



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA, BIOFÍSICA Y NEUROCIENCIAS

“Reorganización de la conectividad funcional entre las neuronas del asta dorsal de la médula espinal y la región rostral ventromedial del bulbo raquídeo durante la nocicepción provocada por la inyección intradérmica de mentol”

T E S I S

QUE PRESENTA

JOSHUA RAPHAEL LÉMUS CASTILLO

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE

NEUROBIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR

CODIRECTORES DE LA TESIS:

DR. PABLO RUDOMÍN ZEVNOVATY

DR. JOSÉ RODOLFO DELGADO LEZAMA

Ciudad de México

septiembre, 2023

Los abajo firmantes, integrantes del jurado para el examen de grado que sustantera el **Sr. Joshua Raphael Lémus Castillo**, declaramos que hemos revisado la tesis titulada:

Reorganización de la conectividad funcional entre las neuronas del asta dorsal de la médula espinal y la región rostral ventromedial del bulbo raquídeo durante la nocicepción provocada por la inyección intradérmica de mentol

Y consideramos que cumple con los requisitos para obtener el Grado de Maestría en Ciencias en la especialidad de Neurobiología Celular y Molecular.

Atentamente,

Nombre del jurado 1

Nombre del jurado 2

Nombre del jurado 3

Agradecimientos

Agradezco el apoyo del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por la beca otorgada durante el periodo de 2021 a 2023.

Agradezco a la familia formada en el laboratorio del Dr. Rudomín: a Diógenes, Edson, Porfirio, Israel, Leonardo, Elizabeth y Marisela, por contribuir a formar el conocimiento colectivo que espero plasmar en esta tesis.

Al Dr. Delgado, al Dr. Manjarrez y al Dr. Jimenez, por su paciente apoyo y asesoría. Al Dr. Contreras y Lupita, por estar pendiente de la finalización de esta tesis y por ayudarme a no ahogarme en los mares de los trámites burocráticos.

Gracias a Vera y su familia, por ser siempre un hogar, aún en los tiempos más difíciles. A mi familia, que aún a la distancia me dan su calor, especialmente a mi sobrino que pronto conocerá la maravilla de vivir. A mis amigos, especialmente a Benjamín, a Emilio, Vetto, Paula, Mabel, Gaby, Kitze, Cristian, Alex y Carlos, porque sin ellos la vida no me mostraría su mejor cara.

Gracias a mis compañeros de la maestría: Norma, Fernanda, Fernando, Lucero, Deni, Karla, Sahian, Jahir, Sarai y Oscar, por la compañía mutua en momentos de estrés y en momentos de alegría también.

Al pueblo de Guatemala, por inspirarme a seguir adelante con su incansable lucha contra la corrupción y la falta de oportunidades en nuestro país. Al pueblo de México, por acogerme en su territorio y en su cultura.

Especiales agradecimientos a Lizbeth Chavez, por enseñarme a manejar mi tiempo y mis emociones.

Resumen

La administración intraplantar de mentol a una alta concentración (8 mg/Kg de peso) en gatos anestesiados induce una reorganización funcional persistente entre las neuronas del asta dorsal de la médula espinal y la región rostral ventromedial del bulbo raquídeo (RVM), similar a la observada durante la sensibilización central por capsaicina. Durante este efecto, se observaron oscilaciones coherentes en la actividad neuronal de segmentos lumbares (14–17) del asta dorsal, principalmente en un rango de frecuencias de 1 a 4 Hz, y en menor medida a 9 Hz. En contraste, las neuronas de la RVM exhiben un desacople en su actividad, mientras que sus regiones constituyentes (núcleos del rafé magno y formaciones reticulares magnocelulares) se sincronizan con las oscilaciones en la médula espinal. Esta reorganización es revertida temporalmente por la administración sistémica de lidocaína.

Las frecuencias de acople son ligeramente distintas a las de 5 Hz observadas durante la nocicepción inducida por capsaicina, lo cual podría potencialmente explicar algunos efectos diferenciales entre la acción de capsaicina y de mentol, como los observados en la regulación de la actividad del nervio articular posterior (PAN), la cual es potenciada durante la nocicepción inducida por capsaicina, mientras que es inhibida durante el efecto nocivo de mentol.

Adicionalmente, se presenta evidencia que respalda la idea de que tanto el asta dorsal como la RVM pueden mantener un estado de criticalidad (un estado de transición entre el orden y el desorden de la actividad neuronal), de manera que durante la nocicepción inducida por mentol, las neuronas del asta dorsal incrementan el “orden” en su actividad, mientras que las neuronas de la RVM actúan en un estado más tendiente al “desorden”.

Abstract

Intraplantar administration of menthol at a high concentration (8 mg/kg) in the anesthetized cat induces a persistent functional reorganization between neurons in the spinal dorsal horn and the rostral ventromedial medulla (RVM), similar to that observed during central sensitization induced by capsaicin. During this effect, the neuronal activity of the dorsal horn shows coherent oscillations between lumbar segments (14–17), mainly in a frequency range of 1 to 4 Hz and to a lesser extent at 9 Hz. On the other hand, the activity of RVM neurons is decoupled while its constituent regions (nucleus raphe magnus and magnocellular reticular formations) synchronize with the oscillations in the spinal cord. The observed reorganization is transiently reversed by the systemic administration of lidocaine.

The specific frequencies at which this coupling occurs are slightly different from the 5 Hz oscillations observed during the effect of capsaicin, potentially explaining some differential effects between the actions of capsaicin and menthol such as those observed in the regulation of posterior articular nerve (PAN) activity, which is facilitated during capsaicin-induced nociception, whereas it is inhibited during menthol's nociceptive effect.

Additionally, evidence is presented supporting the idea that both the dorsal horn and the RVM may maintain a critical state (a transition state between order and disorder in neuronal activity). During menthol's nociceptive effect, the dorsal horn neurons increase order in their activity, while neurons in the RVM increase disorder.

Índice general

Índice de figuras	XI
1. Introducción	1
1.1. Nocicepción e influencias supraespinales	1
1.1.1. Región rostral ventromedial del bulbo raquídeo	3
1.2. Conectividad funcional entre las estructuras implicadas en la nocicepción	5
1.2.1. Oscilaciones de la actividad neuronal	6
1.3. Conectividad funcional entre grupos neuronales de la médula espinal	7
1.3.1. Reorganización de la conectividad funcional entre neuro- nas de la médula espinal durante la nocicepción	9
1.4. Conectividad funcional entre la RVM y el dorso de la médula espinal	10
1.5. Capsaicina y mentol como modelos de dolor agudo	11
1.6. Criticalidad de la actividad neuronal generada en el dorso de la médula espinal	14
2. Planteamiento del problema	17
3. Hipótesis	19
4. Objetivos	21
4.1. Objetivo general	21
4.2. Objetivos particulares	21

5. Metodología	23
5.1. Preparación	23
5.2. Registros electrofisiológicos	23
5.3. Administración de fármacos	24
5.4. Análisis de los datos	25
5.4.1. Suavizado del espectro de frecuencias para eliminar fre- cuencias asociadas a eventos cardiacos	26
5.4.2. Mediciones de acople funcional	28
5.4.3. Limpieza del medio conductor	30
5.4.4. Análisis de leyes de potencias características durante la criticalidad	31
6. Resultados	33
6.1. Cambios estructurados en la actividad y sincronización entre segmentos espinales durante el efecto nociceptivo de mentol	33
6.2. La administración de mentol aumenta la conectividad funcional entre neuronas del asta dorsal de la médula espinal	36
6.3. Cambios en la conectividad funcional de la RVM durante la no- cicepción y anti-nocicepción	53
6.4. Cambios en la conectividad funcional entre la RVM y el asta dorsal de la médula espinal	65
6.5. Criticalidad en la médula espinal	78
7. Discusión	87
7.1. Cambios en la conectividad funcional de neuronas del asta dorsal de la médula espinal durante el efecto de mentol	87
7.2. Desacople funcional entre regiones de la RVM	90
7.3. Reversión del efecto nociceptivo de mentol mediante la adminis- tración sistémica de lidocaína	91
7.4. Conectividad entre la RVM y el asta dorsal de la médula espinal durante el efecto de mentol	92
7.5. Otras estructuras involucradas en el control de la nocicepción .	94
7.6. ¿La médula espinal y la RVM actúan en un estado de criticalidad?	95

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	XI
7.7. Otras medidas de la conectividad funcional	97
7.8. Relevancia clínica	99
8. Conclusiones	103
9. Perspectivas	105
Bibliografía	106

Índice de figuras

1.1. Efectos de capsaicina, ketamina, y lidocaína en el valor del exponente β	16
5.1. Comparación de métodos usados para suavizar el espectro de las señales registradas.	27
5.2. El método utilizado para suavizar el espectro de las señales no deforma significativamente la señal.	28
6.1. Aumento de la sincronización entre segmentos espinales luego de administrar mentol.	35
6.2. La correlación entre segmentos espinales aumenta con mentol y disminuye temporalmente con lidocaína.	37
6.3. Los cambios reportados en la correlación entre segmentos espinales se replican en un experimento independiente.	38
6.4. Representación por medio de grafos de la conectividad funcional de la médula espinal.	41
6.5. Representación por medio de grafos de la conectividad funcional de la médula espinal. Experimento 2023-02-01	42
6.6. Comparación de los cambios en la conectividad funcional de la médula espinal en 6 diferentes experimentos.	44
6.7. Efecto de mentol, lidocaína y espinalización en el espectro de frecuencias del dorso de la médula espinal.	46
6.8. Oscilaciones coherentes entre segmentos espinales	48
6.9. Coherencia entre la actividad registrada en el dorso de la médula espinal y grupos de neuronas en las láminas III y V del asta dorsal	51

6.10. Coherencia entre la actividad registrada en el dorso de la médula espinal y grupos de neuronas en láminas superficiales del asta dorsal	52
6.11. Disminución de la sincronización entre regiones de la RVM durante el efecto nociceptivo de mentol.	54
6.12. La correlación entre regiones de la RVM disminuye con mentol y aumenta temporalmente durante el efecto de lidocaína.	55
6.13. Los resultados observados en la figura 6.12 se replican en el experimento 2023-02-01.	57
6.14. Representación por medio de grafos de la conectividad funcional de la RVM, experimento 2022-10-16.	59
6.15. Representación por medio de grafos de la conectividad funcional de la RVM, experimento 2022-09-28.	61
6.16. Comparación de los cambios en la conectividad funcional de la RVM en 6 distintos experimentos.	62
6.17. Oscilaciones coherentes entre regiones de la RVM	65
6.18. Conectividad funcional en el dominio de frecuencias entre grupos de neuronas del asta dorsal y la RVM. Experimento 2022-10-16.	67
6.19. Cambios en la conectividad funcional entre la región caudal de los núcleos del rafé magno (NRMc) y segmentos del asta dorsal de la médula espinal.	68
6.20. Cambios en la conectividad funcional entre l4d y regiones de la RVM.	69
6.21. Grafos de conectividad entre la RVM y el dorso de la médula espinal, experimento 2022-10-16.	71
6.22. Conectividad funcional en el dominio de frecuencias entre grupos de neuronas del asta dorsal y la RVM, experimento 2022-09-28.	73
6.23. Cambios en la conectividad funcional entre la región caudal de la formación reticular derecha (FRdc) y segmentos del asta dorsal de la médula espinal.	74
6.24. Cambios en la conectividad funcional entre l7d y regiones de la RVM. Experimento 2022-09-28	76

6.25. Grafos de conectividad entre la RVM y el dorso de la médula espinal, experimento 2022-09-28.	77
6.26. Leyes de potencias en el eigen-espectro de la matriz de covarianzas de las señales espinales.	81
6.27. Dinámica del coeficiente β en la médula espinal.	83
6.28. Dinámica del coeficiente β en la RVM.	85
7.1. Efectos de Mentol y capsaicina sobre la transmisión sináptica del nervio articular posterior (PAN).	89

Capítulo 1

Introducción

1.1. Nocicepción e influencias supraespinales

La representación mental del mundo externo inicia con la traducción de estímulos físicos o químicos a través de impulsos eléctricos (potenciales de acción). Estos potenciales se transmiten a través del sistema nervioso central, de forma activa y dinámica, de manera que la misma señal puede producir distintas respuestas fisiológica según el contexto cognitivo y emocional del sujeto (ver [Engel et al., 2001](#)). La modulación de las señales sensoriales que permiten esta dinamicidad ha sido ampliamente estudiada durante la nocicepción (es decir, la respuesta neuronal a un estímulo nocivo) y la percepción del dolor, desde las primeras sinápsis hasta las cortezas integrativas, y por factores que van desde lo genético hasta lo social ([Sharvit and Schweinhardt, 2022](#)).

La traducción de las señales dolorosas inicia en las aferentes primarias nociceptivas (principalmente del tipo A δ y C), a través de canales especializados como los de la familia de los *transient receptor potential* (TRP), los *acid-sensing ion channels* (ASIC), etc. ([Tracey, 2017](#)). Es importante señalar que dolor y nocicepción son dos términos distintos, refiriéndose el primero a una sensación de malestar provocada por un estímulo nocivo o percibido como potencialmente nocivo, y el segundo al proceso neuronal de codificar un estímulo nocivo. De hecho, en algunos casos, como en el dolor neuropático, el dolor puede no ser precedido de la nocicepción, y en otros casos, como durante estados de aneste-

sia, la nocicepción puede no implicar la sensación de dolor (ver [Garcia-Larrea and Bastuji, 2018](#)).

Las aferentes nociceptivas son neuronas pseudo-unipolares con cuerpo celular en los ganglios de la raíz dorsal de la médula espinal (DRG), o en los ganglios trigeminales (TG), en el caso de las aferentes trigeminales. , y terminaciones axónicas en la periferia y en el sistema nervioso central. Las proyecciones centrales de las neuronas de los DRG contactan sinápticamente con interneuronas de las regiones dorsales de la médula espinal, entre las láminas de Rexed I y III, las cuales a su vez transmiten la información nociceptiva hacia otras interneuronas de la médula espinal y/o hacia regiones supraespinales que pueden desencadenar reflejos nocifensivos y/o la sensación de dolor ([Woolf and Ma, 2007](#)).

Una importante forma de regulación de la sensación nociceptiva es la sensibilización periférica, un proceso durante el cual aumenta la sensibilidad de las neuronas nociceptivas primarias, provocando un aumento en su actividad, que a nivel sistémico se puede percibir como hiperalgesia y/o alodinia ([Vasko, 2009](#)). La sensibilización periférica se sostiene tiempo después del estímulo nociceptivo, tanto por el mantenimiento de la respuesta inflamatoria, como por el aumento de factores de transcripción, promovidos por cascadas de señalización iniciadas por mediadores inflamatorios ([Vasko, 2009](#)).

Si el estímulo nociceptivo es intenso, repetitivo y/o sostenido (con o sin presencia de daño tisular periférico), se puede producir también la sensibilización de neuronas del sistema nervioso central. Este proceso tiene dos fases: una rápida, dependiente de cambios post-transcripcionales en canales iónicos, y otra lenta, dependiente de la síntesis de nuevas proteínas. Los cambios provocados por la sensibilización central son de larga duración (en el orden de horas, días o hasta meses) y con efecto heterosináptico; es decir, puede afectar a sinápsis distintas de las que iniciaron el proceso ([Latremoliere and Woolf, 2009](#)).

Otra forma de regulación de la nocicepción en la médula espinal proviene del intercambio bidireccional de información con las estructuras que forman la llamada matriz del dolor, la cuál se recibe por medio de conexiones tanto mono- como poli-sinápticas. Entre estas estructuras se encuentran algunas in-

volucradas en el control autonómico, como la sustancia gris periacueductal y la región rostral ventromedial del bulbo raquídeo (RVM); regiones del sistema límbico, como la amígdala, el hipotálamo y la corteza anterior cingulada; el tálamo; regiones de las cortezas sensoriales, y de las cortezas integrativas, como la corteza prefrontal (Cauda et al., 2014). De estas influencias supraespinales, merece especial atención la ejercida a través de conexiones monosinápticas con la RVM, que puede ser considerada como un eslabón entre las estructuras supraespinales y la médula espinal, para el control de la nocicepción (Millan, 2002).

1.1.1. Región rostral ventromedial del bulbo raquídeo

La región rostral ventromedial del bulbo raquídeo (RVM) puede definirse funcionalmente como una región del bulbo raquídeo que produce antinocicepción profunda al aplicarle estímulos eléctricos de baja intensidad ($< 10\mu A$) (Chen and Heinricher, 2022). Anatómicamente incluye a los núcleos del raquídeo magno y regiones adyacentes de la formación reticular magnocelular.

La RVM recibe modulación descendente de otras estructuras supraespinales, como la sustancia gris periacueductal (PAG); estructuras límbicas y corticales, como la amígdala, la corteza anterior cingulada; áreas de la corteza prefrontal; núcleos hipotalámicos, entre otras. Además, recibe modulación ascendente de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal y del asta dorsal trigeminal, tanto indirectamente a través del complejo parabraquial como directamente a través de proyecciones espino-reticulares (Chen and Heinricher, 2022).

Además de producir analgesia, la RVM puede facilitar la nocicepción. Este efecto, aparentemente paradójico, se explica con la presencia de al menos 3 tipos de neuronas, segregadas a lo largo de la RVM: las neuronas OFF, cuya actividad se interrumpe tiempo antes (en el orden de los cientos de milisegundos) de que se manifiesten comportamientos nocifensivos; las neuronas ON, que pueden producir hiperalgesia al estimularlas selectivamente (Neubert et al., 2004), y otro tipo de neuronas, que no cambian su actividad durante la nocicepción, pero por ser serotoninérgicas podrían también estar involucradas en la regulación de la nocicepción. Otros resultados que apoyan esta visión muestran que

las neuronas OFF aumentan su actividad, y las ON la reducen, durante la anti-nocicepción inducida por morfina y analgésicos no-opioidérgicos, microinyección de antagonistas a GABA_A en la sustancia gris periacueductal, y administración sistémica de agonistas cannabinoides (ver [Hernández and Vanegas 2001](#)).

Tanto las neuronas ON como las OFF tienen actividad espontánea, en fase con su mismo grupo celular y en desfase entre ellas (es decir, cuando las neuronas ON están activas, las OFF están inactivas, y viceversa); anatómicamente no hay una separación entre ellas, y estos grupos neuronales no se modulan directamente entre ellos, sino que mantienen su alternancia por vías paralelas ([Heinricher and McGaraughty, 1998](#)).

Las neuronas de la RVM tienen contacto sináptico, principalmente GABAérgico, con somas y dendritas de interneuronas de la médula espinal ([Aicher et al., 2012](#)); específicamente, las neuronas tipo ON y OFF proyectan hacia las láminas I, II y V de la médula espinal ([Fields et al., 1995](#)), principalmente a través del funículo dorsolateral (DLF), aunque también existen algunas proyecciones viajando en el borde entre el DLF y el funículo ventrolateral (VLF), e incluso (rara vez) directamente a través del VLF. La velocidad de conducción de estas neuronas es característica de neuronas con axones mielinizados ([Vanegas et al., 1984](#)).

Las neuronas ON y OFF reciben a su vez modulación ascendente de la médula espinal, principalmente a través del núcleo parabraquial (PB); durante la inflamación aguda, esta información es transmitida por el lado contralateral del núcleo parabraquial, pero durante la inflamación crónica (de 3 a 4 días), es transmitida por el lado ipsilateral ([Chen and Heinricher, 2019](#)), sugiriendo que el PB contralateral se encarga de iniciar la hiperalgesia, y el PB ipsilateral de mantenerla.

Además de tener un rol en la regulación de la nocicepción, se ha descrito que las neuronas ON y OFF están involucradas en otros mecanismos de regulación autonómica. Notablemente, las neuronas ON son activadas tras una disminución, mientras que las neuronas OFF se activan tras un aumento en la presión arterial media, aunque este efecto persiste tras bloquear los barorre-

ceptores sino-aórticos, sugiriendo que este efecto es secundario al cambio en la presión arterial (Leung and Mason, 1996); además, las neuronas ON y OFF pueden ser reguladas por estimulación eléctrica de aferentes vagales, de una manera dependiente de la intensidad de estimulación.

En relación a las proyecciones serotoninérgicas de la RVM hacia la médula espinal, se ha encontrado que estas pueden estar involucradas en varias funciones autonómicas, como la termorregulación en respuesta a estímulos fríos no nocivos, favoreciendo la termogénesis a partir de tejido adiposo marrón interescapular y la vasoconstricción de la cola de la rata, a través del núcleo del rafé magno rostral (Rathner et al., 2001); el control de la eyaculación y la secreción de ácido gástrico (Mason, 2001), y el control del ciclo de sueño/vigilia. Además se ha descrito una correlación entre la actividad de estas neuronas serotoninérgicas y ciclos lentos asociados a la presión cardiaca (con periodos mayores a 10 minutos, no relacionados directamente con los cambios en barorreceptores) y la respiración (Mason et al., 2007), posiblemente mediada por inervaciones del núcleo del trato solitario, en el cuál converge información de barorreceptores y de distensión pulmonar).

La respuesta de estas neuronas a cambios en la presión arterial y estimulación vagal puede tener una relación con la respuesta y regulación de la nocicepción, considerando que la disminución en la presión arterial (o venosa) favorece la hipoalgesia (en ratas, aunque tiene el efecto contrario en humanos sanos normotensivos), y que la estimulación vagal tiene un efecto anti-inflamatorio (Heberto et al., 2022).

1.2. Conectividad funcional entre las estructuras implicadas en la nocicepción

Es posible que dos regiones cerebrales estén relacionadas entre sí sin necesidad de que haya una conexión física entre ellas (por ejemplo, puede ocurrir que ambas estén moduladas paralelamente por una tercera región). Es por esto que, al estudiar la conectividad neuronal, surge el concepto de conectividad funcional, definiendo esta como la actividad correlacionada entre grupos neuronales

lejanos (Müller, 2013). Estos patrones de conectividad pueden algunas veces producir a su vez un patrón de actividad espacio-temporal distintivo de una función fisiológica. Un ejemplo de esto es la misma matriz del dolor (Cauda et al., 2014), en la que se han observado patrones de actividad que pueden, en condiciones específicas, ser suficientes para distinguir el estado de nocicepción del de no nocicepción (Zhang et al., 2021); Moreno et. al., pendiente de publicación).

1.2.1. Oscilaciones de la actividad neuronal

Algunas características de las respuestas electrofisiológicas son más fáciles de estudiar en el espacio de frecuencias (Wolfgang, 2018). De esta cuenta, se han separado las frecuencias de actividad neuronal en rangos específicos (Wolfgang, 2018); tomando usualmente como referencia los rangos: delta, entre 0 y 4 Hz; theta, entre 4 y 8 Hz; alfa, entre 8 y 13 Hz; beta, entre 13 y 30 Hz; y gamma, entre 30- y 140 Hz. Aunque no existe una relación unilateral entre un rango de frecuencias y una función cerebral específica, se ha descrito que algunas funciones se activan preferencialmente en ciertos rangos de frecuencias; además se ha descrito, en regiones corticales y del hipocampo (Kopell et al., 2000), que los rangos de frecuencias bajas (como las del rango beta) tienden a usarse por el sistema nervioso central para transmitir información a largas distancias, mientras que las frecuencias altas (como las del rango gamma) tienden a modular el acople entre núcleos neuronales cercanos.

Durante las últimas décadas, se ha propuesto que la actividad oscilatoria sincronizada entre grupos neuronales es un modo de actividad en conjunto para una tarea fisiológica (Singer, 2018). Los patrones oscilatorios de las neuronas individuales pueden ser provocados por la actividad de canales iónicos que oponen una fuerza restaurativa a los cambios en el potencial de membrana, o por ciertos circuitos neuronales, como los circuitos de inhibición recíproca, ampliamente estudiados en la generación de patrones de movimiento (McCrea and Rybak, 2008). La sincronización entre grupos de neuronas puede provocar que estos grupos se activen en fase en la misma frecuencia (es decir, de manera coherente) (Fries, 2005).

Durante la actividad neuronal asociada a la percepción del dolor, se han encontrado cambios en los patrones de oscilación del sistema nervioso (Markus et al., 2017). Se ha reportado, por ejemplo, que la estimulación láser de fibras A δ y C nociceptivas se asocia a un aumento de la actividad cortical en frecuencias cercanas a 20 Hz (Raij et al., 2004), y que durante la exposición prolongada a temperaturas nocivas, la respuesta cortical aumenta en el rango alfa (Nir et al., 2012).

Además, se ha descrito que durante la nocicepción hay un aumento en la actividad coherente entre grupos neuronales de estructuras supraespinales (Ponsel et al., 2020), como también entre neuronas de la médula espinal (Contreras-Hernández et al., 2018). Recientemente (Moreno et. al., 2023, pendiente de publicación), hemos descrito que la nocicepción producida por la inyección intradérmica de capsaicina incrementa el acople funcional, por medio de oscilaciones coherentes, entre las neuronas de la RVM y las del dorso de la médula espina. Estas oscilaciones están acopladas en frecuencias del rango theta (de 4 a 8 Hz), y el acople puede ser interrumpido transitoriamente por la inyección sistémica de lidocaína o ketamina.

1.3. Conectividad funcional entre grupos neuronales de la médula espinal

La actividad del asta dorsal de la médula espinal se ha registrado desde 1941, por medio de electrodos superficiales (Bremer, 1941). Se caracteriza por una actividad de fondo de baja amplitud y frecuencias relativamente altas, sobre la cual aparecen potenciales fásicos espontáneos, con duración típica de entre 25 y 70 ms y amplitudes de entre 50 y 150 μV , a nivel de la región lumbar (especialmente entre L5 y L7) y también en segmentos cervicales (Manjarrez et al., 2002). Estos potenciales se han estudiado principalmente en el gato anestesiado y en roedores, y se ha descrito que, en gatos despiertos, la actividad aparece con menor amplitud y menor frecuencia (Kasprzak and Gasteiger, 1970). Esta actividad recibe influencia supraespinal inhibitoria, persiste en preparaciones espinalizadas, con una amplitud mayor a la registrada previo a la

espinalización, y persiste también en preparaciones espinalizadas crónicas (11 días después de la espinalización; ver [Mark and Gasteiger, 1953](#)).

Estos potenciales espontáneos se han estudiado en nuestro laboratorio desde 1984, y han sido nombrados como CDPs (*cord dorsum potentials*). Un hallazgo importante ha sido que los grupos de neuronas que producen estos CDPs pueden reclutar diferentes vías de inhibición sináptica, según su patrón de actividad ([Chávez et al., 2012](#)).

Se han identificado al menos dos tipos de actividad fásica y espontánea: los potenciales puramente negativos (nCDPs) y otros con una fase negativa seguida por una positiva (npCDPs) ([Rudomín, 2009](#)). Aunque inicialmente se pensaba que estos tipos de CDP eran causados por grupos distintos de interneuronas, la visión actual es que estos son provocados por el mismo grupo de neuronas ([Contreras-Hernández et al., 2015](#)), localizadas entre las láminas III y VI del asta dorsal (ver [Contreras-Hernández et al., 2015](#) y [Contreras-Hernández et al., 2022](#)), donde se encuentran algunas neuronas nociceptoras de segundo orden. La fase negativa de los nCDPs y npCDPs está asociada a la actividad de estas interneuronas, mientras que la fase positiva de los npCDPs está asociada a la despolarización de la raíz dorsal de la médula espinal ([Chávez et al., 2012](#)), una señal distintiva de la despolarización de aferentes primarias (PAD), una forma de inhibición presináptica causada por la despolarización de la terminal axónica de la aferente ([Rudomín, 2009](#)).

Los potenciales generados en distintos segmentos de la médula espinal pueden exhibir sincronización entre sí ([Manjarrez et al., 2003](#)), cambiando dinámicamente sus patrones espaciales de conectividad. Estos patrones no son aleatorios ([Rodríguez et al., 2011](#)) ni son independientes de su actividad reciente; es decir, el sistema tiene memoria ([Martín et al., 2017](#)).

Los nCDPs se producen principalmente cuando la actividad espinal está poco sincronizada, reclutando interneuronas asociadas a rutas de inhibición postsináptica no recíproca en motoneuronas; mientras que durante periodos de actividad altamente sincronizada, y luego de seccionar aferentes musculares y/o cutáneas (como los nervios peroneo superficial y sural), se producen principalmente npCDPS, reclutando interneuronas asociadas a rutas de inhibición

presináptica (ver [Chávez et al., 2012](#) y [Manjarrez et al., 2000](#)).

1.3.1. Reorganización de la conectividad funcional entre neuronas de la médula espinal durante la nocicepción

La observación de que diferentes patrones de sincronización implican el reclutamiento de distintas rutas de control sináptico condujo al estudio de qué actividades fisiológicas o cognitivas son capaces de producir esta sincronización.

La inyección intradérmica de capsaicina (el compuesto activo del chile) es un modelo común de dolor agudo y sensibilización central que actúa activando los receptores de potencial transitorio vaniloide 1 (TRPV1) y produce una sensación de calor, ardor y picazón ([Frias and Merighi, 2016](#)). Administrando capsaicina intraplantar en el gato anestesiado, [Contreras-Hernández et al. 2018](#) encontraron que durante el estado de sensibilización central ocurre un fuerte aumento en la sincronización en la actividad de segmentos espinales. Esta correlación es revertida por la inyección intravenosa de lidocaína, un bloqueador de canales de sodio usado como analgésico en pacientes con dolor neuropático y como preventivo del dolor post-operativo ([Hermanns et al., 2019](#)); y también por la inyección intravenosa de ketamina, un anestésico y sedante, antagonista no competitivo de los receptores NMDA, que además tiene propiedades antidepressivas ([Mihaljeviü et al., 2020](#)). La reestructuración funcional de la conectividad entre segmentos espinales durante la nocicepción inducida por capsaicina depende además de influencias supraespinales, y se ve fuertemente atenuado en preparaciones espinalizadas ([Contreras-Hernández et al., 2018](#)).

Uno de los cambios en la modulación sináptica reportados durante la nocicepción por capsaicina es la facilitación de la respuesta intraespinal inducida por la activación de fibras de umbral intermedio y alto del nervio articular posterior (PAN) ([Rudomín and Hernández, 2008](#)), responsables de las fases N2 y N3 de esta respuesta, y que transmiten, respectivamente, información propioceptiva y nociceptiva. La facilitación sináptica de estas fibras tiene una duración de 3–4 h, menor a la duración del proceso inflamatorio, lo cual llevó a [Ramírez-Morales et al., 2019](#) a postular que durante el proceso de sensibi-

lización central hay un aumento de información descendente que revierte gradualmente la facilitación causada por capsaicina, sin afectar a las aferentes de bajo umbral.

Otro efecto de la nocicepción por capsaicina es la potenciación sináptica de fibras tipo A δ y C de las aferentes cutáneas, que conduce a la hiperalgesia secundaria (Baumann et al., 1991), y una des-sensibilización o pérdida de función de las aferentes primarias cercanas al sitio de inyección, que produce hipoalgesia en esa región (Anand and Bley, 2011). Además, la administración de capsaicina genera un aumento en la transmisión sináptica de otras regiones de la matriz del dolor, como la parte capsular del núcleo central de la amígdala (parte del sistema límbico) (Nakao et al., 2012), y el núcleo medial preóptico del área preóptica hipotalámica, involucrado en la regulación de la temperatura (Karlsson et al., 2005). Por otro lado, se ha reportado la presencia de receptores a capsaicina en vías de señalización de dolor visceral, como el núcleo del tracto solitario, aferentes primarias viscerales, el tracto espino-talámico, etc. (Frias and Merighi, 2016), aunque su rol en la nocicepción requiere de más investigación.

1.4. Conectividad funcional entre la RVM y el dorso de la médula espinal

Proyecciones de la RVM hacia el dorso de la médula espinal La mayoría de proyecciones de la RVM hacia el asta dorsal de la médula espinal tienen blancos post-sinápticos en el soma y dendritas de neuronas espinales (Fields et al., 1995). Los mecanismos moleculares por los cuales la RVM actúa sobre la médula espinal son complejos: las neuronas OFF tienen proyecciones GABAérgicas en la médula espinal, causando la inhibición de neuronas del asta dorsal; existen también proyecciones serotoninérgicas de la RVM a la médula espinal, algunas a través de neuronas ON, que pueden tener una acción pronociceptiva actuando sobre receptores 5HT-2B y 5HT-3, o una acción antinociceptiva sobre receptores 5HT-7 (ver Harasawa et al., 2016); adicionalmente, el neuropéptido colecistoquinina es necesario para la modulación descendente

pro-nociceptiva durante el dolor neuropático.

Correlación entre la actividad de neuronas ON y OFF, y neuronas del dorso de la médula espinal La correlación de la actividad entre neuronas ON y OFF de la RVM con neuronas del dorso de la médula espinal ha sido descrita a través de registros de neuronas individuales. En estudios previos, [Salas et al. 2016](#) y [Hernández and Vanegas 2001](#) describen, en un modelo animal de ratas con anestesia profunda, que la actividad de neuronas ON (pro-nociceptivas) en la RVM se correlaciona con la actividad de neuronas de rango dinámico amplio (*wide dynamic range neurons*, WDR) en el dorso de la médula espinal, en latencia del disparo, frecuencia de disparo y en relación estímulo-respuesta. Similarmente, la actividad de neuronas OFF (anti-nociceptivas) de la RVM se correlaciona con una disminución en la actividad de neuronas de rango dinámico amplio. Estos resultados fueron replicados durante la presentación de calor nocivo [Hernández and Vanegas, 2001](#), durante la estimulación mecánica nociva en la pata y durante la microestimulación local de neuronas OFF con morfina [Salas et al., 2016](#).

En el presente estudio, nos enfocamos en estudiar la actividad colectiva de grupos neuronales en la RVM y en el dorso de la médula espinal. Esta visión permite estudiar las oscilaciones neuronales en el dominio espacial y en el dominio de frecuencias.

1.5. Capsaicina y mentol como modelos de dolor agudo

Muchos de los estudios sobre el control sináptico durante el estado de sensibilización central se han realizado con el modelo de nocicepción provocado por capsaicina, un vaniloide agonista de los canales TRPV1, que transducen información nociceptiva de temperaturas altas nocivas ($> 43^{\circ}C$) y de pH ácido (< 6.0) ([Julius, 2013](#)).

Además de la capsaicina, existen varios modelos animales usados para estudiar el dolor agudo; entre ellos, modelos de inflamación (formalina, cardagenina,

etc), dolor muscular (inyección intramuscular de solución salina hipertónica), dolor post-operativo, dolor por fractura y dolor por nocicepción térmica (temperaturas nocivas, capsaicina, mentol, etc.) (Xu and Brennan, 2011). Estudios de la respuesta electroencefalográfica durante distintos tipos de dolor somático agudo han encontrado (en varios, aunque no en todos los estudios revisados) un aumento en la actividad cortical en frecuencias de los rangos delta (2–4 Hz) y gamma (30–40 Hz) (Zis et al., 2022). Otros modelos de dolor (somático y visceral) han mostrado similitudes en su respuesta cortical, estudiada mediante imágenes de resonancia magnética, conduciendo a la idea de una *firma neurológica del dolor* (NPS) (Oudenhove et al., 2020).

El efecto del mentol, un monoterpeno cíclico (Kamatou et al., 2013)), podría considerarse opuesto al de capsaicina en términos de la sensación térmica que producen. Mientras que la capsaicina produce una sensación de calor, el mentol, en bajas concentraciones (en ratones, menores a 10% o 640 mM Li et al., 2022), produce una sensación de frescura y analgesia, y a mayores concentraciones provoca hiperalgesia y alodinia al frío (Wasner et al., 2004). Los mecanismos detrás de este efecto dual no están completamente caracterizados, pero se cree que los canales TRPM8 y TRPA1, sensibles a temperaturas frías, son los principales responsables (MacDonald et al., 2020).

