



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**CARACTERIZACIÓN DE LA INHIBICIÓN CORTICOESPINAL SOBRE LAS  
RESPUESTAS NOCICEPTIVAS SEGMENTALES**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN NEUROBIOLOGÍA

PRESENTA:

**JIMENA PÉREZ SÁNCHEZ**

DIRECTOR DE TESIS:

GERARDO ROJAS PILONI

Campus UNAM Juriquilla Querétaro, Agosto 2012



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Universidad Nacional Autónoma de México  
Instituto de Neurobiología

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por: Jimena Pérez Sánchez, cuyo título es: “Caracterización de la inhibición corticoespinal sobre las respuestas nociceptivas segmentales”, se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

**Firma**

**Presidente**

**Dr. Víctor De Lafuente Flores**

\_\_\_\_\_

**Secretario**

**Dr. Gerardo Rojas Piloni**

\_\_\_\_\_

**Vocal**

**Dr. Rodolfo Delgado Lezama**

\_\_\_\_\_

**Suplente**

**Dr. Fernando Peña Ortega**

\_\_\_\_\_

**Suplente**

**Dr. Jorge Quevedo Durán**

\_\_\_\_\_

**Aprobado por el Comité Académico**

\_\_\_\_\_

Dra. Teresa Morales Guzmán

**Coordinador del Programa de Maestría en Ciencias (Neurobiología)**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo que me brindo para realizar mis estudios de Maestría en el Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Número de becario: 245641

Agradezco por el apoyo económico para la realización del presente proyecto al Fondo para Investigación del CONACYT proyecto No. 78927 y al PAPIIT-DGAPA IN202610

## **AGRADECIMIENTOS**

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**

A mi **Tutor**

Dr. Gerardo Rojas Piloni

Al **Comité Tutelar**

Dr. Hugo Merchant Nancy

Dr. Fernando Peña Ortega

Al **Jurado de Examen**

Al **Responsable del Laboratorio de Dolor y Epilepsia**

Dr. Miguel Condés Lara

Al **Personal de apoyo en el Laboratorio de Dolor y Epilepsia**

Técnico Académico Dra. Guadalupe Martínez Lorenzana

Auxiliar de laboratorio MVZ. Javier Rodríguez Jiménez

A la **Unidad de enseñanza**

M. en C. Leonor Casanova Rico

A la **Biblioteca**

Dr. Francisco Javier Valles Valenzuela

MVZ. Román Pacheco Barrita

Al **Bioterio**

MVZ José Martín García Servín

*Praise the lord to the spinal cord*

*From the periphery to the brain, there are many ascending tracts,  
But it's at synapses in gray matter where interesting neuropeptides interact.  
Tissue and nerve injury inputs enter the dorsal horn  
And through neurochemical magic, these inputs are transformed.*

*Lamina I is quite marginal, all can agree  
And together with lamina II contain the neurotransmitters: substance P,  
Enkephalin, dynorphin and CGRP  
Providing continuous employment for a neuroanatomist like me!*

*As we penetrate the dorsal horn, we enter laminae III, IV and V.  
From here many ascending pathways arise.  
Transmitting injury messages from the cord to the brain  
Where they may, or may not be experienced as pain.*

*You see there are no pure pain pathways that access the brain,  
Which is perhaps why ablative surgery for pain's on the wane.  
But since analgesic drug action neuropeptide circuits explain  
Exploit cytochemistry in the treatment of pain.*

*For there are a few in this audience who could readily afford  
To relinquish the functions performed by the cord.  
Sure the brain is important, but the spinal cord's central.  
So Come Blow Your Horns, be they dorsal or ventral.*

*And let us end by rephrasing the words of the Lord,  
Honor Thy Mother: Don't Cut the Cord!*

Allan Basbaum

## RESUMEN

La participación del tracto corticoespinal en la modulación de las respuestas nociceptivas ha sido demostrada, aunque los mecanismos segmentales por los cuales se lleva a cabo no se han dilucidado por completo. Con el objetivo de esclarecer estos mecanismos en el asta dorsal de la médula espinal, en ratas macho Wistar anestesiadas, se estimuló el nervio ciático (NC) para producir respuestas nociceptivas, que se registraron como potenciales de campo provocados por la activación de fibras C. La corteza sensorimotora se estimuló con diferentes intervalos de tiempo con respecto al inicio de las respuestas nociceptivas. Además, se caracterizó la dinámica de la potenciación post-tetánica (PPT) después de un estímulo de alta frecuencia al NC y se describieron los cambios en esta dinámica al estimular la corteza sensorimotora simultáneamente con el tren al NC. Se encontró que la corteza es capaz de inhibir las respuestas nociceptivas con intervalos de 15-30 ms, con respecto al inicio de las respuestas de fibras C, y que esta inhibición se suprime con la administración de antagonistas del receptor  $GABA_A$ . Por otro lado, la estimulación de alta frecuencia al NC produjo un incremento de las respuestas nociceptivas, durante un tiempo que depende de la duración del tren de alta frecuencia. La estimulación cortical redujo la duración del incremento de estas respuestas e incluso pudo prevenir el establecimiento de la PPT. Estos resultados sugieren que la activación de la vía corticoespinal modula la liberación de neurotransmisor de las aferentes nociceptivas sobre las neuronas del asta dorsal.

## SUMMARY

The participation of the corticospinal tract in the modulation of nociceptive responses has been demonstrated, although the segmental mechanisms that constitute this effect have not been completely elucidated. With the aim of clarifying these mechanisms in the spinal cord dorsal horn, in anesthetized male Wistar rats, the sciatic nerve (SN) was stimulated to produce nociceptive responses registered as evoked field potentials produced by C fiber activation. The sensorimotor cortex was stimulated with different time intervals with regard to the onset of the nociceptive responses. In addition, the dynamics of post-tetanic potentiation (PTP) was characterized after a high frequency stimulus to the SN; changes in this dynamics when the sensorimotor cortex was simultaneously stimulated with the SN train was described. Our findings showed that the cortex is capable of inhibiting the nociceptive responses when 15-30 ms intervals were applied with respect to the C fiber response, and that this inhibition could be reverted with the administration of GABA<sub>A</sub> receptor antagonists. On the other hand, high frequency stimulation to the SN produces an increase in nociceptive responses whose duration depended on that of the high frequency train. Besides, the cortical stimulation reduces the duration of the increment of these responses and could even prevent the establishment of PTP. This results suggest that the activation of the corticospinal tract modulate neurotransmitter release of nociceptive afferents upon dorsal horn neurons.

## ABREVIATURAS

**5-HT** Serotonina

**ACh** Acetilcolina

**AMPA** Ácido  $\alpha$ -amino-3-hydroxy 5-methyl-4-isoxazelopropiónico

**BIC** Bicuculina

**BRV** Bulbo Rostral Ventromedial

**CAM** Calmodulina

**CGRP** Proteína Relacionada al Gen de la Calcitonina

**CPP** Ácido 3-(2-Carboxipiperazin-4-il)propil-1-fosfónico

**DAP** Despolarización de aferentes primarias

**DRP** Potencial de raíz dorsal

**DRR** Reflejo de raíz dorsal

**EFP** Potenciales de campo provocados

**EPSC** Corrientes postsinápticas excitatorias

**FR** Formación Reticular

**GRD** Ganglio de la raíz dorsal

**HFS** Estímulo de alta frecuencia

**KA** Kainato

**LC** Locus Coeruleous

**NC** Nervio ciático

**NMDA** N-metil-D-aspartato

**NMR** Núcleo Magno del Rafé

**NR** Núcleos del Rafé

**NPV** Núcleo Paraventricular

**PAG** Área Gris Periaqueductal

**PB** Núcleo Parabraquial

**PCI** Potencial de campo intraespinal

**PKC** Proteína cinasa C

**PLP** Potenciación a largo plazo

**PPT** Potenciación post-tetánica

**PX** Picrotoxina

**SP** Sustancia P

**WDR** Amplio rango dinámico

# Índice general

Agradecimientos . . . . .	III
Resumen . . . . .	V
Summary . . . . .	VI
Abreviaturas . . . . .	VII
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>3</b>
2.1. Aferentes nociceptivas y la transmisión de la información . . . . .	3
2.2. Vías ascendentes nociceptivas . . . . .	5
2.3. Mecanismos plásticos en la transmisión de la información nociceptiva . . . . .	5
2.3.1. Potenciación a largo plazo . . . . .	6
2.3.2. Potenciación post-tetánica . . . . .	7
2.4. Modulación de la información sensorial aferente . . . . .	9
2.4.1. Inhibición presináptica . . . . .	9
2.4.2. DAP en diferentes aferentes primarias . . . . .	10
2.4.3. Regulación GABAérgica . . . . .	12
2.4.4. Glicina . . . . .	13
2.5. Control segmental . . . . .	14
2.6. Control por vías descendentes . . . . .	14
2.7. Tracto corticoespinal . . . . .	16
2.7.1. Origen y destino del tracto corticoespinal . . . . .	16
2.7.2. Modulación cortical de la información sensorial aferente . . . . .	17

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	x
2.7.3. Modulación cortical de la información nociceptiva . . . . .	18
2.7.4. Participación de otros sistemas descendentes en la modulación cortical .	19
2.7.5. Estudios clínicos . . . . .	20
<b>3. Planteamiento del problema</b>	<b>21</b>
<b>4. Hipótesis y Objetivos</b>	<b>22</b>
4.1. Hipótesis . . . . .	22
4.2. Objetivo General . . . . .	22
4.3. Objetivos particulares . . . . .	22
<b>5. Materiales y Métodos</b>	<b>23</b>
5.1. Sujetos . . . . .	23
5.2. Preparación experimental . . . . .	23
5.3. Registro electrofisiológico y estimulación eléctrica . . . . .	24
5.4. Estimulación cortical . . . . .	24
5.5. Potenciación post-tetánica . . . . .	25
5.6. Farmacología . . . . .	25
5.7. Histología . . . . .	25
5.8. Análisis de datos . . . . .	26
<b>6. Resultados</b>	<b>27</b>
6.1. Parámetros de la estimulación cortical . . . . .	27
6.2. Curso temporal de la inhibición mediada por la corteza sensorimotora sobre las respuestas de fibras C . . . . .	29
6.2.1. Efecto de la administración de antagonistas GABAérgicos sobre la dis- minución de las respuestas nociceptivas provocada por la estimulación cortical . . . . .	31
6.3. Potenciación post-tetánica de las respuestas provocadas por un estímulo de alta frecuencia al nervio ciático . . . . .	33

6.3.1. Efecto de la estimulación cortical sobre la dinámica de la potenciación producida por un estímulo de alta frecuencia al nervio ciático . . . . .	35
6.3.2. Efecto de la estimulación cortical sobre el incremento de respuestas nociceptivas producida por un tren de menor duración al NC . . . . .	37
6.3.3. Acción del bloqueo de receptores NMDA sobre la potenciación post-tetánica . . . . .	39
6.4. Sitio de estimulación cortical . . . . .	42
<b>7. Discusión</b>	<b>44</b>
7.1. Sistemas endógenos de analgesia . . . . .	44
7.2. Mecanismos de modulación cortical . . . . .	45
7.2.1. Acción cortical sobre la PPT . . . . .	46
7.2.2. Modulación cortical a través de GABA . . . . .	49
7.3. Aspectos funcionales . . . . .	50
<b>8. Conclusiones</b>	<b>56</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>57</b>
<b>Índice de Figuras</b>	<b>67</b>
<b>Índice de Cuadros</b>	<b>68</b>

# 1. Introducción

El dolor es una modalidad sensorial que cumple una función protectora muy importante en los organismos. Ésta es la de advertir de una lesión que debe ser prevenida o curada. Esta sensación resulta de una extraordinaria, compleja e integrativa serie de mecanismos que permiten la elaboración mental del estímulo nocivo y un conjunto de respuestas dirigidas a la eliminación o a la regulación de éste (Condés-Lara, 1978). Como tal, el dolor está definido por componentes tanto sensoriales como perceptuales. El componente sensorial, denominado *nocicepción*, está asociado a la detección de un daño real o potencial a los tejidos y no conlleva una connotación emocional o perceptual. Por el contrario, el aspecto perceptual involucra diversas acciones complejas en el sistema nervioso central, relacionadas con la memoria, el estado de alerta y las emociones, lo cual nos lleva a interpretar el dolor como una experiencia subjetiva y desagradable (Light, 1992).

La capacidad de detectar estímulos nocivos es esencial para la supervivencia de los organismos. En su ausencia, cualquier daño podría incrementarse al no guardar el debido cuidado para la recuperación de la lesión o la protección de la herida. Por supuesto, hay ejemplos en donde los organismos parecieran olvidar sus lesiones cuando están sujetos a alguna situación estresante, donde escapar de un depredador, por ejemplo, es de vital importancia (McNally, 1999). Esta “analgesia debida a estrés” es producida por sistemas endógenos de analgesia los cuales, al ser activados, modulan las respuestas nociceptivas. Estos sistemas endógenos están constituidos por regiones mesencefálicas como el área gris periacueductal (PAG), así como por regiones del tallo cerebral, como son la formación reticular del puente (FR), el locus coeruleus (LC) y los núcleos del rafé (NR). De manera particular, las regiones corticales so-

matosensoriales y motoras ejercen un control sobre estas estructuras, formando así parte de los sistemas endógenos de analgesia (Pagano et al., 2010; Viisanen y Pertovaara, 2010a). Es por esto que la modulación del dolor se considera un sistema integral, pero también jerárquico que asegura la función analgésica (Condés-Lara et al., 2012; Rojas-Piloni et al., 2012). Sin embargo, los efectos corticales también son producidos por una acción directa sobre neuronas sensoriales del asta dorsal de la médula espinal, actuando a través de la activación del tracto corticoespinal.

Aunque el tracto corticoespinal se ha relacionado más con el control motor y la ejecución de movimientos finos, en algunos organismos, especialmente en los organismos no primates, esta vía también está implicada en el control de la información sensorial aferente. En roedores, este tracto desciende por el funículo dorsal en la parte ventromedial y tiene terminaciones en el asta dorsal, a donde llega la información sensorial aferente (Porrero et al., 2010). Así, la corteza podría estar modulando las respuestas nociceptivas a través de mecanismos pre- y postsinápticos en la médula epinal. En este sentido, se ha visto que la estimulación cortical es capaz de disminuir las respuestas nociceptivas, tanto electrofisiológica- (Senapati et al., 2005a,b) como conductualmente (Fonoff et al., 2009), y la lesión del tracto piramidal suprime estos efectos (Rojas-Piloni et al., 2010). Sin embargo, los mecanismos por los cuales la corteza sensorimotora es capaz de modular las respuestas nociceptivas aún no se conocen por completo (Capítulo 2).

