación del nervio SP y ligeramente por la estimulación del nervio SU, ambos con intensidades de estimulación entre 2 y 5 xT. Pero la estimulación del nervio Saph no tuvo efecto sobre esta aferente articular, ni antes ni después de la aplicación de capsaicina, incluso con intensidades de estimulación de 5 xT. Este resultado es interesante, pues aun cuando hubo una facilitación de la PAD heterogénica producida por la estimulación condicionante de diferentes nervios cutáneos, fue selectiva hacia ciertas vías sensoriales. Una explicación razonable es que los nervios SP y SU inervan regiones de la piel en donde se produce la inflamación cutánea por la inyección de la capsaicina (Bernard et al., 2007). Además, a nivel de la médula espinal, existe una superposición de entradas sinápticas sobre neuronas espinales del PAN y de los nervios cutáneos SP y SU (Rudomin y Hernández, 2008). Por lo tanto, el aumento en la actividad sináptica de estas neuronas espinales como resultado de la inyección de capsaicina, puede facilitar

la actividad de los circuitos que median la PAD en las aferentes articulares activados por otro tipo de aferentes primarias y quizás de estructuras supraespinales.

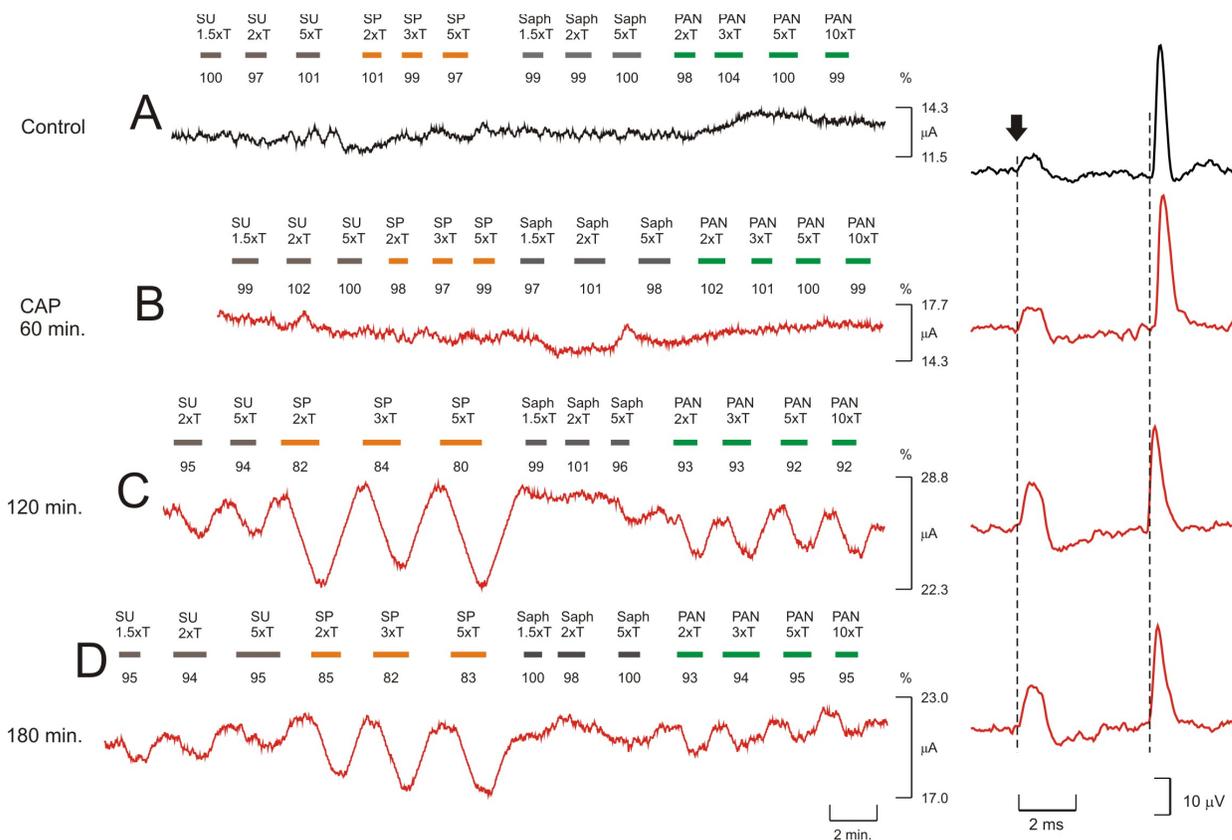


Figura 22. Facilitación de la PAD autógena y heterogénica por la inyección intradérmica de capsaicina. Registros continuos del cambio en el umbral intraespinal de una fibra articular. Después de 120 minutos de la inyección intradérmica de capsaicina, la estimulación del PAN incluso con intensidades por debajo del umbral periférico de la fibra (4 xT) provocó PAD autógena. También, en esta fibra se facilitó la PAD por la estimulación de los nervios cutáneos SU y SP, mientras que la estimulación del nervio Saph con alta intensidad (5 xT) no produjo ningún efecto sobre la terminal de esta fibra aferente.

En un tercer experimento, se registraron los cambios en la excitabilidad de dos aferentes articulares de forma independiente en dos niveles diferentes del segmento L6 (figura 23). Durante la condición control, la PAD autógena sólo fue producida con intensidades de estimulación por arriba del umbral periférico, para una fibra de 2.5 xT y para otra de 4 xT, ambas asociadas a la activación de aferentes articulares de alto umbral, pues en este experimento el componente N3 es producido a partir de la intensidad de estimulación con 2.5 xT del PAN.

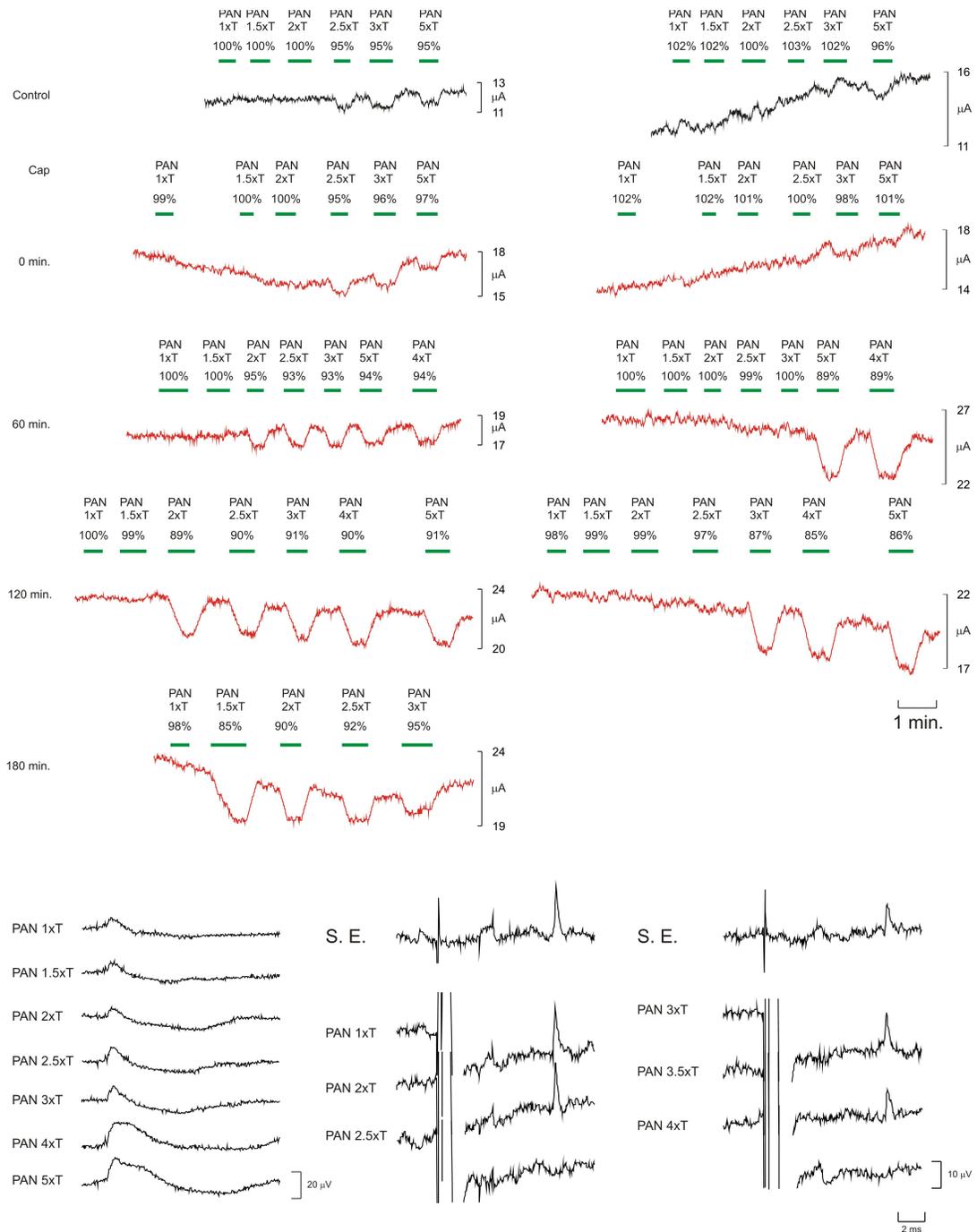


Figura 23. Facilitación de la PAD autógena en las aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina. En la parte superior se muestran los registros continuos de los cambios en el umbral intraespinal de dos aferentes articulares diferentes registrados en un mismo experimento. Abajo se muestran las pruebas de colisión para determinar el umbral de activación periférico de cada fibra (ver metodología) S.E. Sin estímulo del nervio articular. Los registros de los CDPs muestran que el componente N3 es producido a partir de la estimulación 2.5 xT del PAN. Del lado izquierdo se observa una fibra con PAD autógena en condiciones control con intensidades de estimulación por arriba de su umbral periférico 2.5xT. En el lado derecho se observa una fibra que parece responder muy poco a la estimulación del nervio articular con una intensidad de estimulación 5xT. En ambas fibras la PAD autógena se facilita a los 60 minutos de la inyección de capsaicina y es producida con intensidades de estimulación por debajo de su umbral periférico, pero de forma interesante la magnitud de dicha PAD no aumenta con intensidades de estimulación mayores.

La PAD producida por intensidades de estimulación por arriba del umbral periférico de las aferentes articulares podría tener dos explicaciones, una es que los circuitos de la PAD sean activados por la misma fibra articular, es decir, una PAD autogénica. Por otro lado, es probable que debido a la baja eficacia sináptica de los circuitos interpuestos en la vía de la PAD autogénica de las aferentes articulares encontrado en condiciones control, sea necesario una mayor intensidad de estimulación para activar los circuitos de la PAD a través de una mayor cantidad de aferentes articulares reclutadas del mismo tipo.

Después de la inyección de capsaicina, la PAD autogénica se facilitó en ambas fibras con intensidades de estimulación del PAN por debajo de su respectivo umbral periférico. En la aferente articular con umbral periférico de 2.5 xT, se produjo PAD autogénica con intensidades de estimulación del PAN de 2 y 1.5 xT a partir de los 60 minutos de la inyección de capsaicina, mientras que en la aferente articular con umbral periférico de 4 xT, se produjo PAD autogénica con la intensidad de estimulación del PAN de 3 xT a los 120 minutos después de la inyección de la capsaicina. Sin embargo, la PAD producida con intensidades de estimulación más altas en realidad no aumentó. Es probable que el número de interneuronas GABAérgicas interpuestas en la vía de la PAD autogénica del PAN sean pocas en comparación con otras vías. Esto coincide con la evidencia experimental que muestra que las aferentes articulares tienen muy poca PAD autogénica, aún con intensidades de estimulación alta hasta 10 xT, en comparación con la PAD gradual producida por intensidades de estimulación bajas de aferentes musculares y cutáneas (Jankowska et al. 1993; Rudomin y Lomelí 2007).

Resumen de los efectos producidos sobre la PAH y la PAD autogénica de aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina

1. La PAH autogénica se perdió después de la inyección intradérmica de capsaicina. En algunas aferentes articulares incluso se transformó en PAD autogénica

En figuras 24A, B, F y G se muestran ejemplos de fibras articulares en las cuales se presentaron estos fenómenos. En 4 aferentes articulares hubo una reducción o pérdida de la PAH autogénica, y en otras 3 fibras la PAH producida por la estimulación del PAN cambió a PAD autogénica (figura 24H).

2. La PAD autogénica se facilitó después de la inyección intradérmica de capsaicina en aferentes articulares que presentaban escasos efectos de despolarización durante la condición control.

En las figuras 24C, D y E se muestran experimentos en donde la PAD autogénica aumenta entre 60 y 120 minutos de la inyección de la capsaicina. En total se registró el aumento de la PAD autogénica en 7 aferentes articulares (figura 24H).

3. Los cambios en los patrones de PAD y PAH autogénica fueron registrados en 32 aferentes articulares, de las cuales en 14 hubo un aumento de la PAD autogénica después de la inyección intradérmica de capsaicina, mientras que en 18 fibras estos patrones no cambiaron después de la aplicación de la capsaicina con respecto a la condición control.

4. LA PAH autogénica se reduce durante el bloqueo espinal aplicado antes de la inyección de capsaicina .

En los experimentos ilustrados en las figuras 24A y B, la PAH autogénica producida en condición control fue abolida durante el bloqueo espinal, sugiriendo que la hiperpolarización de las aferentes articulares es provocada por la actividad de circuitos neuronales con influencias descendentes, y no por cambios del umbral intraespinal producido por la estimulación con alta frecuencia de la fibra aferente.

5. LA PAD autogénica facilitada por la inyección de capsaicina se redujo durante la aplicación del bloqueo espinal.

En las mismas fibras ilustradas en las figuras 24A y B, la PAD autogénica inducida por la capsaicina se redujo durante un segundo bloqueo espinal en ambas aferentes articulares, y sólo se mantuvo con intensidades de estimulación de 3 y 5 xT, respectivamente. Sin embargo, la PAD autogénica no se recuperó de forma inmediata al retirar el bloqueo espinal.

6. En 4 aferentes articulares, el bloqueo espinal aplicado antes y después de la inyección de la capsaicina redujo la PAH o la PAD autogénica, mientras que en 21 aferentes articulares no tuvo ningún efecto sobre los patrones de PAH y PAD autogénica

En las figuras 24D, E y G se muestran experimentos en que no hubieron cambios en los patrones de PAH o PAD autogénica durante el bloqueo espinal aplicado antes y después de la inyección de capsaicina, esto sugiere que son escasas las influencias descendentes directas sobre estos circuitos.

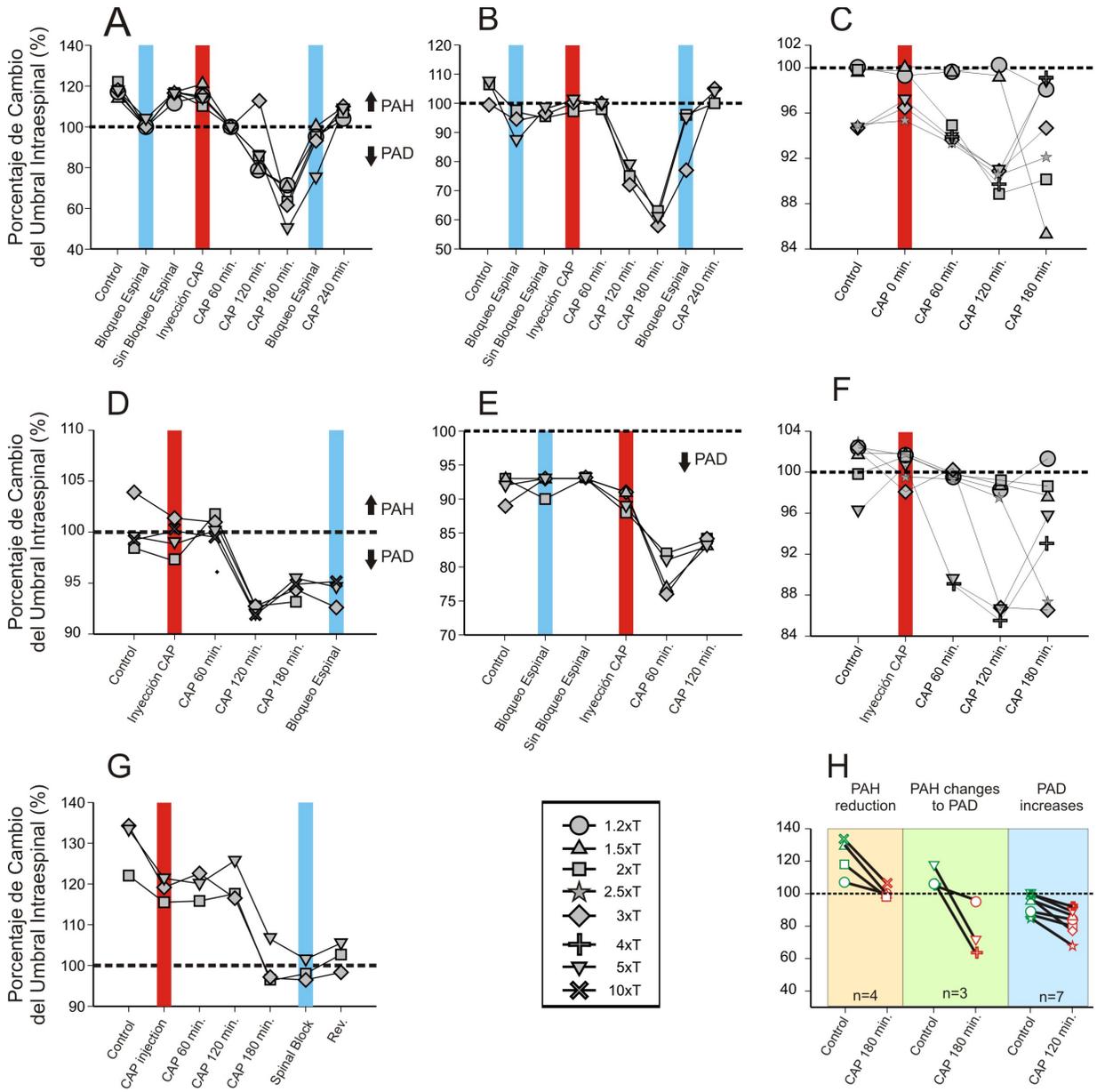


Figura 24. Cambios en los patrones de PAH y PAD autogénica por la inyección intradérmica de capsaicina en aferentes articulares únicas. Porcentaje de cambio en el umbral de activación intraespinal por la estimulación condicionante del PAN con diferentes intensidades (desde 1xT hasta 10xT). Las barras azules muestran los momentos en donde se aplicaron bloqueos espinales y las barras rojas el momento de la inyección de capsaicina. En estas aferentes articulares hay una marcada tendencia al aumento de la PAD o la pérdida de la PAH después de la inyección de capsaicina. Note que en muy pocos casos los efectos de PAD o PAH son modificados durante el bloqueo espinal.