De hecho, a nivel molecular, el mentol también tiene un efecto dual en algunos canales, como en los TRPA1 (Xiao et al., 2008a), TRPM8 (Andersen et al., 2014) y TRPV1 (Nguyen et al., 2021). En los TRPA1, por ejemplo, bajas concentraciones de mentol activan al canal, pero altas concentraciones lo bloquean (Xiao et al., 2008a, aunque esto no ocurre en humanos (Xiao et al., 2008b; en TRPM8, las concentraciones bajas a moderadas de mentol producen analgesia por activación del canal, mientras que las concentraciones altas producen hiperalgesia y alodinia al frío por sensibilización de los mismos canales (Andersen et al., 2014; y en TRPV1 también hay un efecto dual dependiente de la concentración de mentol (Nguyen et al., 2021. A nivel celular, se ha reportado, en ratas, que el mentol aumenta la actividad espontánea postsináptica, tanto excitatoria como inhibitoria, de neuronas del asta dorsal (Choi et al., 2020).

Se han identificado varios tipos de fibras nerviosas, del tipo C o $A\delta$, con

proyecciones principalmente hacia las láminas I–III de la médula espinal, que responden al frío (MacDonald et al., 2020, algunas de manera polimodal (es decir que responden a otros tipos de estímulos, algunas de ellas al calor) y otras de forma unimodal (que responden únicamente al frío). Algunas de estas fibras responden a temperaturas nocivas ($<20^{\circ}\text{C}$), otras a temperaturas inocuas, y otras a ambos tipos de estímulo.

A pesar de la diferencia en la sensación que producen la capsaicina y el mentol, estas sustancias comparten similitudes en cuanto a su efecto nociceptivo. Se ha descrito, por ejemplo, que bloquear la conducción de las fibras tipo A por constricción, durante la presentación de estímulos fríos, inhibe la sensación de frío y cambia la sensación de dolor, convirtiéndola en un dolor ardiente, similar al reportado con capsaicina, y disminuye significativamente el umbral de dolor provocado por frío (temperaturas más altas producen dolor, y las mismas temperaturas producen más dolor comparado con el que provocaban previo a la aplicación de mentol) (ver Yarnitsky and Ochoa, 1990 y Wasner et al., 2004), sugiriendo que las fibras tipo A, con información táctil y/o térmica, modulan la acción de las fibras tipo C nociceptivas, un modelo consistente con la teoría de la compuerta del procesamiento del dolor (Trachsel et al., 2022). Por otro lado, se ha demostrado, por medio de imágenes de resonancia magnética funcional (basadas en la dinámica de consumo sanguíneo de regiones cerebrales) que, a nivel cortical, el dolor provocado por frío es procesado de manera similar que el dolor provocado por calor (Tracey et al., 2000); la única diferencia reportada en el estudio de Tracey et al., 2000 es un mayor aumento en la actividad de regiones de la corteza frontal con la nocicepción por frío, comparada con la nocicepción por calor.

En experimentos preliminares del laboratorio se estudió además la facilitación de las respuestas evocadas por la estimulación del PAN durante el efecto de mentol, de la misma manera como se hizo con capsaicina, y se observó que el efecto del mentol es contrario al de capsaicina: este inhibe las fases N2 y N3 de la respuesta intraespinal, mientras que capsaicina facilita estas mismas fases (comparar figura 7.1A y 7.1B). Esta diferenciación entre los efectos de capsaicina y mentol podría deberse a la activación de distintos patrones de

oscilación, activando a su vez diferentes vías nociceptivas (ver la sección 7.1). Este efecto es reversible por espinalización, lo cual sugiere que es causado por influencias inhibitorias descendentes.

1.6. Criticalidad de la actividad neuronal generada en el dorso de la médula espinal

Evidencias recientes han llevado a plantear la hipótesis de que el cerebro maximiza su capacidad computacional trabajando en un estado cercano a la criticalidad (Shew and Plenz, 2013).

En el contexto de las redes neuronales, un estado de criticalidad puede entenderse como un estado dinámico equilibrado entre la tendencia del sistema a terminar su actividad y la tendencia a activarlo sin control. Este concepto es más fácil de entender por medio del ejemplo propuesto por Shew and Plenz (2013): imaginemos una red de 100 neuronas en la que podemos modular la probabilidad (p) de que el disparo de una neurona provoque el disparo de las demás. Si tomamos $p = 1/2$, entonces en promedio una neurona provocaría el disparo de 50, y estas luego producirían el disparo de todas (el sistema está en un estado de supercriticalidad); si tomamos $p = 1/1000$, en promedio la actividad de una neurona no provocaría el disparo de otras neuronas y la actividad desaparece rápidamente (el sistema está en subcriticalidad). La criticalidad se alcanza cuando $p = 1/100$: en este caso, el disparo de una neurona provocará el disparo de otra, y el sistema es menos propenso a que la actividad desaparezca, o se salga de control (en otras palabras, es más probable sostener la actividad sin activar todas las neuronas).

Cuando un sistema trabaja cerca de la criticalidad, algunas capacidades computacionales del sistema se optimizan. Por ejemplo, se maximiza el rango de estímulos que el sistema puede distinguir (en términos de la respuesta que produce), y se maximiza también la fidelidad de la transmisión de información (Shew and Plenz, 2013).

En el cerebro, la criticalidad se auto-organiza, posiblemente a través de mecanismos de plasticidad homeostática (Rocha et al., 2018).

Para evaluar directamente la criticalidad de un sistema, sería necesario tener un estimado estadístico de la actividad del sistema completo (en el experimento mental citado, conocer la cantidad de neuronas que se activan por el disparo de una sola neurona). En vez de esto, es común evaluar la criticalidad de manera indirecta, cuantificando predicciones sobre el sistema implícitas en la condición de criticalidad. Una de estas predicciones son las relaciones en leyes de potencias. Por ejemplo, se ha caracterizado un tipo de actividad en circuitos corticales que trabajan cerca de la criticalidad (Beggs and Plenz, 2003), en la cual la probabilidad de encontrar un evento de tamaño s (por ejemplo, s neuronas activas) es proporcional a $s^{-3/2}$.

Usando el método propuesto por (Sánchez-Islas et al., 2021) para medir criticalidad de datos electrofisiológicos (ver Métodos), en el laboratorio se ha encontrado que las señales medidas en el asta dorsal de la médula espinal siguen una ley de potencias, con un exponente β que varía entre situaciones nociceptivas y no nociceptivas (Moreno et. al., pendiente de publicación), sugiriendo que el sistema podría estar actuando en un estado de criticalidad. En un experimento pendiente de publicación (Figura 1.1), la capsaicina aumenta el valor de β desde un valor basal de 2.25 hasta 3.42, al considerar la actividad en el rango θ , y esto se revierte temporalmente con lidocaína y con ketamina sistémica, llegando a un valor cercano al de la condición control. Estas variaciones en el valor de β son mayores en el rango de frecuencias θ que en los rangos δ y α , y son menores en el rango γ , y los analgésicos estudiados no tienen un efecto apreciable en el valor de β al aplicarlos luego de espinalizar la preparación.

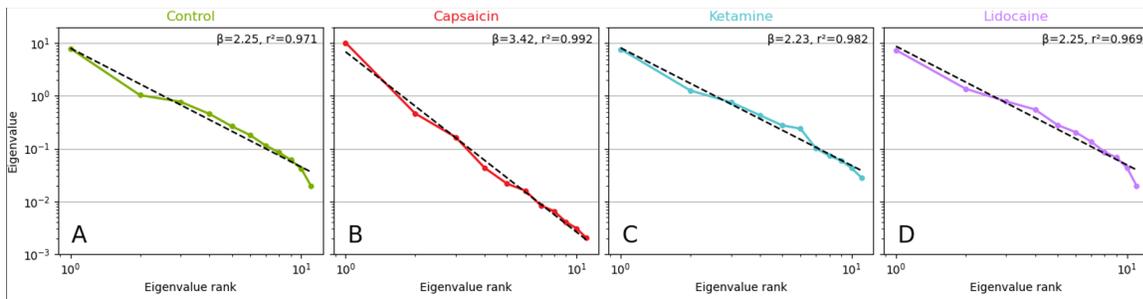


Figura 1.1: Efectos de capsaicina (B), ketamina (C), y lidocaína (D) en el valor del exponente β . Los datos se ajustan adecuadamente a una ley de potencias entre los eigenvalores hallados por medio del método de análisis de componentes principales y el rango del eigenvalor (ver los valores de r^2 de las regresiones). Los datos usados son tomados de un registro continuo de 10 minutos, con 8 electrodos superficiales colocados entre las secciones L4 y L7 del dorso de la médula espinal, filtrados en el rango θ (4–8 Hz). Datos del laboratorio pendientes de publicación.

Capítulo 2

Planteamiento del problema

Los grupos neuronales del dorso de la médula espinal producen potenciales espontáneos (CDPs) que pueden medirse a partir de registros superficiales. Estos grupos de neuronas ocupan uno o más segmentos espinales en cada lado de la médula espinal, y tienden a activarse de manera sincronizada, siguiendo un patrón de actividad no aleatoria y con memoria. El grado de sincronización entre estos grupos de neuronas determina funciones diferenciadas de modulación sináptica a nivel de las fibras aferentes primarias y esta sincronización depende fuertemente de influencias supraespinales.

Además, según datos recientes del laboratorio (Moreno et. al., 2023, pendiente de publicación), la conectividad funcional entre el dorso de la médula espinal y la región rostral ventromedial del bulbo raquídeo aumenta durante la administración de capsaicina, con ambas estructuras oscilando coherentemente en frecuencias específicas. Este efecto se revierte temporalmente tras la administración sistémica de lidocaína.

Durante el estado de sensibilización central provocado por capsaicina, aumenta la sincronización de los grupos neuronales del dorso de la médula, a la vez que se facilita la transmisión sináptica de fibras de umbral intermedio y alto de aferentes primarias articulares. Sin embargo, recientemente se observó (datos del laboratorio no publicados) que durante la nocicepción inducida

por mentol, la transmisión sináptica de las fibras de umbral intermedio y alto de aferentes articulares disminuye, en lugar de facilitarse como lo hace con capsaicina.

Con esto presente, se hace necesario estudiar en más detalle la conectividad funcional de grupos neuronales del asta dorsal de la médula espinal y de la RVM, para dilucidar si el efecto diferencial de mentol sobre la efectividad sináptica de aferentes articulares está relacionado con un efecto diferencial sobre la sincronización de la actividad de grupos neuronales del dorso de la médula espinal, y/o con un efecto diferencial sobre el acople entre la médula espinal y la RVM.

Es necesario además registrar más regiones de la RVM, para analizar su heterogeneidad funcional y evaluar si esta región, al igual que el dorso de la médula espinal, se organiza en condiciones de criticalidad, una forma de organización que podría ser inducida por la plasticidad homeostática del sistema, y que optimiza sus capacidades computacional.

Se plantean las preguntas: ¿los patrones de sincronización entre CDPs inducidos por capsaicina se replican durante el efecto nociceptivo de mentol?, ¿la conectividad funcional entre la RVM y el dorso de la médula espinal aumenta durante el efecto de mentol de la misma manera que durante el efecto de capsaicina?, y ¿la actividad de la RVM se ajusta a una condición de criticalidad durante la nocicepción inducida por mentol?

Capítulo 3

Hipótesis

- La nocicepción provocada por la inyección intradérmica de mentol incrementa en forma estructurada la conectividad funcional entre las neuronas del asta dorsal de la médula espinal. Este efecto depende de influencias supraespinales.
- Durante el estado de sensibilización central inducido por mentol, se incrementa el acople funcional entre grupos neuronales de la RVM y del dorso de la médula espinal, generando oscilaciones coherentes entre ellos.
- La administración sistémica de lidocaína en dosis sub-anestésicas modifica la actividad oscilatoria de neuronas supraespinales y espinales, de tal forma que revierte, de manera transitoria, el acople funcional producido por mentol. Este efecto depende también de influencias supraespinales.
- La actividad de las neuronas del dorso de la médula espinal tiene una dinámica colectiva que se ajusta a criterios de criticalidad durante el proceso de sensibilización central inducido por mentol. Particularmente, al descomponer la matriz de covariancia de las series de tiempo de los registros en las secciones medidas, los eigenvalores λ_k obtenidos por el método de análisis de componentes principales se ajustan a la relación $\lambda_k \propto -k^\beta$, para algún valor de β .

Capítulo 4

Objetivos

4.1. Objetivo general

Estudiar los efectos de la inyección intradérmica de mentol sobre la sincronización de grupos neuronales del asta dorsal de la médula espinal, y la influencia que estos reciben de la región rostral ventromedial del bulbo raquídeo.

4.2. Objetivos particulares

- Medir los cambios en el acople funcional entre grupos neuronales del dorso de la médula espinal, durante la nocicepción producida por mentol y la anti-nocicepción producida por la inyección sistémica de lidocaína en dosis sub-anestésicas.
- Medir los cambios en coherencia entre la actividad de la RVM y del dorso de la médula espinal provocados por la inyección intradérmica de mentol y durante el efecto de la perfusión sistémica de lidocaína.
- Analizar si los efectos del mentol y la lidocaína dependen de influencias supraespinales, comparando los cambios en el acople entre grupos neuronales del dorso de la médula espinal, en preparaciones con neuroeje intacto y espinalizadas.

- Evaluar la ocurrencia de invariencias de escala que puedan indicar una condición de criticalidad en la médula espinal y en la RVM durante, condiciones control, de nocicepción por mentol y de analgesia por lidocaína.

Capítulo 5

Metodología

5.1. Preparación

Los estudios fueron realizados en gatos anestesiados con pentobarbital sódico, administrando una dosis inicial de 40 mg/Kg de peso por vía intraperitoneal y manteniendo el estado de anestesia con bolos intermitentes de pentobarbital sódico al 10 %, procurando mantener la presión sanguínea en un rango de 70–120 mmHg.

Se canularon las venas radiales para administrar fármacos intravenosos; la carótida, para monitorear la presión sanguínea; la tráquea, para mantener la respiración de manera artificial con un respirador mecánico posterior a realizar una traqueotomía (para eliminar el movimiento de la caja torácica durante el registro), y la vejiga urinaria, para desechar la orina. La actividad muscular fue detenida por medio de la administración continua de bromuro de pancuronio por vía intravenosa, a razón de 0.5 mL/h.

5.2. Registros electrofisiológicos

Para registrar la actividad espontánea del dorso de la médula, se colocaron 8 electrodos superficiales esféricos entre los segmentos L4–L7, sumergidos en un medio líquido de petrolato para evitar que se desequie la médula espinal y aislar las señales eléctricas de cada electrodo.

Los potenciales de campo intraespinal (IFPs) se registraron por medio de microelectrodos de vidrio llenos de una solución de NaCl 2M, con resistencias entre 0.7 y 1.2 M Ω , colocados entre diferentes regiones lumbares, a profundidades en las que se observados potenciales evocados de mayor amplitud. Por último, se midieron los potenciales de campo supraespinales, con electrodos de tungsteno introducidos a partir del óbex ubicados a una profundidad de 6 mm desde la superficie; se colocaron 2 electrodos en la línea medial, uno rostral (NRMr) y uno caudal (NRMc); dos a 1 mm a la izquierda de la línea media, uno rostral (RFir) y otro caudal (RFic); y dos a 1 mm a la derecha de la línea media, uno rostral (RFir) y otro caudal (RFir).

Se realizaron registros continuos de 10 minutos de duración, pausando el registro durante las maniobras realizadas. Las señales registradas fueron digitalizadas con una frecuencia de muestreo de 11 KHz, restándoles la señal de electrodos de referencia insertados en músculos cercanos al punto de registro.

5.3. Administración de fármacos

Para las dosis aplicadas de mentol se preparó una solución de 8 mg de mentol por Kg de peso del gato. En cada dosis se administraron 300 μ L de esta solución. Para preparar esta solución, el mentol se disolvió con 1 mL de etanol, posteriormente se diluyó en 3 mL de etanol al 40% y 4 mL de solución Hartman, agregando gradualmente 2 mL de Tween 80 al 1% para mantener la solución en suspensión estable.

La lidocaína se aplicó en dosis de 5 mg/Kg, suspendida en 20 mL de disolución con solución Hartman, en infusión intravenosa a razón de 0.6 mL/min. Se ha reportado que concentraciones más bajas de lidocaína intravenosa no son efectivas para reducir la nocicepción térmica en gatos ([Pypendop et al., 2006](#)),

Preparación del mentol En los experimentos realizados se probaron distintas dosis y preparaciones del mentol.

En dos de los experimentos presentados (Figuras [6.2](#) y [6.3](#)) se utilizó una dosis de mentol intraplantar a una concentración de 8 mg por kilogramo de peso corporal del animal, diluido en etanol al 1%, siguiendo la preparación

descrita por [Baggio et al. \(2012\)](#), quienes reportan una respuesta nocifensiva tras la aplicación intraplantar de mentol en ratones, usando una concentración equivalente a 8 mg/Kg según el peso de un ratón promedio. En ambos experimentos observamos cambios en la conectividad tanto del dorso de la médula espinal como de la RVM (ver Figuras 6.2, 6.12, 6.3 y 6.16C).

En el tercero de los experimentos presentados (mostrado en la Figura 6.13), se exploró el efecto de distintas dosis de mentol intraplantar: una en concentración masa/volumen de 0.5 % y una segunda dosis consecutiva, en la misma pata, al 5 % (equivalente a 7.58 mg/Kg de peso corporal), ambas usando la misma preparación de mentol usada en los experimentos antes mencionados. En este experimento se observaron también cambios en la conectividad del dorso de la médula espinal y de la RVM (ver Figuras 6.13 y 6.6D).

En el resto de experimentos (ver Figuras 6.6E y F), se utilizó una preparación de mentol en dilución con etanol al 10 %. Experimentos in-vivo en roedores han demostrado que las respuestas nocifensivas ante la presentación de mentol depende de la sensibilización de canales TRPM8 ([Knowlton et al., 2010b](#)), mientras que estudios in-vitro han demostrado que el etanol al 3 % inhibe las corrientes inducidas por mentol en este canal (aunque esta inhibición es menos intensa ante la presentación de concentraciones más altas de mentol; ver [Knowlton et al., 2010a](#)). Esta puede ser una de las razones por las que no observamos un efecto del mentol en estos experimentos.

Consistente con esta hipótesis, en uno de los experimentos en que se utilizó la preparación a base de etanol al 1 % (Figura 6.3), observamos una pequeña disminución en la correlación entre segmentos espinales luego de administrar el vehículo de forma intraplantar (Figura 6.3).

5.4. Análisis de los datos

Las señales fueron submuestreadas a 550 Hz y posteriormente filtradas digitalmente con un filtro pasa-bandas de Butterworth entre 0.7 y 100 Hz, para comprimir estas señales a la vez que se elimina el ruido de frecuencias muy altas. Los registros obtenidos, de 10 minutos de duración, se dividieron en segmentos

de 2.5 minutos, para disminuir el uso de memoria interna durante los algoritmos usados, y sobre estos segmentos se estimaron las métricas propuestas de acople funcional y de criticalidad.

5.4.1. Suavizado del espectro de frecuencias para eliminar frecuencias asociadas a eventos cardiacos

Con el fin de mejorar la visibilidad de los datos, se usaron distintos métodos para atenuar las señales provenientes del ritmo cardiaco. Este es un problema recurrente al estudiar señales electrofisiológicas y existen varios métodos para separar estas señales de las respuestas neuronales ([Jiang et al., 2019](#)). Cada método optimiza ciertos aspectos, pero ninguno es universalmente óptimo.

En el presente trabajo, se utilizaron dos métodos independientes para eliminar estas señales: un método de regresión como el propuesto por [Wallstrom et al. 2002](#) (ver figura 5.1C) y una simplificación del método descrito por [Kumar et al., 2008](#), en el que en lugar de realizar una transformación de ondículas, se suavizó la representación de la señal en el dominio de las frecuencias, truncando los picos identificados como frecuencias asociadas al ritmo cardiaco (figura 5.1D). Los resultados obtenidos por estos métodos se ilustran en la figura 5.1, en la que puede observarse que el segundo método produjo mejores resultados que el primero.

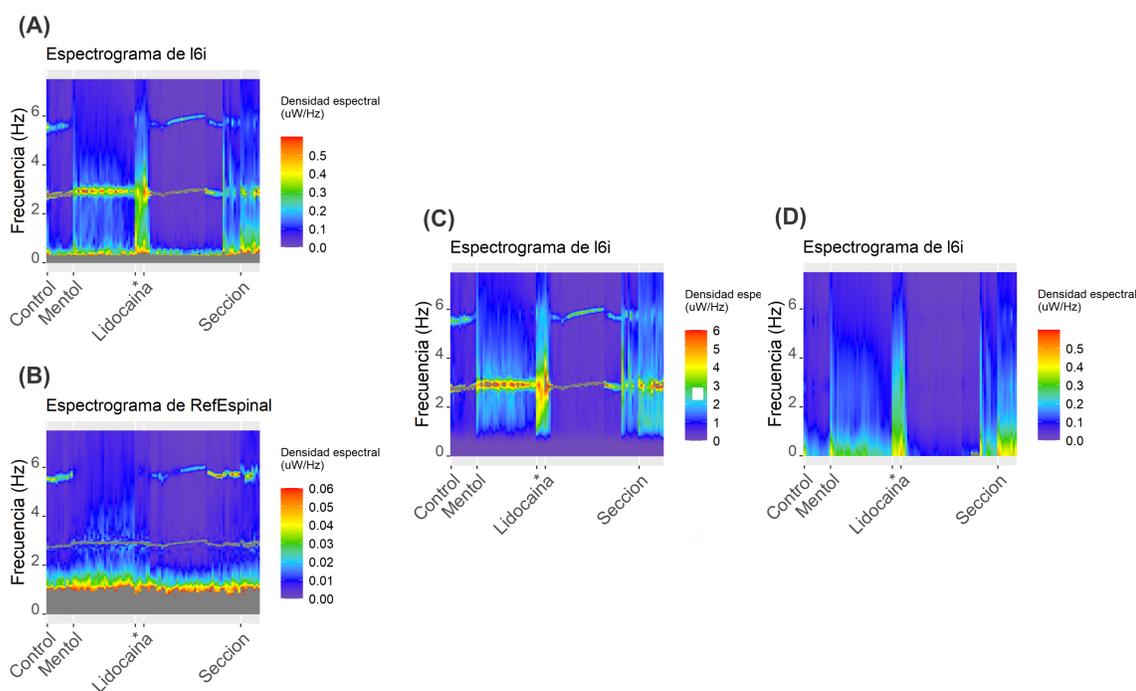


Figura 5.1: Comparación de dos métodos usados para suavizar el espectro de las señales registradas. (A): Espectro de las señales registradas en el segmento l6i, a la cual se le restaron previamente las señales del canal de referencia (B); (B): Espectro del canal de referencia, colocado en un músculo cercano al punto de registro de (A); nótese el cambio de escala con respecto a (A). (C): Espectro de l6i luego de suavizar su espectro, usando un método de regresión como el propuesto por [Wallstrom et al. 2002](#); nótese el cambio de escala con respecto a (A). (D): Espectro de l6i luego de restar la señal de referencia multiplicada por un factor de escala (≈ -0.01).

Específicamente, en este método se trasladaron las señales al dominio de las frecuencias, usando una transformada rápida de Fourier. En esta representación de las señales, los artefactos cardiacos se observan como picos en la amplitud en frecuencias específicas. Posteriormente, esta representación en el dominio de las frecuencias se dividió en rangos de frecuencias de manera tal que cada rango incluyera aproximadamente uno solo de estos picos, los cuales fueron identificados como valores atípicos (*outliers*), con una desviación del tercer cuartil ± 3 veces el rango intercuartil ($Q_3 \pm 3IQ$). Los valores atípicos hallados se truncaron a un valor de $Q_3 \pm 3IQ$, y la señal obtenida por este método se reconstruyó a su representación original (es decir, en un dominio de

amplitudes).

Como puede observarse de la figura 5.2, este método no deforma significativamente las señales registradas, más allá de disminuir las frecuencias bajas (menores a 0.25 Hz) que quedaron como remanentes del filtro pasa-bandas (entre 0.75 y 100 Hz) previamente aplicado a la señal.

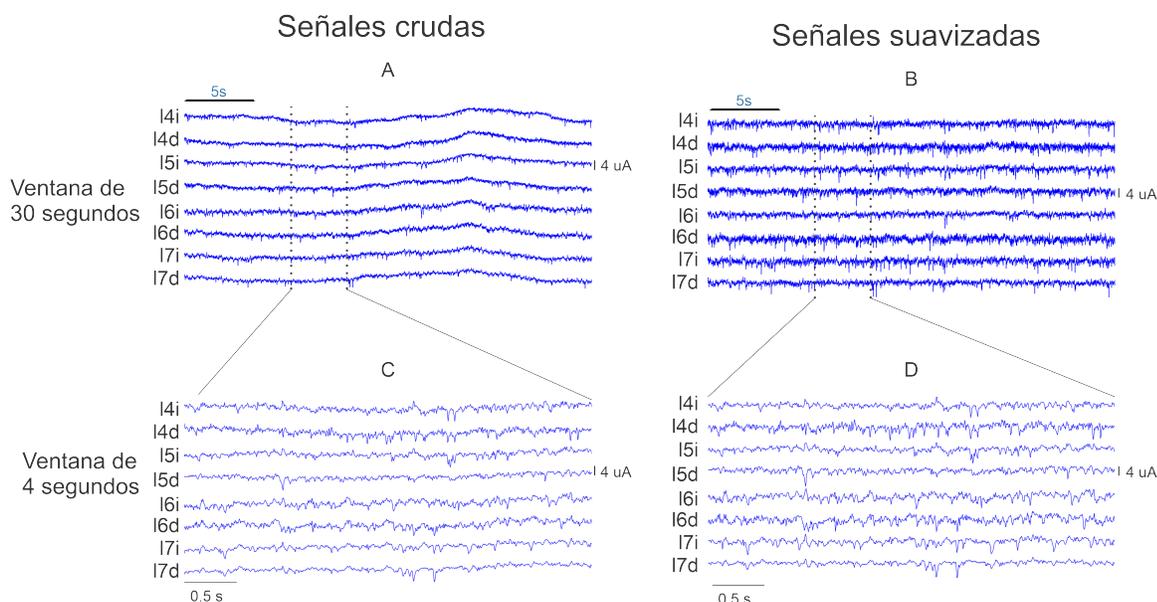


Figura 5.2: El método utilizado para suavizar el espectro de las señales no deforma significativamente la señal. Esto se ilustra comparando las señales del canal 16i antes (A, C) y después (B, D) de suavizar su espectro. (A y B): Señales en una ventana de 30 segundos; nótese que las señales suavizadas (B) disminuyen las oscilaciones lentas (≈ 0.25 Hz), ya disminuidas en el registro original (A) por el filtro utilizado (entre 0.7 y 100 Hz, ver Metodología). (C y D): Señales en una ventana de 4 segundos; las señales difieren levemente, pero los potenciales espontáneos mantienen su forma y temporalidad.

5.4.2. Mediciones de acople funcional

Para medir el acople entre grupos neuronales, usamos la correlación de Pearson como métrica de correlación y la coherencia como medida de la sincronización en fase entre estos grupos neuronales.

Siendo $x = x_t$ y $y = y_t$ las series de tiempo formadas a partir de los registros electrofisiológicos de un par de canales, la correlación de Pearson (r) mide la covarianza entre estas series de tiempo, normalizando por el producto de las

desviaciones estándar de x y de y ; es decir:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 (y_i - \bar{y})^2}}, \quad (5.1)$$

de modo que se obtiene un valor entre -1 y 1, donde -1 indica una correlación total negativa, 1 significa una correlación máxima positiva, y 0 indica ninguna correlación.

Para obtener las densidades espectrales de los datos, se utilizó un algoritmo multitaper, que consiste en obtener varias estimaciones de la densidad espectral a partir del mismo conjunto de datos, pasando los datos por una función de ventana distinta para cada estimación, de modo que los datos se evalúan en distintas ventanas de tiempo. El espectro cruzado entre los canales l y m , usando K tapers, es:

$$\hat{S}^{lm}(f) = \frac{1}{K} \sum_{k=0}^{K-1} \hat{S}_k^{lm}(f),$$

donde

$$\hat{S}_k^{lm}(f) = \frac{1}{N\Delta t} [J_k^l(f)]^* [J_k^m(f)],$$

es la k -ésima estimación del espectro cruzado, y

$$J_k^l(f) = \sum_{t=1}^N h_{t,k} x^l(t) e^{-i2\pi f t \Delta t}.$$

La coherencia (C_{xy}) se mide de manera análoga a la correlación de Pearson, en el dominio de las frecuencias, sustituyendo la covarianza por la densidad espectral cruzada P_{xy} y las desviaciones estándar por las densidades espectrales de x (P_{xx}) y de y (P_{yy}), de modo que

$$C_{xy}(f) = \frac{(P_{xy}(f))^2}{P_{xx}(f)P_{yy}(f)}, \quad (5.2)$$

y C_{xy} es un valor entre 0 y 1 que indica el nivel de correlación entre las energías espectrales en la frecuencia f .

Para calcular el coeficiente de correlación de Pearson, usamos la función

cor de R (Team, 2016); para estimar la densidad espectral usamos la función `pspectrum` del paquete `psd` de R (Barbour and Parker, 2014), y para calcular la coherencia usamos la función `coherence` del paquete `nitime` de python (Rokem et al., 2009). Las gráficas fueron generadas por medio del paquete `ggplot2` de R.

5.4.3. Limpieza del medio conductor

Durante la disección de la médula espinal (principalmente durante la disección de la dura madre y la pia madre, previo a insertar los microelectrodos de registro intraespinal), ocurren hemorragias menores de la irrigación sanguínea de la médula espinal y filtración de líquido cefalorraquídeo. Por tanto, es necesario hacer una limpieza del medio al identificarlas. De lo contrario, la sangre y el líquido cefalorraquídeo, al filtrarse en la interfaz entre el electrodo y la médula espinal e iniciar el proceso de coagulación, formaría una nueva fase de contacto entre el dorso de la médula y el electrodo, aumentando la impedancia de contacto entre estas superficies (Yang et al., 2022), y por tanto disminuyendo la calidad de las señales registradas (aumento en la cantidad de artefactos y la relación señal-ruido; ver Radüntz, 2018).

Para realizar esta limpieza, utilizamos una pipeta con perilla para retirar la sangre del medio, teniendo cuidado de no tocar los electrodos colocados en el dorso de la médula.

Como efecto indirecto de esta maniobra, podría existir una estimulación mecánica indirecta sobre el dorso de la médula espinal, al transmitir ondas de presión a través del medio líquido; sin embargo, la amplitud de estas estimulaciones estaría muy lejos de poder causar un daño tisular, y ante la ausencia de neuronas mecanosensitivas reportadas en la médula espinal de mamíferos (ver Grillner et al., 1982 y Necker, 2006 para reportes en peces y aves), la razón más plausible de los cambios observados en las medidas de conectividad funcional durante esta maniobra (ver Figura 6.2) es la mejora en la conductividad eléctrica.

5.4.4. Análisis de leyes de potencias características durante la criticalidad

Las aparición de leyes de potencias en la actividad de la RVM y la médula espinal (ver la sección 6.5) se evaluó por el método descrito por Sánchez-Islas et al., 2021.

El método propuesto por Sánchez-Islas et al. 2021 es una generalización multi-canal de la ley de potencias descrita por el espectro de frecuencias de canales individuales que trabajan en criticalidad, la cual sugiere una *invariancia de escala* en la varianza de la señal; es decir que sin importar la escala temporal en la que se observe la señal, esta tiene una autocorrelación significativa (ver Beggs and Plenz, 2003). Este método se basa en la observación de que, en un modelo de múltiples series de tiempo trabajando en conjunto para llevar el sistema a la criticalidad, el eigenespectro de la matriz de covarianzas entre los canales registrados, obtenido siguiendo el método de análisis de componentes principales (PCA), sigue una ley de potencias, de modo que, si λ_k es el eigenvalor respectivo al k -ésimo componente de la descomposición en componentes principales, entonces

$$\lambda_k \propto k^{-\beta'}. \quad (5.3)$$

El análisis de componentes principales es un algoritmo usado para representar un conjunto de datos en un sistema de coordenadas ortogonales en el que las coordenadas son un conjunto ordenado de *eigenvectores* que apuntan, en orden descendente, hacia las direcciones de mayor varianza de los datos.

Para interpretar el exponente β' , nótese que mientras este sea mayor, la varianza de los datos se distribuye en más direcciones, por tanto indicando que la actividad se encuentra menos “ordenada”; es decir, menos coordinada.

Para evaluar qué tan bien se ajustan las señales a la ley de potencias de la ecuación 5.3, utilizamos el coeficiente de determinación (R^2) del análisis de regresión del modelo $\lambda_k \propto k^\beta$, el cual toma valores entre 0 y 1. Valores cercanos a 1 indican un buen ajuste al modelo, mientras que valores cercanos a 0 indican un mal ajuste.

Capítulo 6

Resultados

6.1. Cambios estructurados en la actividad y sincronización entre segmentos espinales durante el efecto nociceptivo de mentol

Durante la respuesta nociceptiva iniciada por la administración intraplantar de capsaicina, ocurre una reorganización funcional de grupos neuronales en el asta dorsal de la médula espinal, descrita por [Contreras-Hernández et al. 2018](#). Específicamente, ocurre un notable aumento en la sincronización de la actividad entre grupos neuronales del asta dorsal, un fenómeno que favorece la activación de vías relacionadas a la despolarización de aferentes primarias y la inhibición pre-sináptica ([Chávez et al., 2012](#)). A partir de estos antecedentes, nos preguntamos si esta alteración en la organización funcional puede ser inducida por otras maniobras nociceptivas. En particular, este estudio se enfoca en examinar el impacto del mentol como agente nociceptivo, el cual induce algunas sensaciones distintas a las que la capsaicina, como la sensación térmica, y a la vez puede producir una sensación dolorosa semejante a la inducida por capsaicina (ver la sección 1.5).

Para responder a esta pregunta, llevamos a cabo experimentos en los cuales registramos los potenciales de campo de la superficie del asta dorsal de la médula espinal a lo largo de los segmentos l4–l7, de lado derecho e izquierdo.

Los registros se realizaron mediante electrodos ubicados en estos segmentos lumbares, como fue descrito por [Contreras-Hernández et al. 2018](#) (ver la sección 5.2), y estudiamos la conectividad funcional entre estos segmentos luego de administrar mentol intraplantar y durante el efecto de la lidocaína.

En los experimentos realizados, se observó un aumento en la amplitud y en la frecuencia de aparición de potenciales espontáneos en el dorso de la médula espinal (*cord dorsum potentials* o CDPs) luego de administrar mentol de manera intraplantar en la pata izquierda (comparar las figuras 6.1A y 6.1B); esta actividad estuvo altamente sincronizada entre segmentos espinales adyacentes, sobre todo en las regiones l6 y l7 (ver potenciales marcados en la Figura 6.1B). Este efecto puede ser temporalmente revertido por la administración sistémica de lidocaína (Figura 6.1C), y una vez pasado el efecto de la lidocaína (aproximadamente 70 minutos después de su administración), el sistema vuelve a una configuración semejante a la observada durante el efecto de mentol (Figura 6.1D). Luego de espinalizar la preparación por medio de una sección espinal a nivel de T4, la actividad de baja amplitud aumenta en todos los segmentos, con menor sincronización que durante el efecto de mentol (Figura 6.1D), lo cual sugiere que la sincronización entre estos grupos neuronales puede ser modulada por influencias supraespinales.