El objetivo de esta tesis fue tratar de esclarecer los mecanismos por los cuales la corteza sensorimotora es capaz de modular las respuestas nociceptivas en el asta dorsal de la médula espinal de la rata. (Capítulo 4). En el Capítulo 5 se describen los materiales y métodos que fueron utilizados para abordar el tema. Los resultados obtenidos se describen en el Capítulo 6 y su discusión se presenta en el Capítulo 7. Finalmente, en el Capítulo 8, se establecen las conclusiones obtenidas de este trabajo.

## 2. Antecedentes

### 2.1. Aferentes nociceptivas y la transmisión de la información

Las fibras aferentes primarias del sistema somatosensorial tienen sus cuerpos celulares en los ganglios de las raíces dorsales y mandan un proceso axonal a la periferia y otro a la médula espinal. En la periferia, los axones terminan en una variedad de estructuras que se especializan en la detección de estímulos específicos. A éstas se les conoce como receptores sensoriales. En particular, los nociceptores son las terminaciones que sensan estímulos nocivos, o potencialmente nocivos (Light, 1992), por lo que los umbrales de activación de estos receptores son muy altos. Los axones relacionados con la transmisión de la información sensorial de la periferia al sistema nervioso pueden ser de distintos tipos (Cuadro 2.1). Aquellos que se asocian con la transmisión de estímulos táctiles se conocen como fibras  $A\beta$ . Estos axones son mielinizados y presentan diámetros grandes, por lo que pueden transmitir la información a velocidades de conducción muy altas, de hasta 50 m/s (Light, 1992). En cambio, los axones asociados a los nociceptores tienen velocidades de conducción relativamente lentas y pueden ser de dos tipos: axones ligeramente mielinizados, pertenecientes al grupo de fibras  $A\delta$ , cuya velocidad de conducción es de 20 m/s y, axones amielínicos, clasificados dentro del grupo de las fibras C. Estos últimos tienen velocidades de conducción menores a 2 m/s (Fitzpatrick, 2004). Ambos tipos de fibras nociceptivas están asociados a diferentes sensaciones dolorosas. La activación de las fibras  $A\delta$  está relacionada con la primera fase, o fase aguda del dolor, y son las que producen los efectos de retirada ante un estímulo nociceptivo, con el fin de prevenir un daño. Por otro lado, las fibras C transmiten la información de manera más lenta y producen la suma- ción del dolor en el tiempo (Almeida et al., 2004). Ambos tipos de fibras llevan la información

nociceptiva de la periferia a la médula espinal, donde hacen su primer relevo sináptico con neuronas del asta dorsal de la médula espinal. La mayoría de las fibras A $\delta$  y C terminan en la zona marginal y la sustancia gelatinosa de Rolando (láminas I-II de Rexed), aunque algunas pueden llegar a láminas más profundas.

Cuadro 2.1: Clasificación de las fibras aferentes primarias. Estas fibras presentan diferentes diámetros y se agrupan según su tamaño. Además, el diámetro del axón se correlaciona con la velocidad de conducción de la información que se transmite por estas fibras. Modificado de Fitzpatrick (2004).

	Musculares	Cutáneas	Diámetro de la fibra ( $\mu\text{m}$ )	Velocidad de conducción (m/s)
Mielinizadas	I	A $\alpha$	12-20	72-120
	II	A $\beta$	6-12	36-72
	III	A $\delta$	1-6	4-36
No Mielinizadas	IV	C	0.2-1.5	0.4-2

La activación de los nociceptores, por estímulos térmicos, químicos o mecánicos de alta intensidad, produce una despolarización del receptor que resulta en la generación de potenciales de acción que se transmiten a lo largo de las fibras. Al llegar a la terminal sináptica, se produce la entrada de Ca<sup>+2</sup> y la consecuente liberación de neurotransmisores excitatorios como son el glutamato y neuropéptidos como la sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), aunque también se han descrito fibras C no peptidérgicas (Basbaum et al., 2009). El glutamato es liberado por todas las fibras aferentes y actúa en sus receptores postsinápticos, los canales ionotrópicos de glutamato: el receptor de ácido  $\alpha$ -amino-3-hydroxy 5-methyl-4-isoxazolopropiónico (AMPA) y el de kainato (KA). La activación de estos receptores genera corrientes post-sinápticas excitatorias (EPSCs, por sus siglas en inglés) en las neuronas del asta dorsal (D'Mello y Dickenson, 2009). La sumación temporal de las EPSCs produce el disparo de potenciales de acción y la transmisión de la información nociceptiva a regiones supraespinales (Basbaum et al., 2009).

## 2.2. Vías ascendentes nociceptivas

Los axones de las neuronas del asta dorsal ascienden principalmente por el funículo anterolateral o por el sistema de las columnas dorsales. En el primer caso, los axones proyectan hasta el tallo cerebral, dejando colaterales para formar los tractos espinoreticular y el espinomesencefálico, y hasta el tálamo para formar el tracto espinotalámico. De ahí, los núcleos del tálamo proyectan a la corteza somatosensorial (Fitzpatrick, 2004). De esta forma, la vía espinotalámica lleva información para la discriminación de temperatura y del dolor (Almeida et al., 2004). Por su parte, los tractos que proyectan al tallo cerebral transmiten la información motivacional y afectiva del dolor. Además, participan en la modulación nociceptiva, activando regiones que constituyen los sistemas descendentes inhibitorios, como el área gris periaqueductal (PAG, por sus siglas en inglés).

Por otra parte, el sistema postsináptico de las columnas dorsales asciende por los fascículos gracilis y cuneatus, hasta los núcleos de las columnas dorsales en el tallo cerebral. Estas células forman las fibras del lemnisco medio que decusan para terminar en el tálamo contralateral. Esta vía transmite información propioceptiva y se considera la más importante en la transmisión de la información nociceptiva visceral (Fitzpatrick, 2004).

Además, la parte afectiva y emocional del dolor se transmite por otros sistemas: el tracto espinoparabraquial y el tracto espinocervicotalámico. El núcleo parabraquial (PB) recibe aferencias directas e indirectas de otros sistemas ascendentes. Este núcleo proyecta al tálamo y a la amígdala, que forman parte del sistema límbico y constituyen circuitos implicados en la motivación y el afecto (Almeida et al., 2004).

## 2.3. Mecanismos plásticos en la transmisión de la información nociceptiva

Existen cambios en el procesamiento de la información nociceptiva, generalmente asociados al daño de los nervios periféricos o procesos inflamatorios, donde hay un aumento de las

respuestas nociceptivas. Esto se debe a un mayor disparo de potenciales de acción en las fibras aferentes o a alteraciones en su conducción (Sandkühler, 2009). En este sentido, las células dañadas y las células inflamatorias asociadas al daño liberan diversos factores, como citocinas, factores de crecimiento y prostanoïdes, que reducen el umbral de los nociceptores. Este fenómeno se conoce como sensibilización periférica (Wang et al., 2005). Por otro lado, el incremento en el flujo de información nociceptiva a la médula espinal produce un aumento en la eficacia sináptica en las neuronas del asta dorsal, el cual se conoce como sensibilización central (Wang et al., 2005). Estos fenómenos producen condiciones alteradas en la percepción del dolor. Nos referimos a hiperalgesia cuando un estímulo nociceptivo produce una respuesta incrementada, y hablamos de alodinia, cuando hay una respuesta nociceptiva ante un estímulo que previamente no se consideraba como tal. Estas condiciones pueden ser adaptaciones útiles para proteger tejidos vulnerables de más daño, aunque pueden persistir aún después de que el estímulo nociceptivo inicial haya desaparecido (Sandkühler, 2009).

### 2.3.1. Potenciación a largo plazo

Ante un estímulo nociceptivo, la liberación de glutamato de las aferentes nociceptivas produce EPSCs en las neuronas de segundo orden en el asta dorsal debido a que el glutamato actúa sobre sus receptores AMPA y KA. Cuando el estímulo es persistente, por lesión o inflamación, hay mayor liberación de neurotransmisor de las aferentes. En este caso, la despolarización de la célula postsináptica es mayor, lo que resulta en que el glutamato active también sus receptores N-metil-D-aspartato (NMDA). La activación del receptor NMDA en presencia de estímulos agudos o de baja frecuencia no se presenta porque, en estas condiciones, el receptor se encuentra bloqueado por iones de  $Mg^{+2}$ . En presencia de una despolarización sostenida, el bloqueo se quita y el canal puede ser activado (D'Mello y Dickenson, 2009). La activación de estos receptores produce un gran aumento de  $Ca^{+2}$  y cambios pre- y postsinápticos asociados que pueden fortalecer las conexiones sinápticas entre las fibras nociceptivas y las neuronas del asta dorsal. Esto corresponde con el aumento exacerbado de las respuestas a estímulos nociceptivos (hiperalgesia). Este proceso está relacionado con los cambios plásticos observados en la potenciación a largo plazo (PLP), observada en regiones como el hipocampo, donde

las respuestas se aumentan debido a la sumación temporal después de un estímulo de alta frecuencia (HFS, por sus siglas en inglés) y produce una mayor eficacia en la transmisión de la información a través de esa sinapsis (Drdla y Sandkühler, 2008). Las respuestas se pueden aumentar durante horas y días o permanecer incrementadas aún por más tiempo.

La PLP se ha asociado con hiperalgesia y se ha estudiado a detalle su estalecimiento en la médula espinal. La sinapsis entre fibras C y las neuronas de segundo orden en el asta dorsal es altamente plástica y se puede producir PLP después de estimulación de alta frecuencia (varios trenes de 100 Hz). Incluso, se puede evaluar la PLP con estimulación de baja frecuencia (2 Hz por varios segundos), como simulando la tasa de disparo de las fibras C durante un proceso inflamatorio (Ikeda et al., 2006). En este sentido, también se ha visto PLP después de la administración de agentes inflamatorios como la formalina (Ruscheweyh et al., 2011). Este mecanismo también se ha estudiado con relación a los efectos de sensibilización durante el periodo de abstinencia a opioides (Drdla et al., 2009).

### **2.3.2. Potenciación post-tetánica**

La potenciación post-tetánica (PPT) es un tipo de plasticidad sináptica a corto plazo en el cual hay un aumento transitorio de las respuestas después de un HFS. La PPT puede durar desde segundos, hasta unos cuantos minutos, en función de la frecuencia del estímulo y su duración (Fioravante y Regehr, 2011). A mayor frecuencia, o a mayor duración del estímulo, la potenciación dura por más tiempo. Muchos de los mecanismos que describen la producción de la PPT se han descrito en la sinapsis gigante del cáliz de Held de la vía auditiva en el tallo cerebral (Habets y Borst, 2005; Lee et al., 2008), así como en la sinapsis sensorimotora en *Aplysia* (Bao et al., 1997; Jin y Hawkins, 2003) y en el hipocampo (Brager et al., 2003). Se ha postulado que la PPT es un mecanismo principalmente presináptico, mediado por la acumulación de  $Ca^{+2}$  después de una estimulación de alta frecuencia (Fioravante y Regehr, 2011). La entrada de  $Ca^{+2}$  a la presinapsis activa diferentes vías de señalización que involucran cinasas y segundos mensajeros. Esto produce mayor liberación de neurotransmisor de las pozas intracelulares. Aunque no hay muchos estudios de PPT en la transmisión de información en

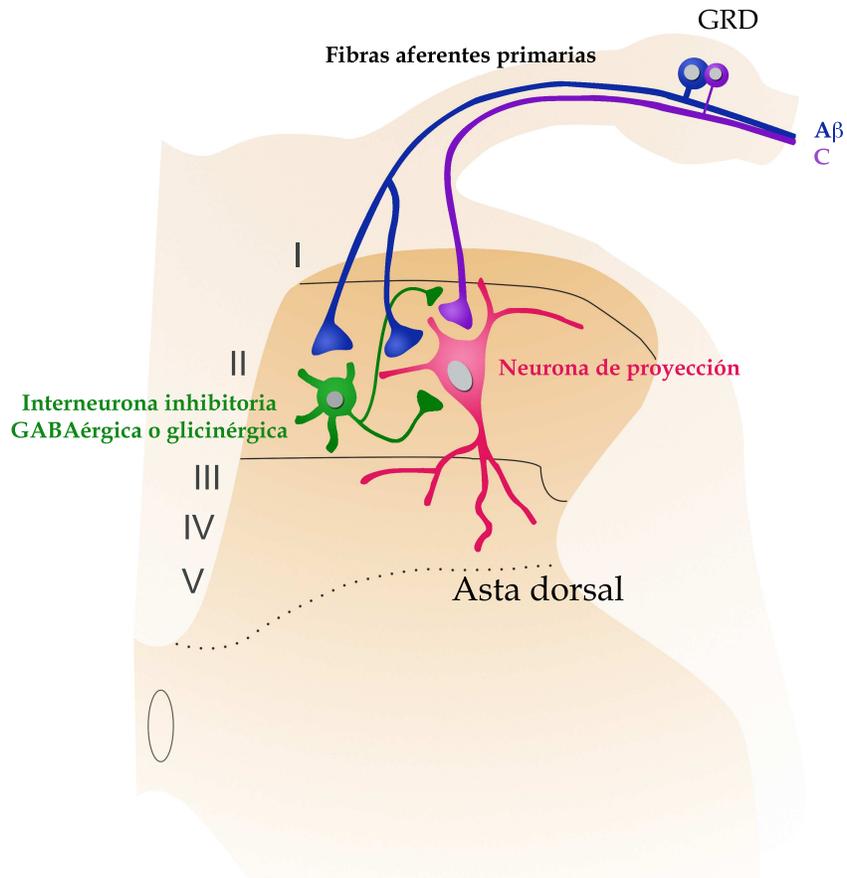


Figura 2.1: Regulación de la información sensorial aferente. En la primera sinapsis entre las fibras aferentes primarias y las neuronas del asta dorsal se llevan a cabo mecanismos inhibitorios presinápticos (a nivel de las fibras aferentes sensoriales) y postsinápticos (sobre las neuronas del asta dorsal) que permiten la selección adecuada de la información aferente. GRD: Ganglio de la raíz dorsal. Modificado de Yoshimura y Furue (2006).

la médula espinal, si se ha reportado en el reflejo monosináptico en las motoneuronas (Lloyd, 1949; Eccles y Krnjevic, 1959). Asimismo, Woolsey y Larrabee (1940) observaron un aumento de los potenciales de raíz dorsal (DRPs, por sus siglas en inglés) después de un estímulo tetánico a la raíz dorsal. Además se ha visto la producción de PPT, en la transmisión de la información nociceptiva, después de un estímulo de alta frecuencia al nervio ciático (NC) en la recuperación de los animales a una lesión periférica, asociada con hiperalgesia (Draganic et al., 2001).