Cambios producidos en los patrones de la PAD autogénica vs la PAD heterogénica en aferentes articulares después de la inyección intradérmica de capsaicina

Con el propósito de identificar cambios en los patrones de PAD en las aferentes articulares producidos por la estimulación de nervios cutáneos durante la inflamación inducida por capsaicina, se registraron los cambios en el umbral intraespinal en aferentes articulares del PAN producidos por la estimulación condicionante de los nervios cutáneos SP, SU y Saph (Rudomin et al. 2007), los dos primeros que inervan regiones donde se produce la inflamación cutánea y el último con proyecciones alejadas de los sitios de inyección e inflamación. En la figura 22 se observa un experimento en que la PAD producida por la estimulación de los nervios SU y SP se facilitó durante el desarrollo de la inflamación cutánea, aumentando gradualmente desde los 120 hasta los 180 minutos posteriores a la inyección de la capsaicina, mientras que el nervio Saph no tuvo ningún efecto sobre el umbral intraespinal de la aferente articular, ni antes ni después de la aplicación de la capsaicina.

Debido a que la estimulación condicionante del nervio SP tiene un mayor efecto de despolarización sobre las aferentes articulares, en comparación con los nervios SU y Saph, analizamos la relación entre los cambios producidos en el umbral intraespinal de las aferentes articulares por la estimulación condicionante de los nervios PAN y SP. En la figura 25, cada punto representa la combinación del cambio en el umbral intraespinal producido con la misma intensidad de estimulación condicionante entre 1.2 y 10 xT de ambos nervios.

Como ha sido reportado previamente, en condición control se observa que la estimulación del PAN produce en algunas aferentes articulares una marcada PAH autogénica, en pocas una marcada PAD autogénica y en la mayoría una escasa PAD o ningún efecto sobre su umbral intraespinal (Jankowska et al. 1993; Rudomin y Lomeli 2007). Por otro lado, la estimulación del nervio SP produce PAD en la mayoría de las aferentes articulares.

Durante el primer bloqueo espinal y a los 10 minutos de la inyección de la capsaicina, no hay un cambio perceptible en los patrones de PAD y PAH autogénica y

de PAD heterogénea. Sin embargo, a los 60 minutos después de la inyección de capsaicina es notable la reducción de la PAH autogénica, que se mantiene hasta a los 120 minutos. Entre 180 y 240 minutos, algunas aferentes articulares ya presentan una marcada PAD autogénica. En contraste, los efectos producidos por la estimulación del nervio SP son menos notables. Si bien en algunas aferentes articulares se facilita la PAD heterogénea (figura 22), parece que no hay un aumento significativo de esta PAD inducido por la capsaicina en la población de aferentes articulares, en cambio una PAH heterogénea aparece a los 120 y 180 minutos de la inyección de capsaicina.

Finalmente, durante el bloqueo espinal aplicado después de la inyección de capsaicina tampoco se observa un cambio notable en los patrones de PAD y PAH autogénica y de PAD heterogénea, lo que sugiere que las influencias descendentes sobre estos circuitos son escasas.

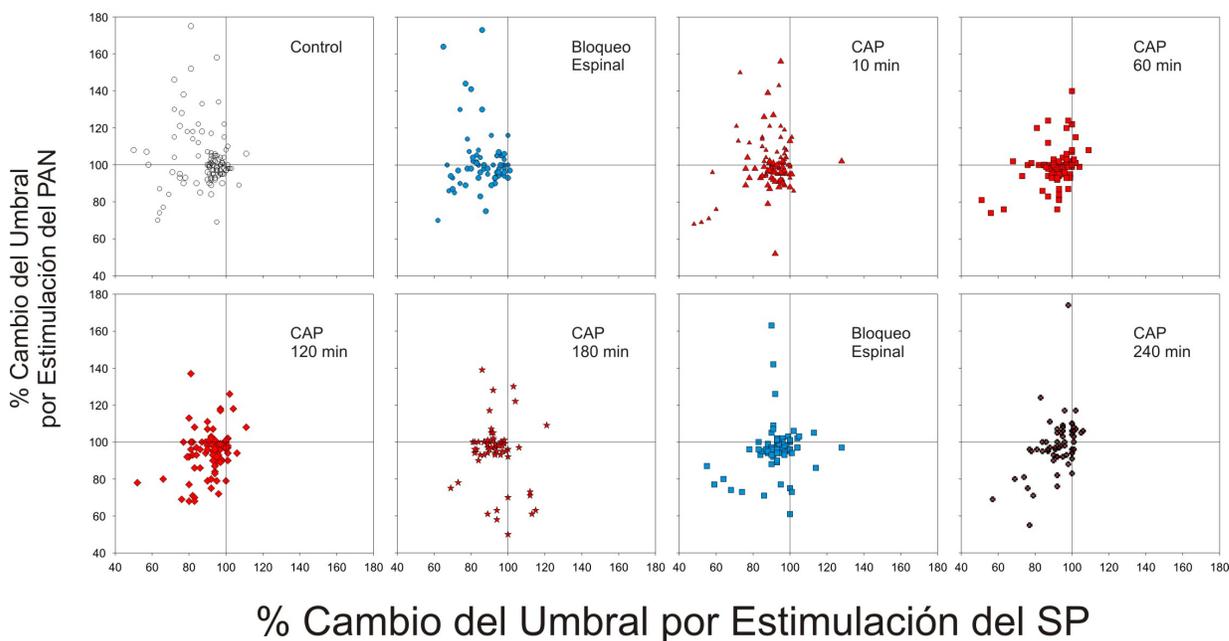


Figura 25. Relación entre el porcentaje de cambio en el umbral intraespinal producido por la estimulación autogénica del PAN (ordenadas) respecto al porcentaje de cambios en el umbral intraespinal producido por la estimulación heterogénea del nervio SP (abscisas). Condición control (círculos blancos), bloqueo espinal antes de la inyección de capsaicina (círculos azules), a los 10 minutos (triángulos rojos), 60 minutos (cuadros rojos), 120 minutos (rombos rojos) y 180 minutos (estrellas rojas) después de la inyección de la capsaicina, bloqueo espinal después de capsaicina (cuadros azules) y al retirar el bloqueo espinal a los 240 minutos de capsaicina (cruces rojas). Los cambios en el umbral por arriba del 100% indican PAH, los cambios en el umbral por debajo del 100% indican PAD y el 100% indica que el umbral intraespinal no cambió por la estimulación condicionante.

Caracterización funcional y localización de las terminales de las aferentes articulares que presentaron cambios en los patrones de PAD y PAH autogénica por la inyección intradérmica de capsaicina

A partir de la caracterización funcional de las aferentes articulares y de la posición anatómica de las terminales intraespinales donde se analizaron los cambios en el umbral intraespinal, se buscó determinar si el aumento de la PAD autogénica inducida por la inyección de capsaicina se produjo en aferentes articulares con características asociadas a la transmisión de información propioceptiva o nociceptiva (ver Tabla 1 Anexo A y figura 26). De las 32 aferentes articulares analizadas, 19 tuvieron velocidades de conducción entre 22 y 35 m/s y 13 entre 36 a 50 m/s. En cuanto al umbral periférico, 11 eran de bajo umbral entre 1 y 2 xT, mientras que 15 tuvieron umbrales entre 2.5 y 7xT y en 6 no fue calculado.

Las posiciones anatómicas indican que 12 de las 14 terminales intraespinales en las cuales la capsaicina redujo la PAH autogénica o indujo el aumento de la PAD autogénica se encontraban en la parte profunda del cuerno dorsal, entre 1.2 y 2.0 mm por debajo de la superficie de la médula espinal. Por otro lado, las velocidades de conducción de 12 de las 14 aferentes articulares con cambios inducidos por la capsaicina se encontraron entre 23 y 35 m/s. Finalmente, el umbral periférico de 7 estuvo por arriba de 3 xT, en 4 se encontró entre 1 - 2.5 xT y en otras 4 no fue medido.

Adicionalmente, encontramos que en 5 fibras la estimulación condicionante del PAN produjo PAD autogénica únicamente con intensidades de estimulación por arriba y no por debajo del umbral periférico de la aferente articular, mientras que en 4 fibras con PAD autogénica sólo se estimulo el PAN con intensidades por arriba del umbral periférico. Esto sugiere que intensidades de estimulación mayores son más eficaces para producir la PAD autogénica, probablemente para superar el umbral periférico de la misma fibra o porque es necesario reclutar más fibras articulares que activen los circuitos de la PAD autogénica.

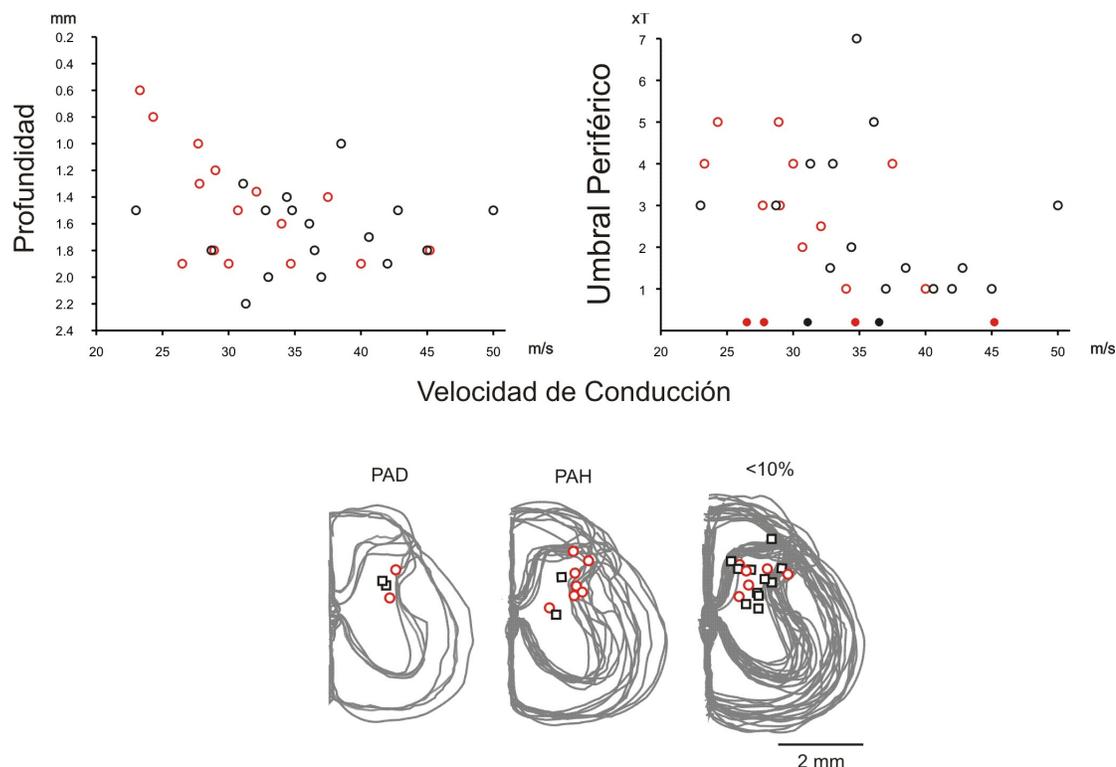


Figura 26. Caracterización funcional y ubicación anatómica de las aferentes articulares analizadas. Graficas de velocidad de conducción vs profundidad y velocidad de conducción vs umbral periférico. Las fibras tuvieron una velocidad de conducción entre 23 y 50 m/s, umbrales periféricos entre 1-7xT y fueron registradas entre 0.6 y 2.2 mm por debajo de la superficie de la médula espinal. Los puntos rojos muestran las fibras en donde la PAD autogénica se facilitó o la PAH autogénica desapareció después de la inyección intradérmica de capsaicina. Los puntos negros muestran las fibras que no presentaron cambios después de la maniobra. Los círculos rellenos son fibras en las que no se calculó el umbral periférico. Las histologías muestran los puntos en donde se encontraban los microelectrodos de estimulación intraespinal. A la izquierda se muestran las ubicaciones de las fibras que presentaron PAD autogénica con cambio en el umbral por debajo de 90%, en el centro las fibras con PAH autogénica con un cambio por arriba de 110% y a la derecha las fibras con escasos efectos por la estimulación del nervio articular (menor al 10%). Note que no hay una distribución anatómica específica entre los diferentes grupos.

Las 18 aferentes articulares que no presentaron cambios en sus patrones de PAD o PAH autogénica después de la inyección intradérmica de capsaicina tuvieron velocidades de conducción entre 22 y 50 m/s, sus posiciones anatómicas estuvieron entre 1.0 y 2.2 mm por debajo de la superficie de la médula espinal y el umbral periférico de 8 estuvo entre 1 y 2 xT, en 7 se encontró entre 3 y 7 xT y en otras 2 no se midió.

Estos resultados indican que la población analizada fue principalmente de aferentes articulares delgadas miélicas A δ , que junto con las aferentes amielínicas

constituyen aproximadamente el 80% de las fibras aferentes del PAN. En un subgrupo de estas aferentes articulares, la PAD autogénica aumentó por la inyección intradérmica de capsaicina, sugiriendo que la facilitación de la inhibición presináptica en las aferentes articulares del PAN tiende a limitar la transmisión de información nociceptiva a nivel presináptico, disminuyendo a su vez la activación de neuronas de segundo orden en la parte profunda del cuerno dorsal.

La inyección intradérmica de capsaicina aumenta gradualmente el umbral intraespinal de las aferentes articulares

En condiciones normales, la activación de receptores GABA_A ha sido asociada a la antinocicepción por inhibición presináptica de las fibras aferentes, a través del mecanismo de la PAD. Sin embargo, en condiciones de daño en el tejido o en los nervios, la activación de receptores GABA_A ha sido asociada a la nocicepción. Esto ha sido explicado por diferentes mecanismos. Por un lado, la activación sostenida de receptores GABA_A despolariza las fibras aferentes hasta superar su umbral de activación, produciendo potenciales de acción antidrómicos o reflejos de raíces dorsales (DRRs), lo cuales participan en el establecimiento de la inflamación neuropática (Willis 1999). Por otro lado, la despolarización sostenida de las fibras aferentes puede ser explicado por un cambio en el potencial de equilibrio del ion cloruro debido a la desregulación en la expresión de los co-transportadores de Cl⁻ NKCC1 y KCC2 (Price et al. 2009). Finalmente, la despolarización tónica de las aferentes primarias también se ha asociado a la activación de receptores GABA_A extrasinápticos, lo que modula la excitabilidad de las fibras aferentes primarias (Bravo-Hernández et al. 2016).

En animales con diabetes, la activación de receptores 5GABA_A extrasinápticos está asociada a estados de nocicepción como la alodinia. Sin embargo, la modulación tónica de las fibras aferentes asociada a la actividad de receptores GABA_A extrasinápticos no modifica los cambios de excitabilidad fásica producidos por la estimulación condicionante de nervios sensoriales (Hernández-Reyes et al. 2019). La evidencia experimental muestra que un agonista inverso de los receptores α_5 GABA_A extrasinápticos aumenta gradualmente el potencial de acción antidrómico compuesto (cAP) registrado en nervio tibial, sin modificar el aumento del cAP producido por la estimulación condicionante de los nervios cutáneos sural y peroneo, es decir, la PAD

fásica. Por lo tanto, la actividad tónica de los receptores $\alpha_5\text{GABA}_A$ extrasinápticos podría estar involucrada en la modulación de la excitabilidad de las fibras aferentes que pueden modificar las respuestas nociceptivas en animales con dolor neuropático, sin modificar el control sobre el flujo de información sensorial sobre las terminales aferentes que es transmitido a neuronas de segundo orden para la modulación de reflejos espinales.