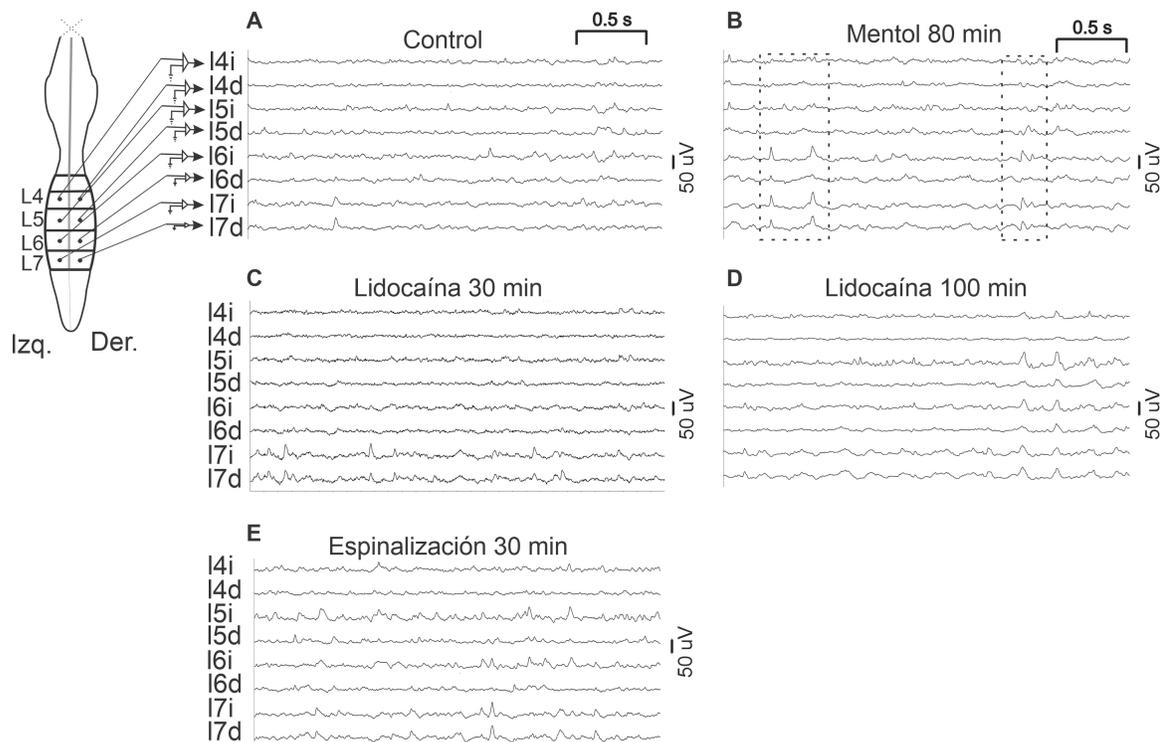


Figura 6.1: Aumento de la sincronización entre segmentos espinales luego de administrar mentol. Se midió la actividad por medio de electrodos colocados sobre el dorso de la médula espinal, a lo largo de los segmentos espinales l4–l7, tanto de lado izquierdo (14i–17i) como derecho (14d–17d). Se presentan registros representativos para las siguientes condiciones: **A**: previo a administrar mentol; **B**: 80 minutos después de administrar mentol intraplantar en la pata izquierda; **C**: 30 minutos después de administrar lidocaína por vía sistémica; **D**: 100 minutos luego de la administración de lidocaína, y **E**: 30 minutos después de espinalizar la preparación. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

6.2. La administración de mentol aumenta la conectividad funcional entre neuronas del asta dorsal de la médula espinal

La sincronización entre segmentos espinales, observada en la Figura 6.1, puede ser cuantificada a través de varios métodos (Mohanty et al., 2020b). Entre ellos, el enfoque más común consiste en cuantificar la interdependencia lineal entre las señales utilizando la correlación de Pearson.

En concordancia con lo observado en la figura 6.1, la correlación entre segmentos espinales aumenta poco después de la inyección intra-plantar de mentol (Figura 6.2, ordenada de mayor a menor correlación) y persiste hasta más de dos horas después, cuando se administró lidocaína por vía sistémica, teniendo un efecto anti-nociceptivo.

Diez minutos antes de la administración de lidocaína, durante el efecto de mentol, fue necesario llevar a cabo un procedimiento de limpieza en el medio conductor (petrolato) dentro de la médula espinal debido a una hemorragia menor originada en la irrigación vascular entre los segmentos l5 y l6 (ver Sección 5.4.3), probablemente en desarrollo a partir de la inserción de microelectrodos intraespinales (ver sección 5.2). Esta intervención resultó en un mayor aumento en la correlación, posiblemente debido a un aumento en la conductividad del medio (ver Figura 6.7 y sección 5.4.3).

Los resultados mostrados en la figura 6.2 fueron reproducidos en un experimento en el que no se presentaron hemorragias, por lo que no fue necesario realizar esta limpieza (ver Figura 6.3). En este experimento, se exploró además el efecto de inyectar el vehículo utilizado en la preparación del mentol, compuesto en su mayoría etanol diluido al 1% en agua destilada. Esta maniobra causó una leve disminución en la correlación entre algunos segmentos espinales, consistente con una modesta neutralización del efecto observado con mentol (ver la sección 5.3 para un análisis más detallado sobre este tema).

El aumento en la conectividad funcional de neuronas del asta dorsal de la médula espinal es consistente con lo observado durante la nocicepción inducida por capsaicina, lo cual nos lleva a plantear que la inyección intradérmica de

mentol en las concentraciones administradas (8 mg/Kg en 300 μ L de solución) produce un efecto nociceptivo similar al de capsaicina, consistente con lo reportado en humanos y roedores a concentraciones similares (ver [Li et al., 2022](#); [Wasner et al., 2004](#) y [Baggio et al., 2012](#)). Este aumento en la conectividad funcional está sujeto a influencias supraespinales y puede ser temporalmente revertido mediante la administración sistémica de lidocaína.

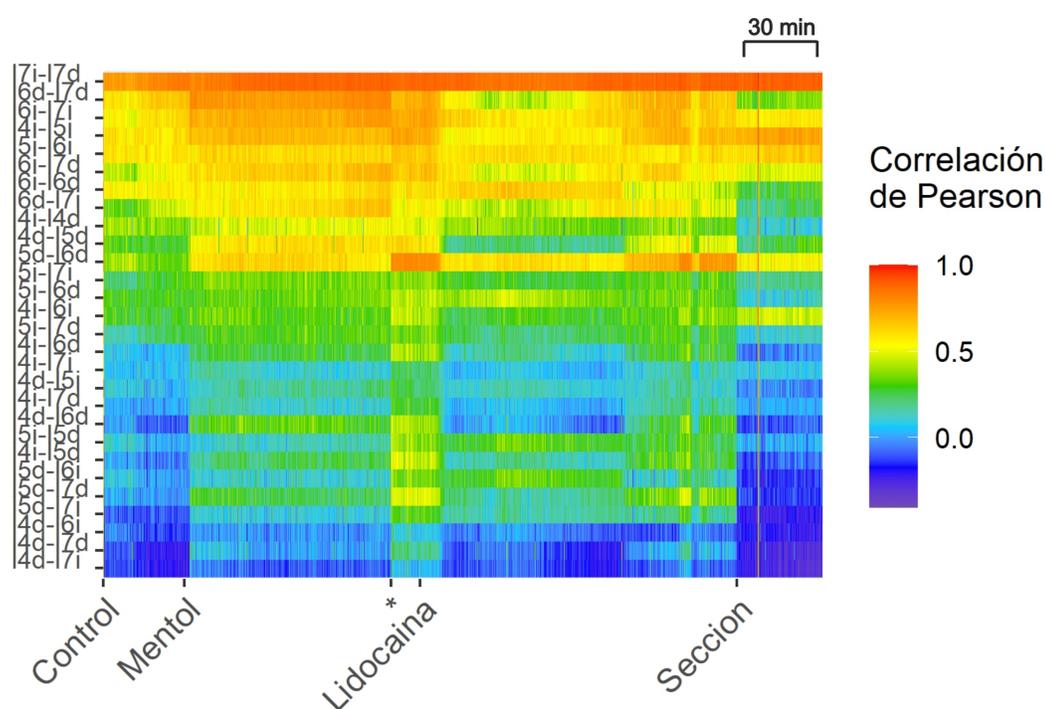


Figura 6.2: Cambios en la correlación entre segmentos espinales durante el efecto nociceptivo de mentol y el efecto anti-nociceptivo de lidocaína. Se midieron los cambios en la correlación entre la actividad espontánea de distintos pares de segmentos espinales (ordenados en el eje vertical de mayor a menor conectividad considerando el último registro control) durante el experimento 2022-10-16. Los datos en el eje horizontal corresponden a pasos temporales de 10 segundos, y las etiquetas corresponden a los cambios de maniobra realizados durante el experimento (la maniobra marcada con * corresponde a una limpieza realizada en la médula espinal. Ver la sección 5.4.3). La correlación se representa en una escala de colores (de mayor a menor: rojo a azul), mostrada en la figura. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

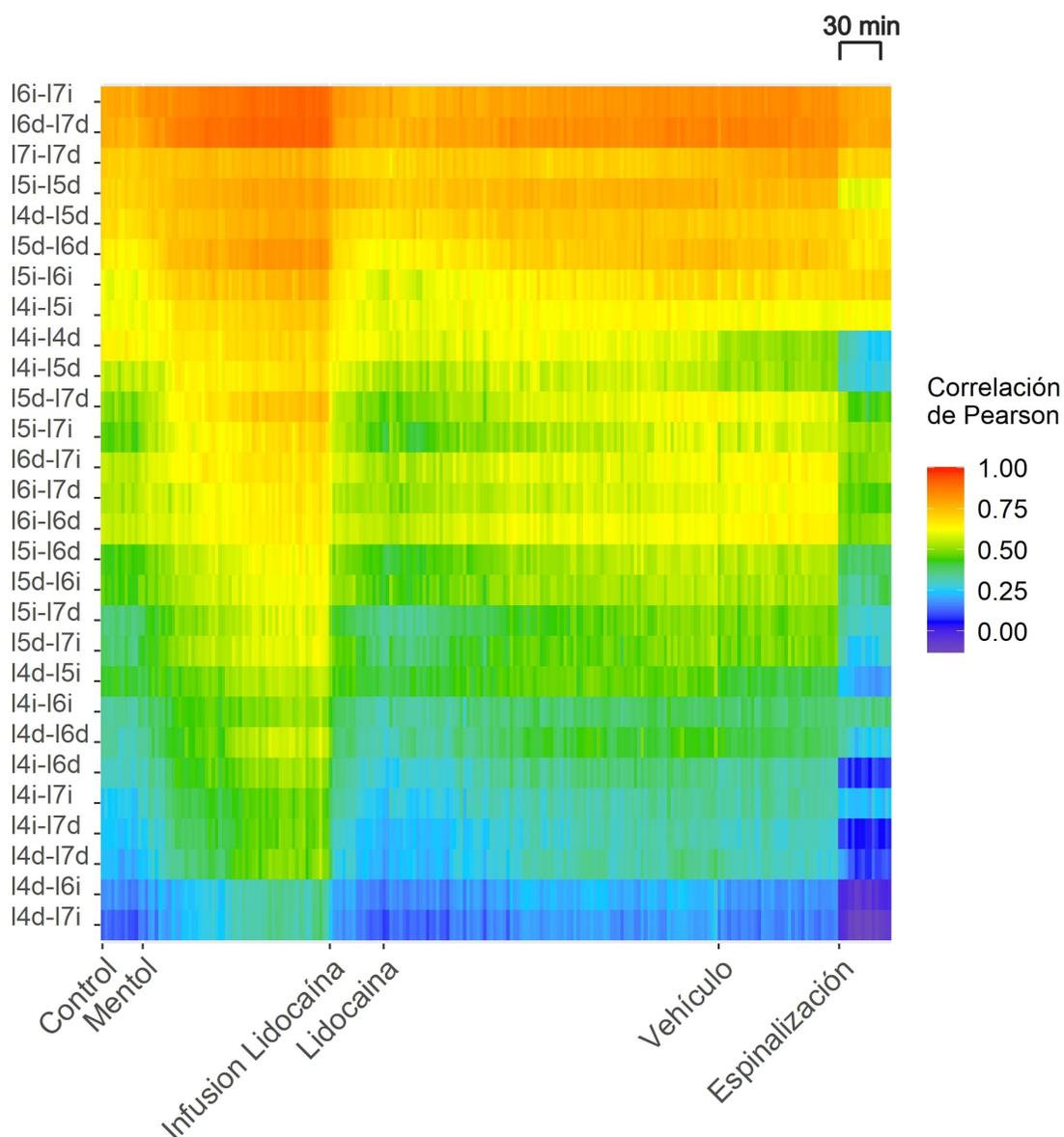


Figura 6.3: Los resultados observados en la figura 6.2 se replican en el experimento 2023-02-01. Adicionalmente, en este experimento se exploró el efecto de la solución vehículo. En el eje vertical, las posibles combinaciones de pares de segmentos espinales, ordenados de mayor a menor correlación, considerando el último registro control; en el eje horizontal, pasos temporales de 10 segundos. Datos obtenidos en un animal (experimento 2023-02-01).

Grafos de conectividad de la médula espinal Con el fin de obtener una comprensión más detallada de los efectos espaciales relacionados con los cambios en la correlación entre segmentos espinales durante los efectos de mentol y lidocaína, distinguimos 5 rangos distintos de correlación (ρ) en la actividad control (Figura 6.4): $\rho < 0.15$, $0.15 < \rho < 0.3$, $0.3 < \rho < 0.45$, $0.45 < \rho < 0.6$ y $\rho > 0.6$. Posteriormente, representamos la conectividad entre segmentos espinales, en cada rango de correlaciones, por medio de grafos como los mostrados en la Figura 6.4.

Como se ilustra en las Figuras 6.4A2 y A3, en el estado basal, los segmentos más distantes entre sí presentan una correlación menor; por otro lado, los segmentos adyacentes, tanto en sentido ipsilateral como contralateral, especialmente del lado izquierdo (ipsilateral a la inyección de mentol), exhiben correlaciones más altas (Figura 6.4A4, A5); además, los segmentos ubicados en las secciones más caudales muestran una correlación más elevada, tal como se observa en la Figura 6.4A6.

Durante el estado de nocicepción inducido por mentol, se observa un incremento en la conectividad funcional de los grupos neuronales en el dorso de la médula espinal, principalmente entre segmentos lateralmente adyacentes (Figura 6.4B6) Este aumento en la conectividad funcional es más evidente entre los segmentos distales (Figura 6.4B2, B3) que entre los segmentos cercanos (Figura 6.4B5).

El efecto anti-nociceptivo de la lidocaína restaura temporalmente al sistema a un estado de menor conectividad funcional (comparar figuras 6.4A y 6.4C). Después de aproximadamente 60 minutos, el sistema retoma un estado de mayor conectividad, similar al observado durante el efecto del mentol (comparar figuras 6.4B y 6.4D).

Por último, al eliminar la influencia supraespinal, la conectividad funcional se restablece a un patrón similar al observado en el estado basal (comparar figuras 6.4A y 6.4E).

Estos resultados se reproducen en un experimento independiente, en el que no se presentaron hemorragias (ver figura 6.5). En este experimento, los niveles de correlación (ρ) observados son más altos que los identificados en la figura

6.4, pudiendo distinguir los rangos: $\rho < 0.2$, $0.2 < \rho < 0.4$, $0.4 < \rho < 0.6$, $0.6 < \rho < 0.8$ y $\rho > 0.8$. Nuevamente, en el estado control control, la conectividad funcional entre segmentos distales es menor (Figuras 6.5A2, A3) que la de segmentos adyacentes (Figuras 6.5A5, A6); durante el efecto nociceptivo de mentol, hay un aumento en la conectividad funcional entre segmentos cercanos, principalmente entre l5 y l6 (Figura 6.5B6); el efecto anti-nociceptivo de lidocaína regresa al sistema a un estado similar al basal (comparar las Figuras 6.5A y 6.5C), hasta que este efecto disminuye y el sistema vuelve a la condición de nocicepción (comparar las Figuras 6.5B y 6.5D) luego de aproximadamente 120 minutos; por último, al cortar la comunicación supraespinal, la conectividad se reconfigura nuevamente hacia correlaciones más bajas que las observadas en la condición basal (comparar las Figuras 6.5A y 6.5E).

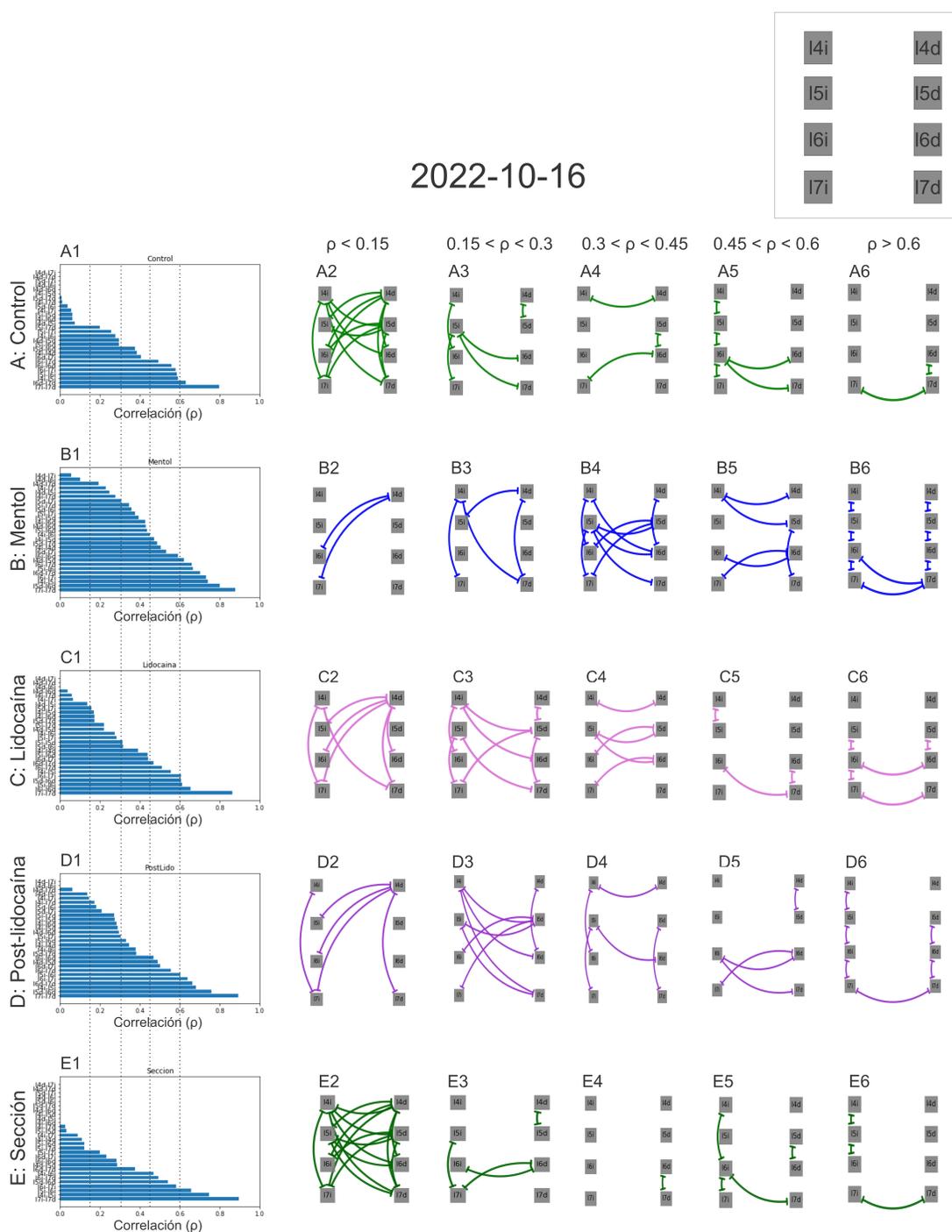


Figura 6.4: Representación por medio de grafos de la conectividad funcional de la médula espinal entre los segmentos l4–l7 (ver recuadro), medida a través de la correlación (ρ) durante el estado control (A), el efecto nociceptivo de mentol (B), la anti-nocicepción inducida por lidocaína (C) y luego de realizar una sección espinal a nivel de T4 (D). La conectividad se clasificó entre los rangos de correlación: $\rho < 0.15$, $0.15 < \rho < 0.3$, $0.3 < \rho < 0.45$, $0.45 < \rho < 0.6$ y $\rho > 0.6$. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

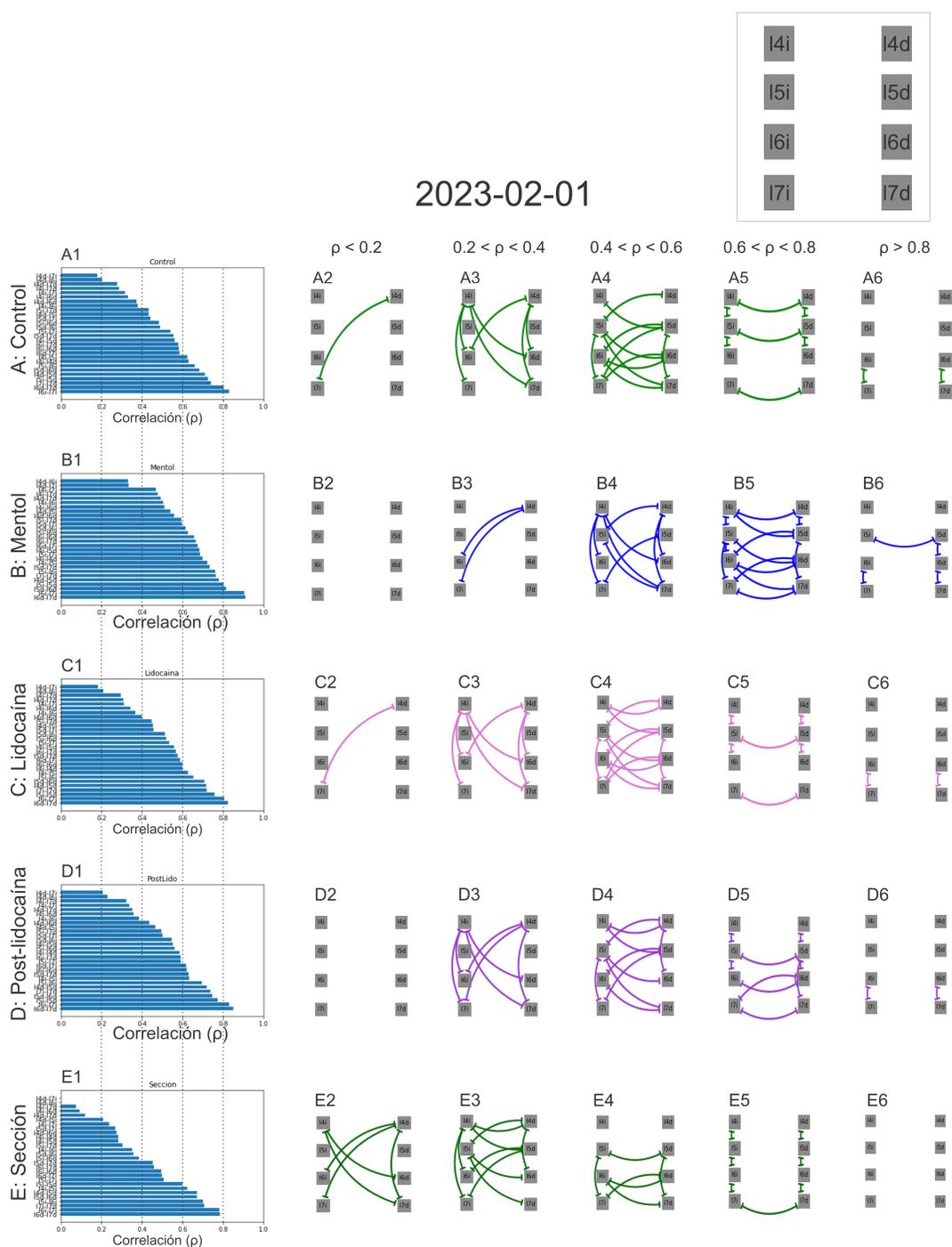


Figura 6.5: Representación por medio de grafos de la conectividad funcional de la médula espinal entre los segmentos l4–l7 (ver recuadro), medida a través de la correlación (ρ) durante el estado control (A), el efecto nociceptivo de mentol (B), la anti-nocicepción inducida por lidocaína (C) y luego de realizar una sección espinal a nivel de T4 (D). La conectividad se clasificó entre los rangos de correlación: $\rho < 0.2$, $0.2 < \rho < 0.4$, $0.4 < \rho < 0.6$, $0.6 < \rho < 0.8$ y $\rho > 0.8$. Datos obtenidos en un animal (experimento 2023-02-01).

Con la intención de contrastar estos descubrimientos en los 6 experimentos realizados, cuantificamos la correlación entre $l6i$ y $l7i$, que es uno de los pares de segmentos con mayor conectividad durante el estado de nocicepción por mentol.

El patrón observado en las figuras 6.4 y 6.5 se reproduce en 4 de los experimentos llevados a cabo (Figuras 6.6A, B, C, D). En dos de estos experimentos (Figuras 6.6B y C), el efecto de la lidocaína reduce la conectividad funcional a un estado con una correlación menor que la observada durante el estado de control, posiblemente debido a una sobrecompensación del efecto anti-nociceptivo de la lidocaína. En otro de los experimentos, la lidocaína produce una compensación menos marcada en los segmentos caudales (Figura 6.6D).

En los experimentos restantes (Figuras 6.6E y F), ni el mentol ni la lidocaína produjeron un efecto evidente, lo cual podría atribuirse a la preparación de mentol empleada (consultar la sección 5.3).

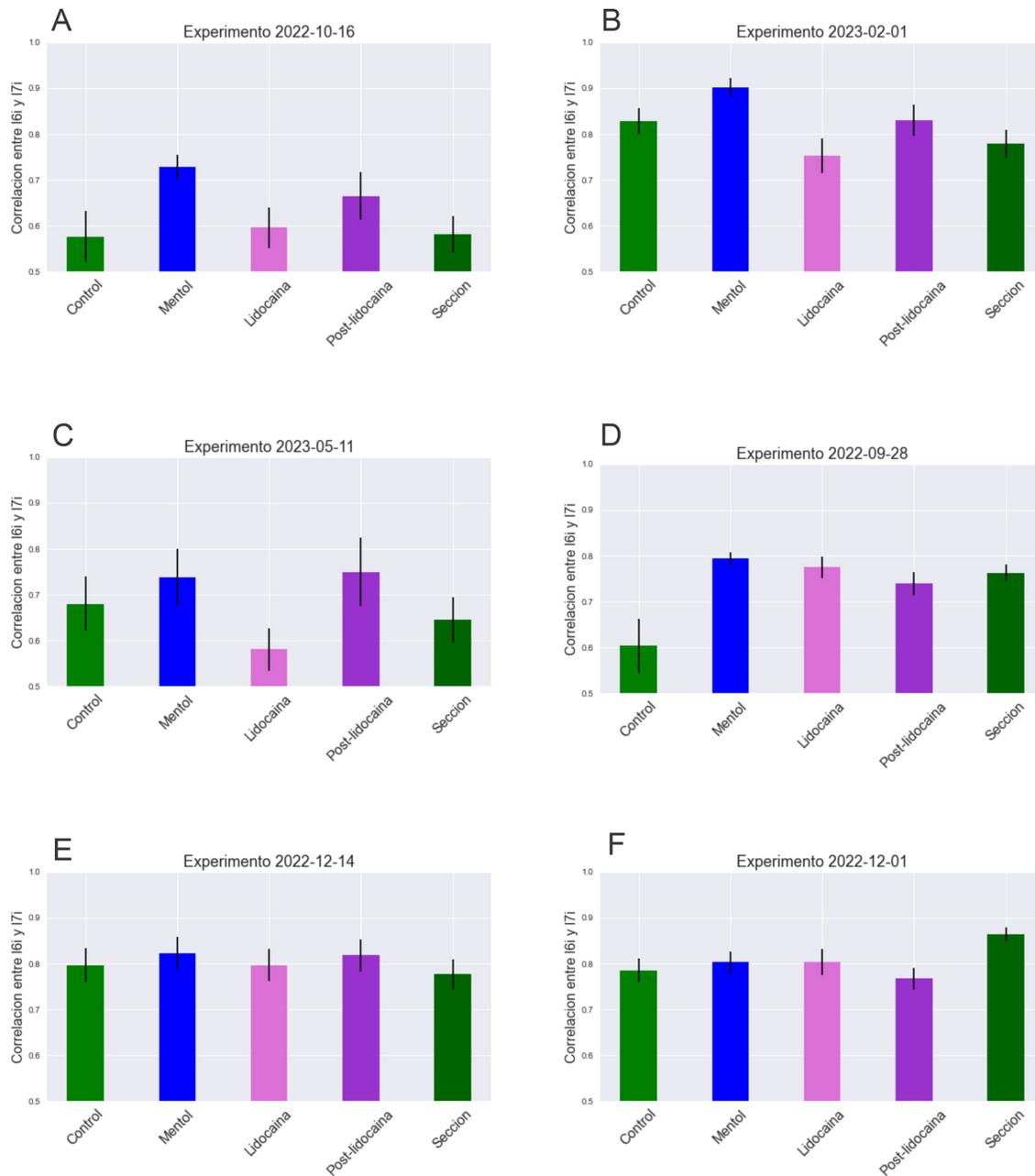


Figura 6.6: Comparación de los cambios en la conectividad funcional de la médula espinal en 6 diferentes experimentos. Se midió la correlación entre los segmentos l6i y l7i durante las maniobras Control, Mentol, Lidocaína y Sección espinal, para distintos experimentos (A–F).

Coherencia entre potenciales registrados en el asta dorsal Explorar la actividad de campo neuronal en el espacio de frecuencias nos permite tener una mejor visión sobre el tipo de oscilaciones presentes en un grupo de neuronas (ver la sección 1.2.1). Por esta razón, analizamos el espectro de frecuencias de las señales registradas en la médula espinal (Figura 6.7).

A partir de la figura 6.7, notamos un considerable aumento de actividad en frecuencias bajas (rango delta, entre 0.7 y 4 Hz) durante la acción de mentol. Específicamente, este aumento se concentra en frecuencias entre 0.7 y 1 Hz y en frecuencias entre 2 y 4 Hz. Estas oscilaciones se interrumpen durante el efecto de lidocaína y se recuperan aproximadamente 70 minutos después, cuando el efecto de lidocaína ha terminado. Luego de espinalizar la preparación, se observa una atenuación en las oscilaciones dentro del rango de 2 a 4 Hz en los segmentos derechos (Figuras 6.7B, D, F, H) y en l7i (Figura 6.7G). En los segmentos l4i, l5i y l6i no se atenúan las oscilaciones en el rango de 2 a 4 Hz luego de espinalizar la preparación (Figuras 6.7A, C, E).

De esta manera, durante el efecto de mentol, las oscilaciones neuronales en el asta dorsal se intensifican en los rangos de frecuencia de 0.7 a 1 Hz y de 2 a 4 Hz. Esta intensificación es más prominente en el segmento l7 (Figuras 6.7G, H), lo cual tiene sentido debido a la mayor proyección de esta región hacia la pata trasera, en la que se inyectó mentol. En los segmentos entre l4 y l6, la densidad espectral es más intensa del lado izquierdo que del derecho, pero curiosamente en l7, la densidad espectral es más intensa del lado derecho (Figura 6.7H), contralateral al sitio en el que se inyectó el mentol.

Es interesante notar que, además de la respuesta fisiológica a las maniobras experimentales realizadas, las señales registradas introducen factores externos como las frecuencias asociadas al ritmo cardiaco y la interferencia causada por el medio en que se encuentran sumergidos los electrodos de registro (ver la maniobra señalizada como *), por lo cual es importante dar un tratamiento adecuado a los datos para que estos factores no introduzcan ruido en las señales (ver las secciones 5.4.1 y 5.4.3).

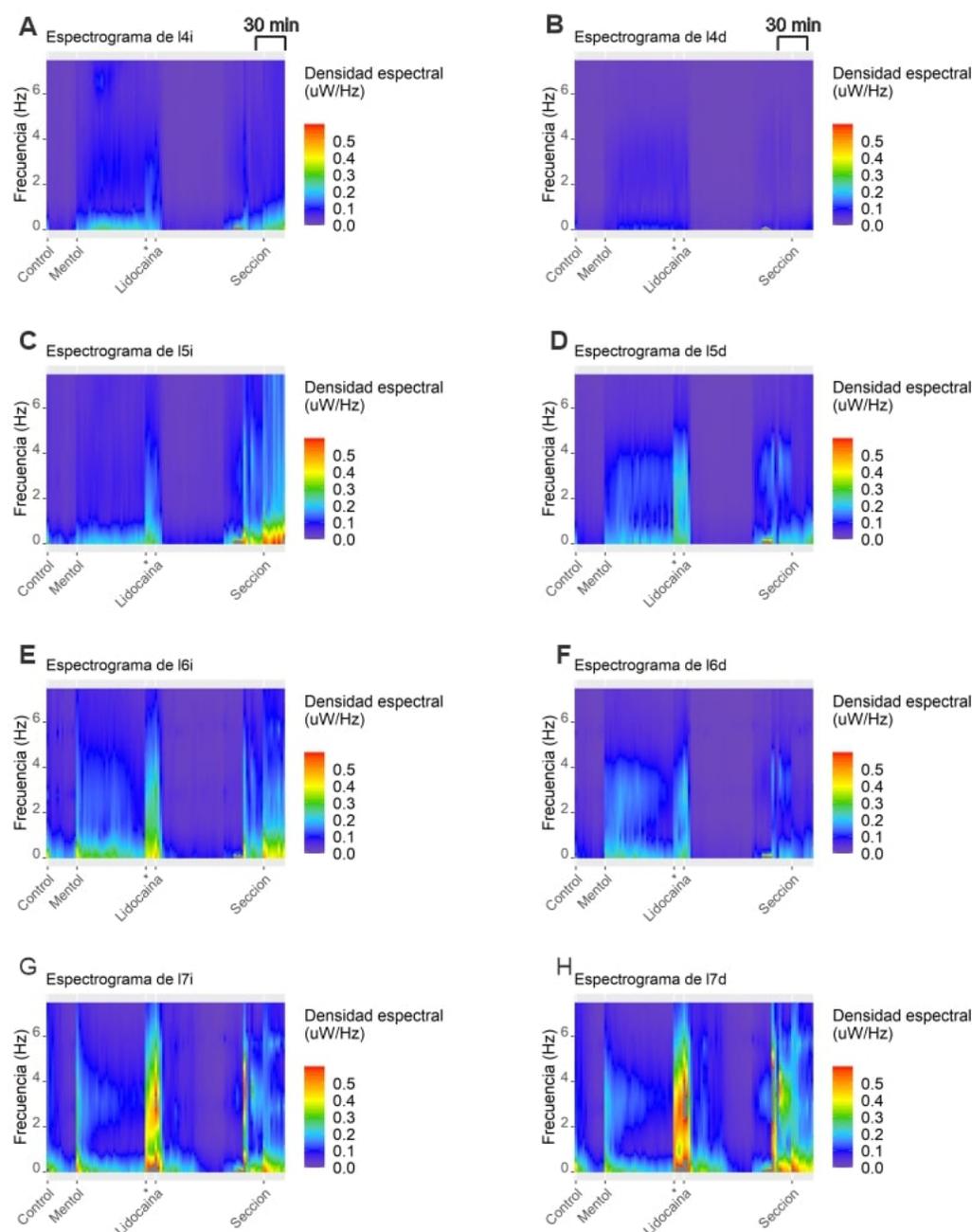


Figura 6.7: Efecto de mentol, lidocaína y espinalización en el espectro de frecuencias del dorso de la médula espinal. La densidad espectral se grafica entre 0 y $0.75 \mu\text{W}/\text{Hz}$, siguiendo una escala de colores indicada en las figuras. Las regiones en color gris representan valores de densidad espectral mayores a $0.75 \mu\text{W}/\text{Hz}$. La densidad espectral aumenta con la administración de mentol, principalmente en l6 y l7 (E–H), disminuye con lidocaína y varía nuevamente tras hacer una sección espinal a nivel de T4. *: limpieza de petrolato (ver discusión en la sección 5.4.3). Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

Para estudiar las frecuencias a las que se establece la conectividad entre los segmentos de la médula espinal, decidimos medir la coherencia entre pares de segmentos espinales. A modo ilustrativo, mostramos la coherencia entre l7i y el resto de segmentos espinales (Figura 6.8).