## 2.4. Modulación de la información sensorial aferente

La información sensorial que transmiten las fibras aferentes primarias a la médula espinal está sujeta a un riguroso control. Este control se lleva a cabo por mecanismos de inhibición que permiten aumentar la resolución espacial y temporal en el procesamiento sensorial y en la ejecución de movimiento, así como para evitar el paso de la información menos relevante. De esta forma, el primer sitio de regulación de la información aferente es, justamente, a nivel de la primera sinapsis entre las fibras aferentes primarias y las neuronas de segundo orden en el asta dorsal de la médula espinal. Son varios los mecanismos moduladores que regulan el paso de información a través de este primer relevo sináptico, por ejemplo, la hiperpolarización del soma o las dendritas de las neuronas del asta dorsal provoca una disminución en la capacidad de disparar potenciales de acción en las neuronas de segundo orden (Figura 2.1), provocando que la información que viene de la periferia ya no se transmita (inhibición postsináptica; Kandel y Siegelbaum, 2000). Por el contrario, a nivel de las aferentes primarias, una regulación se ve reflejada en una disminución de la cantidad de neurotransmisor liberado por estas terminales. Esta modulación tiene como resultado una reducción en el impacto de la información sobre las neuronas de segundo orden en el asta dorsal de la médula espinal (inhibición presináptica; Figura 2.1). En este caso, se previene el flujo de la información nociceptiva antes de la entrada a la médula espinal.

### 2.4.1. Inhibición presináptica

Un mecanismo muy bien estudiado de inhibición presináptica, en la médula espinal, es producido por la despolarización de aferentes primarias (DAP). Esta forma de inhibición está mediada por interneuronas GABAérgicas que forman sinapsis axo-axónicas con las terminales centrales de las aferentes (Vyklícký y Knotková-Urbancová, 1998). Cuando estas interneuronas son activadas, liberan GABA, que actúa sobre sus receptores  $GABA_A$  en las terminales y aumenta la permeabilidad de  $Cl^-$  en estas células. En las fibras aferentes sensoriales, la concentración intracelular de  $Cl^-$  es mayor que en otras neuronas. Esto es debido a la presencia de una bomba activa  $Na^+ - K^+ - Cl^-$  que mantiene el potencial del  $Cl^-$  por encima de su potencial de equilibrio. Así, el  $Cl^-$ , siguiendo su gradiente electroquímico, sale hacia el espacio extra-

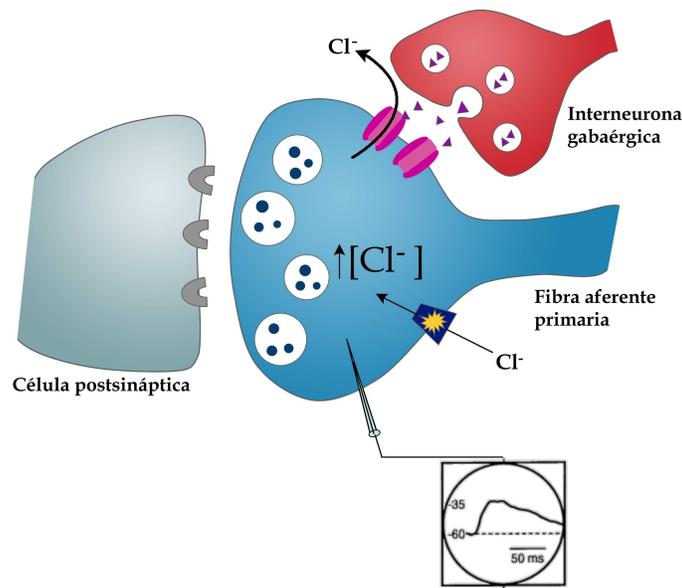


Figura 2.2: Despolarización de aferentes primarias (PAD). Se muestra una sinapsis entre una fibra aferente presináptica y una neurona postsináptica en la médula espinal. Una interneurona GABAérgica forma una terminal axo-axónica con la fibra presináptica. La presencia de un cotransportador de  $\text{Cl}^-$  mantiene altas las concentraciones de este ion en la terminal presináptica. Cuando el GABA actúa sobre su receptor  $\text{GABA}_A$  se produce la salida del  $\text{Cl}^-$ , lo cual conlleva a una despolarización ejemplificada en el registro intracelular. Modificado de Alvarez-Leefmans et al. (1998).

celular (Alvarez-Leefmans et al., 1998). Al perder cargas negativas, las terminales aferentes se despolarizan (Figura 2.2). Así, durante la DAP, el potencial de acción que llega desde la periferia tiene una amplitud menor, lo que origina una activación menor de canales de  $\text{Ca}^{+2}$  y un menor incremento intracelular en su concentración, necesario para la liberación de neurotransmisor (Katz y Miledi, 1968). La inhibición presináptica mediada por DAP podría jugar un papel fundamental en la modulación sensorial en la médula espinal.

#### 2.4.2. DAP en diferentes aferentes primarias

La modulación de la información mediada por DAP no se produce de la misma manera en todas las aferentes primarias. Esta distinción permite la activación diferencial en las aferentes, seleccionando los estímulos relevantes y permitiendo la discriminación de distintas sensaciones (Willis, 2006b).

Las fibras aferentes de los husos musculares (Ia) se despolarizan por la activación de fibras

aferentes musculares del grupo I, así como por la activación de vías supraespinales como las originadas en el núcleo rojo, la formación reticular bulbar (FR) y los núcleos del rafé (NR). Asimismo, las aferentes que corresponden a los órganos tendinosos (Ib) se despolarizan por la estimulación de regiones supraespinales y otras fibras musculares (Willis, 2006a; Rudomín, 2009). En cambio, las aferentes musculares del grupo II se despolarizan por la activación de otras fibras del mismo grupo y, en menor cantidad, por aferentes cutáneas y estructuras supraespinales como el locus coeruleus y los núcleos del rafé (Rudomín, 2009). Además, se ha demostrado que la despolarización de aferentes primarias no se lleva a cabo de manera homogénea, sino que hay un control selectivo de la información transmitida en colaterales específicas (Lomelí et al., 1998). En este sentido, es probable que este control local sea posible gracias a la activación de diferentes interneuronas que actúan sobre las aferentes en distintas regiones (Lomelí et al., 1998). También se ha postulado que regiones como la formación reticular, los núcleos del rafé o la corteza cerebral, pueden afectar la información entrante por las fibras musculares y esta selección podría ser necesaria para la ejecución de tareas motoras específicas (Rudomín, 2009).

La modulación mediada por DAP no sólo se presenta en aferentes musculares, sino también en aferentes cutáneas rápidas. En este caso, las fibras que llevan la información táctil se despolarizan por la activación de otras fibras cutáneas, aunque la estimulación de estructuras supraespinales también puede producir DAP. El control de la información que se transmite por estas fibras permite la discriminación de diferentes estímulos sensoriales táctiles (Rudomín, 2009).

La inhibición presináptica, mediada por DAP, en fibras cutáneas de conducción más lenta, como son las fibras nociceptivas  $A\delta$  y C, ha sido menos estudiada (Vyklícký y Knotková-Urbancová, 1998). Sin embargo, se ha visto una disminución en el umbral de activación de fibras  $A\delta$  cuando se estimulan estructuras supraespinales, como el núcleo magno del rafé (NMR) y la formación reticular bulbar (Rudomín, 2009).

### 2.4.3. Regulación GABAérgica

Aunque se ha sugerido que las fibras amielínicas (fibras C) no reciben sinapsis axo-axónicas GABAérgicas, se ha demostrado que la administración de benzodiazepinas (agonistas del receptor GABA<sub>A</sub>) produce un efecto antinociceptivo reversible y dosis-dependiente. Este efecto se produce cuando el GABA actúa específicamente sobre sus receptores espinales GABA<sub>A</sub> con subunidades  $\alpha 2$  y  $\alpha 3$ , y puede ser bloqueado por flumetazil, un antagonista de benzodiazepinas (Knabl et al., 2008). También existe la posibilidad de que los efectos antinociceptivos del GABA se lleven a cabo de manera postsináptica sobre las neuronas del asta dorsal. En este sentido, las neuronas de segundo orden también expresan receptores GABA<sub>A</sub> que, al contrario de las aferentes primarias, no presentan bombas de Cl<sup>-</sup> que mantengan altas las concentraciones intracelulares de este ión. Así, cuando el GABA activa sus receptores, el Cl<sup>-</sup> entra a las células y las hiperpolariza, produciendo también una inhibición (Willis, 2006b). Recientemente se demostró que los receptores GABA<sub>A</sub> presinápticos, con la subunidad  $\alpha 2$ , presentes en fibras nociceptivas, participan en el control del dolor, jugando un papel importante en la inhibición presináptica mediada por DAP (Witschi et al., 2011). Sin embargo, se ha mostrado la participación de estos receptores en el dolor inflamatorio, donde la activación de los receptores GABA<sub>A</sub> produce reflejos de raíz dorsal (DRRs, por sus siglas en inglés). Es así que estos receptores incrementan la excitabilidad en la terminal, lo cual facilita la generación de potenciales antidrómicos que producen la liberación de SP y CGRP en la periferia y contribuyen al proceso inflamatorio (Willis, 1999).

El papel del receptor metabotrópico GABA<sub>B</sub> no se ha explorado con detalle. Este receptor está acoplado a una proteína G<sub>i/o</sub> y su activación produce uno de dos efectos, un incremento en la conductancia de K<sup>+</sup> o una menor entrada de Ca<sup>+2</sup>, a través de canales de Ca<sup>+2</sup> activados por voltaje (Curtis, 1998). Ambos efectos pueden originar una menor liberación de neurotransmisor. En la médula espinal, este receptor se localiza, tanto en las aferentes primarias, como en neuronas de segundo orden en el asta dorsal (Yang y Ma, 2011). Su localización en estas células corresponde con estudios electrofisiológicos, donde hay inhibición pre- y postsináptica mediada por este receptor (Yang et al., 2001). Asimismo, se demostró que la inhibición selec-

tiva del receptor GABA<sub>B</sub> facilita las EPSCs producidas por aferentes nociceptivas A $\delta$  y C, lo que sugiere que este receptor participa en la modulación nociceptiva en el asta dorsal de la médula espinal (Yang y Ma, 2011).

Sin embargo, los mecanismos que producen DAP no se explican totalmente por la acción del GABA y se ha descrito también la participación de los receptores glutamatérgicos AMPA y NMDA en la médula espinal de tortuga (Russo et al., 2000). El potencial de raíz dorsal (DRP, por sus siglas en inglés) puede ser usado como indicador de los cambios de voltaje producidos por la activación de fibras de las raíces dorsales (Russo et al., 2000). De esta forma, se puede inferir la producción de DAP en fibras aferentes que viajan por las raíces dorsales. La administración de antagonistas del receptor GABA<sub>A</sub> produce una disminución del DRP, el cual puede ser eliminado al bloquear los receptores AMPA y NMDA (Russo et al., 2000; Russo et al., 2007). Además del glutamato, otros neurotransmisores se han implicado en este fenómeno. En este sentido, se ha mostrado que la administración de serotonina (5-HT), así como el agonista del receptor 5-HT<sub>3</sub> (m-ChPB), produce inhibición presináptica, asociada a DAP, aún en presencia de antagonistas GABAérgicos (Khasabov et al., 1999). Sin embargo, la administración de m-ChPB produce una DAP menor que la producida por serotonina, lo cual sugiere la participación de otros receptores 5-HT metabotrópicos. Por otro lado, se ha encontrado que las fibras aferentes expresan diferentes tipos de receptores nicotínicos, por lo que se ha propuesto la participación de la acetilcolina (ACh) como otro neurotransmisor que contribuye a la DAP. Además, estos canales son sensibles a bicuculina por lo que se sugiere que la DAP puede ser mediada, también, por ACh (Hochman et al., 2010).

#### 2.4.4. Glicina

A pesar de que el GABA constituye el neurotransmisor inhibitorio más abundante en la médula espinal, se ha demostrado la presencia de interneuronas glicinérgicas en las capas superficiales del asta dorsal, a donde llega la información nociceptiva. Además, la administración de antagonistas glicinérgicos, como la estricnina, producen hiperalgesia. Esto sugiere que, además del GABA, la glicina también juega un papel importante modulando la transmisión de

la información nociceptiva (Sivilotti y Woolf, 1994).

## 2.5. Control segmental

La mayoría de las neuronas del asta dorsal no proyectan sus axones fuera de la médula espinal. En cambio, se conectan con otras neuronas para formar circuitos locales. Es así que todas las células están sujetas a un control tónico inhibitorio, mediado por interneuronas (Daniele y MacDermott, 2009). Estos circuitos inhibitorios permiten la separación de diferentes modalidades sensoriales y la regulación de la excitación de las células, así como la atenuación de las respuestas nociceptivas. Como ya se mencionó anteriormente, el bloqueo de la influencia inhibitoria produce el aumento de las respuestas nociceptivas, lo cual produce alodinia e hiperalgesia.