Como fue mencionado en secciones previas de esta Tesis, la inyección intradérmica de capsaicina aumenta gradualmente el umbral de activación intraespinal de algunas fibras aferentes articulares, fenómeno que puede observarse en los experimentos ilustrados en las figuras 21, 22 y 23. El aumento tónico de la corriente intraespinal después de la inyección intradérmica de capsaicina no tiene el mismo curso temporal en todas las aferentes articulares. Por ejemplo, en el experimento de la figura 21, el umbral intraespinal cambia de 5.2 a 9.5 μA hasta los 180 minutos después de la inyección de capsaicina, mientras que en los experimentos ilustrados en las figuras 22 y 23, el aumento del umbral intraespinal es inmediato a la inyección de la capsaicina y, en ambos casos, la corriente se duplica a los 120 minutos de la inyección de la capsaicina, pasando de 14 a 27 μA y de 13 a 24 μA , respectivamente. Sin embargo, los cambios tónicos en la excitabilidad de las aferentes articulares inducidos por la inyección de capsaicina podrían no modificar los cambios de excitabilidad fásicos producidos por la estimulación condicionante de los nervios sensoriales (Hernández-Reyes et al. 2019).

En la figura 27 se muestran los registros continuos de las corrientes de estimulación intraespinal y los cambios fásicos producidos por la estimulación autogénica en tres experimentos en los que se registraron los cambios en los umbrales de activación intraespinal de dos aferentes articulares. En la figura 27A se observan los cambios del umbral intraespinal de la fibra ilustrada en la figura 21 junto con los cambios del umbral intraespinal registrados en otra fibra durante el mismo experimento.

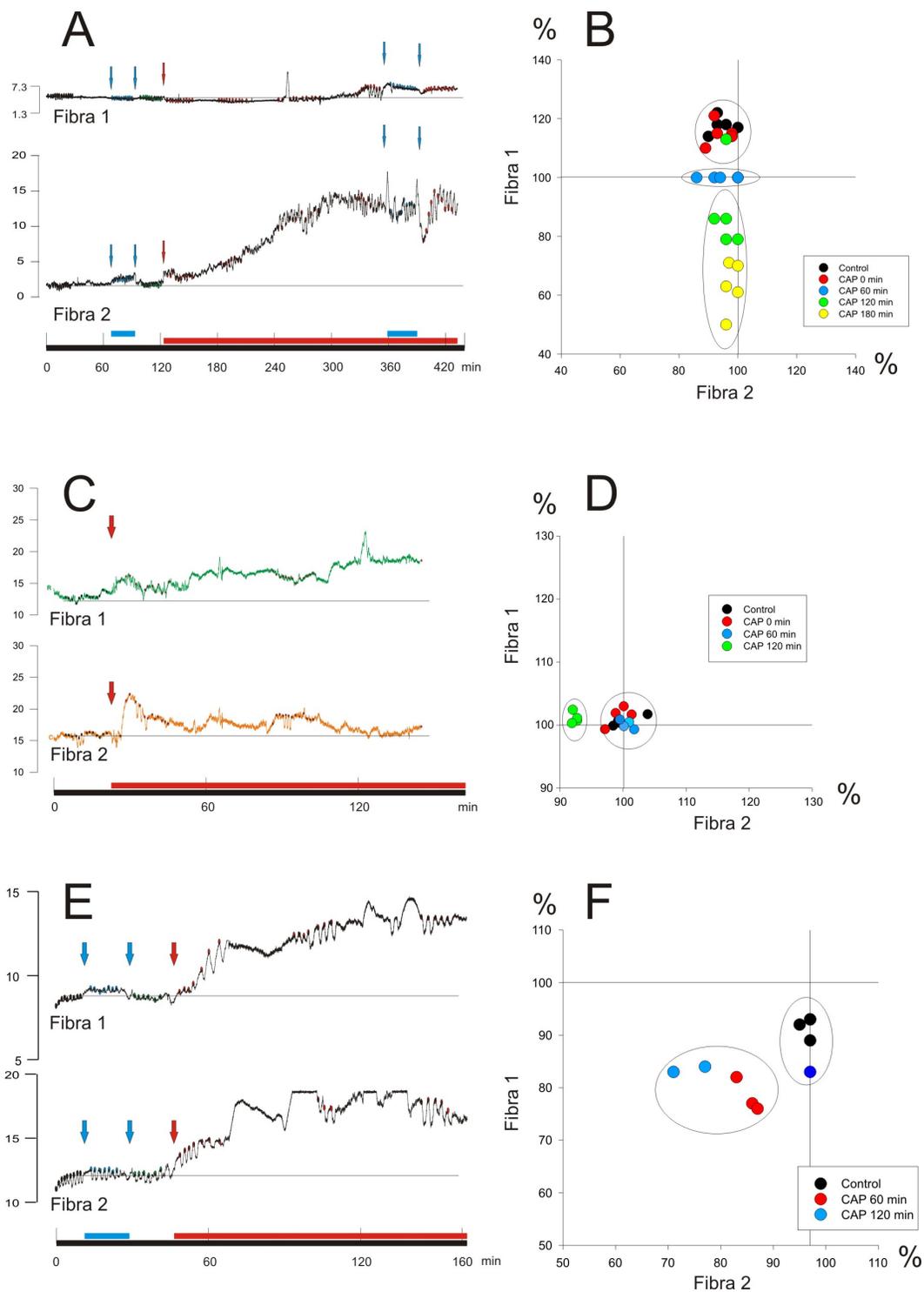


Figura 27. Cambios fásicos y tónicos de la excitabilidad de aferentes articulares únicas por la inyección intradérmica de capsaicina. A, B Registros continuos de la corriente de estimulación intraespinal aplicada en la parte rostral y caudal del segmento L6 para producir un potencial de acción antidrómico con un porcentaje de aparición del 50% en fibras aferentes articulares únicas. C cambios en el umbral de activación intraespinal producidos sobre las aferentes articulares del PAN por la estimulación autogénica.

El umbral intraespinal de esta aferente articular 1 es estable en gran parte del experimento, alrededor de 5 μA hasta los 200 minutos después de la inyección de la capsaicina cuando aumenta a 9.5 μA ; mientras que los cambios fásicos muestran que la PAH autogénica se transformó en PAD autogénica a partir de los 60 minutos de la inyección de la capsaicina (figura 27B, eje de las ordenadas). En cambio, el umbral intraespinal de la fibra aferente 2 aumenta inmediatamente después de la inyección de capsaicina, pasando de 1.5 μA a 13.9 μA en 180 minutos; sin embargo, la PAD autogénica cambió muy poco, e incluso se redujo (figura 27B, eje de las abscisas).

En la figura 27C se muestra un segundo experimento en el cual la aferente articular 1 tiene un aumento gradual tónico del umbral intraespinal por la inyección de la capsaicina de 12.8 μA a 18.5 μA en 100 minutos, sin cambios en la ligera PAH autogénica durante todo el experimento (figura 27D, eje de las ordenadas). En la aferente articular 2, hay un aumento transitorio del umbral intraespinal inmediato a la inyección de capsaicina, para luego regresar a un valor cercano al control en 15 μA , mientras que tiene una ligera facilitación de la PAD autogénica inducida por la capsaicina a los 120 minutos (figura 27D, eje de las abscisas).

En la figura 27E se observa que en ambas aferentes articulares hay un aumento del umbral intraespinal inmediato a la inyección de capsaicina, de 8.8 μA a 13.4 μA en la fibra 1 y de 12 μA a 18 μA en la fibra 2. En cuanto a la PAD autogénica, en la fibra 1 aumenta ligeramente (figura 27F, eje de las ordenadas), mientras que en la fibra 2 reduce el umbral intraespinal hasta el 70% después de 120 minutos de la inyección de capsaicina (figura 27F, eje de las abscisas).

En general, el umbral de activación intraespinal de las aferentes articulares aumenta a diferentes tiempos después de la inyección intradérmica de capsaicina, aunque en algunos casos no aumenta o incluso disminuye. En la figura 28 se muestran cuatro grupos en los que fueron separadas las aferentes articulares con base en el cambio del umbral intraespinal inducido por la inyección de capsaicina. El primer grupo son aferentes articulares con umbrales de activación bajos, en las cuales el umbral intraespinal cambia muy poco después de mucho tiempo de la inyección de capsaicina, no cambia o se incluso se reduce. El segundo grupo son aferentes articulares con

umbrales de activación bajos, menores a 5 μA , que tienen un aumento lento en el umbral intraespinal después de la inyección de la capsaicina. El tercer grupo son aferentes articulares con umbrales de activación bajo, cercano a 5 μA con un aumento inmediato por la inyección de la capsaicina alcanzando valores de 10 a 15 μA . El cuarto grupo son aferentes articulares con umbrales intraespinales altos, entre 10 y 15 μA , que tienen un aumento inmediato a la inyección de la capsaicina y alcanza valores máximos alrededor de 25 μA .

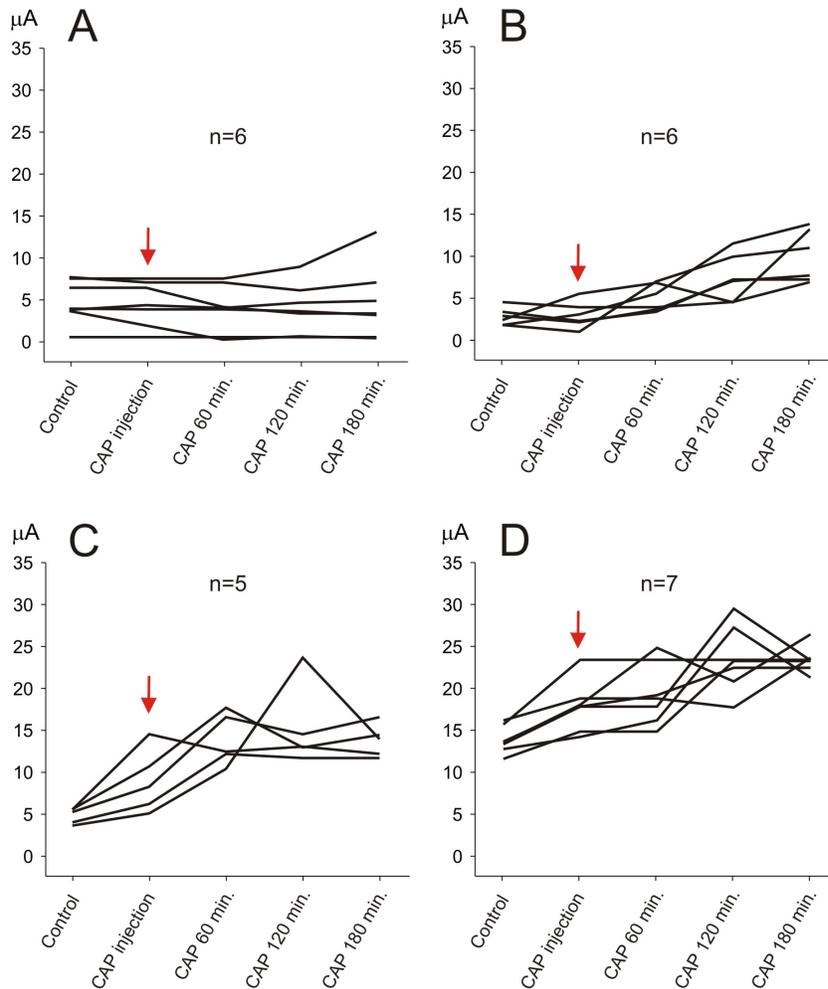


Figura 28. Cambios tónicos del umbral de activación intraespinal de las aferentes articulares inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina. Corriente de estimulación intraespinal registrada en condiciones basales, es decir, sin estimulación condicionante de las aferentes sensoriales. La flecha roja indica el instante en que se inyectó la capsaicina. Cada punto indica el registro del umbral intraespinal registrado a 60, 120 y 180 minutos posterior a la inyección de capsaicina. n es el número de aferentes articulares.

Discusión

Aumento de la inhibición tónica descendente sobre los potenciales de campo del PAN inducido por la inyección intradérmica de capsaicina

En el presente trabajo de Tesis hemos encontrado que la amplitud del componente N3 del PAN, producido por la activación de aferentes articulares de alto umbral, aumenta en forma gradual durante los bloqueos espinales sucesivos aplicados a diferentes tiempos después de la inyección intradérmica de capsaicina, aumento que no ocurre durante los bloqueos espinales aplicados antes de la inyección. El aumento en la amplitud de los potenciales de campo del PAN durante la aplicación de bloqueos espinales reversibles ha sido interpretado como la supresión de una inhibición tónica descendente (Quevedo et al. 1993), que en condiciones normales reduce la actividad sináptica de las fibras aferentes articulares.

Si bien, en estudios realizados por diferentes grupos de trabajo se ha encontrado que la estimulación nociceptiva producida por la inyección de agentes pro inflamatorios como la carragenina, la capsaicina o el adyuvante completo de Freund, o la estimulación cutánea con altas temperaturas (40-56 °C), aumenta la actividad de neuronas con entradas de fibras aferentes de alto umbral durante la aplicación de bloqueos espinales (Dickhaus et al. 1985; Schaible et al., 1991; Ren y Dubner, 1996), en dichos experimentos no es posible separar los efectos de facilitación sináptica producidos a nivel central de los efectos producidos por la sensibilización de los receptores a nivel periférico, pues las respuestas fueron analizadas en neuronas espinales con entradas de fibras aferentes activadas por el mismo estímulo nociceptivo.

Debido a que en nuestros experimentos la capsaicina fue inyectada intradérmicamente en la pata del gato y que el PAN estaba seccionado, hemos interpretado que el aumento de las respuestas N3 producidas por las aferentes articulares de alto umbral es un fenómeno inducido por cambios en la actividad de neuronas espinales a nivel central y no por la sensibilización de las aferentes articulares. Con base en estos resultados, el aumento de la de los potenciales de campo N3 del PAN principalmente en la parte profunda del cuerno dorsal del segmento espinal L6, ha sido interpretado como el aumento de la inhibición descendente de

neuronas en donde convergen entradas sinápticas de aferentes articulares y cutáneas de alto umbral, estas últimas que inervan el área donde se produce la inflamación por la inyección de capsaicina (Schaible et al. 1986; Julius y Basbaum 2001; Basbaum et al. 2009; Todd 2010). sugiriendo que existe un acople funcional entre la médula espinal y los núcleos supraespinales, a través de un sistema de retroalimentación que ajusta en forma selectiva la facilitación y la inhibición de la información nociceptiva transmitida a nivel de la médula espinal.

A este respecto, en estudios recientes de nuestro laboratorio hemos encontrado que durante el estado de sensibilización central producido por la inyección intradérmica de capsaicina hay un aumento en la correlación de los potenciales espontáneos del dorso de la médula (CDPs) registrados entre diferentes niveles segmentales, principalmente en los segmentos espinales L5 y L6 (figura 29). También, hemos encontrado que el aumento de la correlación de los potenciales de campo intraespinales (IFPs) espontáneos es mayor en la parte profunda del cuerno dorsal en comparación con las láminas superficiales (Contreras-Hernández et al. 2018; Martín et al. 2019).

La correlación es una medida de similitud entre dos señales, este valor es máximo cuando las señales se parecen en forma y están en fase o sincronizadas. La correlación normalizada de Pearson toma valores entre -1 y 1. El valor negativo máximo (-1) indica que una señal es totalmente opuesta a la otra, mientras que el valor positivo máximo (+1) indica que ambas señales son idénticas. Por lo tanto, el aumento inducido por la capsaicina de la correlación entre potenciales espontáneos registrados en diferentes niveles segmentales del dorso de la médula ha sido interpretado como un aumento en la sincronización de potenciales con la misma forma, lo que podría representar un aumento en la conectividad funcional de las neuronas del cuerno dorsal (Contreras-Hernández et al. 2018; Martín et al. 2019).