Curiosamente, todos los segmentos registrados presentan oscilaciones coherentes en el rango delta (0.7–4 Hz) (ver Figura 6.8), mientras los segmentos más próximos presentan además oscilaciones coherentes en el rango beta (13–30 Hz; Figura 6.8C–G). Las oscilaciones del rango delta se interrumpen luego de la sección espinal, mientras que las del rango beta se conservan en algunos segmentos (ver Figuras 6.8B,D,E,G).

Esto podría estar reflejando dos distintos tipos de conexiones funcionales: una conectividad local entre segmentos espinales, que se manifiesta en el rango beta, y una conectividad con regiones supraespinales, común a los segmentos registrados, con sitios supraespinales. Consistente con esta idea, la coherencia en las frecuencias más bajas disminuye luego de espinalizar la preparación, mientras que la coherencia entre frecuencias más altas persiste. Ver la sección 7.1 para mayor discusión de esta hipótesis.

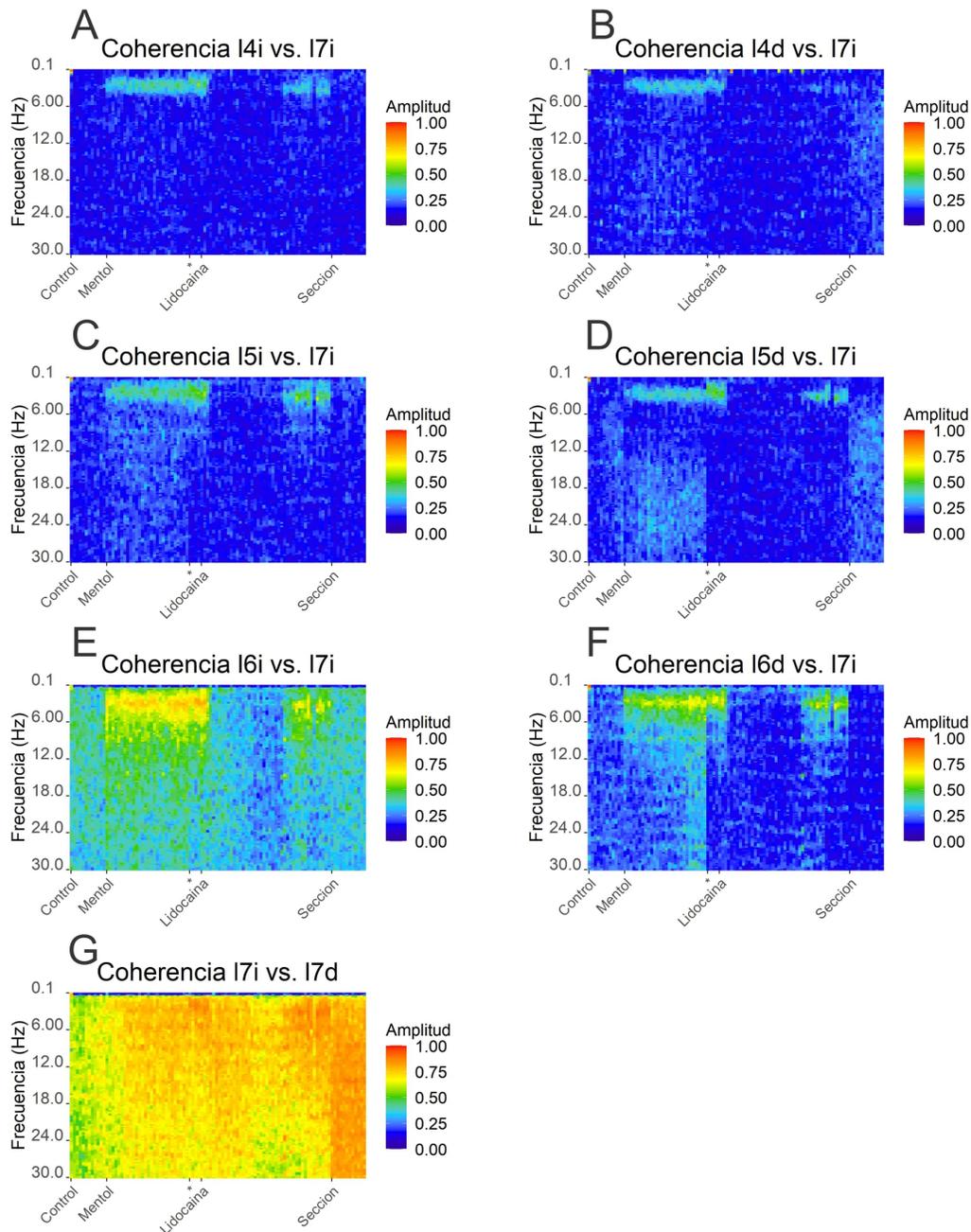


Figura 6.8: Oscilaciones coherentes entre l7i y el resto de segmentos espinales: l4i (A), l4d (B), l5i (C), l5d (D), l6i (E), l6d (F) y l7d (G). Existen oscilaciones coherentes entre estos segmentos en el rango de frecuencias de 1 a 4 Hz y en menor medida en el rango de frecuencias de 13 a 30 Hz; se sugiere que estos rangos de oscilaciones podrían representar conexiones funcionales con neuronas supraespinales e intraespinales, respectivamente (ver la discusión en el texto). Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

Coherencia entre oscilaciones registradas en la superficie del asta dorsal de la médula espinal y la actividad registrada intraespinalmente entre láminas profundas del asta dorsal superficial Previamente, [Chávez et al. \(2012\)](#) evidenciaron que los potenciales espontáneos registrados en la superficie del asta dorsal se encuentran asociados a la actividad de grupos neuronales ubicados entre las láminas III–VI de la médula espinal. Basándose en esta observación, se decidió registrar los potenciales de campo intraespinal (IFP) generados en esta región (ver la sección [5.2](#)). Para esto, insertamos micro-electrodos a distintas profundidades en la médula espinal, sabiendo que las proyecciones espinales de la RVM ocurren a distintas profundidades del asta dorsal (ver la sección [6.4](#)).

A continuación comprobamos que las oscilaciones detectadas en la superficie de la médula espinal mantienen coherencia con las oscilaciones detectadas en las mediciones intraespinales. Esto es de particular relevancia ya que los registros superficiales capturan la actividad de más neuronas que solo las de las láminas III–VI (ver [Herrerías et al., 2023](#)).

En el experimento mostrado en la figura [6.2](#), las mediciones intraespinales se realizaron a dos profundidades distintas. Un micro-electrodo fue insertado cerca del electrodo de superficie en l6, a una profundidad de 1628 μm con respecto a la superficie (entre las láminas III–V, ver histología en la Figura [6.9](#)), y el otro fue insertado entre l6 y l7, a una profundidad de 400 μm con respecto a la superficie (en láminas más superficiales del asta dorsal; Figura [6.10](#)).

El resultado expuesto en las figuras [6.9](#) y [6.10](#) demuestra que durante el estado de nocicepción inducido por mentol y posteriormente, tras la finalización del efecto anti-nociceptivo de la lidocaína, los grupos neuronales registrados entre las láminas III y V de la médula espinal, a través del electrodo ubicado entre L6 y L7, exhiben oscilaciones en el rango de frecuencias de 1 a 20 Hz. Estas oscilaciones son coherentes con las observadas en la superficie dorsal de la médula espinal. Por tanto, podemos concluir que la organización global que se manifiesta durante el efecto del mentol se origina en la actividad de grupos neuronales locales situados entre las láminas III y VI, como fue previamente

descrito por [Herrerias et al. \(2023\)](#).

En el caso del micro-electrodo posicionado entre l6 y l7, a una profundidad de 400 μm respecto a la superficie (Figura 6.10), se observan también oscilaciones coherentes con todos los segmentos dorsales de la médula registrados (l4 a l7) durante el estado de nocicepción por mentol. De manera similar a lo observado con el otro electrodo, este acople es más marcado en el rango delta (0.7 a 4 Hz), y en menor medida en los rangos alfa (8 a 13 Hz) y beta (13 a 30 Hz). Este efecto disminuye temporalmente durante el efecto de lidocaína, siendo más notorio en las secciones L6i y L7i (ver Figuras 6.9E,G y 6.10E,G), que corresponde a la región más cercana a los micro-electrodos de registro.

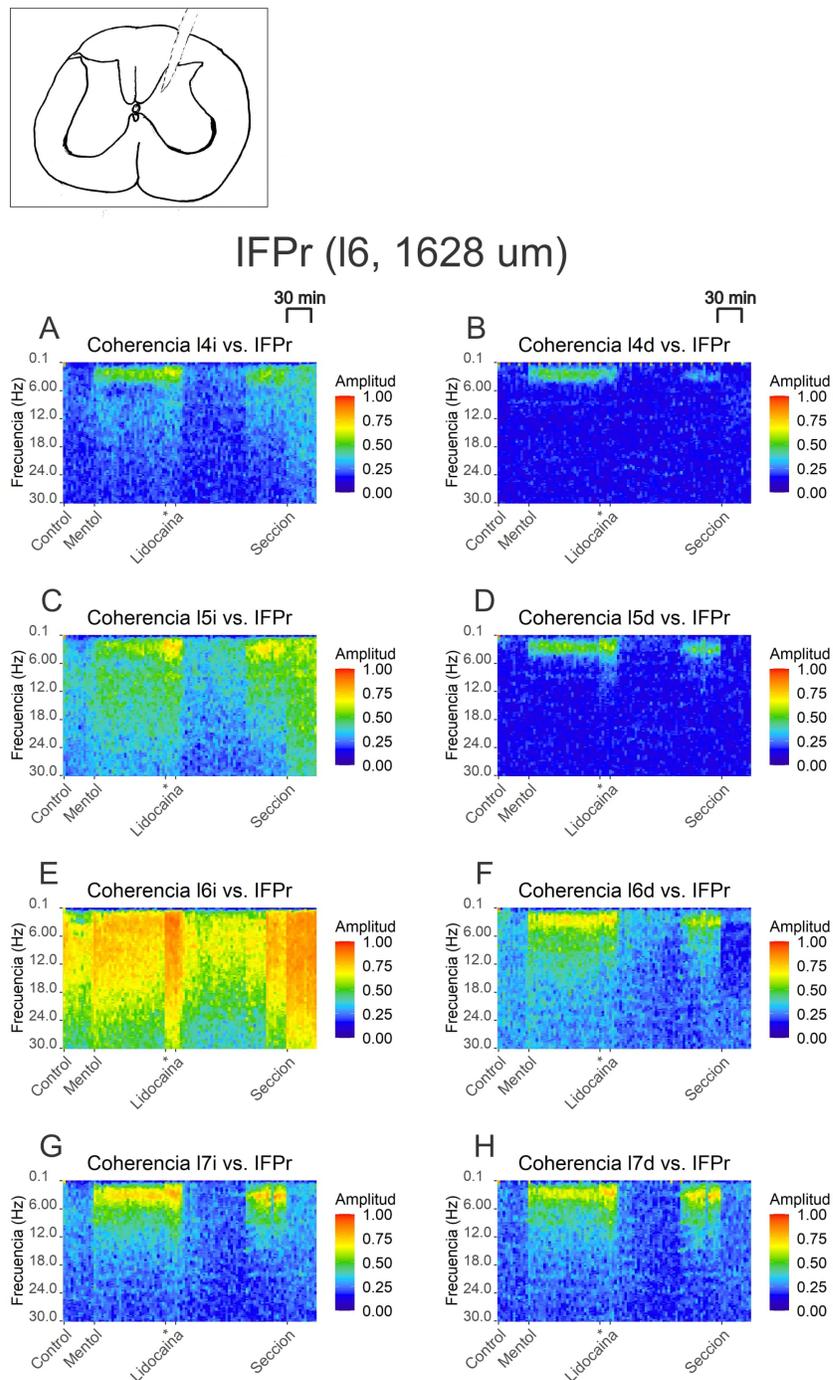


Figura 6.9: Coherencia entre la actividad de grupos de neuronas intraespinales a 1628 μm de profundidad en l6 con: l4i (A), l4d (B), l5i (C), l5d (D), l6i (E), l6d (F), l7i (G), l7d (H). Se observa conectividad en dos rangos de frecuencias: entre 1 y 4 Hz, y en menor medida entre 4 a 30 Hz. La histología con la ubicación del microelectrodo se muestra en el recuadro. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

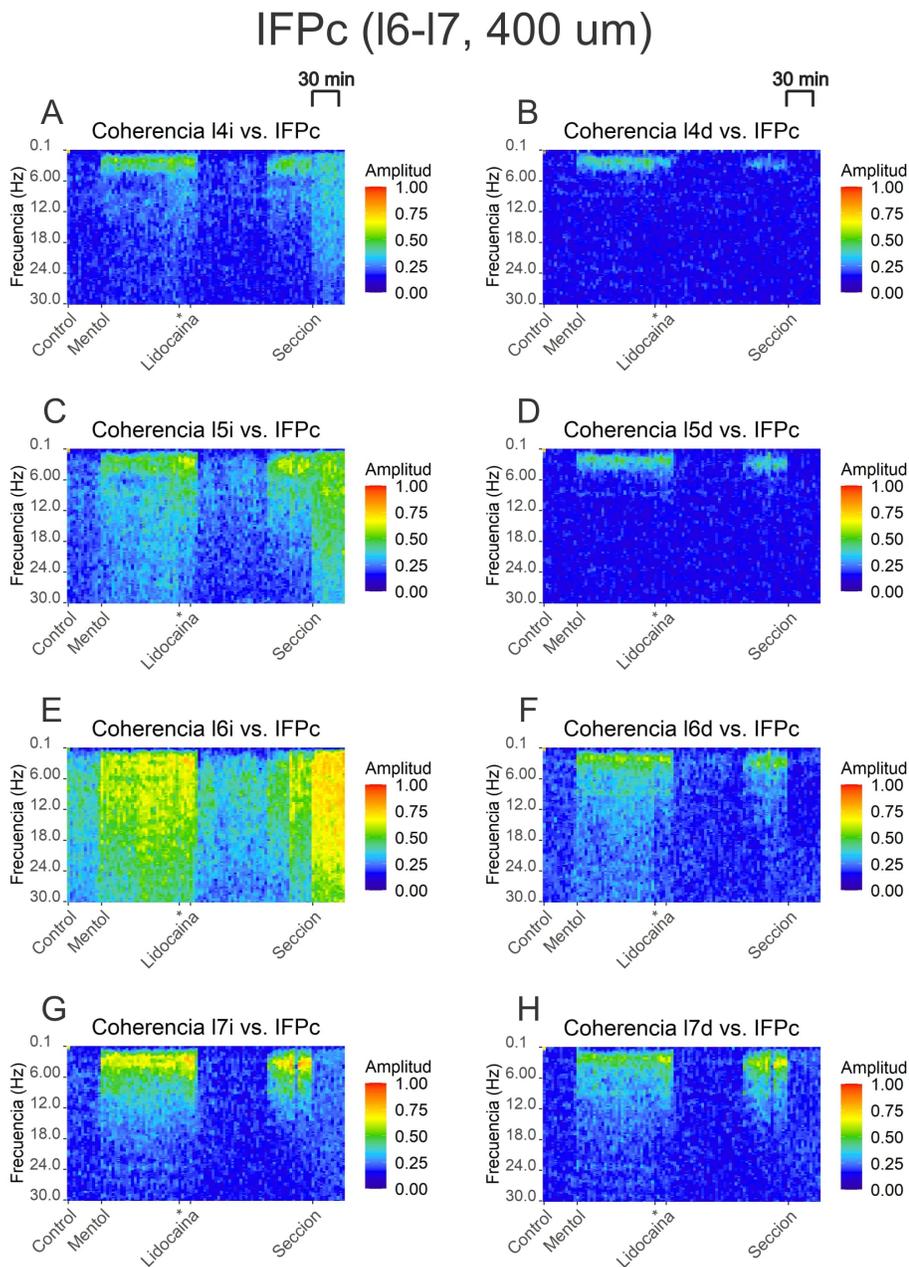


Figura 6.10: La actividad registrada en el dorso de la médula espinal es coherente en algunos rangos de frecuencias con la actividad de grupos neuronales del asta dorsal ubicadas a 400 μ m de profundidad entre las secciones I6 y I7. Se grafican los cambios en coherencia entre la actividad de grupos de neuronas intraespinales a 400 μ m de profundidad ubicados entre I6 y I7 con: I4i (A), I4d (B), I5i (C), I5d (D), I6i (E), I6d (F), I7i (G), I7d (H). Se observa conectividad en dos rangos de frecuencias: entre 1 y 4 Hz, y en menor medida entre 4 a 30 Hz. No fue posible recuperar la ubicación del electrodo. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

6.3. Cambios en la conectividad funcional de la RVM durante la nocicepción y anti-nocicepción

Como hemos observado previamente, las oscilaciones de baja frecuencia (en los rangos delta y theta) presentes en la médula espinal desaparecen al cortar la influencia supraespinal, lo que a su vez reduce la conectividad entre los segmentos espinales (ver Figura 6.2). Con el propósito de indagar en esta modulación supraespinal, dirigimos nuestra atención a la región rostral ventromedial del bulbo raquídeo (RVM), una zona de importancia crucial en la modulación de la nocicepción (Fields et al., 1995). Esta región comprende los núcleos del raquídeo magno (NRM) en la línea media, y las formaciones reticulares magno-celulares lateralmente, tanto en el lado izquierdo (FRi) como en el lado derecho (FRd). En estos experimentos, colocamos un total de 6 electrodos: 3 en una región caudal (NRMc, FRic y FRdc) y 3 en una región más rostral (NRMr, FRir y FRdr; ver la sección de Metodología).

Como puede apreciarse en la figura 6.11A, los grupos neuronales de la RVM están fuertemente acopladas durante el estado basal, y este acople disminuye durante el estado de nocicepción inducida por mentol (Figura 6.11B). En este experimento, el canal NRMc contiene oscilaciones de baja amplitud en frecuencias altas que no están presentes en el resto de canales. Esta particularidad puede atribuirse al mal estado del electrodo utilizado; sin embargo, se decidió presentar los resultados de esta región pues a pesar del ruido presente, aún es posible distinguir cambios en los potenciales de mayor magnitud, y las frecuencias bajas siguen siendo identificables aún en presencia de este ruido de fondo.

Al igual que ocurre en la médula espinal, el efecto de mentol es revertido temporalmente tras la aplicación de lidocaína sistémica (ver Figura 6.11C), aumentando también su amplitud. Una vez finalizado el efecto de lidocaína, la actividad disminuye, tanto en amplitud como en sincronización (Figura 6.11D). Finalmente, al espinalizar la preparación, la actividad retorna a un patrón similar al observado antes de la introducción de mentol. Este hallazgo indica la

presencia de un mecanismo de retroalimentación entre la médula espinal y la RVM, que podría participar en la regulación de la respuesta nociceptiva (ver la sección 7.4 para mayor discusión del tema).

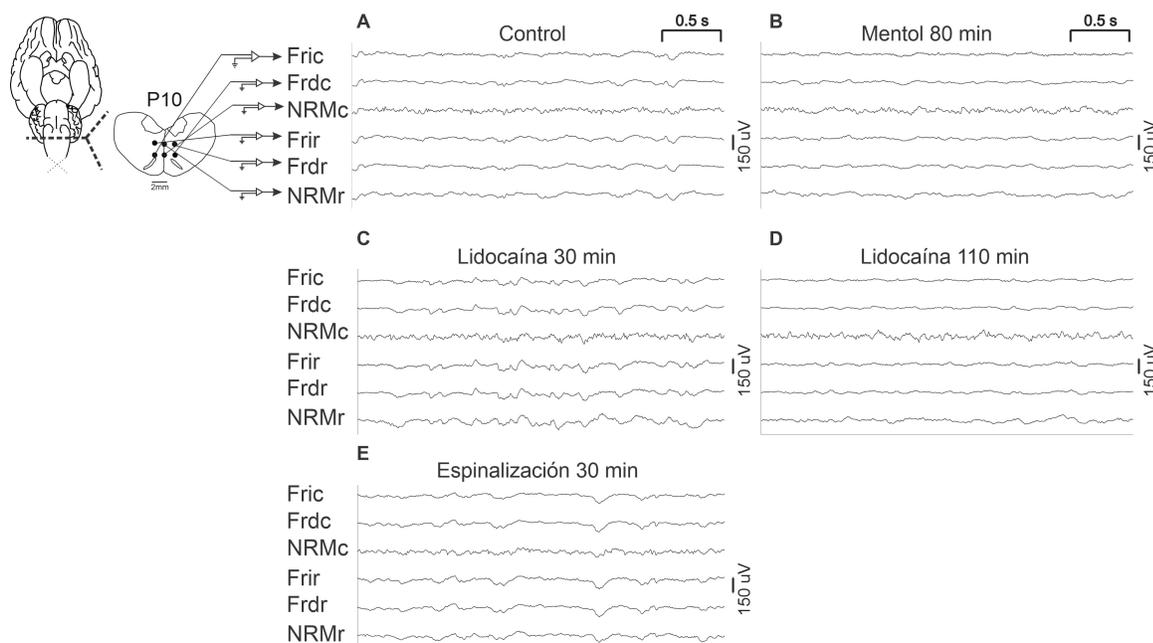


Figura 6.11: Disminución de la sincronización entre regiones de la RVM durante el efecto nociceptivo de mentol.

Las señales mostradas se registraron mediante electrodos de tungsteno en los núcleos del raquídeo los núcleos del raquídeo caudal (NRMc) y en una ubicación más rostral (NRMr), así como en las formaciones reticulares izquierdas, tanto en niveles más rostrales (FRir) como caudales (FRic), y en las formaciones reticulares derechas, en sus segmentos rostrales y caudales (FRdr y FRdc).

Se presentan registros representativos para las condiciones: A: Previo a administrar mentol; B: 80 minutos después de administrar mentol intraplantar en la pata izquierda; C: 30 minutos después de administrar lidocaína por vía sistémica; D: 100 minutos luego de la administración de lidocaína, y E: 30 minutos después de espinalizar la preparación. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

Aumento en la conectividad funcional entre neuronas de la RVM

Los cambios en la sincronización evidenciados en los registros de la figura 6.11 son corroborados al medir la conectividad entre las regiones de la RVM mediante la correlación de Pearson (consultar Figura 6.12). La actividad entre

grupos neuronales de la RVM disminuye su sincronización durante el efecto de mentol y posteriormente aumenta durante el efecto de lidocaína, hasta que esta pierde su efecto y vuelve a manifestarse el estado nociceptivo. Al espinalizar la preparación, y perder la retroalimentación espinal, la conectividad en la RVM recupera su estado basal.

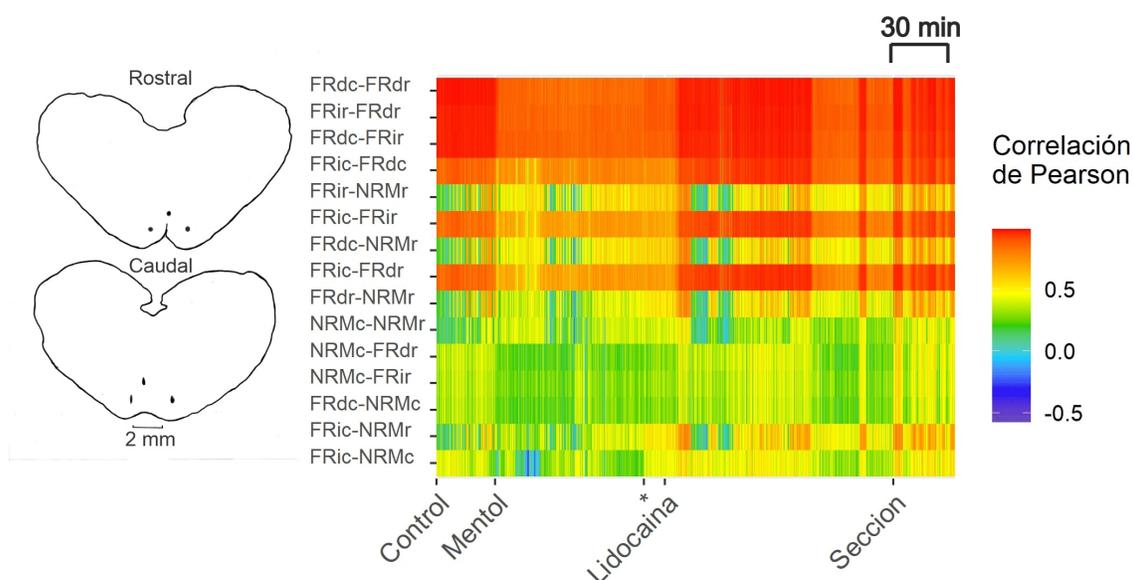


Figura 6.12: La correlación entre regiones de la RVM disminuye con mentol y aumenta temporalmente durante el efecto de lidocaína. Izquierda: histología. Derecha: los rectángulos en el eje horizontal corresponden a pasos temporales de 10 segundos y las etiquetas corresponden a los cambios de maniobra realizados durante el experimento (la maniobra marcada con * corresponde a una limpieza realizada en la médula espinal, ver la sección 5.4.3); la correlación se representa en una escala de colores, de -0.5 a 1, mostrada en la figura. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

Aparentemente, la maniobra de limpieza en la médula espinal (maniobra marcada como *; ver la sección 5.4.3) coincide con aumento en la correlación entre algunos pares de canales. No obstante, es crucial considerar que estos mismos canales exhiben oscilaciones espontáneas (en ausencia de otros estímulos externos) con duraciones que podrían hacer coincidir casualmente el aumento en correlación con la realización de la maniobra de limpieza. Además, es importante destacar que este aumento en la correlación luego de realizar la maniobra de limpieza no se presenta en otro de los experimentos realizados (ver figura

6.13), en el cual se evaluó el impacto de diferentes concentraciones de mentol y también se requirió realizar una limpieza en el medio conductor.

Del experimento mostrado en la figura 6.13), puede observarse además que el efecto de dos dosis consecutivas de mentol no produce un cambio significativo en la conectividad de la RVM, en comparación con el efecto observado tras una sola dosis de mentol. Estos resultados apoyan la hipótesis planteada por Moreno et. al. (2023, pendiente de publicación) de que en este contexto existen dos estados a los cuales el sistema tiende a estabilizarse: uno característico de la nocicepción, y otro que se asemeja al estado basal.

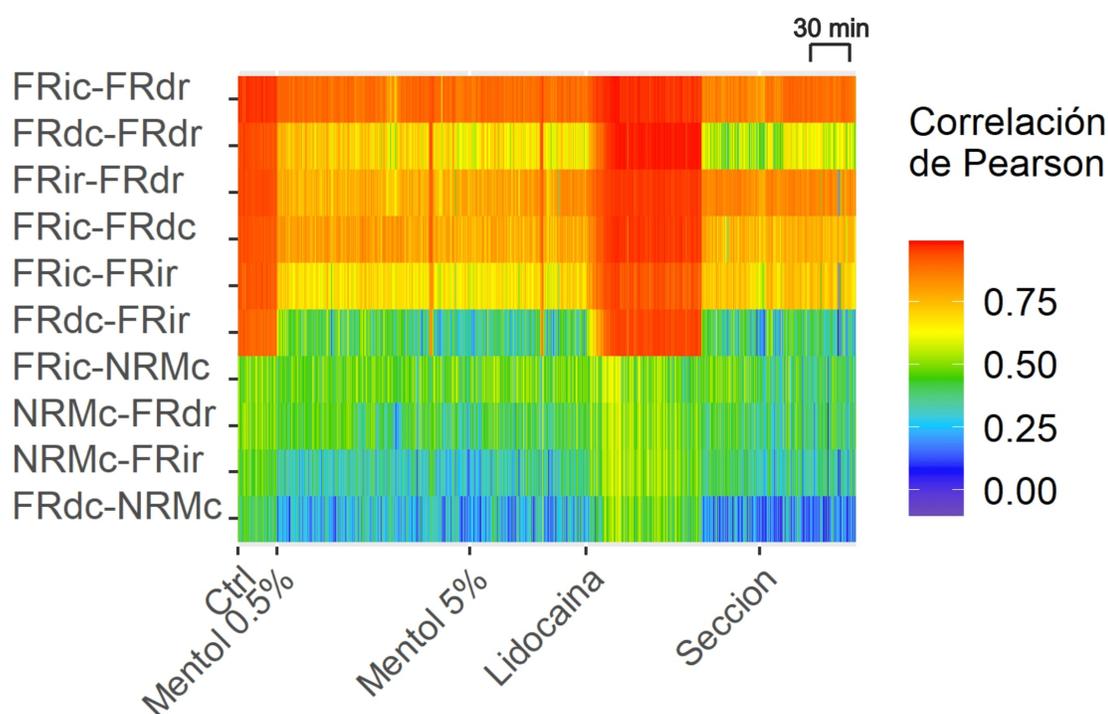


Figura 6.13: Los resultados observados en la figura 6.12 se replican en el experimento 2023-02-01. En este experimento, la espinalización no generó un efecto significativo en la conectividad de la RVM ni del dorso de la médula (consultar Figura 6.6).

Además, se investigó el efecto de dos dosis consecutivas de mentol, descubriendo que la segunda dosis de mentol no disminuye la correlación más allá de lo que lo hace la primer dosis. Los rectángulos en el eje horizontal representan pasos temporales de 10 segundos y las etiquetas indican los cambios de maniobra realizados durante el experimento (la maniobra marcada con * corresponde a una limpieza de la médula espinal, ver la sección 5.4.3). La correlación se representa en una escala de colores, mostrada en la figura, entre -0.5 y 1. Histología no disponible. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-09-28).

Grafos de conectividad de la RVM Para estudiar en mayor detalle la conectividad entre los distintos grupos neuronales que conforman la RVM, realizamos grafos de conectividad en el experimento presentado en la figura 6.12, identificando 3 rangos de correlación en función a lo observado en el estado control (Figura 6.14A1): $\rho < 0.65$, $0.65 < \rho < 0.8$ y $\rho > 0.8$.

Durante el estado control, la correlación se presenta de manera más intensa

entre los núcleos del rafe y el resto de regiones (Figura 6.14A2,A3), particularmente entre la región más caudal registrada (Figura 6.14A2), mientras que se observa una correlación menor entre las formaciones reticulares (Figura 6.14A4). Esta disposición se repite durante el efecto anti-nociceptivo de lidocaína (Figuras 6.14A y C).

Durante el estado de nocicepción inducido por mentol, la correlación disminuye en todas las regiones registradas (Figura 6.14B), manteniendo una conectividad relativamente más baja entre las formaciones reticulares en comparación con la conectividad entre los núcleos del rafe y las formaciones reticulares. Esta configuración vuelve a observarse tras la finalización del efecto de lidocaína (Figura 6.14D).

Finalmente, tras la sección de la médula espinal a nivel de T4, la conectividad no cambia significativamente con respecto a su estado previo de nocicepción (Figuras 6.14D y E).

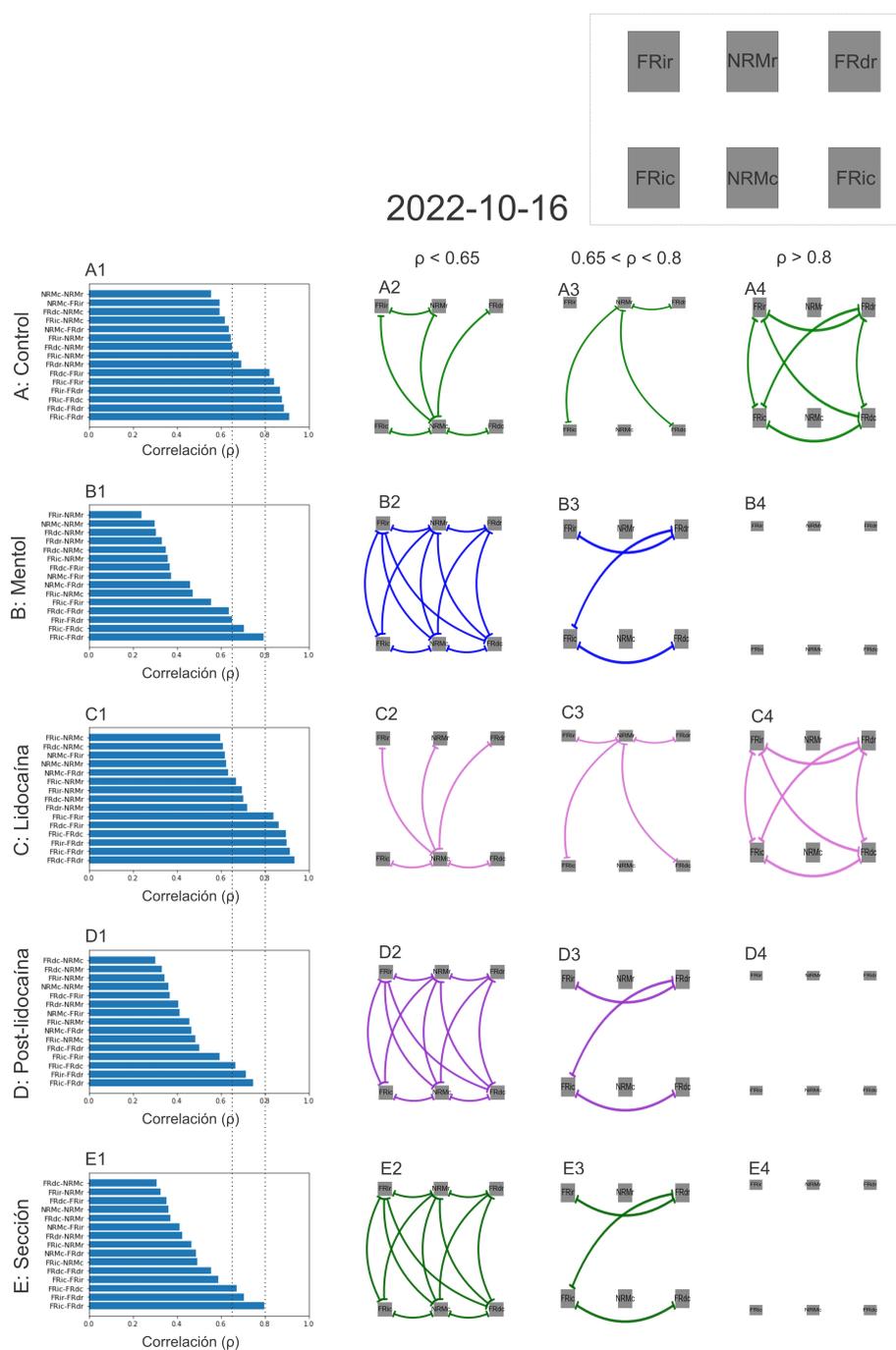


Figura 6.14: Representación por medio de grafos de la conectividad funcional de la RVM en las regiones FRir, NMRr, FRdr, FRic, NRMc y FRic (ver recuadro), medida a través de la correlación (ρ) durante el estado control (A), el efecto nociceptivo de mentol (B), la anti-nocicepción inducida por lidocaína (C) y luego de realizar una sección espinal a nivel de T4 (D). La conectividad se clasificó en los rangos de correlación: $\rho < 0.65$, $0.65 < \rho < 0.8$, $\rho > 0.8$. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

Las configuraciones de conectividad en la RVM que se observan en la figura 6.14 se reproducen en el experimento presentado en la figura 6.13. En este, sin embargo, se observan 4 distintos niveles de correlación durante el estado control: $\rho < 0.4$, $0.4 < \rho < 0.6$, $0.6 < \rho < 0.8$ y $\rho > 0.8$.