En 1965, Melzack y Wall propusieron que las fibras aferentes que transmiten la información nociceptiva (fibras de bajo calibre) y fibras que transmiten información táctil (fibras de grueso calibre) convergen en neuronas de amplio rango dinámico (WDR, por sus siglas en inglés), esto es, que responden a estímulos de distintas intensidades. Además, las fibras de grueso calibre pueden activar interneuronas inhibitorias que regulan el paso de información a través de las fibras de bajo calibre. De esta manera la compuerta se “cierra”. Por el contrario, la activación de las fibras de bajo calibre “abre” la compuerta para la transmisión de la información nociceptiva. A esta teoría se le conoce como *teoría de la compuerta*. En apoyo a esta teoría, recientemente, se ha demostrado que la activación de fibras  $A\beta$  activa interneuronas inhibitorias, que podrían estar mediando el paso de información nociceptiva en la médula espinal (Daniele y MacDermott, 2009).

## 2.6. Control por vías descendentes

La teoría de la compuerta también sugiere que la inhibición producida por fibras de bajo calibre está mediada por sistemas descendentes (Melzack y Wall, 1965). En este sentido, el control supraespinal de la nocicepción se observó por primera vez cuando se interrumpió la trans-

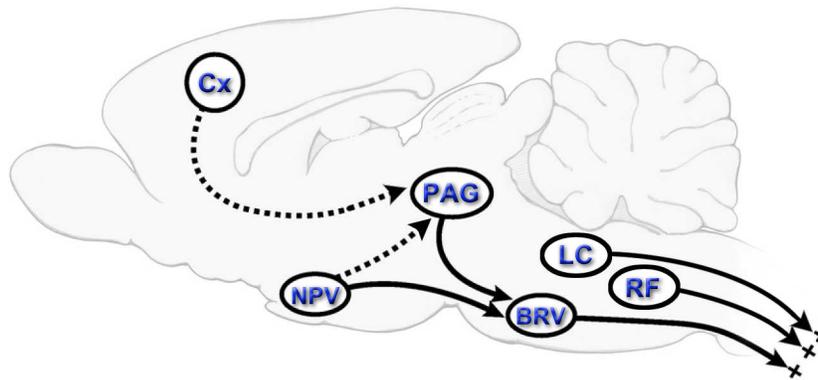


Figura 2.3: Control descendente de la información nociceptiva. Muchas regiones ejercen una modulación sobre las respuestas nociceptivas en la médula espinal. Estos sistemas se relacionan entre sí para asegurar una función analgésica adecuada. Cx: Corteza; BRV: Bulbo rostral ventromedial; FR: Formación reticular; LC: Locus coeruleus; NPV: Núcleo Paraventricular; PAG: Área gris periacueductal. Modificado de Heinricher et al. (2009).

misión a nivel del tallo cerebral. Las respuestas nociceptivas se vieron aumentadas, lo que sugería un control tónico supraespinal (Wall, 1967). Posteriormente, se comenzaron a estimular diferentes regiones y se observó una disminución de las respuestas nociceptivas a nivel del asta dorsal de la médula espinal. Algunos sistemas descritos que modulan la información nociceptiva se mencionan brevemente a continuación (Figura 2.3):

#### i. Sustancia gris periacueductal

El área gris periacueductal (PAG, por sus siglas en inglés) se identificó como un componente de los sistemas endógenos de analgesia desde 1969 (Reynolds, 1969). Es la región que rodea al acueducto de Silvio en el mesencéfalo y está compuesta por diferentes tipos neuronales (Light, 1992). La estimulación eléctrica de esta región inhibe reflejos inhibitorios y tiene efectos antinociceptivos cutáneos y viscerales. Además de proyectar directamente a la médula espinal, se han descrito proyecciones de esta área al sistema serotoninérgico del bulbo raquídeo (?).

#### ii. Sistema noradrenérgico

El sistema noradrenérgico está formado por células catecolamínicas localizadas en el puente que proyectan sus axones a diferentes regiones de la médula espinal. Sus núcleos de origen son el locus coeruleus (LC) y el núcleo subcoeruleus que se encuentran junto al cuarto

ventrículo. Las proyecciones noradrenérgicas a la médula espinal han sido bien estudiadas. La estimulación eléctrica del LC tiene un efecto antinociceptivo muy importante que está mediado por las neuronas noradrenérgicas de proyección a la médula espinal (Parent, 1996).

### iii. Sistema serotoninérgico

Las neuronas serotoninérgicas que proyectan a la médula espinal tienen su origen en los núcleos del bulbo rostral ventromedial (BRV), principalmente en el núcleo magno del rafé (NMR). Los axones de estas células terminan en las láminas I, II, V y VI donde inhiben a las neuronas que llevan información nociceptiva. La actividad de las células en el BRV está modulada por el PAG del mesencéfalo (Parent, 1996).

### iv. Otros sistemas descendentes

Se ha descrito un sistema descendente originado en el núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV). Las células que tienen su origen en este núcleo son oxitocinérgicas y vasopresinérgicas, principalmente. La estimulación de este núcleo también tiene un efecto antinociceptivo evidente (Robinson et al., 2002; Condés-Lara et al., 2006).

## 2.7. Tracto corticoespinal

Aunque este tracto se ha relacionado más con el control motor y la ejecución de movimientos finos en primates, también se ha propuesto su intervención en el control de la información sensorial aferente (Brown, 1971), incluyendo la información nociceptiva (Rojas-Piloni et al., 2010).

### 2.7.1. Origen y destino del tracto corticoespinal

En muchas especies, se han demostrado las proyecciones de la corteza hasta la médula espinal, principalmente de regiones motoras y somatosensoriales. El descubrimiento de las proyecciones provenientes de la corteza somatosensorial sugiere su participación en mecanismos de retroalimentación y modulación de información aferente. Las fibras que proyectan hacia la

médula espinal tienen su origen en las células piramidales de la capa V (Light, 1992).

Los axones corticoespinales tienen una variedad de destinos en la médula espinal. Esta distribución es diferente según la especie. En carnívoros y primates las neuronas corticoespinales pueden hacer contactos directos con las motoneuronas en el asta ventral (Stanfield, 1992), mientras que en roedores, estas fibras llegan principalmente al asta dorsal y a la sustancia gris intermedia (Brown, 1971). Recientemente, se han utilizado ratones transgénicos para trazar la vía piramidal y caracterizar sus proyecciones. De esta forma, se ha visto que los axones corticoespinales descienden por el funículo dorsal en la parte medial y terminan en diferentes láminas del asta dorsal, incluso en las láminas superficiales (Porrero et al., 2010).

También se ha visto que las células corticoespinales pueden dejar colaterales en otras regiones que se han involucrado con la modulación de la información nociceptiva. Se demostró en un estudio por trazadores que estos axones contactan con estructuras mesencefálicas como el PAG y la formación reticular (Light, 1992). Esto sugiere que la corteza es capaz de activar estas regiones para la modulación de información aferente.

### **2.7.2. Modulación cortical de la información sensorial aferente**

El que los axones corticoespinales tengan terminaciones en el asta dorsal sugiere que pueden participar en la regulación de la información sensorial aferente. En este sentido, se ha descrito la activación de interneuronas, en la médula espinal, por una acción cortical desde los años 40s (Andersen et al., 1963). Desde entonces, se ha tratado de identificar y caracterizar a estas células. Se han registrado interneuronas que se activan por nervios periféricos cutáneos y musculares, como las responsables de la producción de DAP en ciertas fibras. Estas interneuronas además responden a la estimulación cortical, por lo que la corteza podría estar mediando inhibición presináptica en la médula espinal. Asimismo, se han encontrado células que responden a la estimulación cortical, donde su frecuencia de disparo corresponde con la fase inicial del DRP (Andersen et al., 1963). Por otro lado, se han registrado células que responden a la estimulación cortical en diferentes capas de la sustancia gris de la médula

espinal. Se ha visto un patrón diferente de las respuestas, en función de la región en la que se registraron. Hay células que se inhiben y otras que se activan y esto se ha correlacionado con las diferentes fases observadas en los DRPs y en la inhibición presináptica (Fetz, 1968).

A raíz de la observación de que la corteza sensorimotora ejerce una facilitación sobre interneuronas en la médula espinal, surgió la pregunta de si la corteza es capaz de tener un efecto sobre las mismas aferentes primarias. En este sentido, se ha demostrado de la activación repetida de distintas regiones de la corteza sensorimotora producen DRPs en fibras musculares, asociados a una despolarización (Andersen et al., 1963; Carpenter et al., 1963). Asimismo, se evaluó la excitabilidad de diferentes aferentes primarias después de la estimulación cortical. Tomando en cuenta la despolarización de fibras aferentes, éstas se acercan a sus umbrales de disparo, por lo que se requiere de menor intensidad de corriente para que se generen potenciales antidrómicos. Es así que se produce un efecto facilitatorio sobre fibras musculares y cutáneas después de estimular la corteza sensorimotora (Andersen et al., 1963; Carpenter et al., 1963). Además, midiendo la excitabilidad de fibras musculares, se ha demostrado que la estimulación cortical produce inhibición presináptica de manera diferencial en colaterales de la misma aferente (Eguibar et al., 1997). Esto sugiere que la corteza es capaz de modular la información que se transmite a la médula espinal, participando en la selección de la misma (Eguibar et al., 1997; Lomelí et al., 1998).

### **2.7.3. Modulación cortical de la información nociceptiva**

La estimulación cortical modula la actividad de neuronas nociceptivas en el asta dorsal de la médula espinal. Sin embargo, estas influencias no son sólo inhibitorias y no son específicas de estímulos nociceptivos. Incluso se ha visto que los estímulos de bajo umbral son modulados de manera preferencial (Yeziarski et al., 1983). En monos, las respuestas provocadas por la estimulación del campo receptivo de neuronas espinotalámicas se reducen al estimular la corteza sensorimotora (Yeziarski et al., 1983). Además, esta estimulación cortical también puede producir excitación o excitación seguida de inhibición en estas mismas células (Zhang et al., 1991a,b). En la rata, la estimulación eléctrica de la corteza sensorimotora produce una

inhibición temporal, pero significativa, de las respuestas provocadas por estímulos mecánicos de alta intensidad de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal, sin modificar las respuestas provocadas por estímulos de baja intensidad (Senapati et al., 2005a,b).

Existen también trabajos conductuales donde se muestran los efectos antinociceptivos producidos por la estimulación cortical. Fonoff et al. (2009) evaluaron el umbral de retirada, al aplicar una fuerza creciente en las patas traseras de ratas en un modelo de dolor neuropático. Al estimular la región cortical asociada al movimiento de estas extremidades, observaron un incremento en el umbral de retirada.

#### **2.7.4. Participación de otros sistemas descendentes en la modulación cortical**

El control cortical de la entrada aferente nociceptiva puede estar mediado directamente por el tracto corticoespinal aunque otras vías no piramidales podrían estar involucradas. En este sentido, se ha demostrado que al bloquear el BRV con muscimol, agonista GABAérgico, se reduce el efecto antinociceptivo provocado por la estimulación cortical (Viisanen y Pertovaara, 2010a). Adicionalmente, la administración de un antagonista de receptores a serotonina en la médula espinal produce el mismo efecto. Estas evidencias sugieren que el BRV y el sistema descendente serotoninérgico contribuyen al efecto antinociceptivo inducido por la estimulación cortical (Viisanen y Pertovaara, 2010a). Aunado a esto, se han utilizado factores de transcripción que se expresan por la activación celular, como el *c-fos*. Esto ha permitido demostrar que la estimulación cortical provoca una disminución en la expresión de estos factores en el asta dorsal de la médula espinal y en el tálamo, producidos por la estimulación nociceptiva. Además, se observó un aumento en la expresión de *c-fos* en regiones como el PAG, la corteza cingulada anterior y la amígdala (Pagano et al., 2010).

También se ha explorado el papel del sistema noradrenérgico descendente, donde destaca la participación del LC, sobre la modulación de la información segmental mediada por la estimulación cortical. Sin embargo, la contribución de este núcleo en el efecto mediado por la corteza no es importante (Viisanen y Pertovaara, 2010b).

Por otro lado, se ha demostrado que la activación de la proyección corticoespinal modula directamente las respuestas nociceptivas provocadas por la estimulación de fibras C en la médula espinal (Rojas-Piloni et al., 2010). La estimulación del NC produce potenciales de campo asociados a la activación de fibras C en el asta dorsal, que al estimular la corteza disminuyen su amplitud. Así, una lesión en el tracto piramidal suprime el efecto inhibitorio sobre las respuestas segmentales. Estos resultados sugieren la existencia de una proyección directa a la médula espinal que modula las respuestas neuronales nociceptivas mediadas por la activación de fibras C (Rojas-Piloni et al., 2010).

#### **2.7.5. Estudios clínicos**

En humanos, se ha utilizado la estimulación cortical para aliviar diferentes formas de dolor crónico en pacientes que no responden a otros tratamientos. Clínicamente, la estimulación de la corteza motora se ha usado exitosamente para tratar pacientes con dolor neuropático, dolor postraumático y dolor del miembro fantasma (como revisión ver Brown y Barbaro, 2003. No obstante, el mecanismo por el cual la corteza es capaz de aliviar el dolor aún no se conoce.

### 3. Planteamiento del problema

Muchos sistemas descendentes modulan la transmisión de la información nociceptiva en el asta dorsal de la médula espinal. En este sentido, clínicamente se ha utilizado la estimulación de diversas áreas, particularmente el PAG, el BRV y el LC, para aliviar diversos tipos de dolor. En años recientes también se ha utilizado la estimulación cortical para aliviar el dolor neuropático en pacientes que ya no responden a otros tipos de tratamiento. Muchos estudios reflejan que la corteza sensorimotora ejerce un efecto modulador sobre las respuestas sensoriales nociceptivas a nivel segmental. Aunque se ha descrito que la corteza actúa a través de la activación de otros sistemas descendentes, como el BRV, el mecanismo de modulación mediado por el tracto corticoespinal directo no está muy claro. Si bien, dicha proyección es capaz de generar DAP sobre aferentes cutáneas de grueso calibre, y por lo tanto, una inhibición presináptica, no se ha demostrado que suceda lo mismo con las aferentes nociceptivas. Es así que en este trabajo se propone explorar los mecanismos por los cuales el tracto corticoespinal directo modula las respuestas nociceptivas en la médula espinal de la rata, evaluando las respuestas de campo provocadas por la activación de fibras C en registros electrofisiológicos.

## **4. Hipótesis y Objetivos**

### **4.1. Hipótesis**

La estimulación de la corteza sensorimotora produce una inhibición de las respuestas neuronales nociceptivas a través de un mecanismo GABAérgico presináptico en el asta dorsal de la médula espinal.