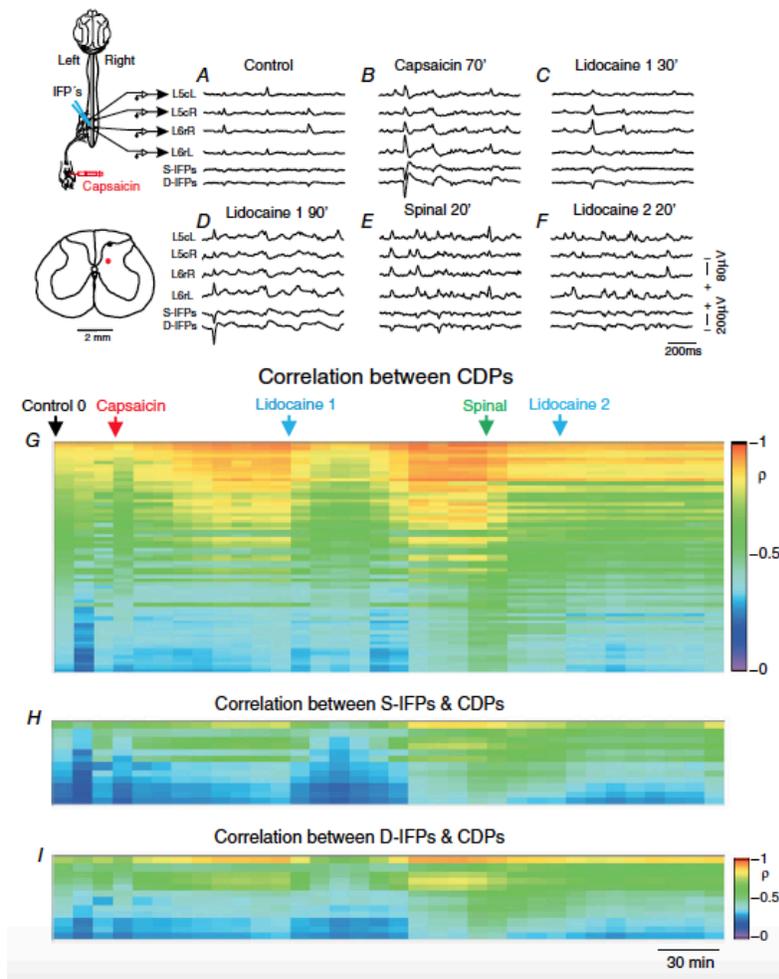


Figura 29. La aplicación sistémica de lidocaína revierte el incremento en la correlación inducida por la capsaicina de la actividad espontánea entre diferentes segmentos de la médula espinal. A-F, CDPs registrados del segmento caudal L5 y del segmento rostral L6 en ambos lados de la médula espinal y los IFPs registrados a dos diferentes profundidades en el segmento L6 caudal izquierdo, antes y después de la inyección de capsaicina, lidocaína y la espinalización, como se indica. La deflexión hacia arriba muestra la negatividad de los CDPs y hacia abajo la negatividad de los IFPs. La histología de la izquierda muestra la localización de los sitios de registro de los IFPs. G, cambios producidos por la capsaicina, la lidocaína y la espinalización, en la correlación entre pares de registros de CDPs obtenidos de un arreglo de 12 electrodos posicionados a lo largo de los segmentos L4-L7 de ambos lados de la médula espinal. El conjunto completo de coeficientes de correlación obtenidos durante los 10 minutos de registro del Control 0 es desplegado en orden descendente como una columna vertical. Los coeficientes de correlación obtenidos de 10 minutos de registros independientes hechos a tiempos subsecuentes son desplegados manteniendo el mismo orden como en los coeficientes del Control 0. Los colores muestran la magnitud de la correlación (ver escala). Las flechas muestran el tiempo de aplicación de la capsaicina y la lidocaína, así como de la espinalización. H e I, arreglos equivalentes de los coeficientes de correlación de los S-IFPs (superficiales) y los D-IFPs (profundos) con los CDPs registrados de diferentes segmentos, como se indica. Modificado de Contreras-Hernández et al. 2018.

Estos cambios en la correlación de los potenciales espontáneos inducidos por la capsaicina mantienen configuraciones estables durante el tiempo de acción del fármaco (figura 29) y siguen el mismo curso temporal del aumento en las respuestas del PAN

producidos por la inyección intradérmica de capsaicina (Rudomin y Hernández 2008). Por lo tanto, el aumento en el grado de conectividad entre neuronas del cuerno dorsal en forma estructurada puede explicar el aumento selectivo de la actividad sináptica de neuronas con entradas de aferentes articulares de alto umbral inducido por la capsaicina, sin modificar de forma significativa la actividad de neuronas que reciben entradas de aferentes articulares de bajo umbral.

Una observación adicional de estos experimentos es que estos cambios inducidos por capsaicina sobre la correlación de los potenciales espontáneos del dorso de la médula cambian por la administración sistémica de lidocaína, regresando a valores de correlación parecidos a los obtenidos en la condición control (figura 29). La lidocaína es un anestésico utilizado clínicamente para prevenir o tratar el dolor. Su mecanismo de acción está asociado a la reducción de la transmisión de información nociceptiva por el bloqueo de canales de sodio en fibras aferentes primarias de alto umbral C (Woolf y Wiesenfeld-Hallin 1985; Lai et al. 2003). Por lo que estos cambios en correlación inducidos por la lidocaína podrían representar su efecto antinociceptivo, modificando la conectividad de las neuronas del cuerno dorsal que lleva al sistema nervioso central a un estado que representa la ausencia de nocicepción, probablemente parecido a la condición previa a la inyección de capsaicina.

Adicionalmente, los experimentos realizados por Rudomin y cols. han mostrado que la espinalización modifica los cambios en la correlación de los potenciales espontáneos del dorso de la médula producidos por la capsaicina y la lidocaína, lo que sugiere la participación de influencias descendentes en los cambios de la conectividad funcional entre neuronas espinales producidos por la inyección de capsaicina y la administración sistémica de lidocaína (Contreras-Hernández et al. 2018; Martin et al. 2019). Esto apoya la hipótesis que las estructuras supraespinales influyen en el establecimiento del estado de sensibilización central inducido por la estimulación nociceptiva a nivel de la médula espinal, y además sugiere que parte de los mecanismos de acción de los fármacos antinociceptivos, utilizados como analgésicos, pueden actuar sobre estructuras supraespinales, probablemente a nivel del tallo cerebral, aumentando la actividad de neuronas con proyecciones descendentes que inhiben, a través de interneuronas, a neuronas espinales que transmiten información nociceptiva conocidas como “células OFF” (Tasker et al. 1987; Saadé et al. 2012).

Aunque con el bloqueo espinal no es posible determinar el origen de la inhibición descendente, se sabe que estructuras del sistema nervioso central como la amígdala, el hipotálamo, la sustancia gris periacueductal, el núcleo del rafe y la formación reticular, participan en conjunto para modular la actividad de neuronas de la médula espinal involucradas en la transmisión de la información sensorial a través de diferentes mecanismos (Osipov et al. 2010; Gebhart 2004). Las vías involucradas en la inhibición descendente pueden modular la nocicepción a diferentes niveles, por ejemplo, sobre las terminales de las fibras aferentes primarias, en neuronas de segundo orden del cuerno dorsal que reciben entradas de aferentes nociceptivas, en interneuronas inhibitorias y excitatorias que modulan la actividad de estos circuitos (Willis and Coggeshall, 1991; Fields and Basbaum, 1999; Millan, 1999, Millan 2002).

De forma interesante, la inhibición descendente preferentemente suprime la actividad de entradas nociceptivas transmitida por fibras aferentes C y A δ (Hentall y Fields 1979; Dickhaus et al. 1985; Moreno-López et al. 2013). Este mecanismo de control selectivo ha sido asociado a la actividad de dos grupos de neuronas del tallo cerebral con proyecciones descendentes denominadas células ON y células OFF, las cuales son reclutadas por diferentes estructuras supraespinales para aumentar o inhibir la percepción del dolor, respectivamente (Porreca et al. 2002; Heinricher et al. 2009). Los cambios dinámicos entre estados de facilitación e inhibición con origen en el tallo cerebral tienen un papel importante en el procesamiento de la información nociceptiva, estableciendo con el sistema de control el nivel de ganancia de la entrada nociceptiva, lo cual contribuye a la respuesta conductual adecuada durante estados de dolor o al establecimiento de estados patológicos como el dolor crónico.

Por lo tanto, el aumento en la inhibición descendente ejercida sobre las neuronas espinales activadas por aferentes articulares de alto umbral del PAN, y no sobre neuronas con entradas de aferentes articulares de bajo umbral, podría tener implicaciones funcionales. Por un lado, la inhibición descendente del componente N3 del PAN tendería a limitar la cantidad de información nociceptiva facilitada por la inyección intradérmica de capsaicina que es transmitida desde la médula espinal hasta núcleos supraespinales de integración sensorial. Por otro lado, los escasos efectos sobre el componente N2 del PAN inducidos por la capsaicina podría indicar la

importancia de transmitir sin alteraciones la información propioceptiva de posición articular a la médula espinal, para la correcta ejecución de movimientos voluntarios durante estados de nocicepción.

Además del aumento en los componentes negativos, en la presente Tesis hemos encontrado que la onda positiva producida por la estimulación del PAN durante el bloqueo de la médula espinal (Quevedo et al. 1993), aumenta de amplitud después de la inyección intradérmica de capsaicina. La onda P ha sido asociada a la generación de potenciales de la raíz dorsal (DRPs) y a la despolarización de las aferentes primarias (PAD), lo que plantea la pregunta si la facilitación de la onda P después de la inyección de capsaicina indica el aumento de la actividad de los circuitos espinales interpuestos en la vía de la PAD de las aferentes articulares, probablemente como un mecanismo de control selectivo del flujo de información nociceptiva, en adición a la inhibición a nivel posináptico de neuronas de segundo orden con entradas de estas mismas aferentes articulares de alto umbral.

Cambios producidos en los patrones de PAD y PAH autogénica en aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina

Para responder a la pregunta si durante el estado de sensibilización central inducido la inyección intradérmica de capsaicina aumenta la actividad de circuitos que median la PAD en aferentes articulares de alto umbral, como un mecanismo de inhibición que limita la entrada de información nociceptiva antes de ser transmitida a neuronas de segundo orden; en el presente trabajo de Tesis hemos investigado los efectos de la inyección intradérmica de capsaicina sobre los patrones de PAD producidos en aferentes articulares por la estimulación condicionante de nervios cutáneos y del PAN.

A este respecto, en estudios realizados en el gato anestesiado, se ha encontrado que las terminales intraespinales de aferentes articulares del PAN son fuertemente despolarizadas por la estimulación condicionante de fibras aferentes musculares y cutáneas, así como por la estimulación de estructuras supraespinales como la formación reticular y el núcleo de rafé magnus. En contraste, la estimulación condicionante del PAN produce en algunas aferentes articulares un aumento en el

umbral intraespinal, es decir, hiperpolarización autogénica; y en otras, la estimulación del PAN produce una escasa PAD autogénica (Jankowska et al. 1993; Rudomin y Lomelí 2007).

Los escasos efectos de PAD autogénica en las aferentes articulares contrasta con las aferentes musculares Ib, en las cuales este mecanismo reduce la actividad del reflejo tendinoso, disminuyendo la inhibición en las motoneuronas de los músculos homónimos y sinergistas, por una reducción en la eficacia sináptica de las aferentes Ib que activan a las interneuronas inhibitorias (Lafleur et al. 1992; Zytnicki y Jami 1998). Esto ha llevado a los autores a proponer la PAD autogénica de los órganos tendinosos como un mecanismo de autorregulación que filtra la información de tensión muscular, lo que permitiría contracciones musculares sostenidas. Por este motivo, la escasa PAD autogénica encontrada en las aferentes articulares en condiciones control ha sido interpretada como la preservación de la información de posición articular, lo que permite un ajuste correcto de la posición de la extremidad durante la ejecución de movimientos. Esto sugeriría que las aferentes articulares de bajo umbral carecen de PAD autogénica.

En este sentido, los resultados de la presente Tesis muestran que los patrones de PAH y PAD autogénica de las fibras aferentes de alto umbral del PAN si cambian durante el estado de sensibilización central inducido por la inyección intradérmica de capsaicina. En siete aferentes articulares encontramos el aumento en la PAD autogénica, que en condiciones control no existía o era escasa. En cuatro aferentes articulares encontramos una disminución de la PAH autogénica y en otras tres encontramos que, durante el curso temporal de la inflamación inducida por la capsaicina, esta PAH se transformó incluso en PAD autogénica. En este grupo de catorce aferentes articulares, la PAD autogénica se produjo con intensidades de estimulación del PAN entre 1.2 y 10 xT. Finalmente, en dieciocho aferentes articulares no se registraron cambios en los patrones de PAD o PAH autogénica después de la inyección de capsaicina.

En condición control, la PAD autogénica es producida generalmente con intensidades de estimulación condicionante por arriba del umbral periférico de la aferente articular estudiada. Después de la inyección de la capsaicina, la PAD autogénica facilitada es producida incluso con intensidades de estimulación por debajo

de su umbral periférico, sin aumentar la PAD producida con intensidades de estimulación mas altas. Podemos interpretar que la facilitación de la PAD autogénica del PAN por la inyección intradérmica de capsaicina se debe al aumento en la actividad sináptica de los circuitos espinales interpuestos en la vía de la PAD autogénica de las aferentes articulares, probablemente por un aumento en las influencias descendentes o segmentales que reciben dichos circuitos.

A partir del análisis de la características funcionales de las aferentes articulares estudiadas, podemos concluir que la facilitación de la PAD autogénica inducida por la inyección de capsaicina se presenta en aferentes con velocidades de conducción entre 24 y 40 m/s y la mayoría con umbrales de activación entre 2 y 7 xT. Si bien estas características sugieren que la mayoría de las aferentes articulares estudiadas tienen una relación de velocidad de conducción baja y umbral periférico alto, lo que caracteriza a las aferentes delgadas mielinizadas A δ , algunas aferentes articulares estudiadas podrían pertenecer a fibras de bajo umbral A β . Sin embargo, en el gato se ha encontrado que una proporción de nociceptores A δ tienen umbrales de activación mecánicos bajos y velocidades de conducción en el rango de fibras A β ; y en el mono, las aferentes nociceptivas del tipo AMH II (mechano-heat afferents A type II), con velocidades de conducción en el rango de fibras A δ responden a estímulos térmicos de baja intensidad (Djouhri y Lawson 2004). Esto sugiere que incluso las aferentes articulares con umbrales bajos en las que fue facilitada PAD autogénica por la inyección de capsaicina podrían ser aferentes A δ involucradas en la transmisión de información nociceptiva.

El aumento en la inhibición también puede inferirse incluso de la reducción de la PAH autogénica, que contrario a la despolarización, ha sido relacionada a la facilitación sináptica de las fibras aferentes, tanto por una mayor liberación de neurotransmisor debido al aumento de amplitud del potencial de acción que llega a la terminal del axón, como por la supresión de una PAD tónica ejercida sobre las fibras aferentes (Eccles y Krnjevic 1959; Rudomin et al. 1974). Por lo que es probable que ambos fenómenos sean producidos por circuitos independientes y que exista un balance de excitación e inhibición sobre la eficacia sináptica de las neuronas involucradas en la transmisión de información nociceptiva. Entonces, los cambios de PAH a PAD autogénica podrían

tratarse de un balance entre facilitación e inhibición ejercidas sobre las terminales intraespinales de las aferentes articulares a través de diferentes circuitos. En este sentido, la facilitación sináptica de los circuitos interpuestos en la vía de la PAD autogénica del PAN por la inyección de capsaicina podría anular el efecto de la PAH autogénica y, al aumentar su actividad gradualmente, transformarla en PAD autogénica.

Efecto del bloqueo espinal sobre los patrones de PAD y PAH autogénica de las aferentes articulares

Para determinar la posible influencia descendente sobre la PAD autogénica facilitada en las aferentes articulares, se analizaron los cambios en los patrones de PAD y PAH autogénica durante bloqueos espinales reversibles, aplicados antes y después de la inyección de capsaicina. En nuestros experimentos, encontramos que durante el bloqueo espinal aplicado antes de la inyección de la capsaicina la PAH autogénica se redujo en tres aferentes articulares, mientras que en ninguna hubo cambios de la PAD autogénica.

Por un lado, la reducción en la PAH autogénica durante el bloqueo espinal sugiere que la facilitación sináptica de las aferentes articulares producida por la estimulación del PAN es mediada por circuitos neuronales (Rudomin et al. 1974), que reciben influencias descendentes desde estructuras supraespinales, y no necesariamente ser una hiperpolarización producida por la estimulación de las fibras aferentes a altas frecuencias, como ha sido propuesto por otros investigadores (Ignelzi y Nyquist 1979; Morita et al. 1993).

Por otro lado, la PAD autogénica facilitada por la inyección de capsaicina también se redujo durante el bloqueo espinal. Al parecer, esta PAD sólo se mantuvo con intensidades de estimulación por arriba del umbral periférico de la fibra, lo que sugiere que la facilitación descendente de estos circuitos inducida por la capsaicina fue eliminada y sólo intensidades de estimulación altas, que activan a la misma fibra o fibras del mismo tipo, son capaces de producir PAD autogénica en las aferentes articulares.

Finalmente, al retirar el bloqueo espinal aplicado después de la inyección de capsaicina, la PAD autogénica facilitada no se recuperó. Este hecho plantea varias

hipótesis, una posibilidad es que la larga duración de los bloqueos espinales (mayor a 20 minutos) provocó un daño en la médula espinal, interrumpiendo la comunicación de las vías descendentes y eliminando la facilitación de la PAD desde estructuras supraespinales. Otra posibilidad sería que el bloqueo espinal provoque cambios en la actividad sináptica de los circuitos de la PAD autogénica del PAN facilitados por la capsaicina, y que la inhibición de la PAD autogénica provocada por la interrupción de las influencias descendentes persista por un tiempo mas prolongado que los registrados en el experimento.

Cambios producidos en los patrones de PAD heterogénica en aferentes articulares por la inyección intradérmica de capsaicina

Adicional al estudio de los cambios en la PAD autogénica, analizamos los cambios en los patrones de PAD heterogénica producida en las aferentes articulares por la estimulación de los nervios cutáneos SP y SU, los cuales inervan la región de la pata donde se desarrolla el proceso inflamatorio inducido por la capsaicina, y del nervio Saph, que inerva regiones más distales del sitio de inyección (Rudomin et al. 2007). En nuestros resultados encontramos que la PAD producida por la estimulación de los nervios SU y SP se facilitó después de la inyección de la capsaicina y aumentó gradualmente con el desarrollo de la inflamación, mientras que el nervio Saph no tuvo ningún efecto sobre el umbral intraespinal de la aferente articular ni antes ni después de la inyección de la capsaicina.