La conectividad en el estado control de este experimento es similar a la del experimento mostrado en la figura 6.14A (comparar con Figura 6.15A). En este caso, durante el estado de nocicepción por mentol, la correlación disminuyó únicamente entre las formaciones reticulares, pero no llegó a disminuir hasta el rango de correlación observado con los núcleos del rafe, como ocurrió en el experimento anterior (comparar figuras 6.14B y 6.15B). El sistema vuelve a esta configuración luego de que lidocaína pierde su efecto anti-nociceptivo.

Durante la fase de anti-nocicepción inducida por la lidocaína, la conectividad aumentó nuevamente (ver Figura 6.15C), alcanzando un estado con mayor conectividad que el del estado control, posiblemente debido a una sobrecompensación en el sistema. Después de espinalizar la preparación, la conectividad de los núcleos del rafe con las formaciones reticulares aumentan más allá que el nivel observado en el estado control (ver Figuras 6.15A2,E3 y 6.15A3,E4).

Comparación entre experimentos de la conectividad en la RVM En los demás experimentos llevados a cabo, las correlaciones en la RVM no presentaron cambios significativos durante el efecto de mentol (ver Figuras 6.16C, D, E, F), lo cual posiblemente se deba a la ubicación de los electrodos empleados para el registro, o en algunos casos, a la baja conectividad entre los grupos neuronales registrados (ver Figuras 6.16C, F).

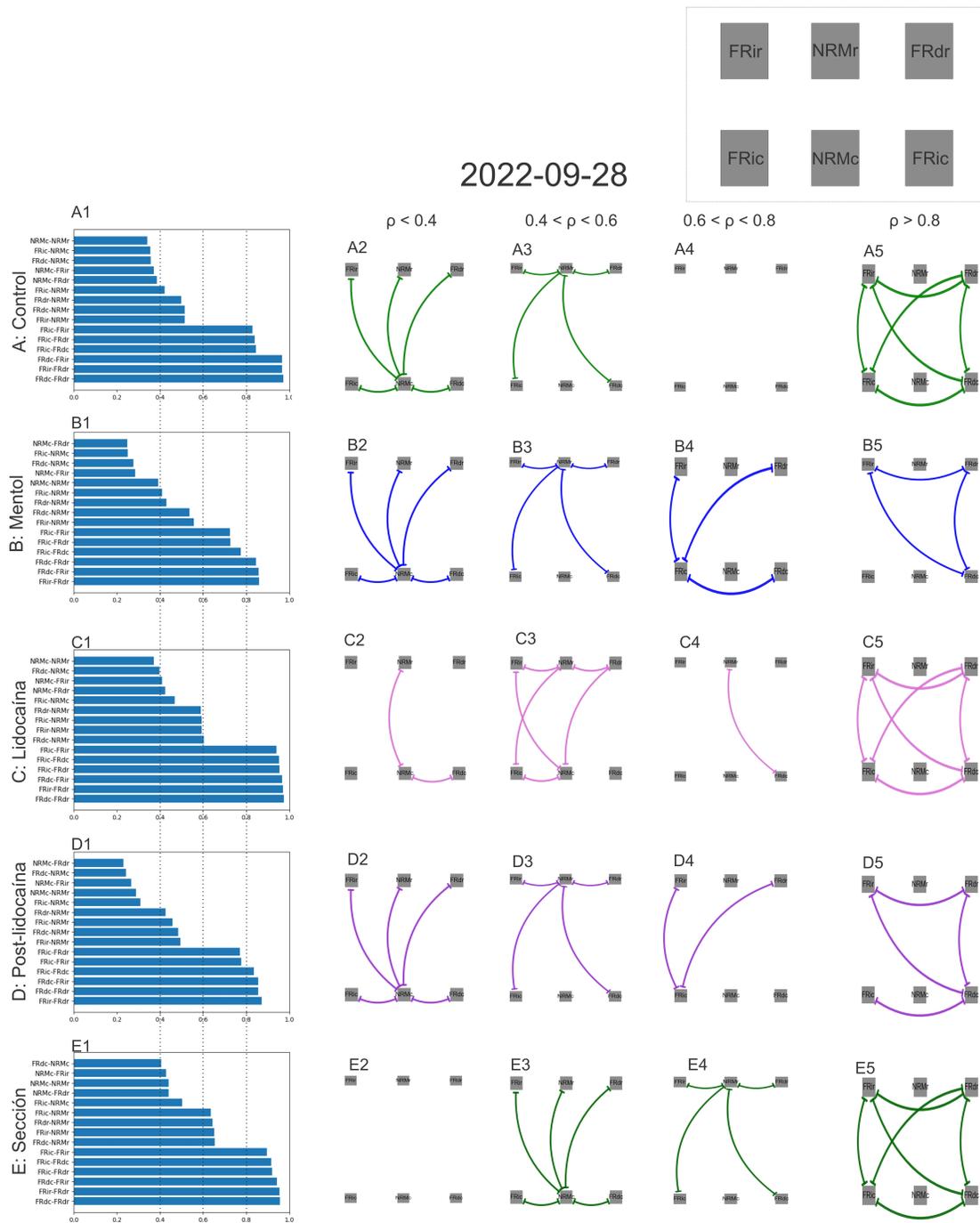


Figura 6.15: Representación por medio de grafos de la conectividad funcional de la RVM en las regiones FRir, NRMr, FRdr, FRic, NRMc y FRic (ver recuadro), medida a través de la correlación (ρ) durante el estado control (A), el efecto nociceptivo de mentol (B), la anti-nocicepción inducida por lidocaína (C) y luego de realizar una sección espinal a nivel de T4 (D). La conectividad se clasificó entre los rangos de correlación: $\rho < 0.4$, $0.4 < \rho < 0.6$, $0.6 < \rho < 0.8$ y $\rho > 0.8$. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-09-28).

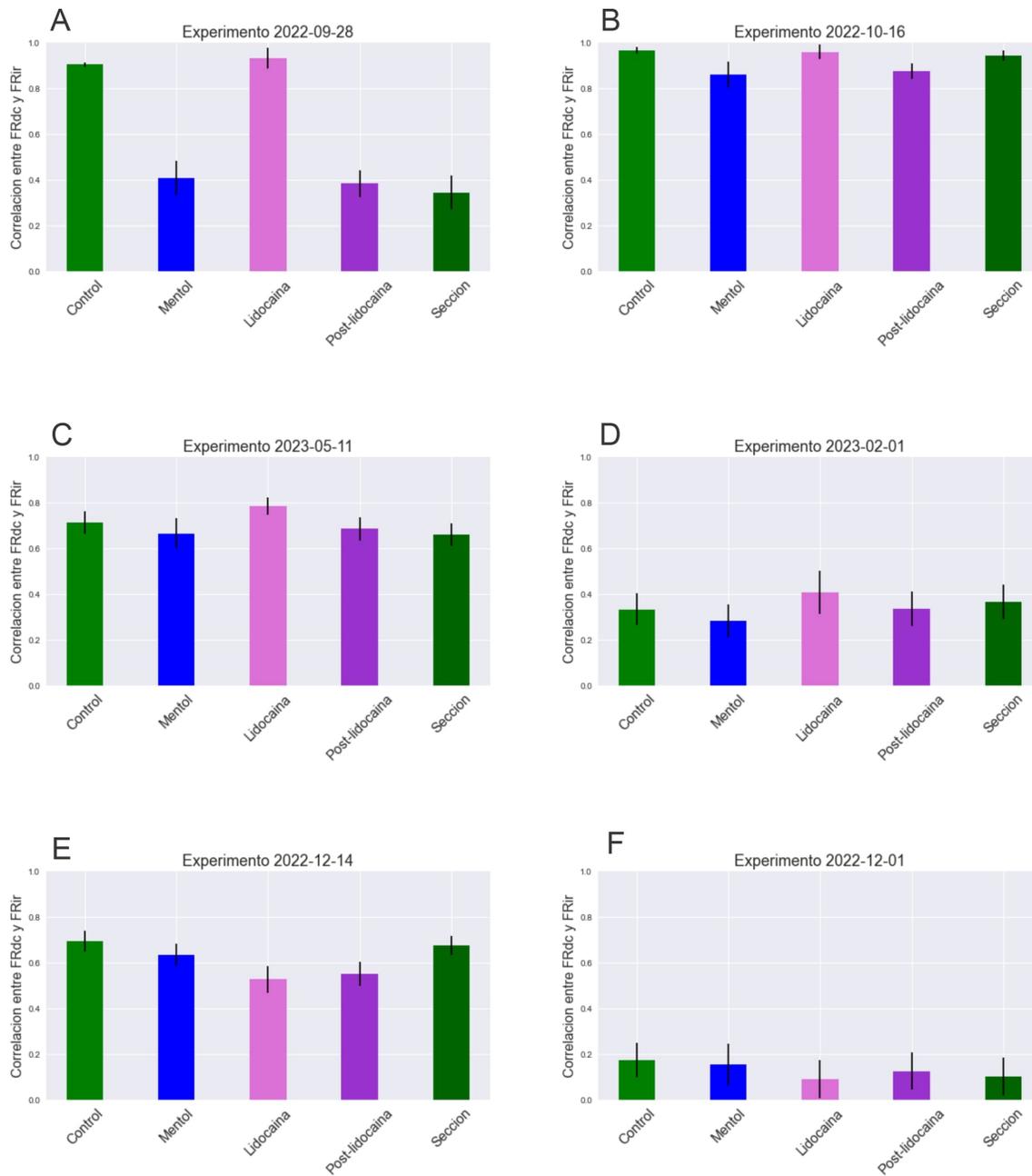


Figura 6.16: Comparación de los cambios en la conectividad funcional de la RVM en 6 distintos experimentos. Se midió la correlación entre las regiones FRdc y FRir durante las maniobras Control, Mentol, Lidocaina y Sección espinal, para distintos experimentos (A–F).

Coherencia entre oscilaciones registradas en la RVM Con el objetivo de entender mejor los cambios en la conectividad entre regiones de la RVM presentados en la figura 6.14, seleccionamos pares de regiones que exhiben cambios representativos en su conectividad durante los estados de nocicepción, anti-nocicepción, y pérdida de la comunicación con la médula espinal, y estudiamos sus cambios en coherencia.

Por un lado, entre los núcleos del rafé, donde la correlación mantiene niveles bajos a lo largo de todas las maniobras experimentales, se observa un grado de coherencia en los rangos delta (0.7–4 Hz), theta (4–8 Hz) y en menor medida alfa (8–13 Hz), con una banda principal entre 2 y 4 Hz (Figura 6.17A), durante el efecto de mentol.

Por otro lado, entre las formaciones reticulares rostrales (FRir y FRdr), donde la correlación disminuye durante los estados de nocicepción y aumenta de nuevo durante los estados anti-nociceptivos (ver Figuras 6.14A4 y B3), existe una conectividad basal en todo el rango de frecuencias entre 0.7 y 30 Hz, y durante el estado nociceptivo, la coherencia disminuye en todas estas frecuencias, siendo más notoria la disminución en una banda de frecuencias entre los 3 y 4 Hz, así como en el rango alfa (13–30 Hz; ver Figura 6.17B).

Entre las regiones FRic y FRir, la correlación disminuye notablemente (ver Figuras 6.14A4 y B2). Esta disminución en la correlación se refleja en una reducción de la coherencia en el rango alfa (13–30 Hz), mientras que en las frecuencias entre 0.7 y 13 Hz se mantienen 3 bandas específicas de frecuencia: una centrada en 2 Hz, otra en 5 Hz y una más en 9 Hz (Figura 6.17C)

Notablemente, entre FRdc y NRMr, la correlación disminuye durante el estado nociceptivo (ver Figuras 6.14A3 y B2). Sin embargo, es notable que a pesar de esta disminución en la correlación, la coherencia aumenta considerablemente en el rango de frecuencias entre 0.7 y 13 Hz, y en menor medida en las frecuencias entre 13 y 30 Hz (ver Figura 6.17D).

De estos resultados, notamos que distintas regiones de la RVM mantienen oscilaciones coherentes en distintas frecuencias durante el estado basal. Sin embargo, durante el efecto del mentol observamos una disminución en la correlación de estas señales (ver Figura 6.12), aunque en este estado persisten

oscilaciones coherentes en los rangos de frecuencia delta y theta, y en menor medida en el rango alfa. Esta variabilidad refleja la diversidad funcional presente en la RVM (ver sección 7.2) y, al mismo tiempo, sugiere que estas regiones pueden operar en resonancia, posiblemente como una respuesta homeostática frente a estados nociceptivos.

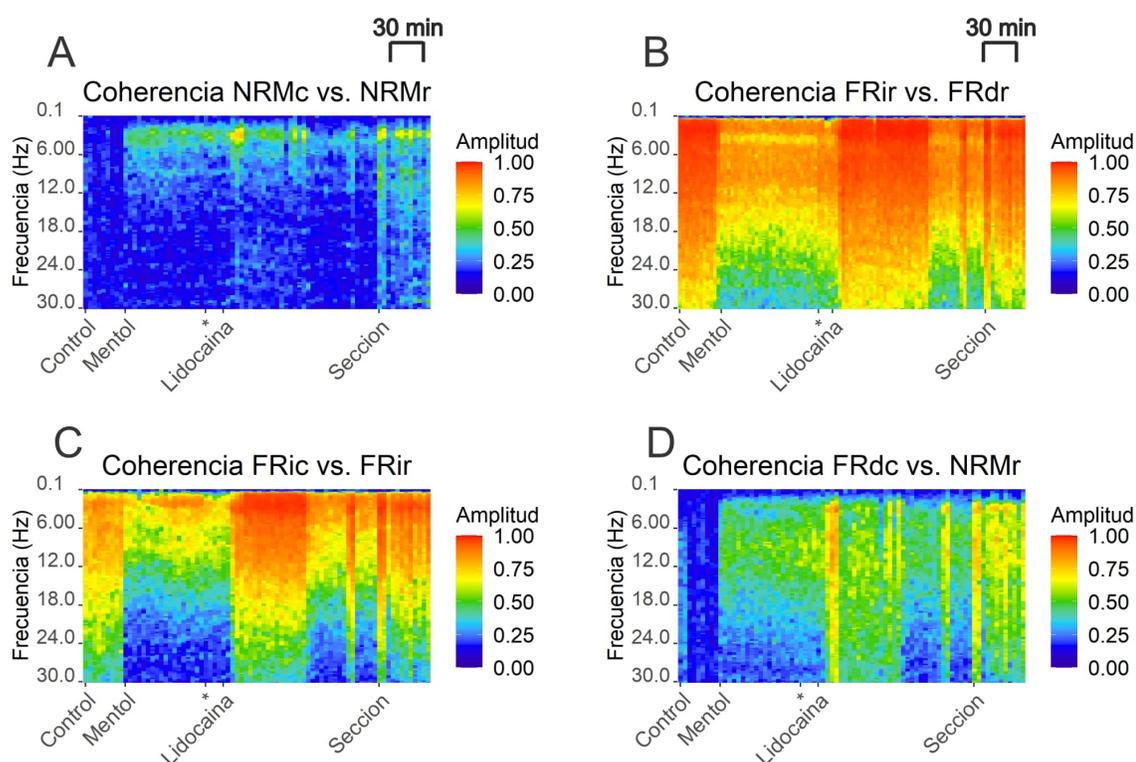


Figura 6.17: Oscilaciones coherentes entre regiones de la RVM. Se presentan pares de canales característicos que ilustran la variación en la coherencia de las oscilaciones entre diferentes áreas de la RVM. A: NRMc vs. NRMr; B: FRir vs. FRdr; C: FRic vs. FRir; D: FRdc vs. NRMr. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

6.4. Cambios en la conectividad funcional entre la RVM y el asta dorsal de la médula espinal

Experimento 2022-10-16 Las observaciones anteriores muestran la presencia de oscilaciones en el rango delta (0.7–4 Hz) tanto en la médula espinal como en la RVM.

Para indagar en la posibilidad de que estas oscilaciones estén asociadas entre sí, se realizó un análisis de coherencia entre las regiones registradas de la RVM y los grupos neuronales registrados intraespinalmente en el asta dorsal de la médula espinal (IFPr e IFPc, ubicados en láminas III–V y láminas super-

ficiales del asta dorsal, respectivamente, ver histología en la figura 6.18). Este análisis confirmó la existencia de oscilaciones coherentes entre los núcleos del rafé magno caudal y los grupos neuronales registrados con los IFPs (ver Figura 6.18 (ver Figuras 6.18E y K), en concordancia con la observación de Quevedo et al. (1995) de que los núcleos del rafé proyectan hacia regiones superficiales del asta dorsal.

Estas oscilaciones coherentes se observaron en dos bandas de frecuencia específicas: una en el rango de 2 a 4 Hz y otra centrada en 9 Hz. Además, se puede identificar una actividad coherente en una banda de frecuencias centrada en 2 Hz entre la formación reticular derecha rostral y los IFPs (Figuras 6.18C,I).

Dado que hemos constatado que todos los segmentos espinales entre l4 y l7 presentan oscilaciones en el rango de frecuencias delta (0.7–4 Hz) durante la condición de nocicepción por mentol (ver Figura 6.8), procedemos a examinar con más detalle cuáles son las regiones que muestran una conectividad más marcada con los núcleos del rafé caudal (NRMc).

Así, de la figura 6.19, notamos que los distintos segmentos espinales entre l4 y l7 muestran un acople con los núcleos del rafé caudal (NRMc). Este acople se manifiesta de manera más pronunciada en el lado derecho (contralateral al sitio de inyección de mentol) que del lado izquierdo. Además, se observa que esta interacción es más intensa con las regiones rostrales (como l4, ver Figuras 6.19A,B) en comparación con las regiones caudales (como l7, ver Figuras 6.19G,H).

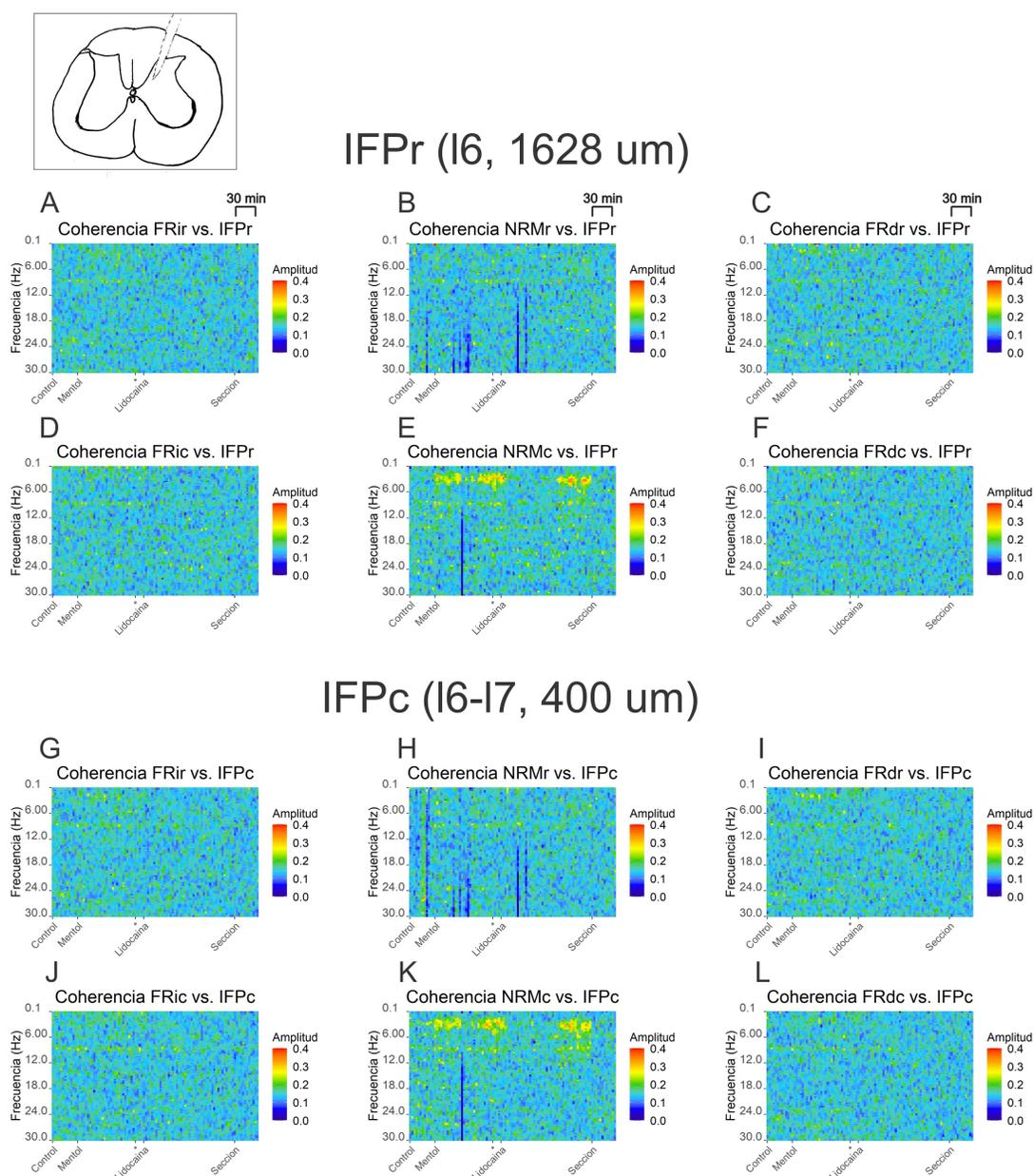


Figura 6.18: Conectividad funcional entre grupos de neuronas ubicadas en las láminas III-V de la médula espinal y regiones de la RVM: FRir (A), NRMr (B), FRdr (C), FRic (D), NRMc (E), FRdc (F); y entre grupos de neuronas ubicadas en láminas superficiales y regiones de la RVM: FRir (G), NRMr (H), FRdr (I), FRic (J), NRMc (K), FRdc (L)

Existen oscilaciones coherentes significativas entre NRMc e IFPr (E) y entre NRMc e IFPc (K), en un rango de frecuencias de 2–4 Hz, y en menor medida, en una banda de frecuencias de 9 Hz. Recuadro: histología con la ubicación de IFPr; no fue posible recuperar la ubicación de IFPc. Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

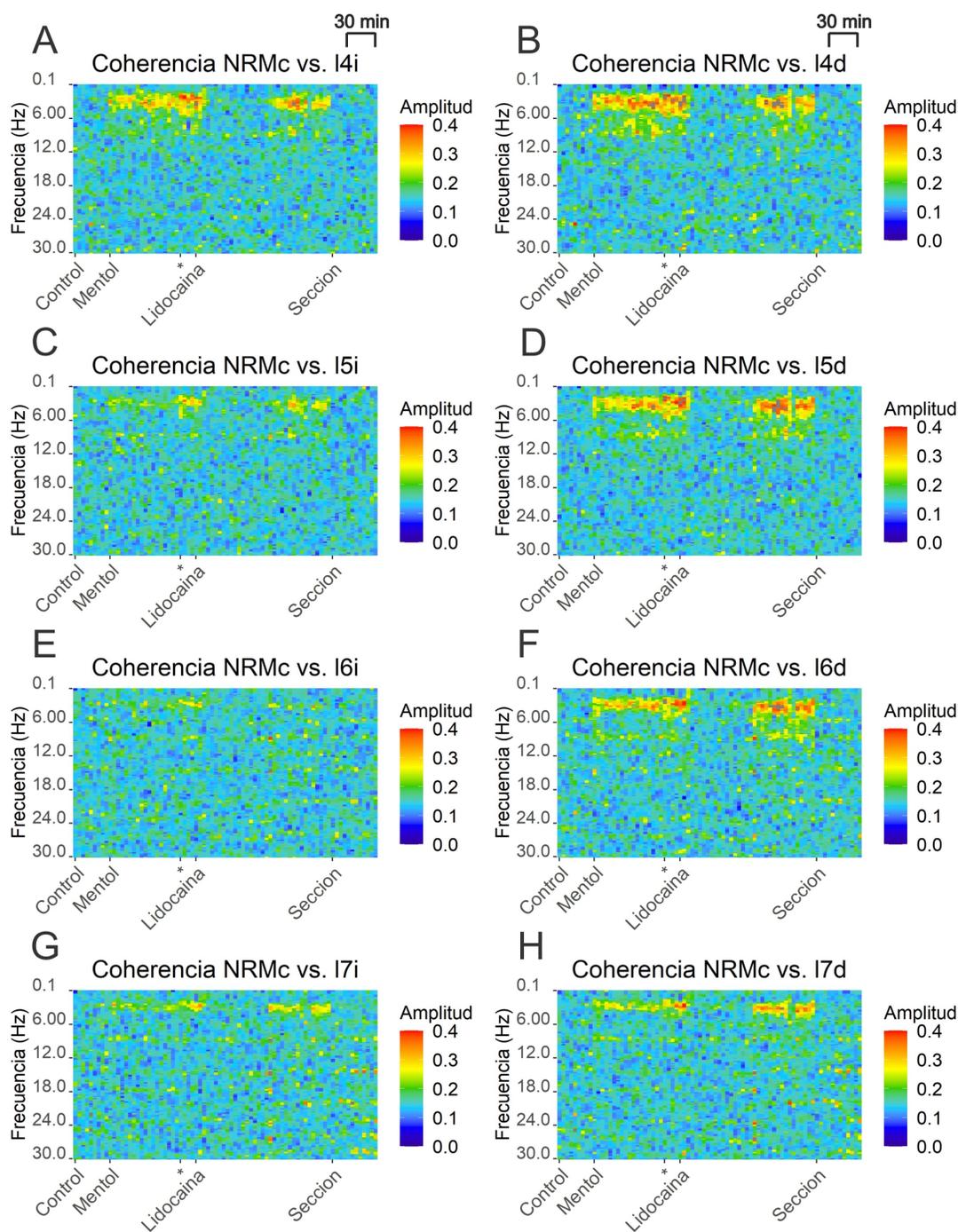


Figura 6.19: Cambios en la conectividad funcional entre la región caudal de los núcleos del rafé magno (NRMc) y segmentos del asta dorsal de la médula espinal. La coherencia entre estas regiones durante el efecto nociceptivo inducido por mentol, principalmente del lado contralateral a la inyección de mentol. Coherencia entre NRMc y 14i (A), 14d (B), 15i (C), 15d (D), 16i (E), 16d (F), 17i (G) y 17d (H). Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

Basándonos en estas observaciones, realizamos un análisis de coherencia entre l4d (el segmento con la mayor interacción con NRMc) y las demás regiones de la RVM. Los resultados revelan que también existe una interacción significativa entre l4d y las otras regiones registradas de la RVM (Figura 6.20). Entre l4d y los núcleos del raqué, se aprecia un acoplamiento más robusto en los rangos de frecuencias 2–4 Hz y 8–9 Hz (ver Figuras 6.20B y E), mientras que con las formaciones reticulares, la interacción se concentra en las frecuencias 1–2 Hz y 4 Hz, en especial con la formación reticular derecha rostral (FRdr; ver Figura 6.20C).

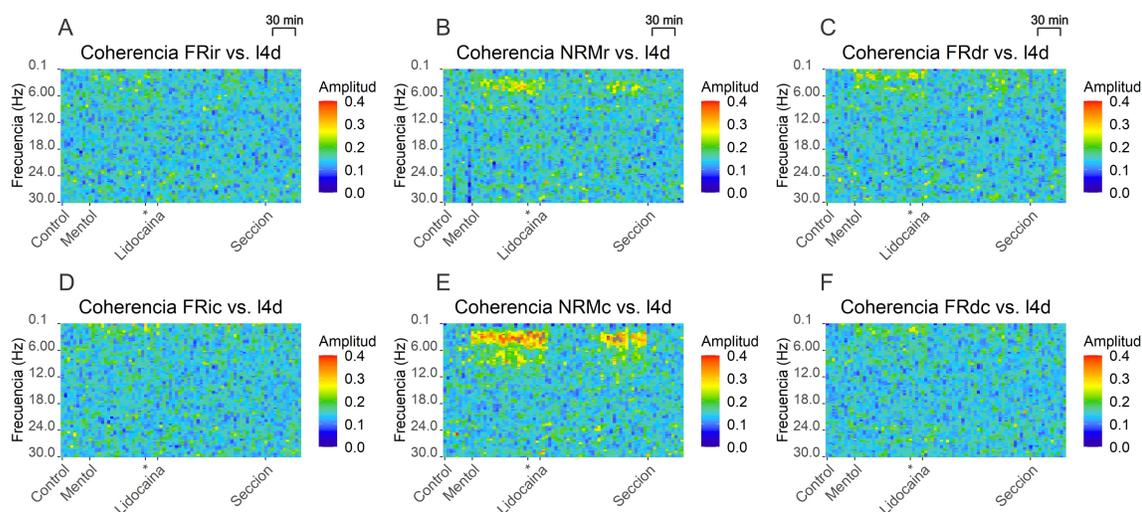


Figura 6.20: Cambios en la conectividad funcional entre l4d y regiones de la RVM: FRir (A), NRMr (B), FRdr (C), FRic (D), NRMc (E) y FRdc (F). Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

Para abordar un análisis más completo de la conectividad entre la RVM y el dorso de la médula espinal, cuantificamos los cambios en la coherencia en un rango de frecuencias de 1 a 4 Hz, en el cual se observa la mayor parte del acoplamiento (ver Figura 6.20). Para esto, consideramos la diferencia (denotada como Δ) entre la coherencia durante el estado de nocicepción inducido por mentol y el estado de control del sistema, en el rango de frecuencias de 1 a 4 Hz.

Mediante este enfoque, logramos distinguir tres rangos distintos de Δ (ver Figura 6.21A): aquellos con $\Delta < 0.025$, en los que no se observa ningún acopla-

miento; $0.025 < \Delta < 0.06$, en el que se evidencia un acople débil (ver Figuras 6.21B2 y B3); y $\Delta > 0.06$, en los que se observa un acople fuerte (ver Figuras 6.21C2 y C3).

Los resultados obtenidos respaldan las observaciones previas y proporcionan nuevos conocimientos sobre la conectividad entre la RVM y el dorso de la médula espinal: existe un acople preferencial con los segmentos l4d y l4i (más conexiones salen de l4d y l4i que del resto de segmentos espinales en la figura 6.21B1). Además, se identifica un acoplamiento débil entre la formación reticular derecha y los demás segmentos registrados del asta dorsal (más conexiones salen de FRdr y FRdc que del resto de regiones de la RVM en la figura 6.21B1). Por último, se evidencia que el acople entre NRMc y el dorso de la médula espinal es más intenso que el acople entre la médula espinal y las demás regiones de la RVM registradas (ver Figura 6.21C1).

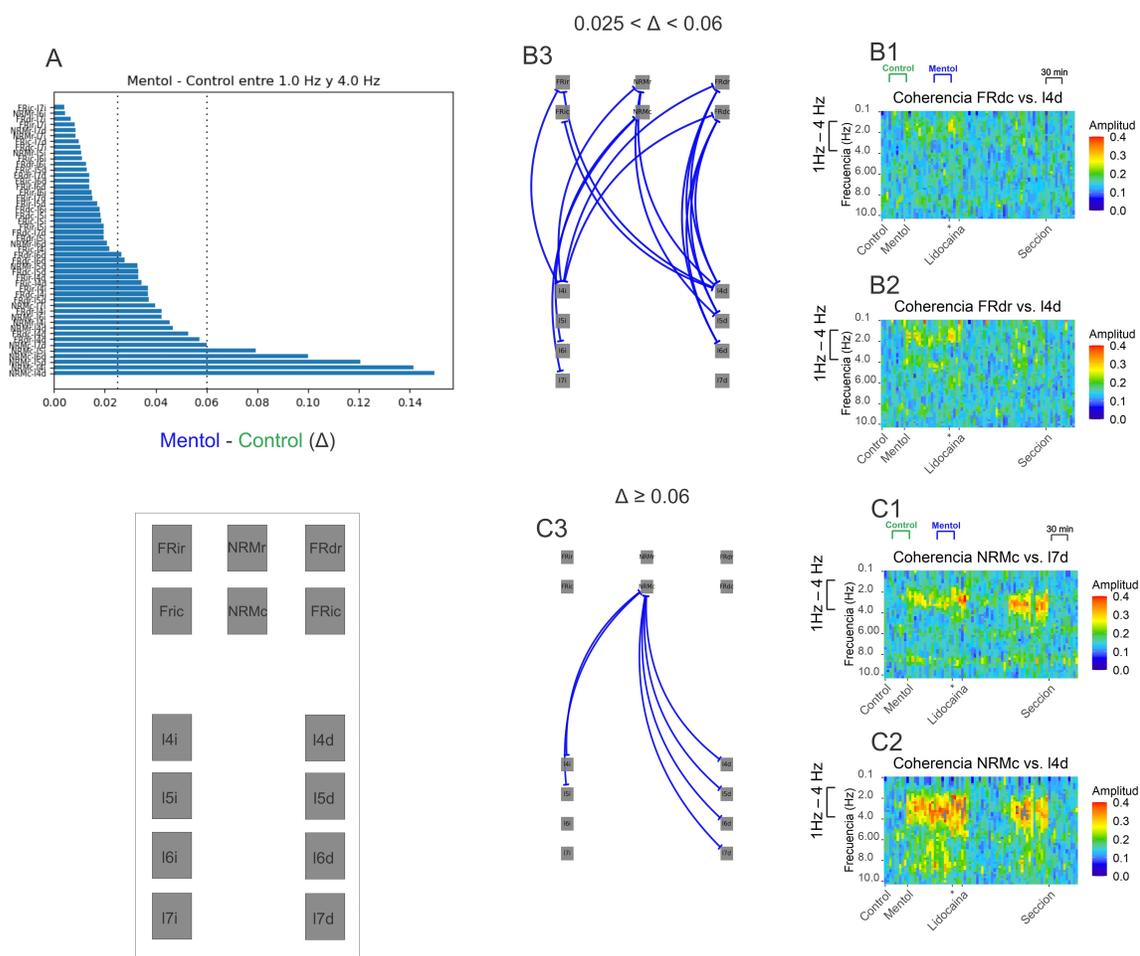


Figura 6.21: Grafos de conectividad entre la RVM y el dorso de la médula espinal (ver recuadro). Para realizar estos grafos (B3 y C3), estimamos la coherencia en el rango de 1 a 4 Hz durante el efecto de Mentol y durante el estado Control; consideramos la diferencia entre Mentol y Control, denotada por Δ , e identificamos 3 rangos distintos de Δ : en el rango $\Delta < 0.025$, no hay un aumento en la conectividad durante el efecto de mentol (datos no mostrados); en el rango $0.025 < \Delta < 0.06$, ocurre un pequeño aumento en la conectividad durante el efecto de mentol (B1 corresponde a los segmentos con menor valor de Δ , mientras que B2 corresponde a los segmentos con mayor valor de Δ en el rango); y en el rango $\Delta > 0.06$, ocurre un aumento fuerte en la conectividad durante el efecto de mentol (C1 corresponde a los segmentos con menor valor de Δ , mientras que C2 corresponde a los segmentos con mayor valor de Δ en el rango). Datos obtenidos en un animal (experimento 2022-10-16).