### **4.2. Objetivo General**

Caracterizar la inhibición provocada por la estimulación de la corteza sensorimotora sobre las respuestas de campo provocadas por la activación de fibras C.

### **4.3. Objetivos particulares**

- Identificar el curso temporal de la inhibición de las respuestas neuronales nociceptivas en la médula espinal provocadas por la estimulación de la corteza sensorimotora.
- Determinar si la estimulación de la corteza sensorimotora modifica la dinámica de la potenciación post-tetánica (PPT) de las respuestas neuronales nociceptivas provocada por un estímulo de alta frecuencia.
- Analizar los efectos de la administración de bicuculina y picrotoxina sobre la inhibición de las respuestas nociceptivas provocadas por la estimulación de la corteza sensorimotora.

## 5. Materiales y Métodos

### 5.1. Sujetos

Se utilizaron ratas macho Wistar de 280-300 g. Los animales se mantuvieron en condiciones estándares de bioterio, con periodos de luz/obscuridad 12:12 y agua y alimento *ad libitum*. Todos los protocolos experimentales se encuentran aprobados por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología y están sujetos a los lineamientos de la International Association for the Study of Pain (Zimmermann, 1983).

### 5.2. Preparación experimental

Los animales se anestesiaron con uretano (1.4 g/kg de peso, vía intraperitoneal). Una vez anestesiados, se insertó una cánula en la tráquea para mantener a los animales ventilados artificialmente y monitorear el volumen tidal de CO<sub>2</sub>. La temperatura de los animales se mantuvo mediante un cojín de agua caliente. Se hizo una disección del nervio ciático (NC) en la extremidad izquierda, a nivel femoral. El nervio expuesto se cubrió con petrolato y se colocó un electrodo de plata clorurada a su alrededor para estimularlo eléctricamente. Posteriormente, los animales se colocaron en un aparato estereotáxico con la finalidad de fijar la cabeza y las vértebras lumbares. Adicionalmente, se realizó una laminectomía a nivel T11-T12 para exponer los segmentos L4-L5 de la médula espinal, que corresponden al engrosamiento lumbar, donde llega la información aferente del NC. También se hizo una craneotomía amplia para exponer la corteza sensorimotora (2.5 mm anterior a bregma, 2.5 mm posterior a bregma, 2-4 mm lateral a la línea media, según el atlas de Paxinos y Watson [1998]).

### 5.3. Registro electrofisiológico y estimulación eléctrica

Las respuestas nociceptivas segmentales se registraron como potenciales de campo intraespinales con una micropipeta de vidrio rellena de NaCl 1M ( $1.5-3\text{ M}\Omega$ ) colocada en los segmentos L4-L5 del engrosamiento lo lumbar. La estimulación del NC consistió de pulsos de  $100\ \mu\text{s}$  de duración, por medio de los electrodos de plata colocados alrededor del nervio. La intensidad de la estimulación del NC se ajustó para producir respuestas con amplitudes al 50 % de la máxima, las cuales se encontraron en 0.3-1.5 mA. La estimulación del NC produce la activación de diferentes componentes en la médula espinal, asociados a la activación de las diferentes fibras sensoriales. Se identificaron las respuestas asociadas a fibras C por ser el componente de mayor latencia, que correspondió a velocidades de conducción de 1.5-2 m/seg. Para la estimulación cortical, se colocó una matriz de 15 electrodos de estimulación (3x5) en la corteza sensorimotora a  $1500\ \mu\text{m}$  de profundidad. La estimulación se dió entre dos de los electrodos contiguos de la matriz con una separación de 1 mm entre las puntas. Se aplicaron 5 pulsos cuadrados de  $100\ \mu\text{s}$  (intervalo entre pulsos de 1 ms) con intensidades de 100-300  $\mu\text{A}$ .

Las respuestas se amplificaron con un Axopatch 2B y se registraron con filtros preamplificadores; un filtro pasa bajas de 0.1 Hz y un filtro pasa altas de 20 kHz. Se obtuvieron los registros como el promedio de 16 respuestas con una frecuencia de muestreo de 20 kHz. Todos los registros se digitalizaron con un convertidor analógico-digital (Digidata 1440A, Axon Instruments) y con el programa Clampex (pCLAMP 10.0, Molecular Devices). Los registros se almacenaron para su análisis posterior.

### 5.4. Estimulación cortical

Se obtuvieron potenciales de campo provocados (EFPs, por sus siglas en inglés) producidos por la estimulación del nervio ciático y se identificó la respuesta asociada a la activación de fibras C. El estímulo cortical precedió las respuestas asociadas a la activación de fibras C con diferentes intervalos de tiempo (desde 10-70 ms). Se compararon los EFPs de la estimulación del NC con los EFPs precedidos por la estimulación cortical.

### 5.5. Potenciación post-tetánica

La potenciación de las respuestas nociceptivas se provocó por medio de un estímulo de alta frecuencia (HFS, por sus siglas en inglés) al NC. Para ello, se aplicaron pulsos de corriente al NC (0.1 ms, 0.8 Hz) durante 15 minutos. La amplitud de los EFPs, asociados a la activación de fibras C, obtenidos durante este tiempo se promedió para establecer la actividad basal. Posteriormente, se estimuló eléctricamente el nervio con trenes de 100 Hz durante 100, 250 y 500 ms. Después del HFS, se siguieron aplicando pulsos de corriente al nervio hasta completar 1 hora. Se obtuvieron los registros cada 3 minutos, con un promedio de 16 respuestas.

Para analizar el efecto de la estimulación cortical sobre la potenciación del NC, se estimuló la corteza sensorimotora. La estimulación cortical (100 Hz, 450 ms) se dió simultáneamente con el tren de 250 ms al NC, empezando 100 ms antes. Para el caso del tren más corto de 100 ms, el estímulo cortical (100 Hz, 200 ms) comenzó 50 ms antes que el tren al NC. También en este caso, se promediaron las amplitudes de los EFPs de fibras C durante los 15 minutos previos al estímulo tetánico (actividad basal) y durante 1 hora después del mismo.

### 5.6. Farmacología

Para evaluar la participación del GABA, se evaluó la modulación de las respuestas nociceptivas después de la estimulación cortical en presencia de antagonistas del receptor GABA<sub>A</sub>: bicuculina (Sigma, 20  $\mu$ M) y picrotoxina (Sigma, 100  $\mu$ M). Además, se evaluó la PPT en presencia de ácido 3-(2-Carboxipiperazin-4-il)propil-1-fosfónico (CPP), un antagonista de receptores glutamatérgicos NMDA (Sigma, 10  $\mu$ M). Todos los fármacos se aplicaron intratecalmente por perfusión continua.

### 5.7. Histología

Para determinar la localización de los electrodos de estimulación en la corteza sensorimotora se hizo un análisis histológico. Después de los experimentos electrofisiológicos, los animales

se fijaron por perfusión vía intracardiaca con 100 ml de solución salina, seguida se 250 ml de solución fijadora (paraformaldehído 4 % en buffer de fosfatos 0.1M, pH 7.4) a 4°C. Se extrajeron los cerebros y se colocaron en 50 ml de solución fijadora durante 2 h a 4°. A continuación, los cerebros se colocaron en una solución de sacarosa 30 % en buffer de fosfatos.

Los cerebros se cortaron en un microtomo de congelación (Leica SM-2000R). Se realizaron cortes sagitales de 40  $\mu\text{m}$  de espesor y se montaron en portaobjetos gelatinizados para ser teñidos con violeta de crecilo. Con este fin, las laminillas se pasaron por un tren de hidratación de xilol, alcohol 100 %, 96 %, 80 %, 70 %, seguido de un lavado en agua destilada por 3 seg y teñidos con violeta de crecilo 0.5 %. Posteriormente, se pasaron por un tren de deshidratación de alcoholes 70 %, 80 %, 96 % y 100 %, xilol y se montaron en resina Entellan.

Se obtuvieron imágenes digitales de los cortes de cerebro a nivel de la corteza sensorimotora y se analizó la distribución de los electrodos con ayuda del programa MDSYS4. Además, los cortes se observaron en un microscopio óptico (Leica DMLB) para identificar las capas corticales en las que se ubicaron los electrodos.

## 5.8. Análisis de datos

El análisis de las respuestas se llevó a cabo fuera de línea en el programa Clampfit (pCLAMP 10.0, Molecular Devices). Se midió la amplitud de las respuestas asociadas a la activación de fibras C provocadas por la estimulación del NC. Las comparaciones estadísticas se realizaron con pruebas no paramétricas. Se usó una prueba Kruskal-Wallis para la comparación de respuestas con respecto a su control. Además, pruebas Friedman de medidas repetidas para el análisis de los cursos temporales de la PPT. También se compararon las fases Inicial y Tardía de la PPT utilizando pruebas de Mann-Whitney. Se consideraron significativas las diferencias con una  $p < 0.05$ , a menos que se indique diferente en el texto.

## 6. Resultados

### 6.1. Parámetros de la estimulación cortical

La estimulación cortical produce un potencial de campo intraespinal (PCI) en el asta dorsal de la médula espinal. En cada experimento se estimularon diferentes regiones de la corteza sensorimotora con la finalidad de describir las regiones que producen los PCI más grandes. Se observó que la estimulación de regiones más caudales de la corteza produce un potencial intraespinal mayor (Figura 6.1A). Una vez obtenida la región de la corteza sensorimotora asociada al mayor PCI, se obtuvo la relación entre la intensidad de la estimulación y la magnitud de la respuesta (curva entrada-salida; Figura 6.1B). Se obtuvo que la relación entrada-salida se ajustó a una curva sigmoide, con intensidades de estimulación crecientes. Las intensidades de estimulación con las cuales se obtuvo la máxima respuesta fueron entre 300 y 400  $\mu\text{A}$ . De esta manera, en cada experimento se ajustó la intensidad de la estimulación cortical para producir un PCI al 50 % de la máxima amplitud (100-150  $\mu\text{A}$ ). Además, lesión del tracto corticoespinal a nivel de las pirámides elimina la producción del PCI en el asta dorsal de la médula espinal (Figura 6.1C).

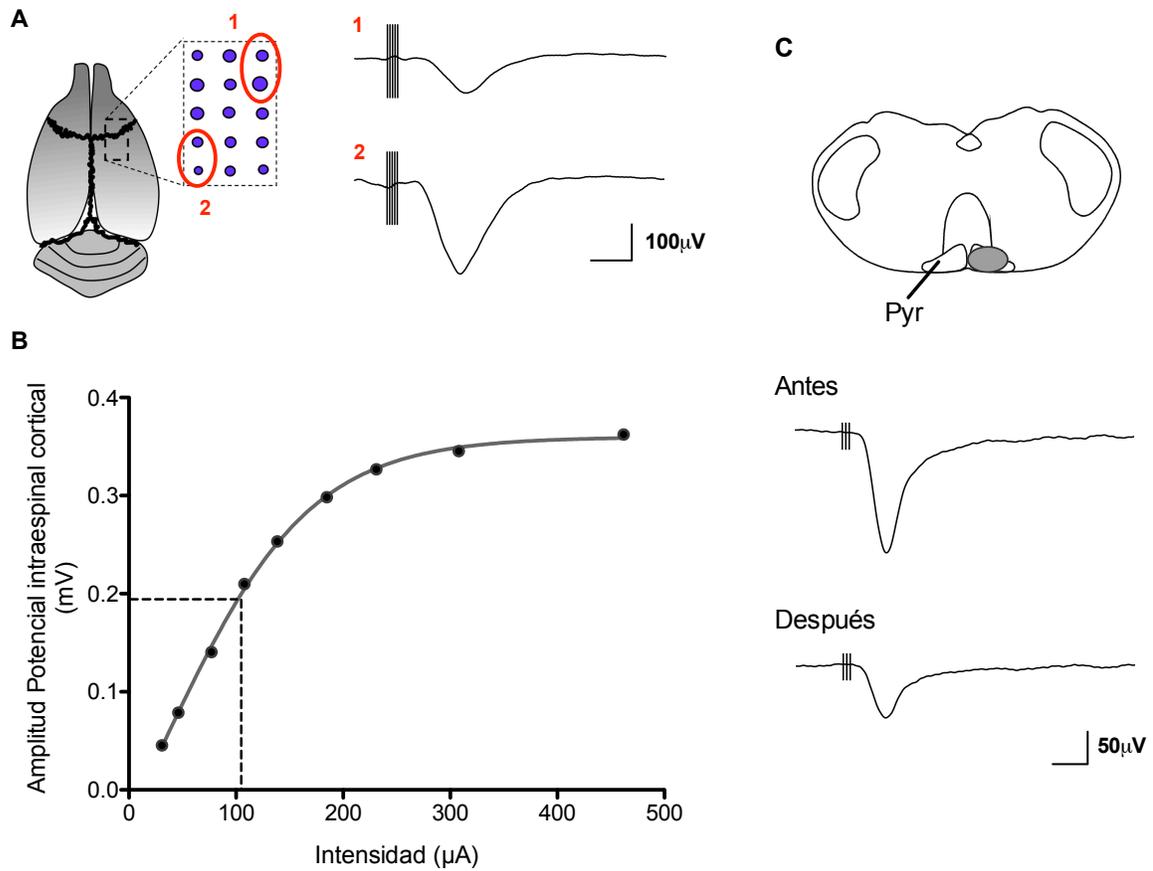


Figura 6.1: Caracterización de las respuestas corticales obtenidas en la médula espinal. **A.** PCI producidos por diferentes regiones de la corteza sensorimotora. El esquema representa la ubicación de la matriz de estimulación y la distribución de los 15 electrodos de la matriz. **B.** Relación entre la intensidad de la estimulación de la corteza sensorimotora y la amplitud del PCI. **C.** PCI producido por la estimulación cortical antes y después de la lesión del tracto corticoespinal. Barras de calibración: 20 ms.