Al comparar los cambios producidos en los patrones de PAH y PAD de las aferentes articulares provocados por la estimulación condicionante del PAN y del nervio SP, el cual tiene mayor efecto sobre la excitabilidad de las aferentes articulares comparado con los nervios SU y Saph, encontramos que a diferencia de la reducción de la PAH autogénica y la facilitación gradual de la PAD autogénica provocados por la inyección de capsaicina, la PAD producida por la estimulación del nervio SP aumenta ligeramente en las aferentes articulares después de la estimulación nociceptiva. En la tabla 2 se muestran los casos en que la PAD heterogénica aumenta en cinco aferentes articulares, en seis disminuye y en dieciséis no cambia.

El aumento en la PAD heterogénica y autogénica en las aferentes articulares producido por la inyección intradérmica de capsaicina implicaría que estos circuitos son comunes para la misma fibra. Por lo tanto, la facilitación sináptica a nivel central, inducida por la estimulación cutánea nociceptiva, puede aumentar la actividad de los circuitos neuronales que median la PAD de las aferentes articulares en regiones de la médula espinal donde convergen entradas sinápticas del PAN y de aferentes cutáneas que inervan regiones donde se produce la inflamación por capsaicina. Funcionalmente, este fenómeno podría implicar que hay un aumento generalizado en la inhibición de aferentes primarias que transmiten información nociceptiva, aunque esto parece poco probable debido a la alta selectividad de la inhibición presináptica por el mecanismo de la PAD.

Estos resultados plantean la pregunta sí el aumento en la PAD heterogénica de las aferentes articulares producidos por la estimulación de aferentes cutáneas por un aumento en la inhibición presináptica, probablemente producido por la facilitación de la PAD autogénica de las propias aferentes cutáneas. Aunque se sabe que la estimulación nociceptiva aumenta la despolarización de las aferentes cutáneas de fibras aferentes nociceptivas A δ y C (Willis et al. 2000, Lin et al. 2003), el fenómeno de la PAD autogénica en aferentes cutáneas no ha sido reportado hasta ahora. Este mecanismo podría limitar la transmisión de información nociceptiva proveniente de regiones de hiperalgesia primaria y secundaria inducidas por la inyección de capsaicina, en forma análoga al aumento de la PAD autogénica de las aferentes articulares de alto umbral.

Cambios tónicos de la excitabilidad de aferentes articulares producidos por la inyección intradérmica de capsaicina

Otra observación que surge de esta serie de experimentos es que la inyección intradérmica de capsaicina aumenta gradualmente el umbral intraespinal de las fibras aferentes articulares A δ . Este fenómeno podría estar mediado por diferentes mecanismos. Por ejemplo, la disminución en la excitabilidad de las aferentes articulares podría estar asociado a mecanismos GABAérgicos a través de la activación sostenida de receptores GABA_A por un aumento en la actividad de interneuronas inhibitorias GABAérgicas involucradas en el control de la nocicepción. Una mayor liberación de GABA al espacio sináptico podría activar tónicamente receptores GABA_A ionotrópicos y

GABA_B metabotrópicos expresados en las sinapsis establecidas entre las neuronas GABAérgicas y las terminales de las fibras aferentes, produciendo en un inicio la despolarización de la fibra aferente (Rudomin et al. 1981; Stuart y Redman 1992; Ovsepyan y Vesselkin 2002), pero de manera tardía un incremento en el umbral intraespinal y una reducción de la despolarización de la terminal intraespinal (Čapek y Esplin 1982; Curtis et al. 1982; Carstens et al. 1987).

También, la despolarización sostenida de las fibras aferentes por la liberación de GABA activa fibras aferentes A δ y C produciendo potenciales de acción antidrómicos o reflejos de raíces dorsales (DRRs), lo cual contribuye con el proceso de inflamación cutánea neurogénica provocada por la liberación de péptidos como la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (Willis 1999; Lin et al. 1999, 2000; Wang et al. 2004; Ren et al. 2005). El aumento en la concentración de sustancia P en el cuerno dorsal ha sido asociado a la reducción de la excitabilidad de las fibras aferentes primarias de alto umbral A δ y C (Randić et al. 1982)

Otro mecanismo podría ser monoaminérgico, producido por cambios en la actividad de núcleos supraespinales involucrados en la modulación de circuitos que median la PAD, como la formación reticular y el núcleo del rafé, a través de la liberación de serotonina (5-HT), dopamina (DA) y noradrenalina (NA) que actúan sobre receptores GABAérgicos a nivel presináptico (Oksamitnyĭ y Tamarova 1987; Crunelli y Giovanni 2014; García-Ramírez et al. 2014). El mecanismo de acción esta asociado a la modulación de la actividad de receptores NMDA, por lo que la activación de receptores 5-HT₃ por serotonina (Carstens et al. 1987; Lopez-Garcia 2006) y de noradrenalina (Carstens et al. 1987; Jeftinija et al. 1981) pueden reducir la exocitosis de neurotransmisor y, por lo tanto, una reducción en la excitabilidad de las aferentes primarias.

Finalmente, la despolarización tónica de las aferentes primarias también se ha asociado a la activación de receptores GABA_A extrasinápticos (Bravo-Hernández et al 2016), asociados a la modulación de la actividad de neuronas mediante el control de corrientes iónicas sostenidas a través de la membrana, lo que despolariza a las terminales en forma tónica (Jia et al. 2005; Kullmann et al. 2005; Connelly et al. 2013). Este mecanismo podría explicar que los cambios de excitabilidad tónicos observados

en las aferentes articulares no estén relacionados con los cambios de excitabilidad fásicos provocados por la activación de receptores GABA_A sinápticos, debido a la estimulación condicionante del nervio articular y de los nervios cutáneos, como lo muestra la figura 27.

Los receptores 5GABA_A extrasinápticos producen alodinia en animales con diabetes y modulan la excitabilidad de las aferentes primarias. En estos experimentos realizados por Delgado y cols. se ha encontrado que el aumento en la excitabilidad de las fibras aferentes, producido por la despolarización tónica de las terminales intraespinales, esta asociada a la actividad de receptores GABA_A extrasinápticos, y de forma interesante, este fenómeno no modifica los cambios de excitabilidad fásica producidos por la estimulación condicionante de nervios sensoriales (Hernández-Reyes et al. 2019). La evidencia experimental muestra que un agonista inverso de los receptores α_5 GABA_A extrasinápticos aumenta tónicamente el potencial de acción antidrómico compuesto (cAP) registrado en nervio tibial, sin modificar el aumento del cAP producido por la estimulación condicionante de los nervios cutáneos sural y peroneo, es decir, la PAD fásica. Por lo tanto, la actividad tónica de los receptores α_5 GABA_A extrasinápticos podría estar involucrada en la modulación de la excitabilidad de las fibras aferentes que pueden modificar las respuestas nociceptivas en animales con dolor neuropático, sin modificar el control sobre las vías que regulan el control de reflejos espinales.

Limitaciones metodológicas en la medición de los cambios del umbral de activación intraespinal de aferentes articulares únicas

Un inconveniente del método utilizado para determinar los cambios en el umbral intraespinal de aferentes articulares únicas inducidos por la capsaicina es el tiempo necesario para que los efectos producidos por la inyección intradérmica de capsaicina se establezcan a nivel central. Con base en los resultados obtenidos sobre los cambios en los potenciales de campo del PAN (Rudomin y Hernández 2008) y de las correlaciones entre la actividad de neuronas del cuerno dorsal (Contreras-Hernández et al. 2018), sabemos que la capsaicina tarda entre 60 y 180 minutos para llegar a su máximo efecto. Por lo tanto, el registro continuo de la corriente de estimulación intraespinal y de los potenciales de acción antidrómicos en el nervio se encuentra entre

5 y 6 horas, desde la condición control, el bloqueo espinal reversible, al retirar el bloqueo espinal, durante 3 horas después de la inyección de la capsaicina y, en algunos experimentos, durante y después de un segundo bloqueo espinal reversible.

Por lo tanto, es posible que durante el transcurso del experimento puedan perderse las fibras estudiadas, lo que termina el experimento pues no es posible comparar los efectos de la inyección de capsaicina sobre el umbral de otra fibra articular con su condición control. Otra posibilidad es que la despolarización de las terminales aferentes provoque que nuevas aferentes articulares puedan ser activadas en el cuerno dorsal con intensidades de estimulación más bajas y que durante el experimento se estimule más de una fibra aferente.

Por este motivo, en los experimentos se compararon las formas de los potenciales de acción antidrómicos registrados durante las diferentes maniobras experimentales para cada una de las aferentes articulares. Esto nos ayudó a observar que después de un largo tiempo de registro, las características de los potenciales de acción tienen cambios graduales en amplitud, duración y latencia. Los cambios en amplitud y duración del potencial de acción antidrómico podrían estar asociados a efectos de degradación por daños del tejido producidos por la sección del nervio articular con algunas horas antes del inicio del registro de los potenciales antidrómicos (Cragg y Thomas 1961; Stöhr et al. 1977; Wall et al. 1992). Los cambios en latencia podrían deberse a la variación de la intensidad de estimulación intraespinal necesaria para producir el potencial de acción antidrómico, el aumento de la corriente de estimulación podría reducir el tiempo para superar el voltaje de umbral y activar la fibra más rápidamente. Por lo tanto, es razonable pensar que en los experimentos se registraron los cambios en el umbral intraespinal de las mismas aferentes articulares a pesar de que existan ligeros cambios en las características del potencial de acción antidrómico.

Discusión general

En el presente trabajo de Tesis hemos encontrado que la facilitación inducida por la inyección intradérmica de capsaicina sobre los potenciales de campo N3 del PAN aumenta de forma gradual durante la aplicación de bloqueos espinales sucesivos. Este resultado ha sido interpretado como el incremento gradual y selectivo de un componente inhibitorio descendente ejercido sobre neuronas espinales que reciben entradas sinápticas de aferentes articulares de alto umbral ($A\delta$) del PAN. Este aumento de la inhibición descendente tiende a limitar la facilitación de la información nociceptiva en regiones de la médula espinal en donde el aumento de la actividad sináptica de neuronas del cuerno dorsal inducida previamente por la capsaicina es mayor, esto es en la parte profunda del cuerno dorsal en el segmento espinal L6 (Rudomin y Hernández 2008). En contraste, la inhibición descendente no afecta de manera significativa a las neuronas que reciben información de aferentes articulares de bajo umbral ($A\beta$) del PAN, probablemente para transmitir la mayor cantidad de información propioceptiva utilizada por el sistema para la correcta ejecución de movimientos de la extremidad en estados de dolor causados por inflamación.

A este respecto, se ha encontrado que en los barorreceptores que transmiten la información de presión arterial desde la aorta no presentan ningún tipo de control a nivel presináptico, lo que sugiere que la información transmitida por estas aferentes primarias vagales es importante para el correcto ajuste de los parámetros del sistema autónomo, regulando la presión arterial a través de la frecuencia cardíaca y la resistencia vascular sistémica por la activación del reflejo barorreceptor (Jordan y Spyer 1979; Richter et al. 1986). También, se sabe que las vías descendentes que controlan la excitabilidad del reflejo monosináptico, modulando la actividad de aferentes musculares del grupo Ia, no tienen modulación presináptica, lo que sugiere que los comandos descendentes tienen prioridad en el comando de la ejecución de movimientos voluntarios sobre la ejecución de movimientos reflejos (Rudomin et al. 1975; Rudomin et al. 1991).

Adicionalmente, hemos encontrado que la inyección intradérmica de capsaicina aumenta la PAD autogénica y heterogénica en aferentes articulares de baja velocidad de conducción y alto umbral de activación periférico, es decir, hay una facilitación de la

inhibición presináptica de aferentes articulares A δ . En algunas aferentes articulares, se ha facilitado la PAD autogénica después de la inyección intradérmica de capsaicina con intensidades de estimulación que no fueron efectivas para producirla en condiciones control. Por otro lado, en otras aferentes articulares hemos encontrado que la inyección intradérmica de capsaicina reduce la hiperpolarización autogénica (PAH) producida por la estimulación del PAN, mecanismo asociado a la facilitación sináptica por algunos autores (Eccles y Krnjevic 1959; Mendell y Wall 1964; Mendell 1972; Levy y Anderson 1974; Rudomin et al 1974; Barber et al. 1977), e incluso tiempo después dicha PAH se transformó en PAD autogénica, lo que ha sido interpretado con un cambio en el balance de facilitación e inhibición inducido por la inyección intradérmica de capsaicina, disminuyendo la eficacia sináptica de aferentes articulares de alto umbral A δ a nivel presináptico.

El curso temporal del aumento de la PAD autogénica en las aferentes articulares por la inyección de capsaicina sugiere que es un mecanismo facilitado a nivel central durante el desarrollo de la inflamación y no por la activación cutánea *per se*. Es probable que, el aumento de la actividad de neuronas que reciben entradas sinápticas de aferentes cutáneas de alto umbral facilite los circuitos espinales involucrados en la modulación de la transmisión de información nociceptiva, dentro de los cuales se encuentran los circuitos interpuestos en la vía de la PAD autogénica.

El aumento de la PAD autogénica de aferentes A δ del PAN es interesante desde el punto de vista de la capacidad del sistema nervioso para activar mecanismos de auto-regulación sináptica en forma dinámica y selectiva, con el propósito de limitar, en este caso, la información nociceptiva facilitada durante estados de inflamación producidos por la estimulación nociceptiva, antes de ser transmitida a estructuras de integración sensorial en el sistema nervioso central, sin afectar la transmisión de información propioceptiva necesaria para la correcta ejecución de movimientos voluntarios durante estados de nocicepción e inflamación.

Por este motivo, sería importante en trabajo futuro analizar los efectos producidos por la inyección intradérmica de capsaicina sobre los patrones de PAD autogénica y heterogénica de aferentes del PAN con velocidades de conducción mas altas o activadas por estímulos inocuos, con el propósito de determinar si este

mecanismo de autocontrol es diferencial y actúa principalmente sobre aferentes nociceptivas $A\delta$ sin afectar aferentes propioceptivas $A\beta$.

Circuito neuronal que podrían explicar los procesos de facilitación e inhibición sináptica de las fibras aferentes articulares del PAN producidos por la inyección intradérmica de capsaicina.

En la figura 30 están representados los circuitos neuronales que son parte del sistema somatosensorial. Las neuronas de proyección del cuerno dorsal reciben entradas sinápticas de fibras aferentes cutáneas y articulares, y transmiten la información sensorial a núcleos supraespinales como el tálamo, la formación reticular y la sustancia gris periacueductal, a través de los tractos espino-talámico, espino-reticular y espino-mescencefálico. La información sensorial llega finalmente a estructuras de integración como la corteza somatosensorial, a través de conexiones tálamo-corticales, en donde se procesa la información para determinar la localización y la intensidad del estímulo, y a otras regiones en donde se procesa la información sobre el carácter aversivo y emocional del estímulo, como la amígdala, la corteza cingulada y la corteza insular (Basbaum et al. 2009).

La figura 30 también muestra los circuitos interpuestos en la vía de la PAD heterogénea de las aferentes articulares y cutáneas. La estimulación de estos nervios sensoriales activa los circuitos de la PAD que tienen como elementos de último orden interneuronas GABAérgicas que establecen contacto axo-axónico con las terminales intraespinales de las fibras aferentes. La activación de los receptores $GABA_A$ provoca la despolarización de las terminales aferentes, lo que explica la PAD producida en las aferentes articulares por la estimulación de fibras cutáneas y viceversa.

Dentro de los circuitos representados, también se encuentra el circuito de la PAD autogénea de las aferentes articulares. Nuestra hipótesis es que las aferentes articulares tienen escasos efectos de PAD autogénea en condiciones control debido a que estos circuitos son de baja eficacia sináptica, lo que requiere para su activación intensidades de estimulación altas (>2 xT), superando el umbral periférico o para activar más aferentes articulares, o con estímulos con trenes de pulsos de alta frecuencia aumentando la eficacia sináptica por sumación temporal (Jankowska et al. 1993;

Rudomin y Lomelí 2007). Otra posibilidad es que los circuitos de la PAD autogénica del PAN sean inhibidos tónicamente por estructuras supraespinas. Sin embargo, nuestra evidencia experimental muestra que durante la aplicación de bloqueos espinales hay pocos cambios en los patrones de PAD autogénica de las aferentes articulares, lo que sugiere que las influencias descendentes inhibitorias sobre estos circuitos también son escasas.