Experimento 2022-09-28 Con el fin de establecer una comparación entre los experimentos en que se observa un cambio en la conectividad funcional de la RVM durante el efecto de mentol (Figuras 6.12 y 6.13), repetimos el análisis de conectividad entre la RVM y la médula espinal utilizando los datos del experimento presentado en la Figura 6.13.

En este experimento, colocamos 3 microelectrodos intraespinales: uno rostral, entre l5 y l6, a 1400 μm de profundidad (IFPr); uno caudal entre l6 y l7, a 1430 μm de profundidad (IFPcp), y uno en medio de estos dos, entre l6 y l7, a 754 μm de profundidad (IFPcm). El motivo por el cual se colocaron más electrodos en este experimento fue probar la observación de [Quevedo et al. \(1995\)](#), de que los núcleos del rafé proyectan hacia regiones más superficiales del asta dorsal, mientras que las formaciones reticulares proyectan hacia regiones más profundas.

En este experimento, las conexiones más robustas entre la RVM y estos microelectrodos se observan particularmente entre los electrodos más profundos (IFPr e IFPcp, láminas V–VII) y las formaciones reticulares izquierda rostral (FRir) y derecha caudal (FRdc), ver las Figuras 6.22A, F y R). Esto es consistente con las observaciones de [Quevedo et al. \(1995\)](#).

A pesar de que las conexiones en el estado de control de este experimento parecen ser menos intensas que las observadas en el estado de control del experimento previamente discutido (Figura 6.18), se puede apreciar un acople significativo entre FRdc y los segmentos espinales l4–l7 (Figura 6.23). Curiosamente, en esta ocasión, las proyecciones presentan una mayor intensidad en los segmentos caudales (como l7, ver Figuras 6.23G y H) en comparación con los segmentos rostrales (como l4, ver Figuras 6.23A y B), en contraste con lo observado en el experimento previo. Por otro lado, las conexiones muestran una mayor fuerza en el lado derecho, al igual que en el experimento anterior.

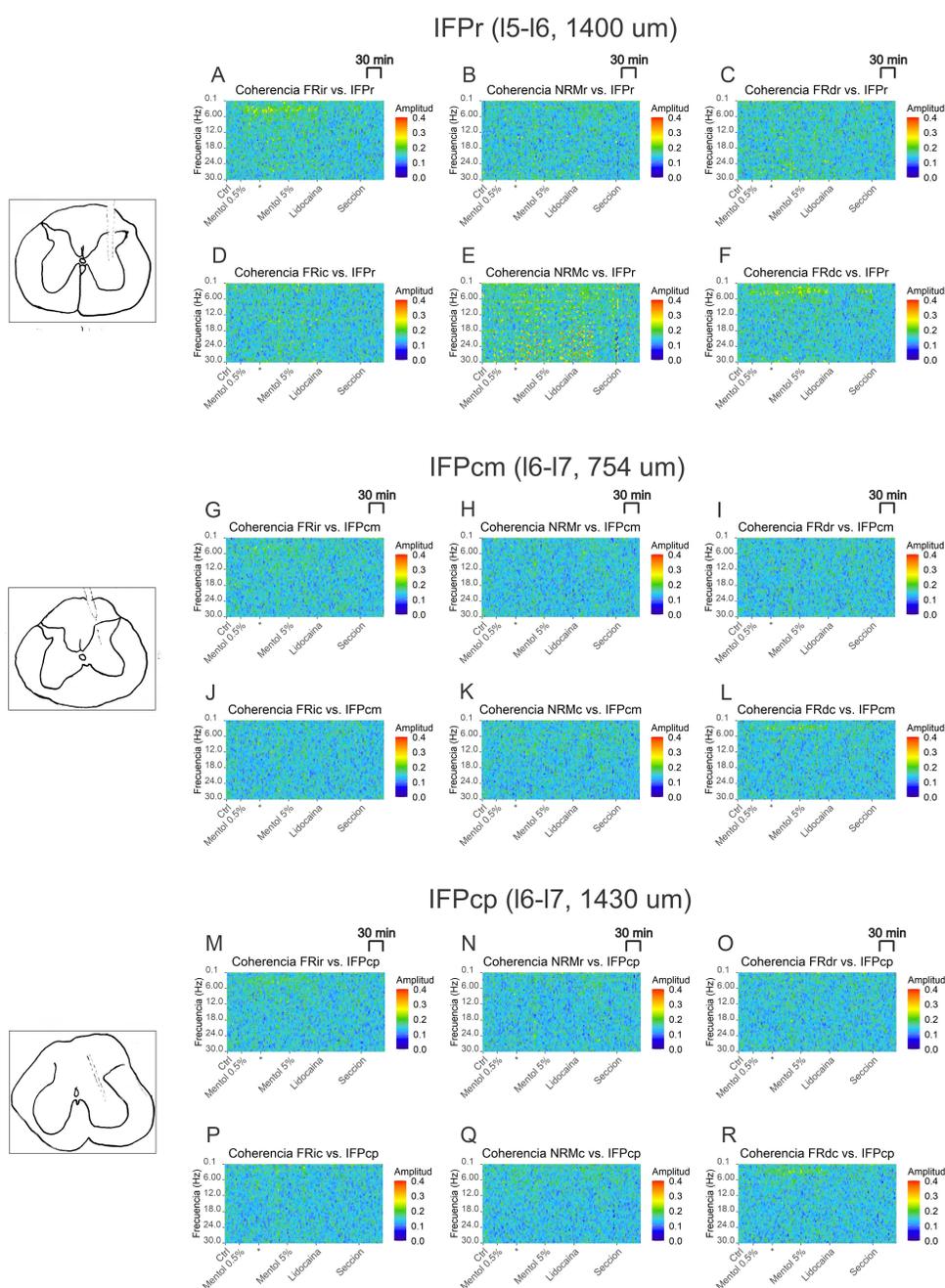


Figura 6.22: Conectividad funcional entre grupos de neuronas ubicadas a 1400 μ m de profundidad en la médula espinal y regiones de la RVM: FRir (A), NRMr (B), FRdr (C), FRic (D), NRMc (E), FRdc (F); entre grupos de neuronas ubicadas a 754 μ m de profundidad y regiones de la RVM: FRir (G), NRMr (H), FRdr (I), FRic (J), NRMc (K), FRdc (L); y entre grupos de neuronas ubicadas a 1430 μ m de profundidad y regiones de la RVM: FRir (M), NRMr (N), FRdr (L), FRic (O), NRMc (P), FRdc (Q).; las histologías con la ubicación de los microelectrodos se muestran en los recuadros. Datos obtenidos en un animal (2022-09-28).

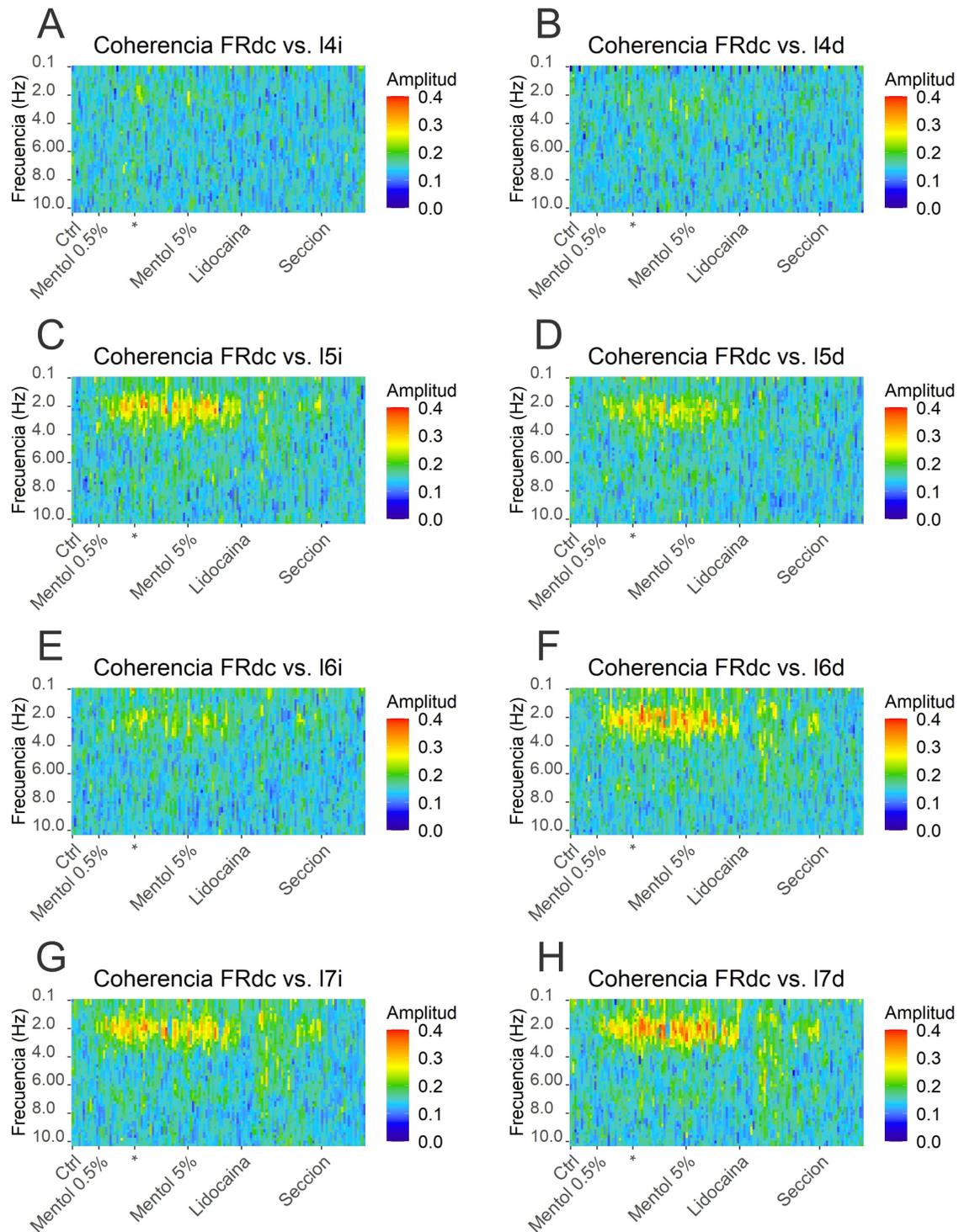


Figura 6.23: Cambios en la conectividad funcional entre la región caudal de la formación reticular derecha (FRdc) y segmentos del asta dorsal de la médula espinal. Coherencia entre FRdc y l4i (A), l4d (B), l5i (C), l5d (D), l6i (E), l6d (F), l7i (G) y l7d (H).

Al analizar la coherencia entre el segmento con mayor acople (17d) y el resto de regiones de la RVM, notamos que este segmento presenta una coherencia no solo con las formaciones reticulares derechas más caudales (FRdc), como ya se había observado (ver Figura 6.24F), sino que también con los núcleos del rafe magno más rostrales registrados (ver Figura 6.24B). En esta figura, se puede observar que los rangos de frecuencia en los que se produce el acople durante la nocicepción inducida por mentol son comparables a los observados en el experimento previo (ver Figura 6.20E): una banda de frecuencias entre 1 y 3 Hz (ligemente más baja que la registrada anteriormente entre 2 y 4 Hz), y una banda centrada en 7 Hz (ligemente más baja que la observada en 9 Hz).

Estos rangos específicos de frecuencias cobran relevancia al compararlos con lo observado durante el efecto nociceptivo inducido por la capsaicina (Moreno et. al., pendiente de publicación), donde se registra un acoplamiento entre neuronas del núcleo rafe magno y del dorso de la médula espinal en una frecuencia específica de 5 Hz (Moreno et. al., pendiente de publicación). Serán necesarios estudios adicionales para determinar si estas frecuencias son exclusivas del tipo de nocicepción, lo que podría señalar un mecanismo de acción diferenciado entre los efectos de la capsaicina y el mentol. Este enfoque permitiría ayudar a entender mejor la forma en que el cerebro procesa diversas formas de dolor (ver la sección 7.4 para m).

Más estudios son necesarios para determinar si estas frecuencias son específicas al tipo de nocicepción, ya que esto podría indicar un mecanismo de acción entre la RVM y la médula espinal diferenciado entre el efecto de capsaicina y el de mentol, que podría ayudar a entender mejor la forma en que el cerebro procesa distintos estímulos nociceptivos (ver la sección 7.4 para una discusión más detallada del tema).

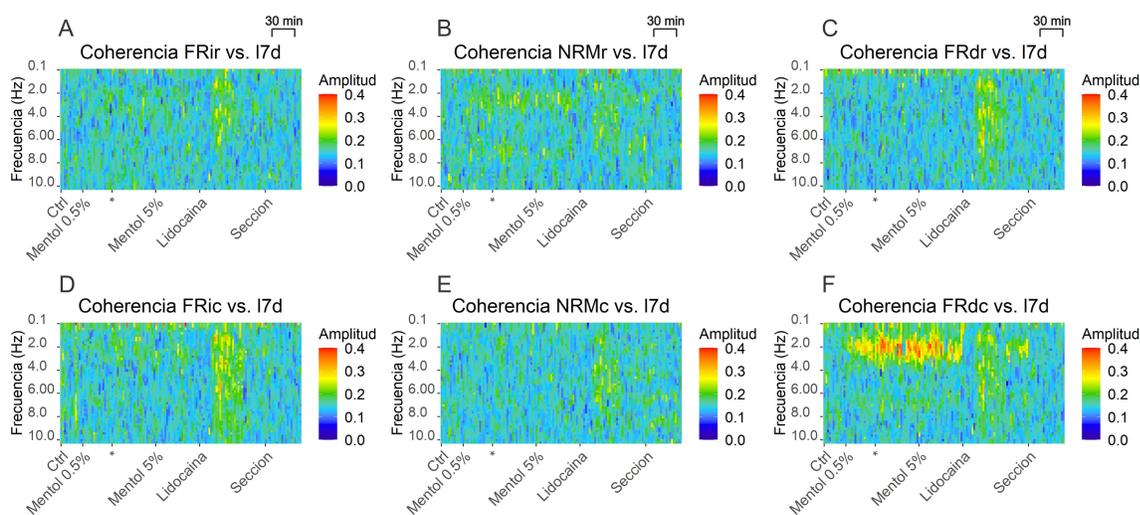


Figura 6.24: Cambios en la conectividad funcional entre 17d y regiones de la RVM: FRir (A), NRMr (B), FRdr (C), FRic (D), NRMc (E) y FRdc (F). Datos tomados del experimento 2022-09-28. Datos obtenidos en un animal (2022-09-28).

Al repetir el análisis previamente descrito en la figura 6.21 para este experimento, hemos logrado distinguir tres rangos de valores para Δ (ver Figura 6.25A): $\Delta < 0.025$, donde no se evidencia acoplamiento alguno; $0.025 < \Delta < 0.06$, donde se muestra un acoplamiento de baja intensidad (ver Figuras 6.25B2 y B3); y $\Delta > 0.06$, donde se observa un acoplamiento notable (ver Figuras 6.25C2 y C3).

A partir de estos resultados, se derivan observaciones de interés: la formación reticular izquierda rostral (FRir) presenta un acople exclusivo con segmentos de la médula espinal del lado derecho, mientras que el núcleo del rafé magno registrado rostralmente (NRMr) está acoplado con segmentos espinales del lado izquierdo (Figura 6.25B1). Por otro lado, la formación reticular izquierda caudal (FRic) presenta un acople más marcado con la médula espinal en comparación con FRir y NRMr, y su acoplamiento se extiende bilateralmente.

En contraste con las observaciones del experimento ilustrado en la figura 6.21, en este caso no se observa un acoplamiento preferencial de la RVM hacia regiones rostrales o caudales, ni tampoco hacia alguna dirección lateral (izquierda o derecha) en la médula espinal.

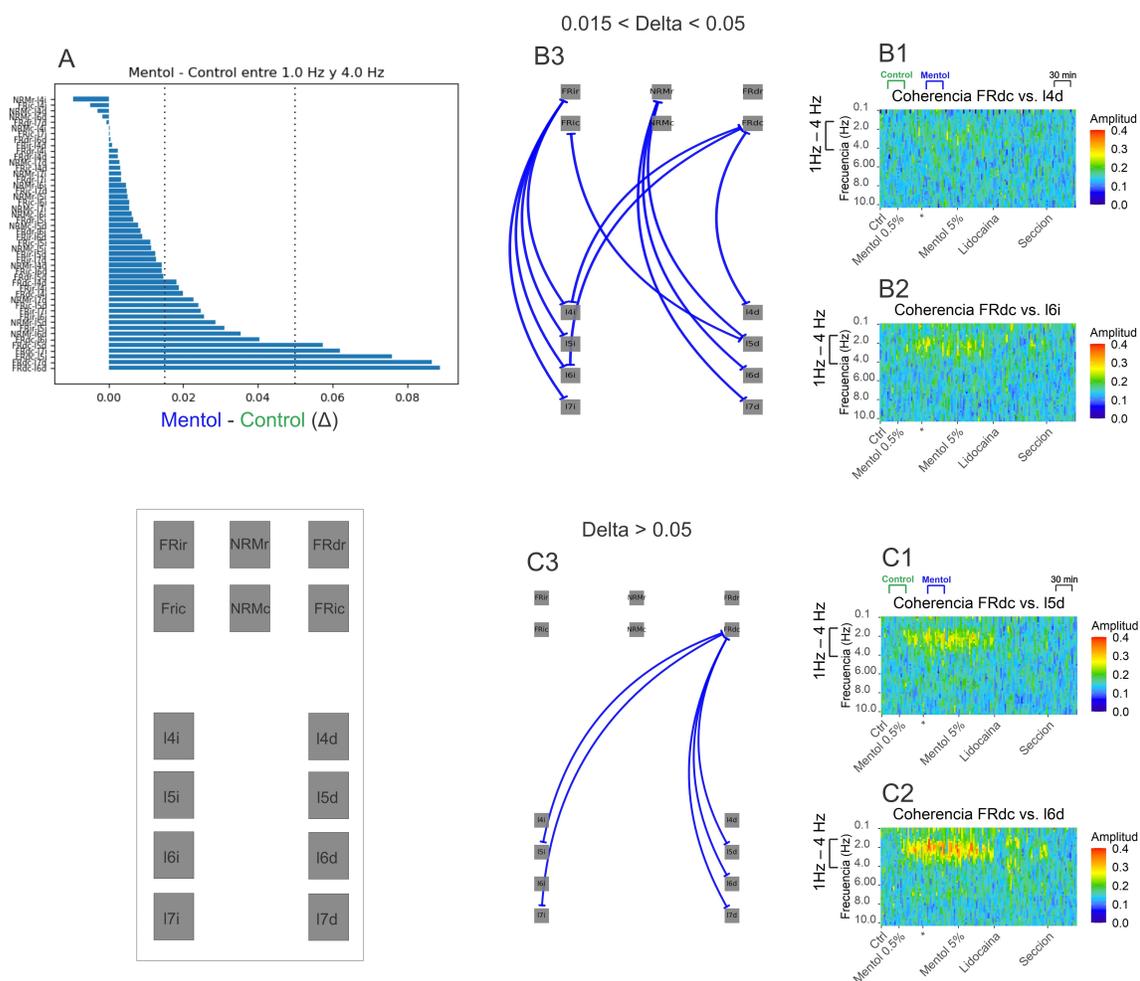


Figura 6.25: Grafos de conectividad entre la RVM y el dorso de la médula espinal (ver recuadro). Para realizar estos grafos (B3 y C3), estimamos la coherencia en el rango de 1 a 4 Hz durante el efecto de Mentol y durante el estado Control; consideramos la diferencia entre Mentol y Control, denotada por Δ , e identificamos 3 rangos distintos de Δ : en el rango $\Delta < 0.015$, no hay un aumento en la conectividad durante el efecto de mentol (datos no mostrados); en el rango $0.015 < \Delta < 0.05$, ocurre un pequeño aumento en la conectividad durante el efecto de mentol (B1 corresponde a los segmentos con menor valor de Δ , mientras que B2 corresponde a los segmentos con mayor valor de Δ en el rango); y en el rango $\Delta > 0.05$, ocurre un aumento fuerte en la conectividad durante el efecto de mentol (C1 corresponde a los segmentos con menor valor de Δ , mientras que C2 corresponde a los segmentos con mayor valor de Δ en el rango). Datos obtenidos en un animal (2022-09-28).

6.5. Criticalidad en la médula espinal

Hemos estudiado la conectividad entre pares de canales y la distribución anatómica de estas conexiones, empleando medidas de acoplamiento lineal, como la correlación y la coherencia (ver la sección 7.7).

En vista de los resultados más recientes del laboratorio (Moreno et. al., 2023, pendiente de publicación), estas observaciones pueden situarse en el contexto de la hipótesis de la criticalidad en el cerebro (*brain criticality hypothesis*), la cual plantea que este mantiene su eficiencia en la transmisión de señales al permanecer en un estado de transición de fase entre el “orden” y el “desorden” en su actividad. En este contexto, el “orden” podría manifestarse en un extremo como una sincronización total entre todas las neuronas, mientras que el estado de “desorden”, en el otro extremo, implicaría una total independencia entre las neuronas, sin ninguna relación funcional entre ellas.

El estado de criticalidad trasciende ser simplemente un estado intermedio entre dos fases; de hecho, se refiere a una transición entre estas fases. Un ejemplo paradigmático de este concepto se encuentra en la evolución de una red de materiales magnéticos, en la que sus momentos magnéticos cambian de estar desalineados a alineados a medida que aumenta la temperatura externa (modelo de Ising). Esta transición entre estados ocurre a una temperatura específica, en la cual además surgen fenómenos emergentes como la invariancia de escala del sistema.

La invariancia de escala se refiere al fenómeno en el cual las propiedades observadas de un sistema no varían, independientemente de la escala (ya sea espacial o estructural) desde la cual se lo observe. Un ejemplo ilustrativo de esta noción es observable en las estructuras fractales, donde la forma se mantiene constante sin importar si se observa el objeto desde una distancia lejana o cercana.

En el contexto del modelo de Ising, la invariancia de escala se encuentra naturalmente limitada por las escalas intrínsecas de la red de materiales magnéticos: no podemos ver a escalas más pequeñas que una unidad de la red ni a escalas más grandes que el tamaño de la red.

Lo que se observa en las figuras 6.8 y 6.9 podría ejemplificar la invariancia

de escala en términos estructurales. Por un lado, en la figura 6.8 se observa la conectividad a nivel de segmentos espinales, mientras que en la figura 6.9 se observa la conectividad entre un segmento espinal y pequeños grupos neuronales (las neuronas que contribuyen a los potenciales de campo intraespinal en los puntos de registro). En ambas escalas, se aprecia un patrón de conectividad similar en rangos específicos de frecuencia.

Pasando a una escala espacial, tener varios electrodos de registro distribuidos en una estructura neuronal (la RVM y el dorso de la médula espinal) nos permite evaluar la invariabilidad de escala en la conectividad de esta región. En este caso, de haber una invariabilidad de escala, la conectividad entre pequeños grupos neuronales cercanos sería semejante a la conectividad entre los grupos neuronales lejanos que conforman la estructura. El algoritmo propuesto por Sánchez-Islas et al. (2021) evalúa esta invariancia de escala en series de tiempo, tales como las señales electrofisiológicas que hemos registrado en este estudio. Además, demuestra que este fenómeno ocurre durante el estado de criticalidad. El procedimiento consiste en aplicar un análisis de componentes principales al conjunto de señales y evaluar la distribución de los eigenvalores de la matriz de covarianza del sistema (conocida como su eigenespectro; véase la sección 5.4.4). Cuando en el sistema exhibe invariancia de escala, se espera que el eigenespectro siga una ley de potencias (ver la ecuación 5.3). Esta ley de potencias se traduce, en una escala logarítmica (log-log), en que los datos se ajusten a una línea recta, de la forma:

$$\log(\lambda_k) = -\beta \log(k). \quad (6.1)$$

Este análisis adquiere un valor significativo, ya que explora el acoplamiento no lineal de todos los canales registrados dentro de una región anatómica, ya sea la médula espinal o la RVM, mientras que hasta ahora nos hemos centrado únicamente en acoplos lineales entre grupos neuronales.

Analizamos este comportamiento en diversos momentos de las condiciones experimentales expuestas en las figuras 6.2 y 6.12. Dado que las modificaciones en la conectividad se presentan en intervalos de frecuencia variados, llevamos a cabo nuevamente este análisis para cada uno de estos rangos de frecuencias.

En la Figura 6.26 mostramos figuras representativas de las regresiones lineales realizadas siguiendo la ecuación 6.1. Se observa que en estos datos se cumple una ley de potencias, con distintos valores de β en cada maniobra. El coeficiente de determinación (R^2) fue mayor a 0.8 en todos los intervalos analizados.

En la ecuación 6.1, el parámetro β mide la segregación de la varianza entre los componentes obtenidos mediante el análisis de componentes principales (PCA). En otras palabras, valores más altos de β reflejan una distribución de los datos más “ordenada” en un número reducido de direcciones (las primeras componentes del PCA). Para ilustrar este concepto, consideremos un espacio de señales tridimensional (en nuestro estudio, este espacio es en realidad n -dimensional, donde n es el número de canales registrados). En este contexto, un valor elevado de β indicaría que los datos tienden a distribuirse principalmente a lo largo de una línea o un plano en ese espacio.

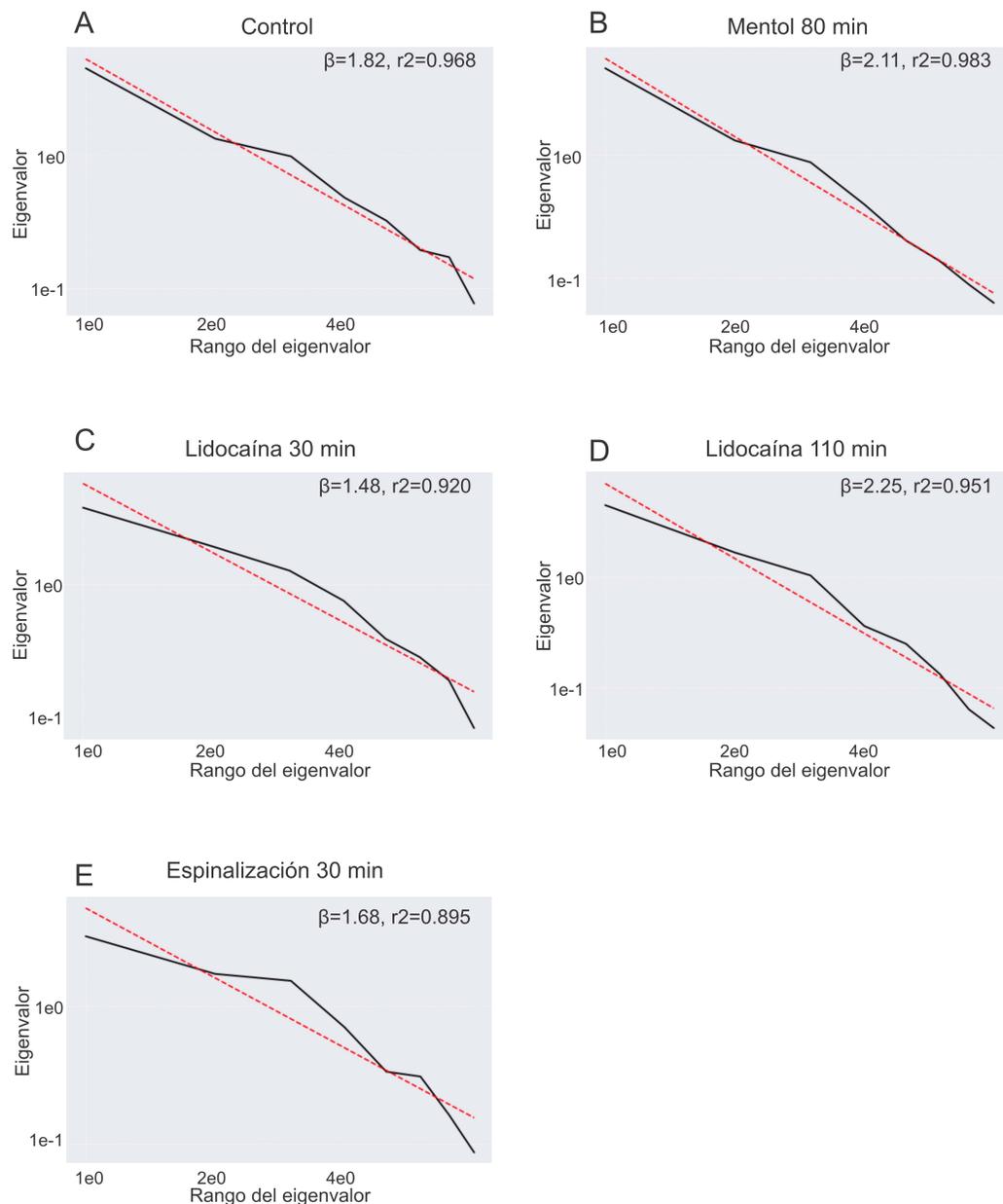


Figura 6.26: Leyes de potencias en el eigen-espectro de la matriz de covarianzas de las señales espinales. Siguiendo el algoritmo propuesto por [Sánchez-Islas et al. 2021](#), verificamos que el eigenespectro (obtenido al diagonalizar la matriz de covarianzas usando análisis de componentes principales) sigue una ley de potencias de la forma $\log(\lambda_k) = -\beta \log(k)$. Este patrón es necesario para establecer la condición de criticalidad de un sistema. La existencia de esta ley de potencias se verificó en las maniobras: Control (A), Mentol (B), Lidocaína (C), Post-Lidocaína (D) y Espinalización (E). Datos obtenidos en un animal (2022-10-16).

Como demostramos anteriormente, el sistema mantiene una invariabilidad de escala en diversas condiciones experimentales (control, nocicepción inducida por mentol, anti-nocicepción mediante lidocaína, nocicepción después de la acción de lidocaína y la pérdida de la comunicación espinal-supraespinal tras la espinalización de la preparación). Cada una de estas maniobras se caracteriza por un valor distinto del parámetro β , como se muestra en la figura 6.27. En la figura 6.27 se puede apreciar que en la médula espinal, durante el estado nociceptivo causado por mentol, el valor del parámetro β experimenta un aumento abrupto en comparación con el estado control. Este incremento es especialmente notorio en el rango de frecuencias delta (0.7–4 Hz), donde β aumenta de 1.8 a 2.4, y en el rango theta (4–8 Hz), donde β pasa de 1.5 a 2.3. En cuanto a los rangos de frecuencias más elevadas (alfa y beta), el cambio en el valor de β es más gradual. En el rango alfa (8–13 Hz), el valor de β evoluciona de 1.7 a 2.0, mientras que en el rango beta (13–30 Hz), pasa de 1.9 a 2.1.

Durante la condición de anti-nocicepción inducida por la lidocaína, los valores de β regresan a niveles cercanos a los observados durante la condición de control, en todos los rangos de frecuencias. Posteriormente, después de que los efectos de la lidocaína se disipan, los valores de β vuelven a acercarse a los observados durante la nocicepción provocada por el mentol. Finalmente, tras la sección de la médula espinal a nivel de T4, los valores de β se aproximan a los registrados en el estado de control.

Estos resultados son congruentes con un incremento en la sincronización de los grupos neuronales en el dorso de la médula espinal durante la fase de nocicepción, a la vez que el sistema permanece en un estado de criticalidad. Esto fortalece la hipótesis (Moreno et. al., 2023, pendiente de publicación) de que existen dos estados de organización relativamente estables, uno correspondiente a la nocicepción y otro a la anti-nocicepción (ver la sección 6.2).

Espinal

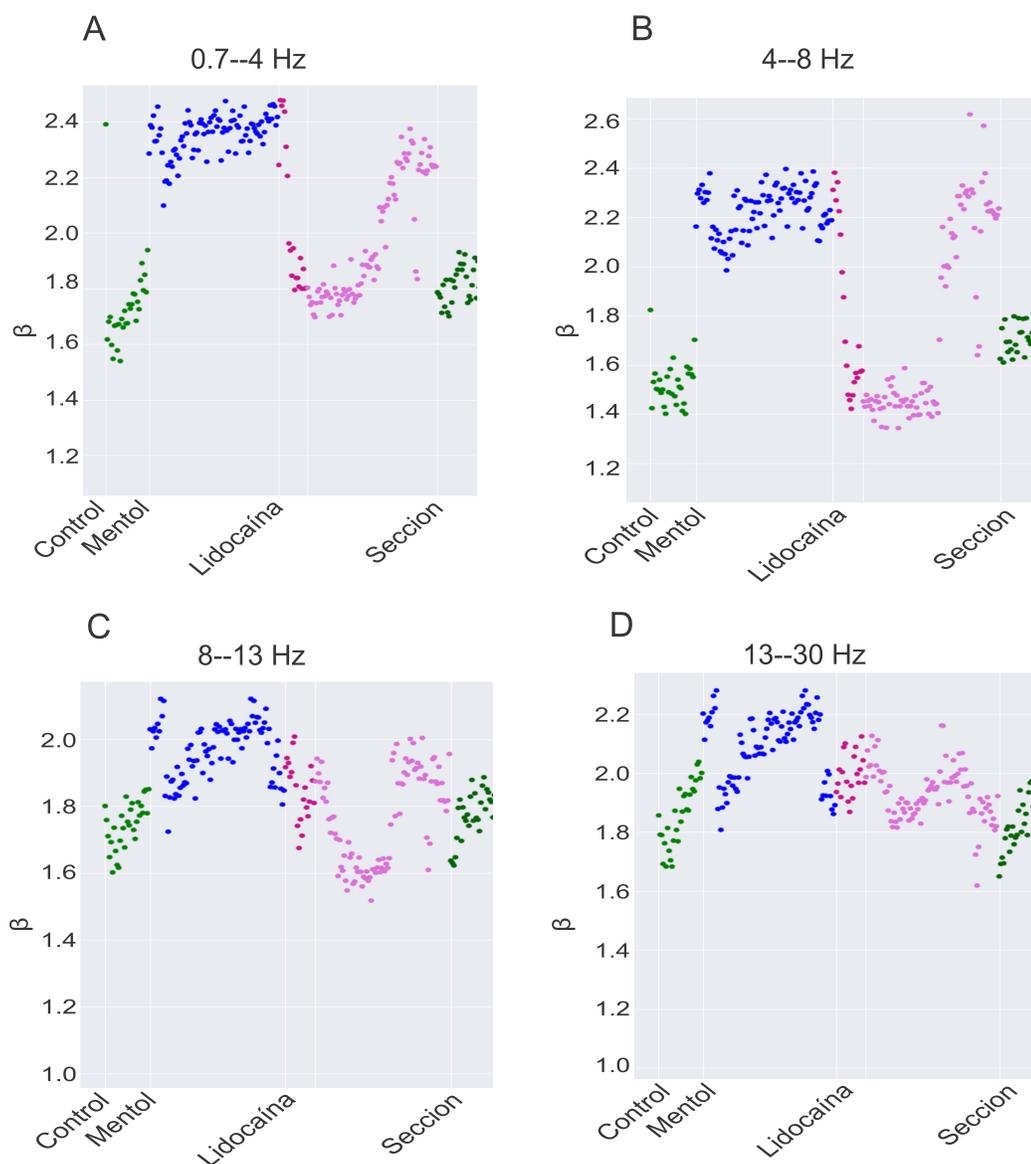


Figura 6.27: Dinámica del coeficiente β en la médula espinal. Los datos se dividieron en intervalos de un minuto durante todo el experimento, considerando en cada intervalo los 10 canales registrados en la médula espinal, y para cada intervalo se calculó el coeficiente β utilizando la ecuación 6.1. Un valor más elevado de β sugiere una inclinación del sistema hacia el “orden”, mientras que un valor más bajo de β sugiere una orientación hacia el “desorden”. El análisis se realizó para los rangos de frecuencias de 0.7 a 4 Hz (A), 4 a 8 Hz (B), 8 a 13 Hz (C) y 13 a 30 Hz (D). Datos obtenidos en un animal (2022-10-16).