## 6.2. Curso temporal de la inhibición mediada por la corteza sensorimotora sobre las respuestas de fibras C

La estimulación de la corteza sensorimotora provocó una disminución de la amplitud de los potenciales de campo producidos por la estimulación de fibras C (Figura 6.2). La magnitud de esta inhibición dependió del intervalo de tiempo entre la estimulación cortical y el inicio de las respuestas de fibras C. Cuando el intervalo de tiempo entre el estímulo cortical y la respuesta de fibras C fue muy corto, de 10 ms ( $n=6$ ), no se observó una diferencia significativa con respecto al control ( $75.86 \pm 9.19\%$ ). Los intervalos en donde se observó una diferencia significativa con respecto al control, fueron en los intervalos donde la respuesta nociceptiva, producida por la estimulación del NC, fue precedida 15-25 ms. En el intervalo de 15 ms, las respuestas disminuyeron su amplitud  $52.36 \pm 11.0\%$  ( $n=3$ ) con respecto al control. Asimismo, cuando el intervalo fue de 25 ms las respuestas se decrementaron en un  $59.32 \pm 5.63\%$  ( $n=9$ ). En los intervalos con mayor separación entre las respuestas de fibras C y la estimulación cortical, las respuestas no mostraron un decremento significativo en su amplitud. El porcentaje de cambio de la amplitud de las respuestas nociceptivas al estimular la corteza fue de  $68.79 \pm 7.85\%$  con intervalo de 30 ms ( $n=5$ ), de  $87.10 \pm 15.63\%$  con intervalo de 40 ms ( $n=3$ ), de  $98.41 \pm 11.63\%$  con intervalo de 50 ms ( $n=5$ ), de  $87.82 \pm 10.12\%$  con intervalo de 60 ms ( $n=4$ ) y de  $104.2 \pm 4.098\%$  con intervalo de 70 ms ( $n=3$ ; Figura 6.2). El curso temporal de la inhibición obtenida coincidió con el pico de máxima negatividad de un PCI producido por la estimulación de la corteza sensorimotora (trazo gris; Figura 6.2).

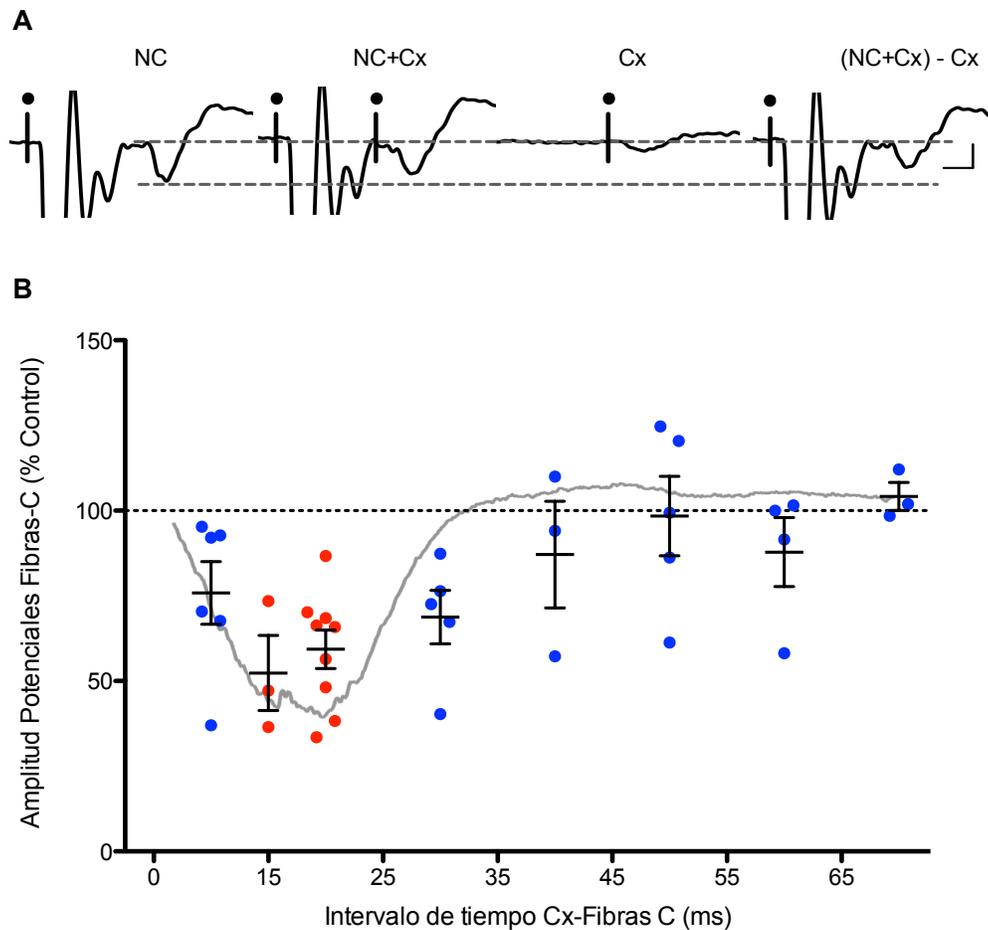


Figura 6.2: Disminución de la amplitud de los potenciales de campo de fibras C producida por la corteza sensorimotora a diferentes intervalos de tiempo. **A.** Registros representativos de una disminución de las respuestas producida por la estimulación cortical con 25 ms de anticipación. De izquierda a derecha: potenciales de campo producidos por la estimulación del nervio ciático (NC); cuando la respuesta fue precedida 25 ms por un estímulo cortical (NC+Cx); potencial de campo provocado por la estimulación cortical (Cx); la diferencia de la respuesta del nervio ciático precedida por el estímulo cortical y el potencial de campo producido por la estimulación de la corteza ((NC+Cx)-Cx). Cada trazo es el promedio de 16 respuestas. Los puntos negros señalan los artefactos de estimulación. **B.** Porcentaje de cambio en la amplitud de los potenciales de campo de fibras C, con respecto al control, producido por la estimulación cortical con diferentes intervalos de tiempo entre las respuestas de fibras C y el estímulo a la corteza. Los intervalos que presentan diferencias significativas con respecto al control se representan en rojo (Mann-Whitney,  $p < 0.05$ ). Cada punto es un experimento. El trazo en gris representa un potencial de campo cortical con una negatividad máxima a los 20 ms. Barras de calibración: 100  $\mu\text{V}$ , 20 ms.

### 6.2.1. Efecto de la administración de antagonistas GABAérgicos sobre la disminución de las respuestas nociceptivas provocada por la estimulación cortical

Para determinar si la reducción de la amplitud de las respuestas nociceptivas estaba mediada por GABA, se evaluó el efecto de la estimulación cortical sobre las respuestas nociceptivas en presencia de antagonistas del receptor GABA<sub>A</sub>. La disminución de las respuestas provocada por la estimulación cortical se muestra en los controles previos a la administración de los fármacos (Previo; Figura 6.3 y 6.4).

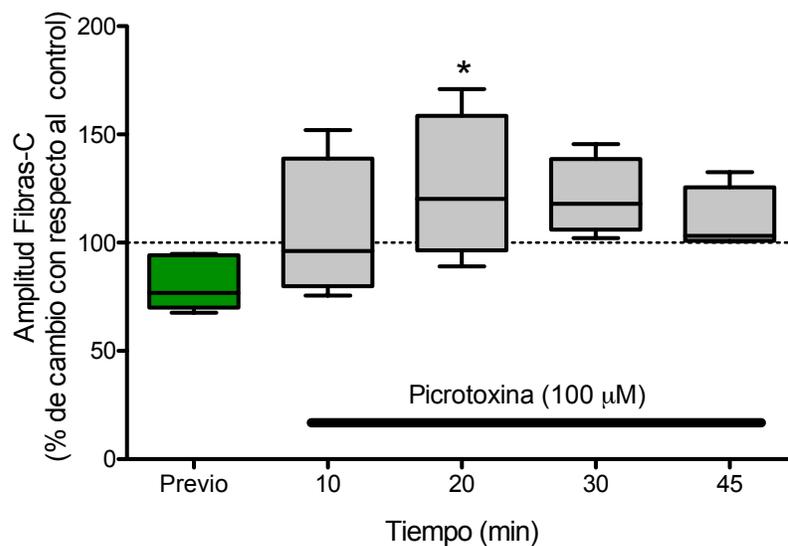


Figura 6.3: La disminución de las respuestas de fibras C no se observa en presencia de picrotoxina. Porcentaje de amplitud de los potenciales de campo al estimular la corteza sensorimotora (Previo) y el efecto cortical en presencia de picrotoxina (100  $\mu$ M) durante 45 minutos ( $n=4$ ). En verde se representan los cambios significativos de amplitud con respecto al control (Mann-Whitney,  $p < 0.05$ ). Los asteriscos indican diferencias con respecto al control previo al fármaco (Kruskal-Wallis,  $*p < 0.05$ ).

La administración de picrotoxina (PX; 100  $\mu$ M) resultó en que la disminución de las respuestas nociceptivas ya no se presente (Figura 6.3). Después de la administración del fármaco, la estimulación cortical no produjo una disminución en la amplitud de las respuestas a fibras C. Además, a los 20 minutos de la administración de PX, las respuestas fueron significativamente diferentes del control previo (Previo; Figura 6.3).

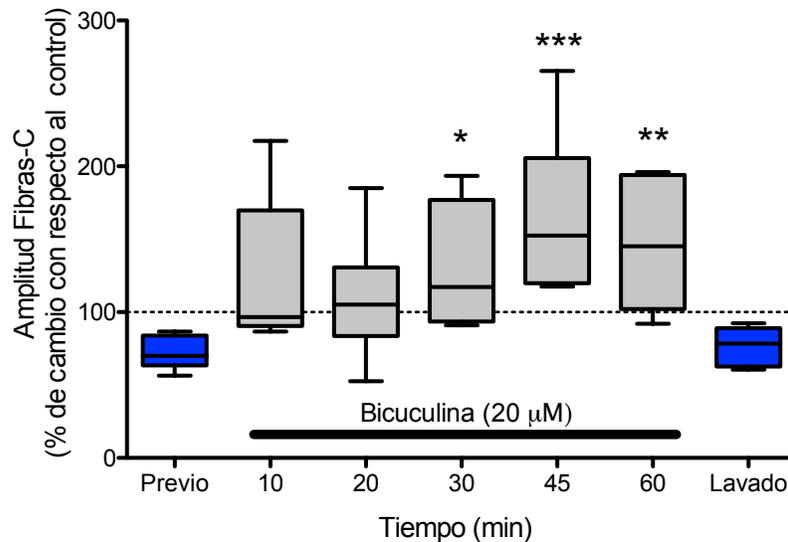


Figura 6.4: Los potenciales de campo asociados a la activación de fibras C no se inhiben en presencia de bicuculina. Porcentaje de cambio en amplitud de los potenciales de campo al estimular la corteza sensorimotora antes de la administración del fármaco (Previo) y el efecto de la estimulación cortical en presencia de bicuculina ( $20 \mu\text{M}$ ) durante 60 minutos, y el lavado posterior del fármaco (Lavado;  $n=6$ ). Las diferencias significativas con respecto al control se muestran en azul (Mann-Whitney,  $p < 0.05$ ). Los asteriscos indican las diferencias con respecto al control previo al fármaco (Kruskal-Wallis,  $*p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$ ,  $***p < 0.001$ ).

Asimismo, la disminución de la amplitud de las respuestas nociceptivas, provocada por la estimulación cortical ya no se presentó durante la administración de bicuculina (BIC;  $20 \mu\text{M}$ ; Figura 6.4). El porcentaje con respecto al control de las respuestas fue significativamente diferente del control previo (Previo), después de 30 minutos de la aplicación del fármaco. Esta desinhibición fue revertida después de una hora de lavado; las respuestas volvieron a decrementarse por efecto de la estimulación cortical (Figura 6.4).

Con la finalidad de evaluar el efecto de la administración intratecal de antagonistas GABAérgicos sobre el tono inhibitorio en la médula espinal, se analizaron las amplitudes de las respuestas control en presencia de PX y BIC. De esta forma, 20 min después de la administración de los fármacos hubo un incremento en la actividad espontánea espinal. Asimismo, se ob-

servó la aparición de nuevos componentes en las respuestas provocadas por la estimulación del NC. Sin embargo, las amplitudes de las respuestas nociceptivas analizadas no cambiaron significativamente (Wilcoxon,  $p=0.31$ ; Cuadro 6.1).

Cuadro 6.1: Efecto de la administración de antagonistas GABAérgicos sobre la amplitud de las respuestas nociceptivas. Las amplitudes están representadas como promedio  $\pm$  error estándar antes de la administración del fármaco (Control) y a los 20 minutos después de la administración. PX: picrotoxina; BIC: bicuculina.

	Control ( $\mu V$ )	Después del fármaco ( $\mu V$ )
PX	$83.98 \pm 20.91$	$157 \pm 32.47$
BIC	$53.46 \pm 9.82$	$37.44 \pm 9.29$

### 6.3. Potenciación post-tetánica de las respuestas provocadas por un estímulo de alta frecuencia al nervio ciático

Se caracterizó el aumento de las respuestas asociadas a la activación de fibras C después de aplicar un estímulo de alta frecuencia al nervio ciático (HFS, por sus siglas en inglés). El tiempo de esta potenciación dependió de la duración del tren de alta frecuencia (100 Hz) con que se dió el estímulo (Figura 6.5). Cuando la duración del tren es de 100 ms los potenciales de campo de fibras C incrementaron su amplitud un  $184 \pm 25\%$ , con respecto a la actividad basal y regresaron a sus niveles basales después de 20 minutos posteriores al estímulo (Figura 6.5A). Con un estímulo de mayor duración, 250 ms, las respuestas provocadas por la estimulación del nervio ciático se incrementaron un  $178 \pm 17\%$  sobre el nivel basal durante 30 minutos, después de los cual regresaron a sus niveles control (Figura 6.5B).



La duración de la potenciación de las respuestas se aumentó de manera importante cuando el HFS tiene una mayor duración (500 ms). En este caso, las respuestas se potenciaron un  $186 \pm 18\%$  a los 15 minutos y siguieron aumentando hasta 1 hora de registro ( $265 \pm 43\%$  de la actividad basal; Figura 6.5C). De esta forma, se muestra que el tren de 100 ms produjo una potenciación de corta duración, la cual se aumentó cuando el HFS tuvo una mayor duración.