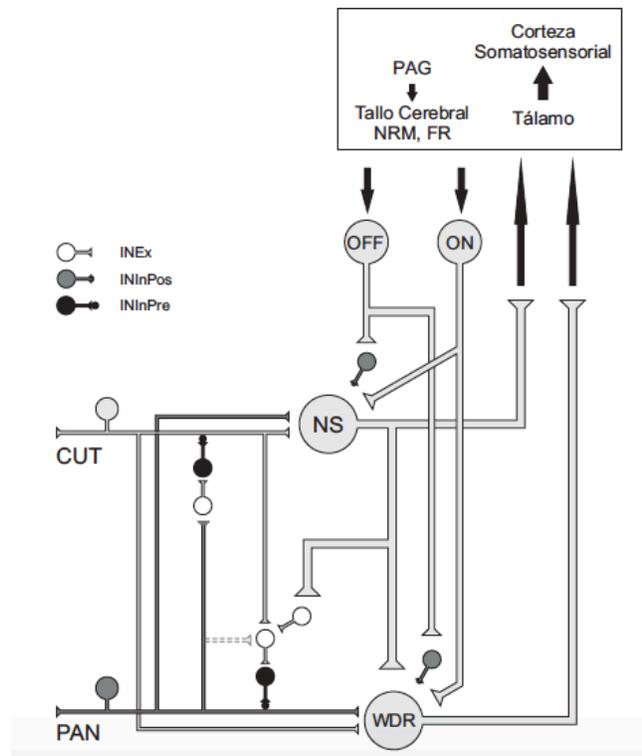


Figura 30. Circuito representativo del sistema somatosensorial. CUT, fibras cutáneas. PAN, nervio articular posterior. NS, neuronas nociceptivas específicas. WDR, neuronas de amplio rango dinámico. ON, células ON. OFF, células OFF. INEx, interneuronas excitatorias. INInPos, interneuronas inhibitorias posinápticas. INInPre, interneuronas inhibitorias presinápticas. PAG, substancia gris periacueductal. NMR, núcleo del rafe magnus. FR, formación reticular. Note, los circuitos de la PAD autogénica son de baja eficacia sináptica, por lo que son representados en líneas punteadas. Mas explicaciones en el texto.

La inyección intradérmica de capsaicina activa aferentes cutáneas de alto umbral A δ y C que expresan el receptor TRPV1. Estas aferentes cutáneas establecen contacto sináptico con neuronas nociceptivas específicas (NS) en las láminas superficiales I-II y con neuronas de amplio rango dinámico (WDR) en la lámina V del cuerno dorsal (Basbaum et al. 2009). Estas neuronas también reciben entradas sinápticas de aferentes articulares del PAN, principalmente entre los niveles segmentales L5 a L7 (figura 31).

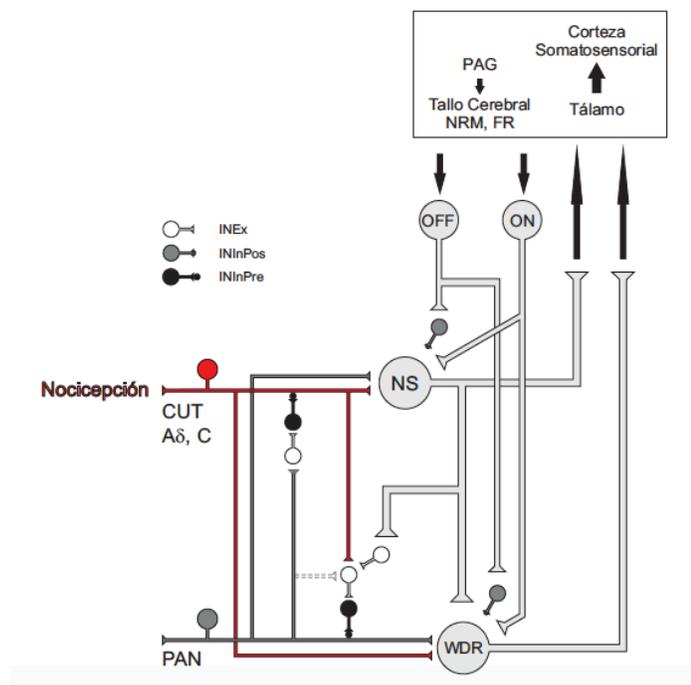


Figura 31. Estimulación nociceptiva por la inyección intradérmica de capsaicina. CUT, fibras cutáneas. PAN, nervio articular posterior. NS, neuronas nociceptivas específicas. WDR, neuronas de amplio rango dinámico. ON, células ON. OFF, células OFF. INEx, interneuronas excitatorias. INInPos, interneuronas inhibitorias posinápticas. INInPre, interneuronas inhibitorias presinápticas. PAG, sustancia gris periacueductal. NRM, núcleo del rafé magnus. FR, formación reticular. Mas explicaciones en el texto.

La activación de las aferentes cutáneas Aδ y C por la estimulación nociceptiva induce un estado de sensibilización central que incrementa de forma gradual la actividad de neuronas de segundo orden NS y WDR, provocando a su vez la facilitación de las respuestas espinales del PAN, principalmente del componente N3 producido por la activación de aferentes articulares de alto umbral, y en mayor medida en las respuestas registradas en la parte profunda del cuerno dorsal (láminas V-VI) del segmento L6. Esto representaría un aumento en la actividad de neuronas WDR por la activación de aferentes articulares (figura 32).

El incremento en la actividad de las neuronas de proyección NS y WDR (Basbaum y Jessell 2000), aumenta la actividad de núcleos tálamo-corticales involucrados en el procesamiento de la información nociceptiva. El sistema tálamo-cortical lateral está integrado por los núcleos de relevo laterales del tálamo y las áreas de la corteza somatosensorial SI y SII. En este sistema se procesa la localización, duración e intensidad de los estímulos nociceptivos, es decir, los aspectos subjetivos de

la percepción del dolor. El sistema tálamo-cortical medial está integrado por los núcleos de relevo centrales y mediales del tálamo, y por la corteza cingulada anterior, la corteza prefrontal, la corteza insular y la amígdala. En este sistema se genera el componente afectivo o emocional del dolor (Schaible et al. 2006, Basbaum et al. 2009).

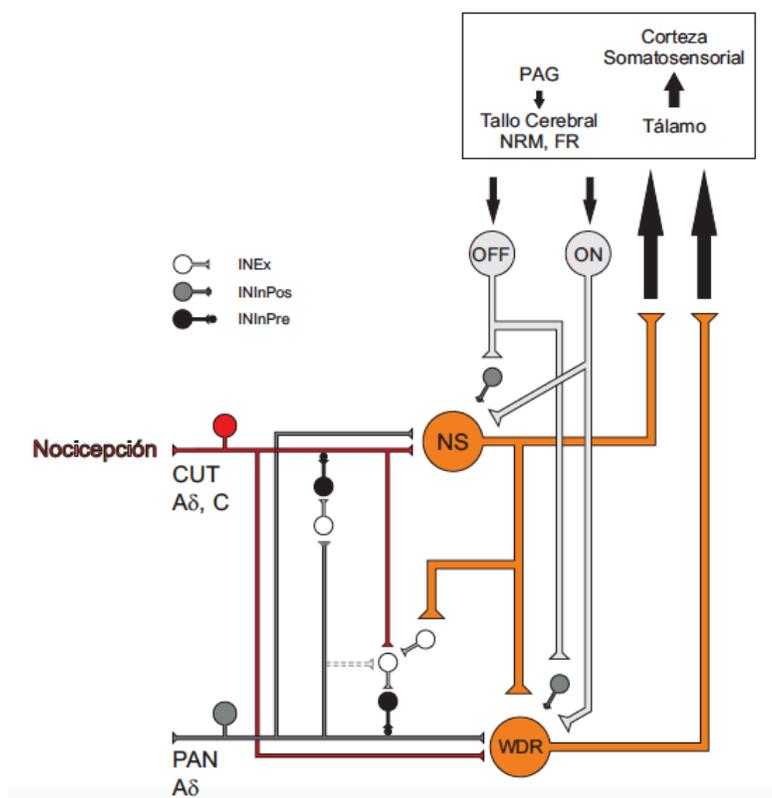


Figura 32. Aumento de la actividad de neuronas de proyección por la estimulación nociceptiva. CUT, fibras cutáneas. PAN, nervio articular posterior. NS, neuronas nociceptivas específicas. WDR, neuronas de amplio rango dinámico. ON, células ON. OFF, células OFF. INEx, interneuronas excitatorias. INInPos, interneuronas inhibitorias posinápticas. INInPre, interneuronas inhibitorias presinápticas. PAG, sustancia gris periacueductal. NRM, núcleo del rafe magnus. FR, formación reticular. Mas explicaciones en el texto.

Este aumento de la información ascendente puede a su vez activar en forma directa o indirecta, a través de núcleos supraespinales como la corteza somatosensorial o el hipotálamo, a núcleos supraespinales a nivel del tallo cerebral con proyecciones descendentes involucrados en la modulación del dolor a nivel del cuerno dorsal. Dentro de estos núcleos se encuentran la formación reticular y el núcleo del rafe, con proyecciones descendentes a través del fonículo dorso-lateral. En el núcleo del rafe, aumenta en primera instancia la actividad de neuronas que facilitan las respuestas nociceptivas a nivel de la médula espinal denominadas “células ON” (figura 33). Esto

aumento en la eficacia sináptica de las aferentes articulares de alto umbral A δ , inducido por la estimulación nociceptiva, sin alterar probablemente la eficacia sináptica de aferentes articulares de bajo umbral A β . Esta modulación diferencial en la eficacia sináptica de las aferentes articulares podría tener implicaciones funcionales, limitando la cantidad de información que puede ser interpretada como nociceptiva antes de ser transmitida a neuronas de segundo orden en el cuerno dorsal, y manteniendo intacta la información propioceptiva necesaria para el correcto posicionamiento de la articulación durante la ejecución de movimientos de la extremidad en estados de inflamación y dolor. Ambos componentes pre y posinápticos reducirían la cantidad de información nociceptiva enviada a estructuras supraespinales, manteniendo en el sistema un estado de equilibrio y previniendo estados patológicos como el dolor crónico.

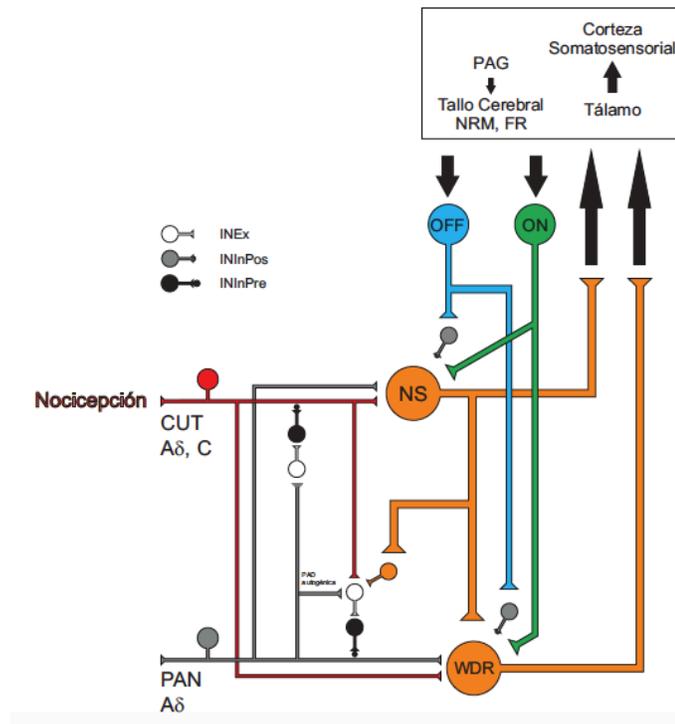


Figura 34. Aumento de la inhibición descendente por el aumento de células OFF y facilitación sináptica de los circuitos interpuestos en la vía de la PAD autogénica de aferentes articulares de alto umbral. CUT, fibras cutáneas. PAN, nervio articular posterior. NS, neuronas nociceptivas específicas. WDR, neuronas de amplio rango dinámico. ON, células ON. OFF, células OFF. INEx, interneuronas excitatorias. INInPos, interneuronas inhibitorias posinápticas. INInPre, interneuronas inhibitorias presinápticas. PAG, sustancia gris periacueductal. NRM, núcleo del raquí magnus. FR, formación reticular. Mas explicaciones en el texto.

Perspectivas y trabajo futuro

El presente trabajo de Tesis muestra que, durante el estado de sensibilización central inducido por la inyección intradérmica de capsaicina, hay un aumento en el tono inhibitorio descendente ejercido sobre neuronas del cuerno dorsal con entradas sinápticas de aferentes articulares de alto umbral del PAN. Esta inhibición actúa principalmente en la parte profunda del cuerno dorsal (láminas V-VII) a nivel segmental L6, región de la médula en donde hay convergencia de entradas sinápticas de aferentes articulares del PAN y de aferentes cutáneas con proyecciones periféricas en regiones donde se produce la inflamación inducida por la capsaicina. Adicionalmente, hemos encontrado que la inyección de capsaicina aumenta la PAD autogénica de las aferentes articulares A δ , fenómeno que ha sido propuesto como un sistema de autocontrol que limita el paso de información nociceptiva que es transmitida por aferentes articulares de alto umbral antes de alcanzar neuronas espinales de segundo orden. Finalmente, encontramos que la inyección de capsaicina aumenta gradualmente el umbral intraespinal de las fibras aferentes articulares, lo que ha sido interpretado como una reducción en la excitabilidad de las fibras aferentes articulares, probablemente como un mecanismo alterno de control de la eficacia sináptica durante estados de sensibilización central.

Derivado de esta investigación surgen las siguientes preguntas:

- 1) A partir de la suposición que la PAD autogénica se facilita sobre aferentes articulares de alto umbral para disminuir la transmisión de información nociceptiva, es importante investigar cuál es el efecto de la inyección intradérmica de capsaicina sobre los patrones de despolarización de aferentes articulares de bajo umbral A β , involucradas en la transmisión de información propioceptiva.
- 2) La evidencia del aumento de la PAD autogénica y heterogénica sugiere la activación de circuitos que son comunes para ambas vías a nivel espinal; sin embargo, es importante esclarecer cuál es la contribución de estructuras supraespinales a través de influencias descendentes en este aumento de la inhibición presináptica.

- 3) Finalmente, sería muy importante estudiar cuáles son los mecanismos asociados al aumento de la PAD y al umbral intraespinal inducidos por la inyección intradérmica de capsaicina en aferentes articulares de alto umbral del PAN. Utilizando técnicas farmacológicas se podría investigar la posible participación de receptores GABAérgicos, serotoninérgicos, dopaminérgicos, noradrenérgicos, o peptidérgicos involucrados en el control de la eficacia sináptica de las fibras aferentes primarias.

Apéndice

Experimento	Latencia del Potencial Antidrómico	Umbral Periférico	Velocidad de Conducción	Nivel Segmental	Distancia del Nervio al Microelectrodo	Profundidad
26-ago-10	5.2 ms	NC	36.5 m/s	Caudal L5	19 cm	1.8 mm
26-ago-10	4.2 ms	NC	45.2 m/s	Rostral L6	19 cm	1.8 mm
18-nov-10	5.2 ms	NC	31.1 m/s	Medial L6	16.2 cm	1.25 mm
18-nov-10	6.1 ms	NC	26.5 m/s	Caudal L6	16.2 cm	1.86 mm
25-nov-10	6.1 ms	NC	27.8 m/s	Medial L6	17 cm	1.3 mm
25-nov-10	4.9 ms	NC	34.7 m/s	Medial L6	17 cm	1.9 mm
07-dic-10	5.7 ms	3 xT	27.7 m/s	Rostral L6	15.8 cm	1 mm
07-dic-10	6.5 ms	5 xT	24.3 m/s	Medial L6	15.8 cm	0.75 mm
01-mar-11	4.8 ms	1 xT	40 m/s	Caudal L5	19.2 cm	1.9 mm
01-mar-11	5.9 ms	1.5 xT	32.8 m/s	Rostral L6	19.4 cm	1.5 mm
08-mar-11	4.6 ms	1 xT	40.6 m/s	Caudal L5	18.7 cm	1.7 mm
08-mar-11	8.1 ms	3 xT	23 m/s	Medial L6	18.7 cm	1.5 mm
24-may-11	8.8 ms	4 xT	23.3 m/s	Caudal L5	20.5 cm	0.6 mm
24-may-11	7 ms	3 xT	28.7 m/s	Rostral L6	20.1 cm	1.8 mm
02-jun-11	4.2 ms	1.5 xT	48.2 m/s	Caudal L5	18 cm	1.5 mm
02-jun-11	6 ms	3 xT	29 m/s	Medial L6	17.4 cm	1.18 mm
04-ago-11	4.7 ms	1.5 xT	38.5 m/s	Rostral L6	18.1 cm	0.95 mm
04-ago-11	5.2 ms	2 xT	34.4 m/s	Caudal L6	17.9 cm	1.4 mm
18-oct-11	4 ms	3 xT	50 m/s	Rostral L6	20 cm	1.5 mm
18-oct-11	6.4 ms	2 xT	30.7 m/s	Medial L6	19.7 cm	1.5 mm
14-dic-11	5.2 ms	5 xT	36.1 m/s	NL	18.8 cm	1.6 mm
14-dic-11	5.4 ms	7 xT	34.8 m/s	NL	18.8 cm	1.5 mm
31-ene-12	5.4 ms	1 xT	34 m/s	Medial L6	18.4 cm	1.58 mm
27-mar-12	6.4 ms	5 xT	28.9 m/s	Rostral L6	18.5 cm	1.8 mm
27-mar-12	5.6 ms	4 xT	33 m/s	Caudal L6	18.5 cm	2.0 mm
17-abr-12	5 ms	1 xT	37 m/s	Rostral L6	18.5 cm	2.0 mm
17-abr-12	4.4 ms	1 xT	42 m/s	Caudal L6	18.5 cm	1.9 mm
24-may-12	4.8 ms	4 xT	37.5 m/s	NL	18.0 cm	1.4 mm
24-may-12	4 ms	1 xT	45 m/s	NL	18.0 cm	1.8 mm
07-jun-12	5.6 ms	4 xT	31.25 m/s	Caudal L5	17.5 cm	2.2 mm
20-jun-13	5.6 ms	2.5xT	32.1 m/s	Caudal L5	18 cm	1.36 mm
20-jun-13	6 ms	4xT	30 m/s	Rostral L6	18 cm	1.9 mm

Tabla 1. Características de las aferentes articulares. NC, no calculado.