Mientras que en la médula espinal aumenta el “orden” de la sincronización entre grupos neuronales, en la RVM ocurre lo contrario: el valor de β disminuye abruptamente durante el estado de nocicepción por mentol. Esta disminución del valor de β , interpretada como una disminución en el “orden” de la conectividad, ocurre similarmente en todos los rangos de frecuencias comprendidos entre 0.7 y 30 Hz (delta, theta, alfa y beta). En delta, el valor de β disminuye de 3.5 a 2.3; en theta, de 3.2 a 2.2; en alfa, de 3.1 a 2.3, y en beta, de 3.1 a 2.3. Comparando estos valores con los de la médula espinal (ver Figura 6.27), se observa una mayor organización en la RVM y los cambios son ligeramente más pronunciados que los observados en la médula espinal.

De manera similar a lo observado en el dorso de la médula espinal, en la RVM el efecto de la lidocaína restaura la organización del sistema a un estado similar al de los registros control, mientras que la condición post-lidocaína regresa la organización del sistema a un nivel comparable al observado durante la nocicepción inducida por mentol. Sin embargo, en la RVM, tras la sección espinal realizada a nivel de T4, la conectividad no retorna al estado control; en cambio, oscila entre el estado control y el de nocicepción por mentol. Esta variación posiblemente se deba a la pérdida de retroalimentación espinal que ocurre tras la sección.

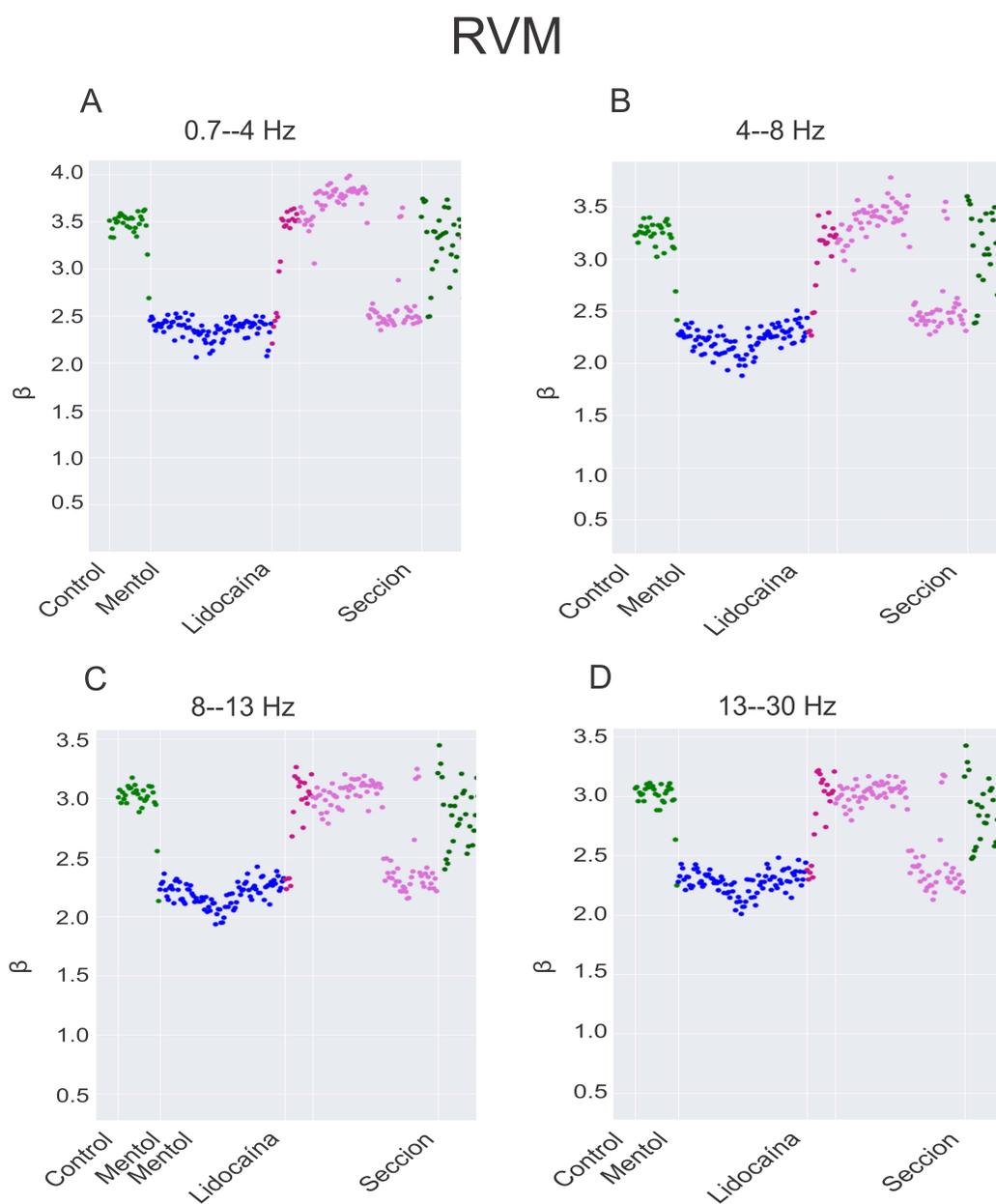


Figura 6.28: Dinámica del coeficiente β en la RVM. Los datos se dividieron en intervalos de un minuto durante todo el experimento, considerando en cada intervalo los 6 canales registrados en la RVM, y para cada intervalo se calculó el coeficiente β utilizando la ecuación 6.1. Un valor más elevado de β sugiere una inclinación del sistema hacia el “orden”, mientras que un valor más bajo de β sugiere una orientación hacia el “desorden”. El análisis se realizó para los rangos de frecuencias de 0.7 a 4 Hz (A), 4 a 8 Hz (B), 8 a 13 Hz (C) y 13 a 30 Hz (D). Datos obtenidos en un animal (2022-10-16).

Capítulo 7

Discusión

7.1. Cambios en la conectividad funcional de neuronas del asta dorsal de la médula espinal durante el efecto de mentol

De acuerdo con hallazgos previos de nuestro laboratorio, la actividad altamente sincronizada entre las neuronas del asta dorsal de la médula espinal que producen los *cord dorsum potentials* (ver áreas señaladas en la Figura 6.2B) favorece la activación de vías GABAérgicas que inducen la despolarización de aferentes primarios (PAD) y la inhibición presináptica de las señales provenientes de aferentes cutáneos (Chávez et al., 2012).

Los resultados de este estudio revelan que, de manera similar a lo observado durante la nocicepción inducida por capsaicina (Contreras-Hernández et al., 2018), se produce un aumento en la sincronización de la actividad de estos grupos neuronales luego de administrar altas concentraciones (8 mg/Kg) de mentol intraplantar (ver figura 6.2). Este incremento en la sincronización es más marcado entre segmentos adyacentes (Figura 6.4), principalmente entre segmentos caudales, en concordancia con lo observado durante el efecto de capsaicina (Chávez et al., 2012).

La similitud en los patrones de conectividad observados durante los efectos de la capsaicina y el mentol sugiere que esta conectividad es característica de

un estado nociceptivo. Estos patrones de conectividad están estructurados y no son aleatorios (Chávez et al., 2012). Esto resulta comprensible, dado que tanto el mentol en altas concentraciones como la capsaicina, inducen sensaciones de dolor punzante que, cuando se aíslan de las sensaciones térmicas, son reportados como similares (Yarnitsky and Ochoa, 1990).

Desafortunadamente, no contamos con estudios enfocados en realizar una caracterización electrofisiológica o biomolecular de los grupos de interneuronas en las láminas III–VI que participan en la sincronización de la actividad en el asta dorsal de la médula espinal (ver Chávez et al., 2012). Esta falta de caracterización nos impide descartar la posibilidad de que la sincronización en el asta dorsal observada durante el efecto de mentol se origine en grupos neuronales distintos a los implicados en el control de las vías de inhibición presináptica y postsináptica (ver Chávez et al., 2012). Sin embargo, es importante señalar que los procedimientos de registro utilizados en este estudio son idénticos a los empleados en investigaciones previas, y además comprobamos que estas neuronas responden a estímulos cutáneos (datos no mostrados), así como también lo hacen los grupos neuronales involucrados en el control de las vías de inhibición presináptica y postsináptica (Contreras-Hernández et al., 2018). Por tanto, consideramos probable que estos potenciales reflejen la actividad del mismo grupo neuronal.

Efectos de la reorganización funcional de neuronas del asta dorsal sobre aferentes del nervio articular posterior Investigaciones previas (Rudomín and Hernández, 2008) han demostrado que los potenciales evocados por la estimulación del nervio articular posterior (PAN) son potenciados durante la nocicepción inducida por capsaicina (Figura 7.1B). En contraste, estas mismas respuestas son inhibidas durante la exposición a mentol, como se ha observado en resultados preliminares no publicados (Figura 7.1A).

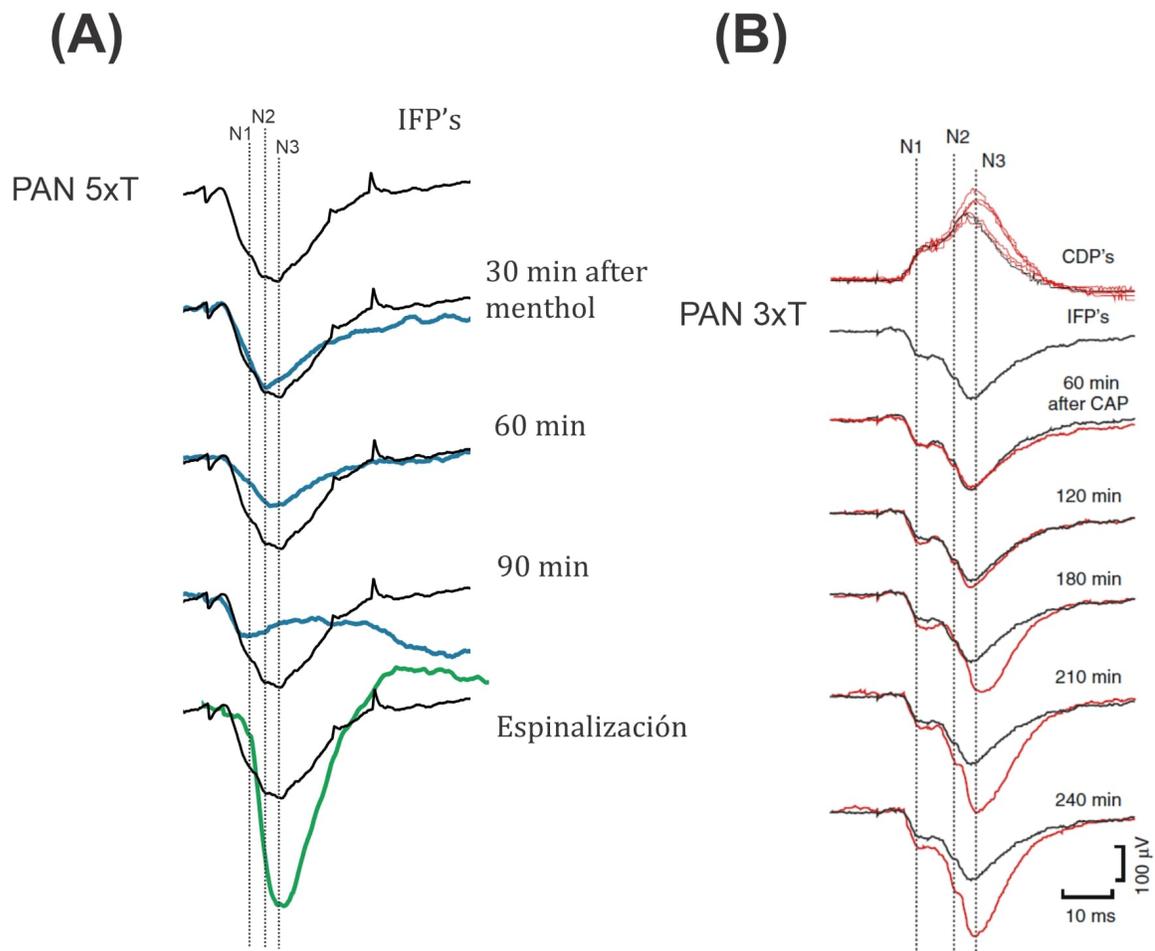


Figura 7.1: Mentol y capsaicina tienen un efecto opuesto sobre la transmisión sináptica de fibras aferentes del nervio articular posterior (PAN). (A): Registros de campo intraespinal (IFP's) en el asta dorsal de la médula espinal, a nivel de L7, luego de estimular al PAN con intensidad 5 veces umbral (5xT) en un estado control (ilustrado en negro), tiempo después de administrar mentol intraplantar (ilustrado en azul), y tras espinalizar la sección (ilustrado en verde); la traza en negro se superpuso sobre los registros en azul y en verde para apreciar con mayor claridad los cambios en la respuesta. Datos no publicados del laboratorio. (B): Registros superficiales (arriba, CDP's) e IFPs, medidos a nivel de L6, inducidos por la estimulación del PAN a intensidad 3 veces umbral (3xT) durante la nocicepción inducida por capsaicina. En negro se muestra la respuesta control, y en rojo la respuesta registrada luego de administrar capsaicina intraplantar. Tomada de (Rudomín and Hernández, 2008).

Según lo demostrado por Ramírez-Morales et al., 2019, incluso durante la facilitación de las respuestas evocadas en el PAN debido al efecto de la capsai-

cina, existe una gradual inhibición supraespinal que atenúa dicha facilitación. Esta misma influencia supraespinal podría explicar la inhibición de las respuestas evocadas en el PAN durante el efecto del mentol.

La amplificación de las respuestas evocadas en el nervio articular posterior (PAN) durante el efecto nociceptivo de capsaicina podría ser resultado tanto de los efectos inflamatorios inherentes a la capsaicina (Rudomín and Hernández, 2008) como de la alteración en la conectividad funcional de grupos neuronales del asta dorsal de la médula espinal (Ramírez-Morales et al., 2019). En este contexto, la diferencia en el efecto de mentol podría estar reflejada en la distinción de frecuencias de acople observadas en estos grupos neuronales. Durante el efecto de capsaicina este acople ocurre a frecuencias cercanas a los 5 Hz, mientras que durante el efecto de mentol el acople se establece en un rango de frecuencias de 2 a 4 Hz. Esta actividad a distintas frecuencias podría influir en la activación de regiones supraespinales capaces de regular la actividad de las aferentes del PAN.

En relación a los procesos pro-inflamatorios desencadenados por el mentol, se ha descrito que las neuronas que expresan TRPM8 y TRPA1 (considerados los principales blancos del mentol, ver sección 1.5) pueden liberar interleucinas, TNF- α y sustancia P, al igual que las neuronas que expresan TRPV1 (Wang et al., 2019; Yao et al., 2023; Ilie et al., 2019). Por otro lado, se ha demostrado (en neuronas hipotalámicas; Kosse and Burdakov, 2018) que los grupos neuronales pueden modular diversas funciones a través de la variación en sus frecuencias de actividad. Siguiendo esta línea de pensamiento, la actividad diferencial en las frecuencias de las neuronas nociceptoras podría provocar una divergencia en la liberación de mediadores proinflamatorios.

7.2. Desacople funcional entre regiones de la RVM

Mientras las neuronas del asta dorsal de la médula espinal experimentan un aumento en la sincronización de grupos neuronales distribuidos en los segmentos l4–l7 durante el efecto de mentol, las regiones constituyentes de la RVM (los

núcleos del raqué mango y las formaciones reticulares magnocelulares) muestran un desacople entre ellas. Este desacople ha sido descrito también durante la sensibilización central inducida por capsaicina (Moreno et. al., 2023, pendiente de publicación).

Una explicación de este desacople podría encontrarse en la diversidad funcional de las neuronas de la RVM, en la cual pueden encontrarse segregadas neuronas descritas como pro-nociceptivas y anti-nociceptivas (neuronas ON y OFF, respectivamente; ver Salas et al., 2016), además de neuronas serotoninérgicas y no serotoninérgicas (ver Gau et al., 2013). Sumado a esto, se ha descrito que las neuronas del raqué y las de las formaciones reticulares tienen proyecciones a distintas profundidades de la médula espinal (Quevedo et al., 1995): las neuronas del raqué proyectan hacia regiones más superficiales del asta dorsal, mientras que las de las formaciones reticulares proyectan hacia regiones más profundas.

Por otro lado, el desacople entre regiones neuronales ha sido descrito como un mecanismo presente durante la focalización de la atención durante el comportamiento de bigoteo de ratones al explorar su entorno (Poulet and Petersen, 2008), y durante el cambio de foco de atención espacial en neuronas de la corteza visual V4 de macacos (Mitchell et al., 2009).

El desacople entre grupos neuronales de la RVM podría permitir que diferentes grupos neuronales proyecten independientemente hacia distintos segmentos de la médula espinal, como lo sugiere la figura 6.25B3, reduciendo la redundancia en la información transmitida y mejorando así su eficiencia en la transmisión sináptica.

7.3. Reversión del efecto nociceptivo de mentol mediante la administración sistémica de lidocaína

Los cambios en la conectividad neuronal observados durante el efecto nociceptivo de mentol pueden ser temporalmente revertidos por la infusión sistémica de lidocaína. Esto mismo se ha reportado durante el efecto de capsaicina

([Contreras-Hernández et al., 2018](#)) utilizando lidocaína y ketamina sistémica. La lidocaína actúa como bloqueador de canales de sodio ([Hermanns et al., 2019](#)), mientras que la ketamina actúa como antagonista no competitivo de los receptores NMDA ([Mihaljeviü et al., 2020](#)), un receptor a glutamato con alta permeabilidad al calcio y también al sodio ([Xin et al., 2005](#)). Pese a la similitud de sus mecanismos de acción, resulta interesante notar que la inhibición de ambos tipos de corriente despolarizante alteran de manera similar las oscilaciones neuronales del asta dorsal y de la RVM, pese a que al activar distintos canales contribuirían a la generación de frecuencias distintas.

En estudios previos, se ha evidenciado que los cambios en la conectividad funcional inducidos por la nocicepción tienen un efecto gradual sobre mecanismos de hiperalgesia y alodinia (ver [Ramírez-Morales et al., 2021](#)). Por otro lado, [Leblanc et al. \(2014\)](#) demuestran que existe una diferencia sustancial entre los cambios en la conectividad funcional inducidos en modelos de dolor crónico y agudo: el dolor agudo produce un desacople temporal (se revierte luego de algunas horas) entre neuronas del tálamo ventral posterolateral (un sitio con proyecciones espinales) y la corteza somatosensorial primaria, y en el modelo de dolor crónico ocurre un desacople similar, pero con mayor duración y distinto contenido espectral. En virtud de lo anterior, especulamos sobre la eficacia de un tratamiento por infusión de lidocaína de manera preventiva al dolor neuropático, previo a desarrollar cambios en la conectividad supraespinal y la sensibilización central (ver [Hernández and Vanegas, 2001](#) y [Raza et al., 2019](#)).

7.4. Conectividad entre la RVM y el asta dorsal de la médula espinal durante el efecto de mentol

Ciertos autores proponen que la actividad coherente en frecuencias bajas permite la comunicación entre grupos neuronales distantes, mientras que la actividad coherente en frecuencias altas permite la comunicación entre grupos neuronales cercanos (ver, por ejemplo, [Kopell et al., 2000](#) y [Fries, 2005](#)). Esto

podría explicar lo observado en la figura 6.8, en la cual se identifican oscilaciones coherentes en dos rangos de frecuencias, uno más fuerte en el rango de 2 a 4 Hz y otro en frecuencias más altas, lo cuál podría reflejar una conectividad distal y otra distante, entre neuronas de distintos segmentos del asta dorsal, y entre la médula espinal y la RVM, respectivamente.

En un estudio previo del laboratorio (Moreno et. al., 2023, pendiente de publicación), se ha observado un acople entre la médula espinal y los núcleos del rafé magno durante el efecto nociceptivo de capsaicina. Este acople ocurre principalmente en una frecuencia de 5 Hz, y en menor medida en una frecuencia de 8 Hz. No se observó un acople entre las formaciones reticulares y la médula espinal.

En el presente estudio, aumentamos el número de canales de registro en la RVM, con el fin de observar la diversidad funcional de las regiones de la RVM, y para poder evaluar la condición de criticalidad en la RVM (ver sección 7.6). De esta manera, logramos constatar un acople entre los núcleos del rafé magno y la médula espinal, además de un acople entre las formaciones reticulares y el dorso de la médula espinal, durante la nocicepción por mentol. Mientras que el acople con los núcleos del rafé magno ocurren en un rango de frecuencias de 2–4 Hz y en menor medida en una frecuencia de 9 Hz (ver Figuras 6.20B,E y 6.24B), el acople con las formaciones reticulares es más débil y ocurre en un rango de frecuencias de 1–3 Hz y en menor medida en una frecuencia de 4 Hz (ver Figuras 6.20A,B,D,F y 6.24F).

La variación en la intensidad del acoplamiento y en el rango de frecuencias específicas del acoplamiento entre las formaciones reticulares y los núcleos del rafé magno con el asta dorsal podría atribuirse a la des-sincronización de estas regiones de la RVM inducida por el mentol (consulte la Figura 6.12). En consecuencia, las acciones de cada región podrían ser, al menos en parte, independientes entre sí.

Estos cambios en la conectividad funcional durante la fase nociceptiva inducida por mentol pueden desempeñar un papel fundamental en la regulación homeostática de la nocicepción, especialmente dado el importante papel de la RVM en el control de la nocicepción.

Dirección de la conectividad RVM-espinal Una de las preguntas abiertas sobre el acople en actividad entre la RVM y el dorso de la médula espinal durante la respuesta nociceptiva es la direccionalidad del flujo de la información nociceptiva. Según lo demostrado por [Salas et al. \(2016\)](#), este acople se debe, al menos en parte, a una conectividad directa, y no a una conectividad paralela con una fuente común. Esta observación es congruente con la descripción de proyecciones anatómicas de neuronas ON y OFF hacia el dorso de la médula espinal (ver [Aicher et al., 2012](#)).

En el experimento mostrado en la figura [6.12](#), tanto la actividad de la médula espinal como la de la RVM regresan, al menos parcialmente, a estados basales luego de seccionar la médula espinal a nivel de T4 (Figuras [6.8](#) y [6.17](#)). Esto apoyaría la hipótesis de una conectividad bidireccional entre la médula espinal y la RVM, puesto que si la conectividad fuera unidireccional, esperaríamos que en la región donde inician las oscilaciones no cambiara estas oscilaciones al cortar la influencia de la otra región. Por otro lado, en el experimento mostrado en la Figura [6.13](#), la actividad de la RVM no varía respecto al estado nociceptivo previo tras seccionar la médula espinal a nivel de T4 (ver Figura [6.13](#)), mientras que la actividad en la médula espinal aumenta aún más tras la sección espinal, en lugar de disminuir hacia el estado basal (ver Figura [6.6D](#)). Esto revela un patrón de conectividad más complejo, y los datos presentes no son suficientes para explicar este comportamiento, que podría guardar alguna relación con la etiología del dolor fantasma en miembros amputados (ver [Schone et al., 2022](#) y [Nortvedt and Engelsrud, 2014](#), para una revisión del tema).

7.5. Otras estructuras involucradas en el control de la nocicepción

En este estudio analizamos el rol de la RVM en la configuración de la conectividad entre neuronas de la médula espinal; sin embargo, se debe resaltar que el control de la nocicepción involucra un sistema más complejo de estructuras neuronales, entre ellas las de la llamada matriz del dolor. En algunas de estas estructuras se han descrito también cambios en las oscilaciones neuronales

durante la percepción del dolor, como en estructuras corticales (Zhang et al., 2012), y entre la RVM, la PAG, el núcleo trigeminal espinal y el locus ceruleus (Mills et al., 2018).

Por tanto, surge la pregunta de cómo se conecta la RVM con otras estructuras supraespinales, y si las señales observadas en la RVM son controladas por otras regiones neuronales, como la PAG, el núcleo parabraquial y la corteza somatosensorial (ver Fields et al., 1995). Futuros proyectos podrían enfocarse en registrar simultáneamente estas estructuras.

7.6. ¿La médula espinal y la RVM actúan en un estado de criticalidad?

Según lo demostrado por Kim and Davis (2020), los cambios entre estados de sincronización alta y baja pueden ocurrir cerca de un estado de criticalidad, el cual se describe como una transición de fase entre el orden y el desorden en la actividad de grupos neuronales, consistente con el concepto de homeóstasis (Rocha et al., 2018). La criticalidad ha sido postulada como una forma de organización fundamental para el funcionamiento de circuitos corticales (Beggs and Plenz, 2003).

A partir de estas observaciones, surge la hipótesis de que la médula espinal trabaja también en condiciones de criticalidad (Moreno et. al., 2023, pendiente de publicación). Los resultados recabados durante la nocicepción por capsaicina y mentol apoyan esta hipótesis, al demostrar que la actividad de grupos neuronales del asta dorsal de la médula espinal muestra una forma de invariabilidad de escala en su estructura de conectividad medida por la matriz de covarianzas entre señales, lo cual se refleja en una ley de potencias en su eigen-espectro (ver la sección 6.5).

Como elegantemente lo discuten Beggs and Timme (2012), otros factores como la estructura del ruido introducidas en la señal pueden producir también estas leyes de potencias (ver, sin embargo, Sánchez-Islas et al., 2021), y para demostrar que el sistema nervioso actúa en condiciones de criticalidad, es necesario aportar pruebas adicionales. Una de las pruebas necesarias para establecer

la criticalidad del sistema es la aparición de leyes de potencias usando distintos métodos de análisis. Esto se ha cumplido en parte con el trabajo de [Rodríguez et al. \(2011\)](#), quien mostró una ley de potencias en la escala temporal de las correlaciones entre señales de la médula espinal durante el efecto de capsaicina.

Otra de prueba necesaria es la capacidad del sistema de alejarse de la criticalidad, lo cual puede en teoría lograrse alterando el balance entre inhibición y excitación sináptica, haciendo que el sistema tienda más hacia un estado de orden o desorden. Al bloquear canales de sodio con lidocaína ([Hermanns et al., 2019](#)) observamos, por un lado, en la RVM una tendencia hacia el orden (Figura [6.28](#)), y por otro lado, en la médula espinal (Figura [6.27](#)), hacia el desorden. Este resultado, aparentemente paradójico, puede explicarse en relación al estado basal del sistema: la lidocaína hace que el sistema tienda nuevamente hacia su estado basal. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para probar firmemente la hipótesis de la criticalidad en la médula espinal, posiblemente usando bloqueadores y agonistas de receptores a GABA_A o glicina (ver [Moreno-García, 2017](#)).

Independientemente de si los grupos neuronales de la médula espinal y la RVM actúan bajo un estado de criticalidad, los datos mostrados en las figuras [6.27](#) y [6.28](#) demuestran una visión más amplia de la conectividad entre estos grupos neuronales. Por un lado, durante la nocicepción inducida por mentol, las neuronas del asta dorsal pasan gradualmente a un estado global de mayor “orden” (mayor β), y por otro lado, las neuronas de la RVM pasan rápidamente a un estado de mayor “desorden”.

El hecho de que los cambios en la RVM ocurran antes que los cambios en la médula espinal podrían interpretarse como una prueba de la direccionalidad en el flujo de información entre la RVM y la médula espinal. Sin embargo, son necesarios más estudios (mayor n) para demostrar esta hipótesis.

7.7. Otras medidas de la conectividad funcional

Una de las posibles razones por las que no vemos un efecto de mentol y lidocaína en algunos experimentos (Figuras 6.6E y F) es que las medidas de conectividad funcional utilizadas hayan sido insuficientes para medir el efecto de la nocicepción sobre la conectividad de las regiones estudiadas.

La correlación y la coherencia son estimaciones lineales de la conectividad de una red, en el sentido de que únicamente captura influencias directas entre señales (por ejemplo, si una señal aumenta, la otra también) y no captura otro tipo de influencias de una señal sobre otra, como por ejemplo el acople fase-amplitud: en una determinada fase de una onda, la amplitud de las oscilaciones de una señal puede variar en función de la fase de otra señal; por ejemplo, durante las crestas de una señal con oscilaciones de baja frecuencia, puede haber un aumento en las oscilaciones de alta frecuencia de otra señal. Este efecto se ha observado de hecho entre oscilaciones del rango theta (3–7 Hz) y el rango gamma (40–70 Hz) en registros electroencefalográficos entre las cortezas frontal y parietal, durante la nocicepción por estimulación láser en ratas (Wang et al., 2011); y se ha observado también en regiones de la matriz del dolor (ver sección 1.1) como la corteza anterior cingulada (ACC), la corteza somatosensorial primaria (S1) y la corteza parietal (PAC) (Ponsel et al., 2020).

Existen varios tipos de estimaciones de la conectividad funcional diseñados para capturar distintos tipos de efectos no-lineales. Entre estos, se pueden citar la coherencia de ondículas (*wavelet coherence*), similar a la coherencia pero en un espacio bidimensional de amplitudes y frecuencias; la convolución de las señales, que indica cómo la forma de una señal es modificada por la otra; la información mutua, que mide la direccionalidad de la transmisión de información además del acople entre dos señales; la probabilidad de sincronización (*synchronization likelihood*), una medida generalizada de cómo el estado de una señal Y varía siguiendo una función arbitraria de de otra señal X ($Y=F(X)$). Ver Mohanty et al. (2020a) y Jalili (2016) para una revisión del tema.

Debe señalarse también los análisis estadísticos desarrollados por Rodríguez

et al. (2011) y Martín et al. (2015), los cuales han revelado que los cambios en la organización funcional de las neuronas en el asta dorsal de la médula espinal, inducidos por la nocicepción causada por capsaicina, no son aleatorios y tienen una estructura con memoria. Estos hallazgos enfatizan aún más en la complejidad de la reorganización funcional que ocurre durante la nocicepción y su importancia en la comprensión de los procesos subyacentes a la percepción del dolor.

Será muy interesante en un futuro aplicar estas medidas de conectividad funcional a los datos recabados en este estudio.

Más allá de la conectividad entre grupos neuronales En el presente estudio pudimos aportar pruebas a favor de la hipótesis de criticalidad en la médula espinal (aunque no esté aún demostrada). Este mismo análisis nos ha dado además una visión más amplia de la organización entre grupos neuronales de la médula espinal y de la RVM (ver la sección 7.6).

Utilizando datos de la conectividad entre grupos neuronales, es posible evaluar además algunas propiedades topológicas de las redes neuronales (es decir, en relación a las propiedades geométricas de sus conexiones), utilizando el contexto matemático de la teoría de grafos; un grafo es simplemente un mapa de sitios (llamados nodos) y sus conexiones (aristas o líneas), como los mostrados en las figuras 6.4, 6.14 y 6.21.

Entre las muchas propiedades topológicas descritas en el sistema nervioso (ver Bullmore and Sporns (2009)), se ha reportado que las redes neuronales del cerebro poseen propiedades de mundo-pequeño (*small-worldness*); en este tipo de redes, aunque no todos los nodos estén conectados directamente entre sí, existe una conexión indirecta siguiendo una cantidad pequeña de pasos, minimizando así el costo de formar conexiones entre nodos mientras se optimiza la conectividad de la red. Otra de las propiedades descritas en el sistema nervioso, más ampliamente reconocida, es la de redes jerárquicas; en este modelo de conectividad, existen niveles de organización entre clústers de nodos (grupos neuronales densamente conectados), de manera que los clústers en niveles superiores tienen mayor influencia sobre los clústers de niveles inferiores, de modo que estos clústers de niveles inferiores pueden cumplir funciones más

específicas.

Para realizar este tipo de análisis, es necesario densificar los sitios de registro electrofisiológicos, algo actualmente posible con el rápido avance de las tecnologías de imagenología cerebral, como las imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI), electroencefalogramas (EEG), imágenes de tensión difusión (DTI), etc. (Ver [Prajapati and Emerson \(2020\)](#) para una revisión del tema).

7.8. Relevancia clínica

Los datos derivados de experimentos realizados en nuestro laboratorio con capsaicina (Moreno et al., 2023, pendiente de publicación) permiten la diferenciación entre estados nociceptivos y no nociceptivos mediante la aplicación de técnicas de análisis de conectividad funcional, como correlación y coherencia, entre otros. Simultáneamente, los avances recientes en técnicas optogenéticas han habilitado la capacidad de inducir actividad a frecuencias específicas en neuronas genéticamente modificadas. Uniendo estos conceptos, el estudio sobre cómo distintos agentes nocivos modifican el acople de grupos de neuronas involucradas en la nocicepción podría ser fundamental para entender y diseñar tratamientos contra distintos tipos de nocicepción. Además de su relevancia en este contexto, la metodología empleada brinda la oportunidad de evaluar la eficacia de diversos enfoques analgésicos, como la acupuntura y la estimulación de la médula espinal

Tratamientos basados en la electro-estimulación de neuronas en la médula espinal Actualmente existen diversos tratamientos usados contra el dolor crónico basados en la electro-estimulación de distintas regiones neuronales. Entre ellos, podemos mencionar la electro-acupuntura (EA) (ver [Shen et al., 2019](#)) y la estimulación de la médula espinal (*spinal cord stimulation*, SCS; ver [Jensen and Brownstone, 2018](#)).

Durante la recuperación de la memoria del dolor (*pain memory retrieval*), un estímulo no-nocivo asociado a un estímulo nocivo puede producir oscilaciones similares a los producidos durante la presencia del estímulo nocivo. Estudios del mecanismo de acción de la electro-acupuntura (estimulando a frecuencias

de 2 y 100 Hz y amplitud de 1–2 mA en sitios de acupuntura subcutáneos en ratas) han demostrado que esta puede causar una disrupción en la aparición de oscilaciones en el rango theta (4–8 Hz) durante la recuperación de la memoria del dolor en la corteza cingulada anterior rostral (rACC), luego de la aplicación del estímulo nocivo (mas no durante la aplicación del estímulo no-nocivo asociado; ver [Shen et al., 2019](#)).