### 6.3.1. Efecto de la estimulación cortical sobre la dinámica de la potenciación producida por un estímulo de alta frecuencia al nervio ciático

Para explorar el efecto de la estimulación cortical sobre la PPT, se probó el incremento de las respuestas producido por el tren de alta frecuencia de 250 ms de duración. Al estimular la corteza sensorimotora durante el estímulo de alta frecuencia al nervio ciático se observó un incremento de las respuestas asociadas a la activación de fibras C un  $205 \pm 36\%$  (Figura 6.6). Sin embargo, la potenciación obtenida junto con la estimulación cortical fue de menor duración, con respecto al incremento de las respuestas producido por el tren de 250 ms ( $178 \pm 17\%$ , durante 30 minutos). Las respuestas regresaron a sus niveles basales a los 15 minutos después del HFS.

La duración de la PPT se separó en dos fases. Una fase temprana, asociada incremento de las respuestas durante los primeros 10 minutos después del HFS (Inicial), y una fase tardía, a los 20 minutos después del HFS (Tardía). Obtuvimos que la estimulación cortical afectó la fase tardía de la PPT obtenida con un tren de 250 ms. En la fase temprana se observó un incremento de las respuestas en ambas condiciones. Sin embargo, en la fase tardía se obtuvo que el porcentaje de cambio de las respuestas fue significativamente menor cuando se estimuló la corteza junto con el tren al NC (Mann-Whitney,  $p < 0.05$ ; Figura 6.6C).

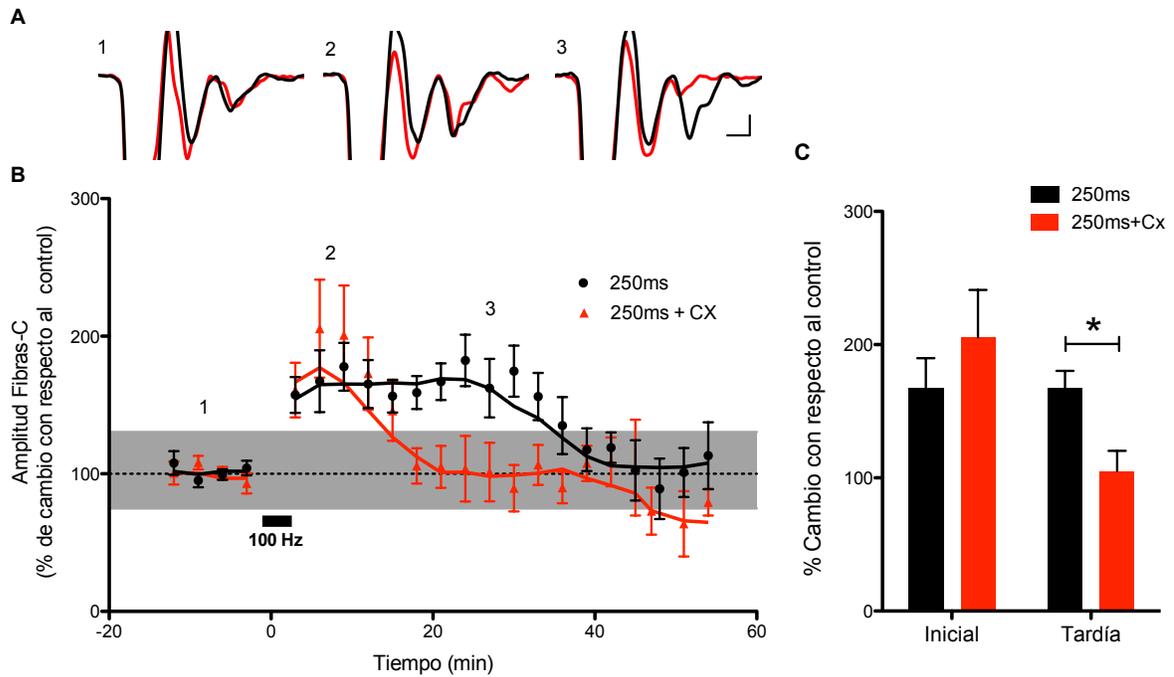


Figura 6.6: Efecto de la estimulación cortical sobre la potenciación de las respuestas de fibras C provocada por un HFS de 250 ms al nervio ciático. **A.** Trazos representativos del aumento en la amplitud de los potenciales de campo durante la actividad basal (1), después del HFS (2) y 20 minutos después del tren (3). **B.** Cursos temporales de la potenciación post-tetánica de las respuestas producidas por estimulación del nervio ciático ( $n=8$ ) y durante la estimulación cortical ( $n=8$ ). Las amplitudes de los potenciales de campo están expresados como porcentaje de cambio sobre la actividad basal. Los puntos dentro de la región gris no difieren de los niveles basales, todos los puntos que sobresalen se consideraron diferentes significativamente (Friedman,  $p < 0.05$ ). **C.** Incremento de las respuestas durante la fase Inicial y Tardía de la PPT. Mann-Whitney,  $*p < 0.05$ . Barras de calibración: 100  $\mu$ V, 20 ms.

### 6.3.2. Efecto de la estimulación cortical sobre el incremento de respuestas nociceptivas producida por un tren de menor duración al NC

Además, se evaluó el incremento de las respuestas a fibras C cuando un tren de alta frecuencia al NC de 100 ms fue administrado durante la estimulación de la corteza sensorimotora. Con un tren de 100 ms, las respuestas se aumentaron un  $184 \pm 25\%$  durante 20 minutos ( $n=6$ ). Sin embargo, al estimular la corteza simultáneamente con el tren del NC, las respuestas no incrementaron su amplitud ( $n=6$ ; Figura 6.7).

En efecto, al analizar las fases de la PPT, se obtuvo que el tren de 100 ms produce un incremento de las respuestas durante la fase inicial de la PPT. Además, debido a que el tren de 100 ms produce un incremento de corta duración, las respuestas no permanecen incrementadas durante la fase tardía de la PPT. Por el contrario, observamos que la estimulación cortical junto con el tren de 100 ms no produce un incremento durante la fase inicial, ni durante la fase tardía de la PPT (Figura 6.7).

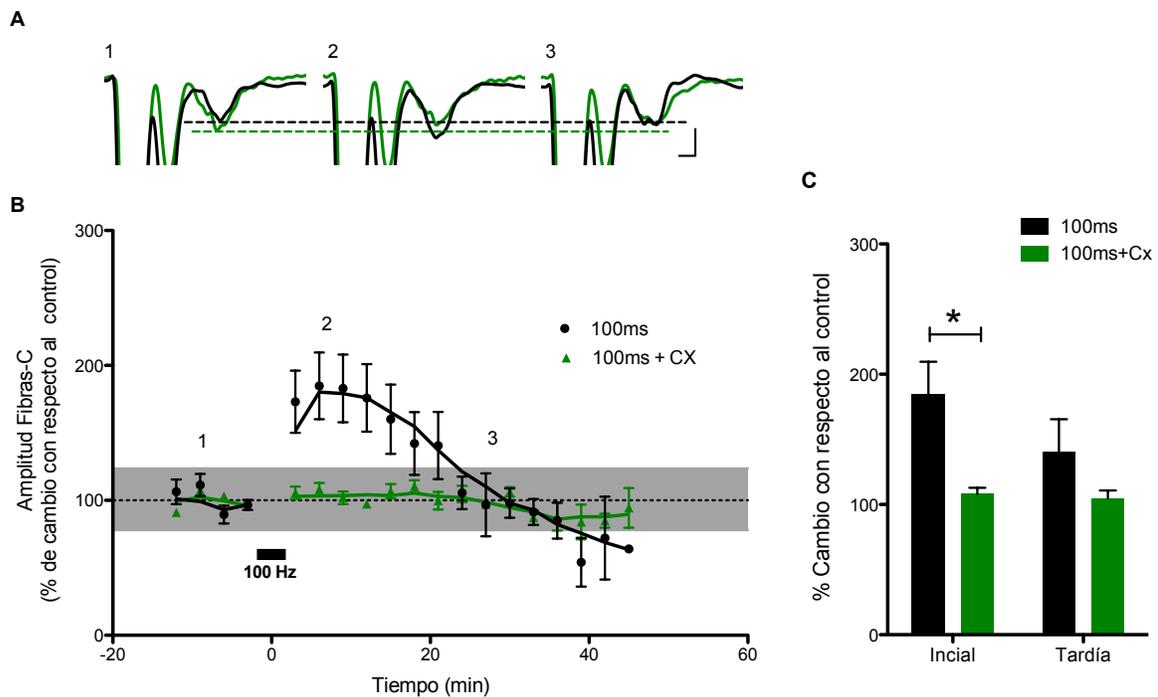


Figura 6.7: Efecto de la estimulación cortical sobre la potenciación post-tetánica de respuestas de fibras C provocada por un tren de 100 ms de duración. **A.** Trazos representativos del aumento de las respuestas después de un HFS al nervio ciático. Actividad basal (1), después del HFS (2) y 20 minutos después del tren (3). **B.** Curso temporal de la potenciación de las repuestas de fibras C después de un tren de 100 ms al nervio ciático. La amplitud de los potenciales de campo está expresada como porcentaje de cambio con respecto a la actividad basal. Las regiones en gris muestran los puntos que no difieren de la actividad previa al tren. Los puntos que sobresalen difieren significativamente de la actividad basal (Friedman,  $p < 0.05$ ). **C.** Porcentaje de cambio con respecto al control de las respuestas durante la fase Inicial y Tardía de la PPT. Mann-Whitney,  $*p < 0.05$ . Barras de calibración: 100  $\mu$ V, 20 ms.

### 6.3.3. Acción del bloqueo de receptores NMDA sobre la potenciación post-tetánica

Para determinar la influencia de los receptores postsinápticos en la potenciación post-tetánica, se aplicó CPP ( $10 \mu\text{M}$ ) en el baño de perfusión (Figura 6.8).

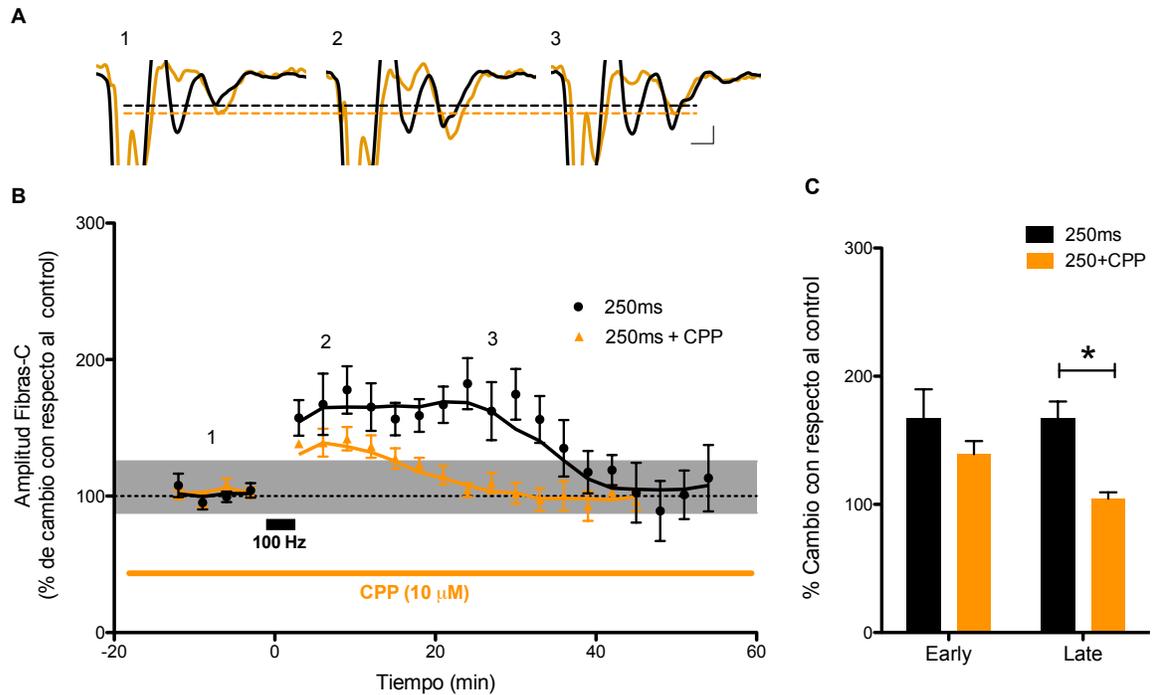


Figura 6.8: Influencia de la administración de CPP sobre la potenciación de las respuestas de fibras C producida por un tren de 250 ms. **A.** Trazos representativos del aumento en la amplitud de los potenciales de campo durante la actividad basal (1), después del HFS (2) y 20 minutos después del tren (3). **B.** Curso temporal del aumento de las respuestas después de un estímulo tetánico de 250 ms ( $n=8$ ) y en presencia de CPP ( $10 \mu\text{M}$ ;  $n=6$ ). La amplitud de las respuestas está expresada como el porcentaje de cambio con respecto a la actividad basal. Los valores que sobresalen de la región en gris se consideraron diferentes significativamente (Friedman,  $p < 0.05$ ). **C.** Incremento de las respuestas durante la fase Inicial y Tardía de la PPT. Mann-Whitney,  $*p < 0.05$ . Barras de calibración:  $100 \mu\text{V}$ , 20 ms.

Como control, se probó la potenciación post-tetánica con un tren de 250 ms de duración. Después del tren, las respuestas se potenciaron un  $178 \pm 17\%$  con respecto a la actividad basal y regresaron a sus niveles controles después de 30 minutos de la aplicación del HFS. Las respuestas se incrementaron durante la fase inicial de la PPT y se mantienen incrementadas durante la fase tardía (Figura 6.8C). Los mismos parámetros de estimulación pero en presencia

de CPP produjeron un incremento de  $139 \pm 10\%$  de las respuestas nociceptivas, con respecto al control, durante 20 minutos, después de lo cual las respuestas regresaron a sus niveles basales (Figura 6.8). En este caso, se observa que, si bien las respuestas se incrementaron durante la fase inicial de la PPT, éstas no permanecen incrementadas durante la fase tardía (Figura 6.8C).