Fibra	Latencia del Potencial Antidrómico	Umbral Periférico	Velocidad de Conducción	Corriente Intraespinal Control (µA)	Corriente Intraespinal al Máximo Efecto de Capsaicina (µA)	% de Cambio	Tiempo de Inicio del Aumento de la Corriente Intraespinal (min)	Tiempo al Máximo Efecto (min)	Efecto del Bloqueo sobre la Corriente Intraespinal antes de Capsaicina	Efecto del Bloqueo sobre la Corriente Intraespinal después de Capsaicina	Cambios en la PAD Autogénica Inducidos por Capsaicina	Cambios en la PAD Heterogénica Inducidos por Capsaicina
1	5.2 ms	NC	36.5 m/s	4.6	7.5	162	174	212	No cambia	No cambia	PAH cambia a PAD	PAD SP no cambia
2	4.2 ms	NC	45.2 m/s	2.1	14.4	670	36	167	Aumenta	No cambia	PAD no cambia	PAD no cambia
3	5.2 ms	NC	31.1 m/s	14	14	100	*	*	Aumenta	*	PAH no cambia	PAD no cambia
4	6.1 ms	NC	26.5 m/s	3.8	3.8	100	*	*	No cambia	*		
5	6.1 ms	NC	27.8 m/s	8.6	13.5	156	0	84	Aumenta	*	PAD aumenta	PAD aumenta
6	4.9 ms	NC	34.7 m/s	12.2	18	147	0	27	No cambia	*	PAD aumenta	PAD no cambia
7	5.7 ms	3 xT	27.7 m/s	9.1	21	230	0	19	No cambia	Disminuye	PAH cambia a PAD	PAD disminuye
8	6.5 ms	5 xT	24.3 m/s	5.5	5.5	100	*	*	Aumenta	Disminuye	PAH desaparece	PAD disminuye
9	4.8 ms	1 xT	40 m/s	14.9	29	194	0	250	No cambia	Aumenta	PAH desaparece	PAD no cambia
10	5.9 ms	1.5 xT	32.8 m/s	0.8	0.8	100	*	*	No cambia	Aumenta	PAD no cambia	PAD no cambia
11	4.6 ms	1 xT	40.6 m/s	2.18	20.4	933	74	194	No cambia	Disminuye	PAD no cambia	PAD no cambia
12	8.1 ms	3 xT	23 m/s	16	16	100	*	*	No cambia	Disminuye	PAD aumenta	PAD no cambia
13	8.8 ms	4 xT	23.3 m/s	7.6	7.6	100	*	*	No cambia	No cambia	PAH no cambia	PAD aumenta
14	7 ms	3 xT	28.7 m/s	16.5	16.5	100	*	*	No cambia	*	PAH disminuye	PAD disminuye
15	4.2 ms	1.5 xT	48.2 m/s	3.8	5	130	90	153	Disminuye	Disminuye	PAD no cambia	PAD aumenta ligeramente
16	6 ms	3 xT	29 m/s	4	4	100	*	*	No cambia	No cambia	PAH desaparece	PAD disminuye
17	4.7 ms	1.5 xT	38.5 m/s	7.2	13.5	186	68	140	Disminuye	No cambia	PAD no cambia	PAD aumenta ligeramente
18	5.2 ms	2 xT	34.4 m/s	3.3	9.4	280	75	235	No cambia	Disminuye	PAD no cambia	PAD no cambia
19	4 ms	3 xT	50 m/s	3.7	13.2	360	0	230	Aumenta	Aumenta	PAD no cambia	PAD no cambia
20	6.4 ms	2 xT	30.7 m/s	2.3	33.3	1420	111	236	No cambia	Disminuye	PAH desaparece	PAD disminuye
21	5.2 ms	5 xT	36.1 m/s	5.8	18	312	0	92	No cambia	*	PAD no cambia	PAD no cambia
22	5.4 ms	7 xT	34.8 m/s	2.3	11.8	511	33	92	No cambia	*	PAD no cambia	PAD no cambia
23	6.4 ms	5 xT	28.9 m/s	14.4	31.5	219	108	133	*	Aumenta	PAH desaparece	PAD disminuye
24	5.6 ms	4 xT	33 m/s	11.4	23	202	104	157	*	No cambia	PAD no cambia	PAD no cambia
25	5 ms	1 xT	37 m/s	11.3	6	52	19	106	*	No cambia	PAD no cambia	PAD no cambia
26	4.8 ms	4 xT	37.5 m/s	12.8	27.8	217	30	124	*	No cambia	PAD aumenta	PAD aumenta
27	4 ms	1 xT	45 m/s	16.2	25.2	156	118	160	*	Disminuye	PAH no cambia	PAD no cambia
28	5.6 ms	4 xT	31.25 m/s	3.2	0.2	6	62	111	*	Aumenta	PAH no cambia	PAD no cambia
29	7.4 ms	5.5 xT	23.78 m	3.5	22.8	659	37	75	*	*	PAH cambia a PAD	NC
30	11.6 ms	10 xT	15.17 m/s	6.9	16.4	240	0	57	*	*	PAH no cambia	NC
31	5.6 ms	2.5 xT	32.1 m/s	15.6	26.2	167	42	146	*	*	PAD aumenta	NC
32	6 ms	4 xT	30 m/s	13.5	28.5	210	42	58	*	*	PAD aumenta	NC

Tabla 2. Cambios tónicos en el umbral de activación intraespinal.

NC, no calculado. * no fue medido.

Referencias

- Alvarez FJ (1998) Anatomical basis for presynaptic inhibition of primary sensory fibers. In: Rudomin P, Romo R, Mendell L (eds) *Presynaptic inhibition and neural control*. Oxford University Press, New York, pp 13–49
- Alvarez-Leefmans FJ, Nani A, Marquez S (1998) Chloride transport, osmotic balance, and presynaptic inhibition. In: Rudomin P, Romo R, Mendell L (eds) *Presynaptic inhibition and neural control*. Oxford University Press, New York, pp 50–79
- Barber R, Vaughn J, Saito K, McLaughlin B, Roberts E (1978) GABAergic terminals are presynaptic to primary afferent terminals in the substantia gelatinosa of the rat spinal cord. *Brain research* 141(1):35-55.
- Barron D, Matthews B (1938) The interpretation of potential changes in the spinal cord. *J Physiol* 92:276-321
- Basbaum A, Bautista D, Scherrer G, Julius D (2009) Cellular and molecular mechanisms of pain. *139(2):267-284*.
- Basbaum A, Fields H (1978) Endogenous pain control mechanisms: review and hypothesis. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society* 4(5):451-462.
- Baumann TK, Simone DA, Shain CN, LaMotte RH (1991) Neurogenic hyperalgesia: the search for the primary cutaneous afferent fibers that contribute to capsaicin-induced pain and hyperalgesia. *J Neurophysiol* 66(1):212-227
- Beecher H (1946) Pain in men wounded in battle. *Ann Surg* 123(1):96–105.
- Bernard G, Bouyer L, Provencher J, Rossignol S (2007) Study of Cutaneous Reflex Compensation During Locomotion After Nerve Section in the Cat. *J Neurophysiol* 97: 4173–4185
- Bras H, Jankowska E, Noga B, Skoog B (1990) Comparison of effects of various types of NA and 5-HT agonists on transmission from group II muscle afferents in the cat. *European Journal of Neuroscience* 2(12):1029-1039.
- Bravo-Hernández M, Corleto J, Barragán-Iglesias P, González-Ramírez R, Pineda-Farías J, Felix R, Calcutt N, Delgado Lezama R, Marsala M, Granados-Soto V (2016) The $\alpha 5$ subunit-containing GABAA receptors contribute to chronic pain. *Pain* 157(3):613-626.
- Brown A (1982) Review article the dorsal horn of the spinal cord. *Quarterly Journal of Experimental Physiology: Translation and Integration* 67(2):193-212.
- Burke R, Rudomin P, Vyklicky L, Zajac III F (1971) Primary afferent depolarization and flexion reflexes produced by radiant heat stimulation of the skin. *J Physiol* 213:185-214.
- Campbell JN, Meyer RA (2006) Mechanisms of Neuropathic Pain. *Neuron* 52, 77–92.
- Čapek, R, Esplin B (1982) Baclofen-induced decrease of excitability of primary afferents and depression of monosynaptic transmission in cat spinal cord. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 60(2):160-166.
- Carlson J, Maire J, Martenson M, Heinricher M (2007) Sensitization of Pain-Modulating Neurons in the Rostral Ventromedial Medulla after Peripheral Nerve Injury *J Neurosci* 28;27(48):13222-31.

- Carpenter D, Lundberg A, Norrsell U (1963) Primary Afferent Depolarization Evoked from the Sensorimotor Cortex. *Acta Physiol Scand* 59:126-142.
- Carstens E, Gilly H, Schreiber H, Zimmermann M (1987) Effects of midbrain stimulation and iontophoretic application of serotonin, noradrenaline, morphine and GABA on electrical thresholds of afferent C- and A-fibre terminals in cat spinal cord. *Neuroscience* 21(2):395-406.
- Cervero F, Iggo A (1980) The substantia gelatinosa of the spinal cord: a critical review. *Brain* 103(4):717-772.
- Cervero F, Schaible HG, and Schmidt RF (1991) Tonic descending inhibition of spinal cord neurons driven by joint afferents in normal cats and in cats with an inflamed knee joint *Exp Brain Res* 83:675-678.
- Connelly W, Errington A, Di Giovanni G, Crunelli V (2013) Metabotropic regulation of extrasynaptic GABAA receptors. *Frontiers in neural circuits* 7:171.
- Cook W, Cangiano A, Pompeiano O (1969) An electrical investigation of the efferent pathways from the vestibular nuclei. *Arch Ital Biol* 107(3):235-74.
- Cragg B, Thomas P (1961) Changes in conduction velocity and fibre size proximal to peripheral nerve lesions. *The Journal of physiology* 157(2):315-327.
- Craig AD, Heppelmann B, Schaible HG (1988) The projection of the medial and posterior articular nerves of the cat's knee to the spinal cord. *J Comp Neurol.* 276(2):279-88.
- Crunelli V, Di Giovanni G (2014) Monoamine modulation of tonic GABAA inhibition. *Reviews in the Neurosciences* 25(2):195-206.
- Curtis D, Lodge D, Bornstein J, Peet M, Lean J (1982) The dual effects of GABA and related amino acids on the electrical threshold of ventral horn group Ia afferent terminations in the cat. *Exp Brain Res* 48(3):387-400.
- Derbyshire SWG (1997) Pain Processing during three levels of noxious stimulation produces differential patterns of central activity. *Pain* 73(3):431-445
- Devanandan M, Eccles R, Stenhouse D (1966). Presynaptic inhibition evoked by muscle contraction. *The Journal of physiology* 185(2):471.
- Devanandan M, Eccles R, Yokota T (1965). Depolarization of afferent terminals evoked by muscle stretch. *The Journal of physiology* 179(3):417.
- Dickhaus H, Pauser G, Zimmermann M (1985) Tonic descending inhibition affects intensity coding of nociceptive responses of spinal dorsal horn neurones in the cat. *Pain* 23(2):145-158.
- Djoughri L, Lawson S (2004) A β -fiber nociceptive primary afferent neurons: a review of incidence and properties in relation to other afferent A-fiber neurons in mammals. *Brain Research Reviews* 46(2):131-145.
- Dougherty PM, Willis WD (1992) Enhanced responses of spinothalamic tract neurons to excitatory amino acids accompany capsaicin-induced sensitization in the monkey. *J Neurosci.* 12(3): 883-94.
- Dray A (1992) Mechanism of action of capsaicin-like molecules on sensory neurons. *Life Science* 51: 1759-1765.

- Dubner R, Bennett G (1983) Spinal and trigeminal mechanisms of nociception. *Annual review of neuroscience* 6(1):381-418.
- Dunlap K (1998) Mechanisms and physiological implications of receptor-mediated inhibition of voltage-dependent Ca²⁺ channels. In: Rudomin P, Romo R, Mendell L (eds) *Presynaptic inhibition and neural control*. Oxford University Press, New York, pp 80–94
- Eccles JC, Eccles RM, Magni F (1961) Central inhibitory action attributable to presynaptic depolarization produced by muscle afferent volleys. *J Physiol* 159:147–166
- Eccles JC, Kostyuk PG, Schmidt RF (1962a) Central pathways responsible for depolarization of primary afferent fibres. *J Physiol* 161:237–257
- Eccles JC, Krnjevic K (1959) Potential changes recorded inside primary afferent fibres within the spinal cord. *J Physiol* 149: 250–273
- Eccles JC, Krnjevic K (1959) Presynaptic changes associated with post-tetanic potentiation in the spinal cord. *J. Physiol.* 149, 274-287
- Eccles JC, Magni F, Willis WD (1962b) Depolarization of central terminals of group I afferent fibres from muscle. *J Physiol* 160:62–93
- Eccles JC, Schmidt RF, Willis WD (1963) Depolarization of central terminals of cutaneous afferent fibers. *J Neurophysiol* 26(4):646-661
- Eccles J, Schmidt R, Willis W (1963) Depolarization of central terminals of group Ib afferent fibers of muscle. *Journal of Neurophysiology* 26(1):1-27.
- Eccles JC, Schmidt RF, Willis WD (1963c) Pharmacological studies on presynaptic inhibition. *J Physiol* 168:500–530.
- Eide E, Jurna I, Lundberg A (1968) Conductance measurements from motoneurons during presynaptic inhibition. *Structure and function of inhibitory neuronal mechanisms* 215-219.
- Enríquez M, Jiménez I, Rudomin P (1996b) Segmental and supraspinal control of synaptic effectiveness of functionally identified muscle afferents in the cat. *Exp Brain Res* 107:391–404.
- Ferrell W (1987) The effect of acute joint distension on mechanoreceptor discharge in the knee of the cat. *Quarterly Journal of Experimental Physiology Translation and Integration* 72(4):493-499.
- Fields H, Heinricher M, Mason P (1991) Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. *Annual review of neuroscience* 14(1):219-245.
- Frank K (1959). Basic mechanism of synaptic transmission in the central nervous system. *I.R.E. Transm. Med. Electron.* ME-6:85-88.
- Frank K, Fuortes MGF (1957) Presynaptic and postsynaptic inhibition of monosynaptic reflexes. *Fed. Proc.* 16, 39-40.
- García-Ramírez D, Calvo J, Hochman S, Quevedo J (2014) Serotonin, dopamine and noradrenaline adjust actions of myelinated afferents via modulation of presynaptic inhibition in the mouse spinal cord. *PLoS One.* 28;9(2):e89999
- Gardner E, Latimer F, Stilwell D (1949) Central connections for afferent fibers from the knee joint of the cat. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 159(2):195–198.

- Gasser H, Graham H (1933) Potentials produced in the spinal cord by stimulation of dorsal roots. *Am J Physiol* 103(2):303-320.
- Gebhart G (2004) Descending modulation of pain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 27(8):729-737.
- Graham B, Redman S (1994) A simulation of action potentials in synaptic boutons during presynaptic inhibition. *J Neurophysiol* 71:(2) 538-549
- Granit R, Kellerth J, Williams T (1964) 'Adjacent' and 'remote' post-synaptic inhibition in motoneurons stimulated by muscle stretch. *J Physiol* 174(3):453-472
- Grönroos M, Pertovaara A (1993) Capsaicin-induced central facilitation of a nociceptive flexion reflex in humans. *Neurosci Lett* 159(1-2):215-8
- Hammar I, Slawinska U, Jankowska E (2002) A comparison of postactivation depression of synaptic actions evoked by different afferents and at different locations in the feline spinal cord. *Exp Brain Res* 145:126–129.
- Handwerker HO, Iggo A, Zimmermann M (1975) Segmental and supraespal actions on dorsal horn neurons responding to noxious and non-noxious skin stimuli. *Pain* 1:147-165.
- Harrison P, Jankowska E (1989) Primary afferent depolarization of central terminals of group II muscle afferents in the cat spinal cord. *J Physiol* 411:71-83.
- Heinricher M, Tavares I, Leith J, Lumb B (2009) Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. *Brain Res Rev.* 60(1):214-25.
- Hentall I, Fields H (1979) Segmental and descending influences on intraspinal thresholds of single C-fibers. *Journal of Neurophysiology* 42(6):1527-1537.
- Hernández-Reyes J, Salinas-Abarca A, Vidal-Cantú G, Raya-Tafolla G, Elias-Viñas D, Granados-Soto V, Delgado-Lezama R (2019) α 5GABAA receptors play a pronociceptive role and avoid the rate-dependent depression of the Hoffmann reflex in diabetic neuropathic pain and reduce primary afferent excitability. *Pain* 160(6):1448-1458.
- Hildebrand C, Öqvist G, Brax L, Tuisku F (1991) Anatomy of the rat knee joint and fibre composition of a major articular nerve. *The Anatomical Record* 229(4):545-555.
- Hongo T, Jankowska E, Lundberg A (1972) The rubrospinal tract. III. Effects on primary afferent terminals. *Exp Brain Res* 15:39–53.
- Hultborn H, Illert M, Nielsen J, Paul A, Ballegaard M, Wiese H (1996) On the mechanism of the post-activation depression of the H-reflex in human subject. *Exp Brain Res* 108:450-462
- Hultborn H, Meunier S, Pierrot-Deseilligny E, Shindo M (1987) Changes in presynaptic inhibition of Ia fibres at the onset of voluntary contraction in man. *J Physiol* 389:757–772.
- Hultborn H, Nielsen JB (1998) Modulation of transmitter release from Ia afferents by their preceding activity—a "postactivation depression". In: Rudomin P, Romo R, Mendell L (eds) *Presynaptic inhibition and neural control*. Oxford University Press, New York 178–191.
- Ignelzi R, Nyquist J (1979) Excitability changes in peripheral nerve fibers after repetitive electrical stimulation. Implications in pain modulation. *J Neurosurg* 51(6):824-33.