El tratamiento de estimulación de la médula espinal consiste en colocar electrodos en el espacio epidural de la médula espinal y estimular a amplitudes usualmente menores a 1 mA y frecuencias mayores a 30 Hz (ver [Sheldon et al., 2020](#)). Aunque el mecanismo de acción de este tratamiento no está completamente dilucidado, uno de sus posibles mecanismos es la disminución de la hiperexcitabilidad reportada en neuronas del asta dorsal de la médula espinal durante el dolor crónico [Jensen and Brownstone, 2018](#).

Investigación adicional sobre la relación entre las frecuencias de estimulación y la disrupción/facilitación de oscilaciones neuronales podría ayudar a encontrar frecuencias de estimulación óptimas para estas terapias.

Posibles aplicación terapéutica de la optogenética El reciente avance de la optogenética ha permitido inducir oscilaciones neuronales a través de estímulos ópticos coherentes [Kilias et al., 2018](#). Incluso, [Roy et al. \(2016\)](#) han logrado recuperar memorias (de miedo condicionado) en ratones al inducir potenciación a largo plazo en células engramas del hipocampo (unidades neuronales del almacenamiento de memorias en el cerebro).

El estado del arte de la estimulación optogenética aún encuentra varios obstáculos para su aplicación terapéutica; desde las técnicas de manipulación genética necesarias para que las células blanco respondan a la estimulación óptica, hasta la técnica para hacer llegar los estímulos ópticos a estos blancos (ver [Mirzayi et al., 2022](#)). Sin embargo, no se descarta que en un futuro, quizás no muy distante, estas técnicas se hayan perfeccionado y permitan pensar en nuevos paradigmas terapéuticos centrados en inducir oscilaciones neuronales en neuronas específicas y a frecuencias específicas. En el caso de la nocicepción inducida por la administración intradérmica de mentol o capsaicina, una posible estrategia podría ser restaurar las oscilaciones coherentes en la RVM,

interrumpidas durante la nocicepción (ver Figura 6.17). Por supuesto, investigación adicional sobre la direccionalidad de la información nociceptiva es necesaria para asegurar que este enfoque terapéutico pueda dar resultados.

Capítulo 8

Conclusiones

Se ha descrito un acople entre neuronas del asta dorsal de la médula espinal y de la región rostral ventromedial del bulbo raquídeo (RVM) luego de inyectar mentol de manera intraplantar en concentraciones altas (8 mg/Kg). Este acople se manifiesta a través de oscilaciones coherentes, principalmente en el rango de frecuencias de 1 a 4 Hz, e involucra tanto a los núcleos del rafé magno como a las formaciones reticulares magnocelulares, las cuales conforman a la RVM, y a las secciones espinales l4–l7.

Este resultado contrasta con lo reportado durante el efecto nociceptivo de capsaicina, donde se han observado oscilaciones coherentes entre la médula espinal y la RVM, en una banda distinta de frecuencias, centrada en 5 Hz (Moreno et. al., 2023, pendiente de publicación). Otro resultado contrastante es que durante la nocicepción inducida por capsaicina únicamente se ha reportado un acople entre los núcleos del rafé magno y el asta dorsal de la médula espinal.

Durante el acople entre la RVM y el asta dorsal, se presentan oscilaciones coherentes entre segmentos lumbares (l4–l7) del asta dorsal de la médula espinal. Parte de estas oscilaciones ocurre a las mismas frecuencias en las que se evidenció el acople entre la médula espinal y la RVM durante la nocicepción por mentol; estas mismas oscilaciones coherentes se observaron entre los registros del dorso de la médula espinal y la actividad registrada en neuronas de las láminas II–IV.

Por otro lado, en la RVM se registró un fuerte desacople entre los grupos

neuronales que la conforman. Fue interesante notar que durante este desacople, cada región de la RVM se acopla diferencialmente con distintos grupos de neuronas de la médula espinal. Sin embargo, se requiere de más estudios para definir si existe el equivalente a una representación somatotópica entre la RVM y distintos segmentos espinales, o si este acople estructurado responde a la optimización en la conectividad entre la RVM y la médula espinal.

Tanto en la médula espinal como en la RVM, los cambios en la conectividad descritos se revierten tras espinalizar la preparación, sugiriendo que existe una comunicación bilateral necesaria para mantener no solo la conectividad global sino también la conectividad local. Los patrones de conectividad observados durante la nocicepción inducida por mentol pueden revertirse temporalmente con la infusión sistémica de lidocaína.

Adicionalmente, se demostró que tanto la actividad de grupos neuronales en el asta dorsal de la médula espinal como en la RVM exhiben invariabilidad de escala en su estructura de conectividad. Esto respalda la hipótesis de que estos grupos neuronales pueden estar operando en un estado de criticalidad, tanto durante estados nociceptivos como no nociceptivos. No obstante, debe destacarse que, si bien estos resultados ofrecen un respaldo a esta hipótesis, no la confirman de manera definitiva.

Capítulo 9

Perspectivas

La posibilidad de observar una actividad diferenciada en la médula espinal, desencadenada por distintos estímulos nocivos abre la oportunidad de hacer importantes avances en el estudio de los mecanismos de control de la nocicepción. Para encaminar futuros estudios en esta dirección, será necesario caracterizar minuciosamente a los grupos neuronales del asta dorsal de la médula espinal, en los que se ha observado esta actividad diferenciada al acoplarse a distintas frecuencias con la región rostral ventromedial del bulbo raquídeo.

Las técnicas utilizadas en el presente estudio permiten además evaluar la efectividad de diversas terapias paliativas al dolor. Una de estas terapias, la electroacupuntura, ha demostrado ser efectiva en intervenir en la recuperación de memorias del dolor, al inhibir la amplitud de oscilaciones en el rango beta de la corteza cingulada anterior [Shen et al., 2019](#). Sumando esta observación a lo descrito en este estudio, en el que se describieron oscilaciones en ese mismo rango de frecuencias en la RVM durante el efecto nociceptivo de mentol, se invita a la especulación sobre los posibles fines terapéuticos de intervenir directamente en las oscilaciones de estructuras neuronales que conforman la matriz del dolor. Como un primer paso en esta dirección, resulta necesario estudiar en más detalle la conectividad funcional entre regiones como la RVM y otras estructuras supraespinales involucradas en el control de la nocicepción. Se propone iniciar estos estudios en regiones con influencia directa sobre la RVM, como la sustancia gris periacueductal (PAG), el núcleo parabraquial (PB) y la

corteza somatosensorial.

Un tema de reciente interés en las neurociencias ha sido entender los mecanismos de organización colectiva en el sistema nervioso, que le permiten trabajar eficientemente maximizando la conectividad neuronal a la vez que minimiza el coste energético de crear y mantener estas conexiones. Sin embargo, pese a su fundamental importancia en la codificación de estímulos externos, el estudio de la organización neuronal de la médula espinal se ha quedado rezagado en las investigaciones recientes. Esto posiblemente se deba a falta de técnicas no invasivas para registrar potenciales en la médula espinal, y a la dificultad que representa usar técnicas invasivas (como las empleadas en el presente estudio), en pequeños mamíferos. Se propone en este sentido emplear los datos recabados en estudios de la actividad en la médula espinal (como los recolectados en este laboratorio y en el del Dr. Manjarrez; ver [Manjarrez et al., 2002](#)) para plantear y evaluar hipótesis relacionadas a la organización de grupos neuronales en la médula espinal. Para esto, será fundamental utilizar y proponer nuevos algoritmos que permitan evaluar el acople funcional entre regiones neuronales (algunas de estos algoritmos son discutidos en la sección [7.7](#)).

Bibliografía

- S. A. Aicher, S. M. Hermes, K. L. Whittier, and D. M. Hegarty. Descending projections from the rostral ventromedial medulla (rvm) to trigeminal and spinal dorsal horns are morphologically and neurochemically distinct. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 43:103–111, 2012.
- P. Anand and K. R. Bley. Topical capsaicin for pain management: therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8% patch. *BJA: British Journal of Anaesthesia*, 107:490 – 502, 2011.
- H. H. Andersen, R. V. Olsen, H. G. Møller, P. W. Eskelund, P. Gazerani, and L. Arendt-Nielsen. A review of topical high-concentration l-menthol as a translational model of cold allodynia and hyperalgesia. *European Journal of Pain*, 18, 2014.
- C. H. Baggio, C. S. Freitas, R. Marcon, M. F. de Paula Werner, G. A. Rae, F. R. Smiderle, G. L. Sasaki, M. Iacomini, M. C. A. Marques, and A. R. S. Santos. Antinociception of beta-d-glucan from pleurotus pulmonarius is possibly related to protein kinase c inhibition. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(3):872–877, 2012. ISSN 0141-8130. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.10.023>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813011004132>.
- A. J. Barbour and R. L. Parker. psd: Adaptive, sine multitaper power spectral density estimation for r. *Comput. Geosci.*, 63:1–8, 2014.
- T. K. Baumann, D. A. Simone, C. N. Shain, and R. H. LaMotte. Neurogenic hyperalgesia: the search for the primary cutaneous afferent fibers that contri-

- bute to capsaicin-induced pain and hyperalgesia. *Journal of neurophysiology*, 66 1:212–27, 1991.
- J. M. Beggs and D. Plenz. Neuronal avalanches in neocortical circuits. *The Journal of Neuroscience*, 23:11167 – 11177, 2003.
- J. M. Beggs and N. M. Timme. Being critical of criticality in the brain. *Frontiers in Physiology*, 3, 2012. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:5287157>.
- F. Bremer. L'activité électrique spontanée de la moelle épinière. *Archives internationales de physiologie*, 1941. doi: 10.3109/13813454809144851.
- E. T. Bullmore and O. Sporns. Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nature Reviews Neuroscience*, 10:186–198, 2009. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:205504722>.
- F. Cauda, T. Costa, M. Diano, S. Duca, and D. M. E. Torta. Beyond the “pain matrix”, inter-run synchronization during mechanical nociceptive stimulation. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8, 2014.
- D. Chávez, E. E. Rodríguez, I. Jiménez, and P. Rudomín. Changes in correlation between spontaneous activity of dorsal horn neurones lead to differential recruitment of inhibitory pathways in the cat spinal cord. *The Journal of Physiology*, 590, 2012.
- Q. Chen and M. M. Heinricher. Plasticity in the link between pain-transmitting and pain-modulating systems in acute and persistent inflammation. *The Journal of Neuroscience*, 39:2065 – 2079, 2019.
- Q. Chen and M. M. Heinricher. Shifting the balance: How top-down and bottom-up input modulate pain via the rostral ventromedial medulla. *Frontiers in Pain Research*, 3, 2022.
- I.-S. Choi, J.-H. Cho, M. Nakamura, and I.-S. Jang. Menthol facilitates excitatory and inhibitory synaptic transmission in rat medullary dorsal horn neurons. *Brain Research*, 1750, 2020.

- E. Contreras-Hernández, D. Chávez, and P. Rudomín. Dynamic synchronization of ongoing neuronal activity across spinal segments regulates sensory information flow. *The Journal of Physiology*, 593, 2015.
- E. Contreras-Hernández, D. Chávez, E. Hernández, E. Velázquez, P. Reyes, J. C. Béjar, M. Martín, U. Cortés, S. Glusman, and P. Rudomín. Supraspinal modulation of neuronal synchronization by nociceptive stimulation induces an enduring reorganization of dorsal horn neuronal connectivity. *The Journal of Physiology*, 596, 2018.
- E. Contreras-Hernández, D. Chávez, E. Hernández, and P. Rudomín. Discrete field potentials produced by coherent activation of spinal dorsal horn neurons. *Experimental Brain Research*, 240:665–686, 2022.
- A. K. Engel, P. Fries, and W. Singer. Dynamic predictions: Oscillations and synchrony in top-down processing. *Nature Reviews Neuroscience*, 2:704–716, 2001.
- H. L. Fields, A. Malick, and R. Burstein. Dorsal horn projection targets of on and off cells in the rostral ventromedial medulla. *Journal of neurophysiology*, 74 4:1742–59, 1995.
- B. Frias and A. Merighi. Capsaicin, nociception and pain. *Molecules*, 21, 2016.
- P. Fries. A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. *Trends in Cognitive Sciences*, 9:474–480, 2005.
- L. Garcia-Larrea and H. Bastuji. Pain and consciousness. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 87:193–199, 2018. ISSN 0278-5846. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.10.007>. Chronic Pain and Psychiatric Disorders.
- R. Gau, C. Sévoz-Couche, M. Hamon, and J. F. Bernard. Noxious stimulation excites serotonergic neurons: A comparison between the lateral paragigantocellular reticular and the raphe magnus nuclei. *PAIN®*, 154:647–659, 2013. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:840678>.

- S. Grillner, A. D. McClellan, and K. A. Sigvardt. Mechanosensitive neurons in the spinal cord of the lamprey. *Brain Research*, 235:169–173, 1982. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:31886717>.
- I. Harasawa, J. P. Johansen, H. L. Fields, F. Porreca, and I. D. Meng. Alterations in the rostral ventromedial medulla after the selective ablation of μ -opioid receptor expressing neurons. *PAIN*, 157:166–173, 2016. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:42570934>.
- S.-R. Heberto, M. Negmeldeen, S. M. I., and M. William. Baroreceptor modulation of the cardiovascular system, pain, consciousness, and cognition. *Compr Physio*, 11(2):1373–1423, 2022. doi: 10.1002/cphy.c190038.
- M. M. Heinricher and S. P. McGaraughty. Analysis of excitatory amino acid transmission within the rostral ventromedial medulla: implications for circuitry. *Pain*, 75:247–255, 1998.
- H. Hermanns, M. W. Hollmann, M. F. Stevens, P. Lirk, T. Brandenburger, T. Piegeler, and R. Werdehausen. Molecular mechanisms of action of systemic lidocaine in acute and chronic pain: a narrative review. *British journal of anaesthesia*, 2019.
- N. Hernández and H. Vanegas. Encoding of noxious stimulus intensity by putative pain modulating neurons in the rostral ventromedial medulla and by simultaneously recorded nociceptive neurons in the spinal dorsal horn of rats. *Pain*, 91:307–315, 2001. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:24527400>.
- O. Herreras, D. Torres, V. A. Makarov, and J. Makarova. Theoretical considerations and supporting evidence for the primary role of source geometry on field potential amplitude and spatial extent. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 17, 2023. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:257806792>.
- M. A. Ilie, C. F. Caruntu, M. Tampa, S. R. Georgescu, C. Matei, C. Negrei, R. Ion, C. Constantin, M. Neagu, and D. Boda. Capsaicin: Physicochemical properties, cutaneous reactions and potential applications in painful and inflammatory conditions. *Experimental and Therapeutic Medicine*,

- 18:916 – 925, 2019. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:145998590>.
- M. Jalili. Functional brain networks: Does the choice of dependency estimator and binarization method matter? *Scientific Reports*, 6, 2016. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:17444588>.
- M. P. Jensen and R. M. Brownstone. Mechanisms of spinal cord stimulation for the treatment of pain: Still in the dark after 50 years. *European Journal of Pain (London, England)*, 23:652 – 659, 2018. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:53207800>.
- X. Jiang, G. Bian, and Z. Tian. Removal of artifacts from eeg signals: A review. *Sensors (Basel)*, 26;19(5):987, 2019. doi: 10.3390/s19050987.
- D. Julius. Trp channels and pain. *Annual review of cell and developmental biology*, 29:355–84, 2013.
- G. P. Kamatou, I. Vermaak, A. M. Viljoen, and B. M. Lawrence. Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties. *Phytochemistry*, 96:15–25, 2013.
- U. Karlsson, A. K. Sundgren-Andersson, S. Johansson, and J. Krupp. Capsaicin augments synaptic transmission in the rat medial preoptic nucleus. *Brain Research*, 1043:1–11, 2005.
- H. Kasprzak and E. L. Gasteiger. Spinal electrogram of freely moving cat: supraspinal and segmental influences. *Brain research*, 22 2:207–20, 1970.
- A. Kiliyas, A. Canales, U. P. Froriep, S. Park, U. Egert, and P. Anikeeva. Optogenetic entrainment of neural oscillations with hybrid fiber probes. *Journal of Neural Engineering*, 15, 2018. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:49309307>.
- J. A. Kim and K. D. Davis. Neural oscillations: Understanding a neural code of pain. *The Neuroscientist*, 27:544 – 570, 2020. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:222160616>.

- W. M. Knowlton, A. Bifulck-Fisher, D. M. Bautista, and D. D. McKemy. Trpm8, but not trpa1, is required for neural and behavioral responses to acute noxious cold temperatures and cold-mimetics in vivo. *PAIN*, 150:340–350, 2010a. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:37047562>.
- W. M. Knowlton, A. Bifulck-Fisher, D. M. Bautista, and D. D. McKemy. Trpm8, but not trpa1, is required for neural and behavioral responses to acute noxious cold temperatures and cold-mimetics in vivo. *PAIN*, 150:340–350, 2010b. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:37047562>.
- N. J. Kopell, G. B. Ermentrout, M. A. Whittington, and R. D. Traub. Gamma rhythms and beta rhythms have different synchronization properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97 4:1867–72, 2000.
- C. Kosse and D. Burdakov. Fast and slow oscillations recruit molecularly-distinct subnetworks of lateral hypothalamic neurons in situ. *eNeuro*, 5, 2018. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:46758707>.
- S. Kumar, R. Arumuganathan, K. Sivakuma, and C. Vimal. Removal of ocular artifacts in the eeg through wavelet transform without using an eeg reference channel. *Int. J. Open Probl. Comput. Math*, 1:189–200, 2008.
- A. Latremoliere and C. J. Woolf. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*, 10(9):895–926, 2009.
- B. W. Leblanc, T. R. Lii, A. E. Silverman, R. T. Alleyne, and C. Y. Saab. Cortical theta is increased while thalamocortical coherence is decreased in rat models of acute and chronic pain. *PAIN®*, 155:773–782, 2014. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:7247857>.
- C. G. Leung and P. Mason. Spectral analysis of arterial blood pressure and raphe magnus neuronal activity in anesthetized rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 271(2):R483–R489, 1996. doi: 10.1152/ajpregu.1996.271.2.r483.

- Z. Li, H. Zhang, Y. Wang, Y. Li, Q. Li, and L. Lin Zhang. The distinctive role of menthol in pain and analgesia: Mechanisms, practices, and advances. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15, 2022.
- D. I. MacDonald, J. N. Wood, and E. C. Emery. Molecular mechanisms of cold pain. *Neurobiology of Pain*, 7, 2020.
- E. Manjarrez, J. G. Rojas-Piloni, I. Jiménez, and P. Rudomín. Modulation of synaptic transmission from segmental afferents by spontaneous activity of dorsal horn spinal neurones in the cat. *The Journal of Physiology*, 529, 2000.
- E. Manjarrez, H. Pérez, J. G. Rojas-Piloni, D. Vélez, L. Martínez, and A. Flores. Absence of coherence between cervical and lumbar spinal cord dorsal surface potentials in the anaesthetized cat. *Neuroscience Letters*, 328:37–40, 2002.
- E. Manjarrez, I. Jiménez, and P. Rudomín. Intersegmental synchronization of spontaneous activity of dorsal horn neurons in the cat spinal cord. *Experimental Brain Research*, 148:401–413, 2003.
- V. H. Mark and E. L. Gasteiger. Observations on the role of afferent and descending impulses on the spontaneous potentials of the spinal cord. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 5(2):251–258, 1953. doi: 10.1016/0013-4694(53)90012-1.
- P. Markus, S. Christian, and G. Joachim. Brain rhythms of pain. *Trends in Cognitive Sciences*, 21:100 – 110, 2017.
- M. Martín, E. Contreras, J. Béjar, G. Esposito, D. Chávez, S. Glusman, U. Cortés, and P. Rudomín. A machine learning methodology for the selection and classification of spontaneous spinal cord dorsum potentials allows disclosure of structured (non-random) changes in neuronal connectivity induced by nociceptive stimulation. *Frontiers in Neuroinformatics*, 9, 2015.
- M. Martín, J. Béjar, G. Esposito, D. Chávez, E. Contreras, S. Glusman, U. Cortés, and P. Rudomín. Markovian analysis of the sequential behavior of the

- spontaneous spinal cord dorsum potentials induced by acute nociceptive stimulation in the anesthetized cat. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 11, 2017.
- P. Mason. Contributions of the medullary raphe and ventromedial reticular region to pain modulation and other homeostatic functions. *Annual review of neuroscience*, 24:737–77, 2001.
- P. Mason, K. Gao, and J. R. Genzen. Serotonergic raphe magnus cell discharge reflects ongoing autonomic and respiratory activities. *Journal of Neurophysiology*, 98(4):1919–1927, 2007. doi: 10.1152/jn.00813.2007.
- D. A. McCrea and I. A. Rybak. Organization of mammalian locomotor rhythm and pattern generation. *Brain Research Reviews*, 57:134–146, 2008.
- S. Mihaljeviü, M. Pavloviü, K. Reiner, and M. Čačić. Therapeutic mechanisms of ketamine. *Psychiatria Danubina*, 32, No. 3-4:325–333, 2020. doi: <https://doi.org/10.24869/psyd.2020.325>.
- M. Millan. Descending control of pain. *Prog Neurobiol*, 66(6):355–474, 2002. doi: 10.1016/s0301-0082(02)00009-6.
- E. P. Mills, F. D. Pietro, Z. Alshelh, C. C. Peck, G. . Murray, E. R. Vickers, and L. A. Henderson. Brainstem pain-control circuitry connectivity in chronic neuropathic pain. *The Journal of Neuroscience*, 38:465 – 473, 2018. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:1659308>.
- P. Mirzayi, P. Shobeiri, A. H. Kalantari, G. Perry, and N. Rezaei. Optogenetics: implications for alzheimer’s disease research and therapy. *Molecular Brain*, 15, 2022. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:247060662>.
- J. F. Mitchell, K. A. Sundberg, and J. H. Reynolds. Spatial attention decorrelates intrinsic activity fluctuations in macaque area v4. *Neuron*, 63:879–888, 2009. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:1969436>.
- R. Mohanty, W. A. Sethares, V. A. Nair, and V. Prabhakaran. Rethinking measures of functional connectivity via feature extraction. *Scientific Reports*, 10, 2020a. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:210938255>.

- R. Mohanty, W. A. Sethares, V. A. Nair, and V. Prabhakaran. Rethinking measures of functional connectivity via feature extraction. *Scientific Reports*, 10, 2020b. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:257027276>.
- L. Moreno-García. Cambios en la organización de la conectividad funcional entre neuronas del asta dorsal de la médula espinal del gato inducidos por el bloqueo de receptores gaba_a y glicinérgicos. Master's thesis, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, 2017.
- R.-A. Müller. *Functional Connectivity*, pages 1363–1370. Springer New York, New York, NY, 2013. ISBN 978-1-4419-1698-3. doi: 10.1007/978-1-4419-1698-3_218.
- A. Nakao, Y. Takahashi, M. Nagase, R. Ikeda, and F. Kato. Role of capsaicin-sensitive c-fiber afferents in neuropathic pain-induced synaptic potentiation in the nociceptive amygdala. *Molecular Pain*, 8:51 – 51, 2012.
- R. Necker. Specializations in the lumbosacral vertebral canal and spinal cord of birds: evidence of a function as a sense organ which is involved in the control of walking. *Journal of Comparative Physiology A*, 192:439–448, 2006. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:1922751>.
- M. J. Neubert, W. Kincaid, and M. M. Heinricher. Nociceptive facilitating neurons in the rostral ventromedial medulla. *Pain*, 110:158–165, 2004.
- T. H. D. Nguyen, S. G. Itoh, H. Okumura, and M. Tominaga. Structural basis for promiscuous action of monoterpenes on trp channels. *Communications Biology*, 4, 2021.
- R.-R. Nir, A. Sinai, R. Moont, E. Harari, and D. Yarnitsky. Tonic pain and continuous eeg: Prediction of subjective pain perception by alpha-1 power during stimulation and at rest. *Clinical Neurophysiology*, 123:605–612, 2012.
- F. Nortvedt and G. H. Engelsrud. “imprisoned” in pain: analyzing personal experiences of phantom pain. *Medicine, Health Care, and Philosophy*, 17:599 – 608, 2014. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:10708230>.

- L. V. Oudenhove, P. A. Kragel, P. Dupont, H. G. Ly, E. Pazmany, P. Enzlin, A. Rubio, C. Delon-Martin, B. Bonaz, Q. Aziz, J. Tack, S. Fukudo, M. Kano, and T. D. Wager. Common and distinct neural representations of aversive somatic and visceral stimulation in healthy individuals. *Nature Communications*, 11, 2020.
- S. Ponsel, J. Zhang, M. Pilz, Y. Yanovsky, J. B. k, and A. Draguhn. Alterations of distributed neuronal network oscillations during acute pain in freely-moving mice. *IBRO Reports*, 9:195 – 206, 2020.
- J. F. A. Poulet and C. C. H. Petersen. Internal brain state regulates membrane potential synchrony in barrel cortex of behaving mice. *Nature*, 454:881–885, 2008. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:982790>.
- R. Prajapati and I. A. Emerson. Construction and analysis of brain networks from different neuroimaging techniques. *International Journal of Neuroscience*, 132:745 – 766, 2020. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:222838338>.
- B. H. Pypendop, J. E. Ilkiw, and S. A. Robertson. Effects of intravenous administration of lidocaine on the thermal threshold in cats. *American journal of veterinary research*, 67 1:16–20, 2006.
- J. Quevedo, J. Eguibar, I. Jiménez, and P. Rudomin. Raphe magnus and reticulospinal actions on primary afferent depolarization of group i muscle afferents in the cat. *The Journal of physiology*, 482 (Pt 3):623—640, February 1995. ISSN 0022-3751. doi: 10.1113/jphysiol.1995.sp020545.
- T. Radüntz. Signal quality evaluation of emerging eeg devices. *Frontiers in Physiology*, 9, 2018. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:3692926>.
- T. T. Raij, N. Forss, A. Stancák, and R. Hari. Modulation of motor-cortex oscillatory activity by painful $\alpha\delta$ - and c-fiber stimuli. *NeuroImage*, 23:569–573, 2004.

- A. O. Ramírez-Morales, E. Hernández, and P. Rudomín. Descending inhibition selectively counteracts the capsaicin-induced facilitation of dorsal horn neurons activated by joint nociceptive afferents. *Experimental Brain Research*, pages 1–13, 2019.
- A. O. Ramírez-Morales, E. Hernández, and P. Rudomín. Nociception induces a differential presynaptic modulation of the synaptic efficacy of nociceptive and proprioceptive joint afferents. *Experimental Brain Research*, 239:2375 – 2397, 2021.
- J. A. Rathner, N. C. Owens, and R. McCallen. Cold-activated raphe-spinal neurons in rats. *The Journal of Physiology*, 535, 2001.
- H. Raza, A. uddin Soomro, M. A. Siddiqui, Kamlaish, and M. S. R. Naqvi. Preoperative lidocaine infusion for the pain management in laparotomy procedures: a randomized control trial. *The Professional Medical Journal*, 2019. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:190859723>.
- R. P. Rocha, L. Koçillari, S. Suweis, M. Corbetta, and A. Maritan. Homeostatic plasticity and emergence of functional networks in a whole-brain model at criticality. *Scientific Reports*, 8, 2018.
- E. E. Rodríguez, E. Hernández-Lemus, B. A. Itzá-Ortiz, I. Jiménez, and P. Rudomín. Multichannel detrended fluctuation analysis reveals synchronized patterns of spontaneous spinal activity in anesthetized cats. *PLoS ONE*, 6, 2011.
- A. S. Rokem, M. Trumpis, and F. Pérez. Nitime: time-series analysis for neuroimaging data. In *Proceedings of the 8th Python in Science Conference*, page 68–76, 2009.
- D. S. Roy, A. L. Arons, T. Mitchell, M. Pignatelli, T. J. Ryan, and S. Tonegawa. Memory retrieval by activating engram cells in mouse models of early alzheimer’s disease. *Nature*, 531:508 – 512, 2016. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:4450050>.

- P. Rudomín. In search of lost presynaptic inhibition. *Experimental Brain Research*, 196:139–151, 2009.
- P. Rudomín and E. Hernández. Changes in synaptic effectiveness of myelinated joint afferents during capsaicin-induced inflammation of the footpad in the anesthetized cat. *Experimental Brain Research*, 187:71–84, 2008.
- R. Salas, K. Ramirez, H. Vanegas, and E. Vazquez. Activity correlations between on-like and off-like cells of the rostral ventromedial medulla and simultaneously recorded wide-dynamic-range neurons of the spinal dorsal horn in rats. *Brain Research*, 1652:103–110, 2016. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:10027631>.
- M. Sánchez-Islas, J. C. Toledo-Roy, and A. Frank. Criticality in a multisignal system using principal component analysis. *Physical review. E*, 103 4-1: 042111, 2021.
- H. R. Schone, C. I. Baker, J. Katz, L. Nikolajsen, K. Limakatso, H. Flor, and T. R. Makin. Making sense of phantom limb pain. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 93:833 – 843, 2022. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:249043874>.
- G. Sharvit and P. Schweinhardt. The influence of social signals on the self-experience of pain: A neuroimaging review. *Frontiers in Neurology*, 13, 2022. ISSN 1664-2295. doi: 10.3389/fneur.2022.856874.
- B. L. Sheldon, M. D. Staudt, L. Williams, T. A. Harland, and J. G. Pilitsis. Spinal cord stimulation programming: a crash course. *Neurosurgical Review*, pages 1–12, 2020. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:215761089>.
- Z. Shen, Y. Zhu, B. Liu, Y. Liang, Q. He, J. Sun, Z. Wu, H. Zhang, S. Yao, X. fen He, J. Fang, and X. mei Shao. Effects of electroacupuncture on pain memory-related behaviors and synchronous neural oscillations in the rostral anterior cingulate cortex in freely moving rats. *Neural Plasticity*, 2019, 2019. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:181867435>.

-
- W. L. Shew and D. Plenz. The functional benefits of criticality in the cortex. *The Neuroscientist*, 19:100 – 88, 2013.
- W. Singer. Neuronal oscillations: unavoidable and useful? *European Journal of Neuroscience*, 48, 2018.
- R. D. C. Team. R: A language and environment for statistical computing. *R Found Stat. Comput.*, 0, 2016.
- I. Tracey, L. Becerra, I. W. Chang, H. C. Breiter, L. Jenkins, D. Borsook, and R. G. Gonzalez. Noxious hot and cold stimulation produce common patterns of brain activation in humans: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroscience Letters*, 288:159–162, 2000.
- W. Tracey. Nociception. *Current Biology*, 27(4):R129–R133, 2017. doi: 10.1016/j.cub.2017.01.037.
- L. A. Trachsel, S. Munakomi, and M. Cascella. Pain theory. StatPearls [Internet]; Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.
- H. Vanegas, N. M. Barbaro, and H. L. Fields. Tail-flick related activity in medullospinal neurons. *Brain Research*, 321:135–141, 1984. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:37422141>.
- M. Vasko. *Encyclopedia of Neuroscience*, chapter Inflammatory Pain. Springer, Berlin, Heidelberg, 2009. doi: 10.1007/978-3-540-29678-2_2436.
- G. Wallstrom, R. Kass, A. Miller, J. Cohn, and N. Fox. Correction of ocular artifacts in the eeg using bayesian adaptive regression splines. *Case Studies in Bayesian Statistics*, 6:351–356, 2002.
- J. Wang, D. Li, X. Li, F. Liu, G.-G. Xing, J. Cai, and Y. Wan. Phase–amplitude coupling between theta and gamma oscillations during nociception in rat electroencephalography. *Neuroscience Letters*, 499:84–87, 2011. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:207133610>.
- J. Wang, G. yi Yang, M. chao Li, and X. dong Zhou. Transient receptor potential melastatin 8 (trpm8)-based mechanisms underlie both the cold

- temperature-induced inflammatory reactions and the synergistic effect of cigarette smoke in human bronchial epithelial (16hbe) cells. *Frontiers in Physiology*, 10, 2019. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:85542240>.
- G. Wasner, J. Schattschneider, A. Binder, and R. Baron. Topical menthol—a human model for cold pain by activation and sensitization of c nociceptors. *Brain : a journal of neurology*, 127 Pt 5:1159–71, 2004.
- K. Wolfgang. The frequency architecture of brain and brain body oscillations: an analysis. *The European Journal of Neuroscience*, 48:2431 – 2453, 2018.
- C. J. Woolf and Q. Ma. Nociceptors-noxious stimulus detectors. *Neuron*, 55: 353–364, 2007.
- B. Xiao, A. E. Dubin, B. D. Bursulaya, V. Viswanath, T. Jegla, and A. Patapoutian. Identification of transmembrane domain 5 as a critical molecular determinant of menthol sensitivity in mammalian trpa1 channels. *The Journal of Neuroscience*, 28:9640 – 9651, 2008a.
- B. Xiao, A. E. Dubin, B. D. Bursulaya, V. Viswanath, T. Jegla, and A. Patapoutian. Identification of transmembrane domain 5 as a critical molecular determinant of menthol sensitivity in mammalian trpa1 channels. *The Journal of Neuroscience*, 28:9640 – 9651, 2008b.
- W.-K. Xin, C. L. Kwan, X.-H. Zhao, J. Xu, R. P. Ellen, C. A. McCulloch, and X.-M. Yu. A functional interaction of sodium and calcium in the regulation of nmda receptor activity by remote nmda receptors. *The Journal of Neuroscience*, 25:139 – 148, 2005. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:11510955>.
- J. Xu and T. J. Brennan. The pathophysiology of acute pain: animal models. *Current Opinion in Anaesthesiology*, 24:508–514, 2011.
- L. Yang, L. Gan, Z. Zhang, Z. Zhang, H. Yang, Y. Zhang, and J. Wu. Insight into the contact impedance between the electrode and the skin surface for

- electrophysical recordings. *ACS Omega*, 7:13906 – 13912, 2022. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:248185874>.
- K. Yao, B. Dou, Y. Zhang, Z. Chen, Y. Li, Z.-H. Fan, Y. Ma, S. Du, J. kai Wang, Z. Xu, Y. Liu, X. Lin, S. Wang, and Y. Guo. Inflammation—the role of trpa1 channel. *Frontiers in Physiology*, 14, 2023. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:256980157>.
- D. Yarnitsky and J. L. Ochoa. Release of cold-induced burning pain by block of cold-specific afferent input. *Brain : a journal of neurology*, 113 (Pt 4): 893–902, 1990.
- J. Zhang, L. Embray, Y. Yanovsky, J. Branka, and A. Draguhn. A new apparatus for recording evoked responses to painful and non-painful sensory stimulation in freely moving mice. *Frontiers in Neuroscience*, 15, 2021.
- Z. G. Zhang, L. Hu, Y. S. Hung, A. Mouraux, and G. D. Iannetti. Gamma-band oscillations in the primary somatosensory cortex—a direct and obligatory correlate of subjective pain intensity. *The Journal of Neuroscience*, 32: 7429 – 7438, 2012. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:207516977>.
- P. Zis, A. Liampas, A. K. Artemiadis, G. Tsalamandris, P. Neophytou, Z. C. Unwin, V. K. Kimiskidis, G. M. Hadjigeorgiou, G. Varrassi, Y. Zhao, and P. G. Sarrigiannis. Eeg recordings as biomarkers of pain perception: Where do we stand and where to go? *Pain and Therapy*, 11:369 – 380, 2022.