- Jancsó N, Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J (1967) Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *British journal of pharmacology and chemotherapy* 31:138-151.
- Jankowska E, Johannisson T, Lipski J (1981) Common interneurons in reflex pathways from group Ia and Ib afferents of ankle extensors in the cat. *J Physiol* 310:381-402.
- Jankowska E, Riddell JS, and McCrea DA (1993) Primary afferent depolarization of myelinated fibres in the joint and interosseous nerves of the cat. *J Physiol.* 466:115-131.
- Jänig W, Schmidt R, Zimmermann M (1968) Two specific feedback pathways to the central afferent terminals of phasic and tonic mechanoreceptors. *Exp Brain Res* 6:116-129.
- Jeftinija S, Semba K, Randic M (1981) Norepinephrine reduces excitability of single cutaneous primary afferent C-fibers in the cat spinal cord. *Brain Res* 219(2):456-463.
- Jia F, Pignataro L, Schofield C, Yue M, Harrison N, Goldstein P (2005) An extrasynaptic GABAA receptor mediates tonic inhibition in thalamic VB neurons. *J Neurophysiol* 94(6):4491-501
- Jiménez I, Rudomin P, Solodkin M (1987) Mechanisms involved in the depolarization of cutaneous afferents produced by segmental and descending inputs in the cat spinal cord. *Exp Brain Res* 69:195-207.
- Jordan D, Spyer K (1979) Studies on the excitability of sinus nerve afferent terminals. *The Journal of physiology* 297(1):123-134.
- Kenins P (1982) Responses of single nerve fibres to capsaicin applied to the skin. *Neuroscience Letters* 29:83-88.
- Kullmann D, Ruiz A, Rusakov D, Scott R, Semyanov A, Walker M (2005) Presynaptic, extrasynaptic and axonal GABAA receptors in the CNS: where and why?. *Progress in biophysics and molecular biology* 87(1):33-46.
- Kuno M, Miyahara J, Weakly J (1970). Post-tetanic hyperpolarization produced by an electrogenic pump in dorsal spinocerebellar tract neurones of the cat. *The Journal of physiology* 210(4):839-55.
- Kwon M, Altin M, Duenas H, Alev L (2014) The role of descending inhibitory pathways on chronic pain modulation and clinical implications *Pain Practice* 14(7):656-667.
- Lafleur J, Zytnicki D, Horcholle-Bossavit G, Jami L (1992) Depolarization of Ib afferent axons in the cat spinal cord during homonymous muscle contraction. *J Physiol* 445:345-354.
- Lai J, Hunter J, Porreca F (2003) The role of voltage-gated sodium channels in neuropathic pain. *Current opinion in neurobiology* 13(3):291-297.
- LaMotte RH, Shain CN, Simone DA, Tsai EF (1991) Neurogenic hyperalgesia: psychophysical studies of underlying mechanisms. *J Neurophysiol* 66(1): 190-211.
- Langford L, Schmidt R (1983) Afferent and efferent axons in the medial and posterior articular nerves of the cat. *The Anatomical Record* 206(1):71-78.
- Lembeck F, Gamse R (1982) Substance P in peripheral sensory processes. In *Substance P in the nervous system* Pitman London 91:35-54.

- Levine J, Moskowitz M, Basbaum A (1985). The contribution of neurogenic inflammation in experimental arthritis. *Journal of immunology* 135(2):843s-847s.
- Levy R, Anderson E, (1974) The role of 7-aminobutyric acid as a mediator of positive dorsal root potentials. *Brain Research* 76:71-82.
- Lloyd DPC, Wilson VJ (1957) Reflex depression in rhythmically active monosynaptic reflex pathways. *J Gen Physiol.* 40(3): 409–426.
- Light, A, Perl E (1979) Reexamination of the dorsal root projection to the spinal dorsal horn including observations on the differential termination of coarse and fine fibers. *Journal of Comparative Neurology*, 186(2): 117-131.
- Light A, Perl E (1979) Spinal termination of functionally identified primary afferent neurons with slowly conducting myelinated fibers. *Journal of Comparative Neurology* 186(2):133-150.
- Lin Q, Wu J, Willis, WD (1999) Dorsal root reflexes and cutaneous neurogenic inflammation after intradermal injection of capsaicin in rats. *Journal of neurophysiology* 82(5):2602-2611.
- Lin Q, Zou X, Willis WD (2000) Ad and C Primary Afferents Convey Dorsal Root Reflexes After Intradermal Injection of Capsaicin in Rats. *J Neurophysiol* 84:2695-2698.
- Lopez-Garcia J (2006) Serotonergic modulation of spinal sensory circuits. *Current topics in medicinal chemistry* 6(18):1987-1996.
- Lundberg A (1964) Supraspinal Control of Transmission in Reflex Paths to Motoneurons and Primary Afferents. *Prog in Brain Res* 12:197-221.
- Lundberg A, Vyklicky L (1966) Inhibition of transmissions to the primary afferents by electrical stimulation of the brain stem. *Arch Ital Biol* 104(1).
- Lynn B, (1990) Capsaicin: actions on nociceptive C-fibres and therapeutic potential. *Pain* 41(1):61–69.
- Madrid J, Alvarado J, Dutton H, Rudomin P (1979) A method for the dynamic continuous estimation of excitability changes of single fiber terminals in the central nervous systems. *Neurosci Lett* 11:253-258.
- Martin R, Haber L, Willis WD (1979) Primary afferent depolarization of identified cutaneous fibers following stimulation in medial brain stem. *J Neurophysiol* 42:779:790.
- Maxwell D, Bannatyne B, Brown A, Fyffe R (1984) Fine structure of primary afferent axon terminals projecting from rapidly adapting mechanoreceptors of the toe and foot pads of the cat. *Quarterly Journal of Experimental Physiology Translation and Integration* 69(2):381-392.
- Maxwell D, Riddell J (1999) Axoaxonic synapses on terminals of group II muscle spindle afferent axons in the spinal cord of the cat. *European Journal of Neuroscience* 11(6):2151-2159.
- McIntyre A, Proske U, Tracey D (1978) Afferent fibres from muscle receptors in the posterior nerve of the cat's knee joint. *Exp Brain Res* 33(3-4):415-424.
- Mendell L (1972) Properties and distribution of peripherally evoked postsynaptic hyperpolarization in cat lumbar spinal cord. *J. Physiol* 226:769-792.
- Mendeil L, Wall P (1964) Presynaptic hyperpolarization: a role for fine afferent fibers. *J.Physiol* 172:274-294.

- Messlinger K (1996) Functional morphology of nociceptive and other fine sensory endings (free nerve endings) in different tissues. In *Progress in brain research* 113:273-298
- Moreno-López Y, Pérez-Sánchez J, Martínez-Lorenzana G, Condés-Lara M, Rojas-Piloni G (2013) Cortical Presynaptic Control of Dorsal Horn C–Afferents in the Rat. *PLoS ONE* 8(7):e69063.
- Morita K, David G, Barret J, Barret E (1993) Post-tetanic hyperpolarization produced by electrogenic Na(+)-K+ pump in lizard axons impaled near their motor terminals. *J Neurophysiol* 70(5):1874-84.
- Nagy JI (1982) Capsaicin's action on the nervous system. *Trends in Neuroscience* 362–365.
- Németh J, Helyes Z, Oroszi G, Jakab B, Pintér E, Szilvássy Z, Szolcsányi J (2003) Role of voltage-gated cation channels and axon reflexes in the release of sensory neuropeptides by capsaicin from isolated rat trachea. *European journal of pharmacology* 458(3):313-318.
- Oksamitnyĭ V, Tamarova Z (1987) Depolarizing action of dopamine on the endings of the primary afferent fibers of an isolated segment of the spinal cord in rat pups. *Neirofiziologija* 19(6):741-8.
- Ossipov M, Dussor G, Porreca F (2010) Central modulation of pain. *J Clin Invest* 120(11):3779-3787.
- Ovsepyan S, Vesselkin N (2002) A Study of the Role of GABAA- and GABAB-Receptors in Presynaptic Inhibition of Primary Afferents in the Spinal Cord of the Frog *Rana ridibunda*. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology* 38:743-754.
- Penfield W, Rasmussen T (1950) *The cerebral cortex of man; a clinical study of localization of function.* Oxford, England, Macmillan.
- Porreca F, Ossipov M, Gebhart G (2002) Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends in neurosciences* 25(6):319-325.
- Price T, Cervero F, Gold M, Hammond D, Prescott S (2009) Chloride regulation in the pain pathway. *Brain research reviews* 60(1):149-170.
- Proudfit H, Larson A, Anderson E (1980) The role of GABA and serotonin in the mediation of raphe-evoked spinal cord dorsal root potentials. *Brain Res* 195:149-165.
- Quevedo J, Eguibar JR, Jiménez I, Schmidt RF, Rudomin P (1993) Primary afferent depolarization of muscle afferents elicited by stimulation of joint afferents in cats with intact neuraxis and during reversible spinalization. *J Neurophysiol* 70:1899–1910.
- Randić M, Cartens E, Zimmermann M, Klumpp D (1982) Dual effects of substance P on the excitability of single cutaneous primary afferent C-and A-fibers in the cat spinal cord. *Brain Res* 233(2):389-393.
- Ren K, Dubner R (2002) Descending modulation in persistent pain: an update. *Pain* 100:1-6.
- Ren K, Dubner R (1996) Enhanced descending modulation of nociception in rats with persistent hindpaw inflammation. *J Neurophysiol* 76:3025-3037.
- Riddell J, Jankowska E, Eide E (1993) Depolarization of group II muscle afferents by stimuli applied in the locus coeruleus and raphe nuclei of the cat. *J Physiol* 461:723-741.
- Richter D, Jordan D, Ballantyne D, Meesmann M, Spyer K (1986) Presynaptic depolarization in myelinated vagal afferent fibres terminating in the nucleus of the tractus solitarius in the cat. *Pflügers Archiv* 406(1):12-19.

- Rossi A, Decchi B, Ginanneschi F (1999) Presynaptic excitability changes of group Ia fibres to muscle nociceptive stimulation in humans. *Brain Res* 818:12–22.
- Rossi A, Mazzocchio R, Schieppati M (1988) The H reflex recovery curve reinvestigated: low-intensity conditioning stimulation and nerve compression disclose differential effects of presumed group Ia fibres in man. *Hum Neurobiol.* 6(4): 281-8.
- Rudomin P, Hernández E (2008) Changes in synaptic effectiveness of myelinated joint afferents during capsaicin-induced inflammation of the footpad in the anesthetized cat. *Exp Brain Res* 187:71–84.
- Rudomin P, Hernández E, Lomelí J (2007) Tonic and phasic differential GABAergic inhibition of synaptic actions of joint afferents in the cat. *Exp Brain Res* 176:98–118.
- Rudomin P, Jimenez I, Enriquez M (1991) Effects of stimulation of group I afferents from flexor muscles on heterosynaptic facilitation of monosynaptic reflexes produced by Ia and descending inputs: a test for presynaptic inhibition. *Exp Brain Res* 85(1):93-102.
- Rudomin P, Lomelí J, Quevedo J (2004) Differential modulation of primary afferent depolarization of segmental and ascending intraspinal collaterals of single muscle afferents in the cat spinal cord. *Exp Brain Res* 156: 377–391
- Rudomin P, Lomelí J (2007) Patterns of primary afferent depolarization of segmental and ascending intraspinal collaterals of single joint afferents in the cat. *Exp Brain Res* 176:119–131
- Rudomin P, Nuñez R, Madrid J, Burke RE (1974) Primary afferent hyperpolarization and presynaptic facilitation of Ia afferent terminals induced by large cutaneous fibers. *Journal of Neurophysiology* 37(3): 413-429.
- Rudomin P, Nuñez R, Madrid J (1975) Modulation of synaptic effectiveness of Ia and descending fibers in the cat spinal cord. *J Neurophysiol* 38:1181-1195.
- Rudomin P, Solodkin M, Jimenez I (1987) Synaptic potentials of primary afferent fibers and motoneurons evoked by single intermediate nucleus interneurons in the cat spinal cord. *J Neurophysiol* 57(5):1288-1313.
- Rudomin P, Schmidt RF (1999) Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp Brain Res* 129:1–37.
- Saadé N, Al Amin H, Barchini J, Tchachaghian S, Shamaa F, Jabbur S, Atweh S (2012) Brainstem injection of lidocaine releases the descending pain-inhibitory mechanisms in a rat model of mononeuropathy. *Experimental neurology* 237(1):180-190
- Sandkühler J (2009) Models and Mechanisms of Hyperalgesia and Allodynia. *Physiol Rev* 89: 707–758.
- Schaible H, Grubb B, Neugebauer V, Oppmann M (1991) The effects of NMDA antagonists on neuronal activity in cat spinal cord evoked by acute inflammation in the knee joint. *European Journal of Neuroscience* 3(10):981-991.
- Schaible HG, Neugebauer V, Cervero F, Schmidt RF (1991) Changes in tonic descending inhibition of spinal neurons with articular input during the development of acute arthritis in the cat. *J Neurophysiol* 66:1021–1032
- Schaible HG, Schmidt RF, Willis WD (1986) Responses of spinal cord neurones to stimulation of articular afferent fibres in the cat. *J Physiol* 372:575–593

- Simone DA, Baumann TK, Collins JG, LaMotte RH (1989) Sensitization of cat dorsal horn neurons to innocuous mechanical stimulation after intradermal injection of capsaicin. *Brain Res* 486(1): 185–189
- Sluka KA (1997) Blockade of calcium channels can prevent the onset of secondary hyperalgesia and allodynia induced by intradermal injection of capsaicin in rats. *J Neurophysiol* 71(2): 157-164
- Starke K, Gothert, M, Kilbinger H (1989) Modulation of neurotransmitter release by presynaptic autoreceptors. *Physiological Reviews* 69(3):864–989.
- Stöhr M, Schumm F, Reill P (1977) Retrograde changes in motor and sensory conduction velocity after nerve injury. *Journal of neurology* 214(4):281-287
- Stuart G, Redman S (1992) The role of GABAA and GABAB receptors in presynaptic inhibition of Ia EPSPs in cat spinal motoneurons. *J Physiol* 447: 675–692.
- Sun RQ, Lawand NB, Lin Q, Willis WD (2004) Role of Calcitonin Gene-Related Peptide in the Sensitization of Dorsal Horn Neurons to Mechanical Stimulation After Intradermal Injection of Capsaicin. *J Neurophysiol* 92:320-326
- Sutherland F, Bannatyne B, Kerr R, Riddell J, Maxwell D (2002) Inhibitory amino acid transmitters associated with axons in presynaptic apposition to cutaneous primary afferent axons in the cat spinal cord. *Journal of Comparative Neurology* 452(2):154-162.
- Szolcsányi J (2004) Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology. *Neuropeptides* 38: 377–384
- Tasker R, Choiniere M, Libman S, Melzack R (1987) Analgesia produced by injection of lidocaine into the lateral hypothalamus. *Pain* 31(2):237-248.
- Wall E, Massie J, Kwan M, Rydevik B, Myers R., Garfin S (1992). Experimental stretch neuropathy. Changes in nerve conduction under tension. *The Journal of bone and joint surgery. British volume* 74(1):126-129.
- Wall P (1958) Excitability changes in afferent fibre terminations and their relation to slow potentials. *J Physiol* 142:1-21.
- Watson A, Bazzaz A (2001) GABA and glycine-like immunoreactivity at axoaxonic synapses on 1a muscle afferent terminals in the spinal cord of the rat. *Journal of Comparative Neurology* 433(3):335-348.
- Willis W (1999) Dorsal root potentials and dorsal root reflexes: a double-edged sword. *Experimental brain research* 124(4):395-421.
- Winter J, Bevan S, Campbell EA (1995) Capsaicin and pain mechanisms. *British Journal of Anaesthesia* 75: 157-168
- Woolf C, Wiesenfeld-Hallin Z (1985) The systemic administration of local anaesthetics produces a selective depression of C-afferent fibre evoked activity in the spinal cord. *Pain* 23(4):361-374.
- Xian-Min Y, Mense S (1990) Response properties and descending control of rat dorsal horn neurons with deep receptive fields. *Neuroscience* 39(3):823-831
- Zytnicki D, Jami L (1998) Presynaptic inhibition can act as a filter of input from tendon organs during muscle contraction. In: Rudomin P, Romo R, Mendell L (eds) *Presynaptic inhibition and neural control*. Oxford University Press, Oxford, pp 303–314