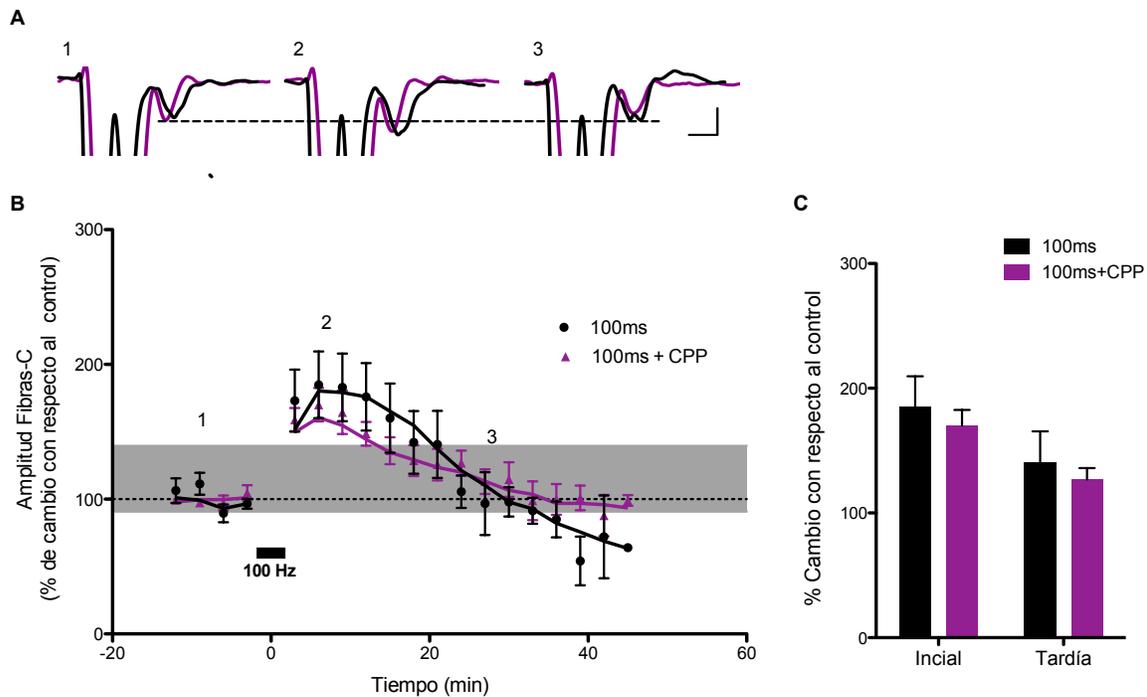


Figura 6.9: Potenciación de las respuestas de fibras C producida por un tren de 100 ms en presencia de CPP. **A.** Trazos representativos del aumento en la amplitud de los potenciales de campo durante la actividad basal (1), después del HFS (2) y 20 minutos después del tren (3). **B.** Curso temporal del aumento de las respuestas después de un estímulo tetánico de 100 ms ( $n=6$ ) y en presencia de CPP ( $10 \mu\text{M}$ ;  $n=6$ ). La amplitud de las respuestas está expresada como el porcentaje de cambio con respecto a la actividad basal. Los valores que sobresalen de la región en gris representan aquellos que difieren significativamente del control basal (Friedman,  $p < 0.05$ ). **C.** Aumento de las respuestas nociceptivas en la fase Inicial y Tardía de la PPT. Barras de calibración:  $100 \mu\text{V}$ , 20 ms.

Además, se evaluó la acción del CPP durante un tren de menor duración, 100 ms (Figura 6.9). Aquí se obtuvo que el incremento de las respuestas después de un tren de 100 ms ( $184 \pm 25\%$  durante 20 minutos) fue muy similar al incremento producido por el mismo tren en presencia

de CPP ( $170 \pm 12\%$  durante 20 minutos). En ambos casos, las respuestas se incrementaron durante la fase inicial de la PPT, aunque no permanecieron aumentadas durante la fase tardía (Figura 6.9C).

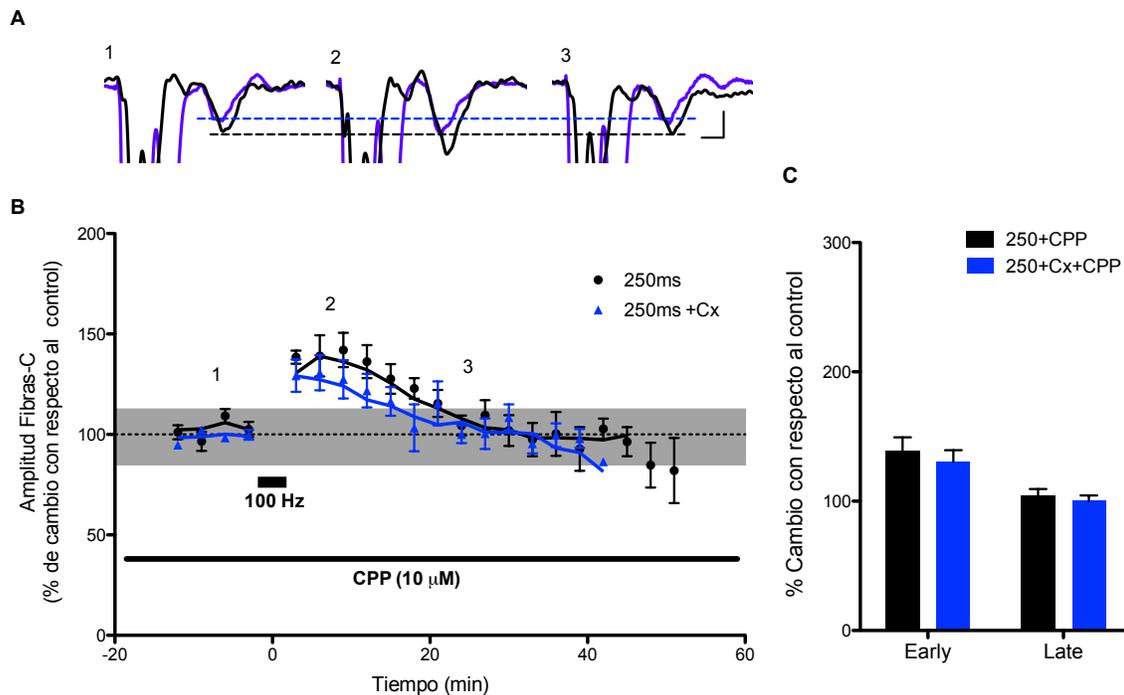


Figura 6.10: Efecto de la estimulación cortical sobre la potenciación de respuestas de fibras C en presencia de CPP. **A.** Trazos representativos del aumento en la amplitud de los potenciales de campo durante la actividad basal (1), después del HFS (2) y 20 minutos después del tren (3). **B.** Curso temporal del aumento de las respuestas después de un estímulo tetánico en presencia de CPP ( $10 \mu\text{M}$ ;  $n=6$ ) y durante la estimulación cortical en presencia de CPP ( $n=4$ ). La amplitud de las respuestas está expresada como el porcentaje de cambio con respecto a la actividad basal. Las regiones en gris muestran los valores que no difieren del control basal, mientras que los que sobresalen se consideraron diferentes significativamente (Friedman,  $p < 0.05$ ). **C.** Incremento de las respuestas nociceptivas durante la fase Inicial y Tardía de la PPT. Barras de calibración:  $100 \mu\text{V}$ , 20 ms.

También se evaluó la estimulación cortical sobre la PPT producida por un tren de 250 ms al NC, durante la administración intratecal de CPP. El HFS al NC produjo un aumento del  $139 \pm 10\%$  durante 20 minutos de las respuestas nociceptivas, en presencia del fármaco. La estimulación de la corteza de manera simultánea con el tren de alta frecuencia produjo un incremento de

130 ± 9% de las respuestas de fibras C. Esta potenciación tuvo una duración de 15 minutos. En presencia de CPP, la potenciación producida por un tren de 250 ms, así como la obtenida durante la estimulación cortical en las mismas condiciones, produce un incremento en la fase inicial de la PPT, el cual no se mantiene en la fase tardía (Figura 6.10C).

#### **6.4. Sitio de estimulación cortical**

Se obtuvieron los cerebros de los animales para confirmar el sitio de estimulación en la corteza (Figura 6.11). La ubicación de los electrodos se encontró en la corteza sensorimotora de la rata, según el atlas de Paxinos y Watson (1998). Además, en la mayoría de los experimentos, los electrodos de estimulación asociados al mayor efecto producido por la estimulación cortical se localizaron en la capa V cortical (Figura 6.11C).

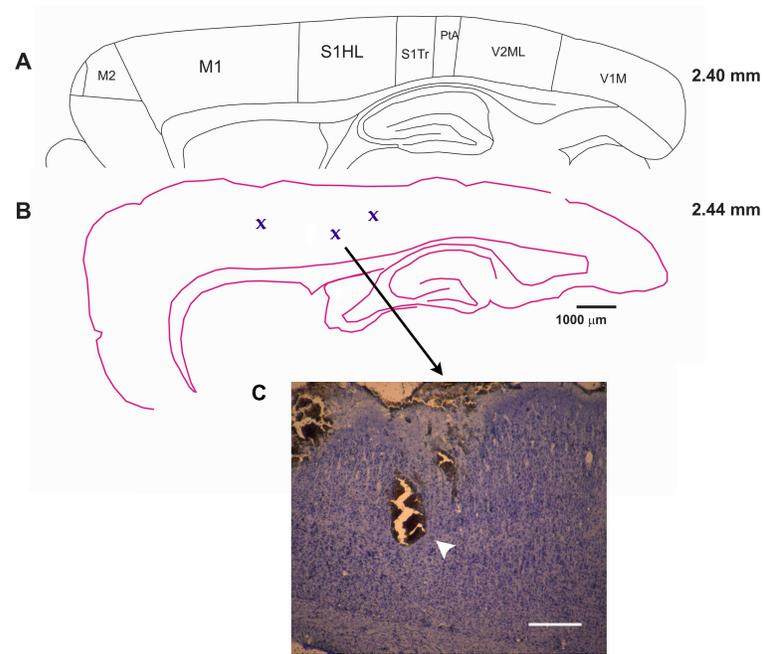


Figura 6.11: Sitio de ubicación de los electrodos de registro en la corteza sensorimotora. **A.** Esquema modificado del atlas de Paxinos y Watson (1998) a 2.40 mm de la línea media. **B.** Digitalización de un corte sagital de un cerebro de rata en donde se muestra la ubicación de 3 electrodos. **C.** Aumento 2.5x de la ubicación de un electrodo de registro en la corteza sensorimotora. La flecha blanca señala la ubicación de un electrodo. M1: corteza motora primaria; M2: corteza motora secundaria; S1HL: Región de las extremidades posteriores de la corteza somatosensorial primaria. S1Tr: Región del tronco de la corteza somatosensorial primaria. PtA: Corteza parietal de asociacion; V1M: Área monocular de la corteza visual primaria; V2ML: Área mediolateral de la corteza visual secundaria. Barra de calibración: 500  $\mu\text{m}$ .

## 7. Discusión

### 7.1. Sistemas endógenos de analgesia

La presencia de circuitos específicos de analgesia en el sistema nervioso central fueron propuestos a partir de las demostraciones de que la estimulación focal de la PAG mesencefálica produce efectos analgésicos lo suficientemente profundos para llevar a cabo una cirugía abdominal sin la administración de analgésicos exógenos (Reynolds, 1969). Las estructuras que conforman estos circuitos endógenos de analgesia constituyen un sistema integral que, de manera conjunta, modulan las respuestas nociceptivas a distintos niveles. Esto permite procesar y generar respuestas al estrés que posibilitan la confrontación ante un conoespecífico o el escape de un depredador, lo cual es vital para la supervivencia (McNally, 1999). Nuestro grupo de trabajo ha mostrado una interacción entre diferentes sistemas endógenos de analgesia, como los originados en los núcleos del rafé, el locus coeruleus y el NPV, que actúan como un sistema coordinado para asegurar la homeostasis en términos de una función analgésica (Condés-Lara et al., 2012; Rojas-Piloni et al., 2012). Por otro lado, se ha demostrado que la corteza cerebral es capaz de activar estos sistemas, por lo cual hay también un arreglo jerárquico de estos sistemas para mediar esta misma función (Pagano et al., 2010).

La estimulación cortical produce un decremento de las respuestas nociceptivas, tanto neuronales (Senapati et al., 2005a,b) como conductuales (Fonoff et al., 2009). Estos efectos analgésicos producidos por la estimulación cortical pueden explicarse de dos maneras. Por un lado, actúan a través de la interacción con otros sistemas endógenos, o bien, directamente a través de la proyección corticoespinal. Es así que se ha propuesto la participación de otros sistemas

endógenos en la modulación cortical. Por ejemplo, el sistema serotoninérgico que se origina en el BRV produce un efecto antinociceptivo importante a través de receptores 5-HT<sub>1A</sub> en la médula espinal (Viisanen y Pertovaara, 2010a). El decremento de respuestas nociceptivas, producido por la estimulación de la corteza, se reduce al bloquear reversiblemente el BRV, así como el bloqueo de receptores 5-HT<sub>1A</sub> en la médula espinal (Viisanen y Pertovaara, 2010a). Además, al evaluar la activación neuronal con el factor de transcripción, *c-fos*, se observa que la estimulación cortical es capaz de activar regiones como el PAG, la corteza cingulada anterior y la amígdala. Esto sugiere que la corteza activa tanto sistemas endógenos de analgesia como regiones límbicas, que participan en la parte afectiva del dolor (Pagano et al., 2010). En contraposición a estos resultados, nuestro grupo de trabajo ha explorado el papel del tracto corticoespinal sobre la modulación de las respuestas nociceptivas a nivel segmental. La estimulación cortical disminuye la amplitud de los EFP asociados a la activación de fibras C en el asta dorsal y este efecto inhibitorio es abolido al lesionar el tracto piramidal (Rojas-Piloni et al., 2010). En el presente trabajo mostramos que la estimulación cortical disminuye la amplitud de las respuestas nociceptivas, en intervalos de 15 a 30 ms entre el estímulo cortical y el inicio de las respuestas a fibras C. Conforme se aumenta este intervalo de tiempo, la disminución de las respuestas nociceptivas deja de ser importante (Figura 6.2). Además, la estimulación cortical produce un potencial intraespinal en el sitio de registro, el cual tiene un pico de máxima negatividad con una latencia de  $22.81 \pm 0.75$  ms, el cual coincide con los intervalos en donde se encuentra la mayor inhibición producida por la estimulación cortical (Figura 6.2). El potencial intraespinal es indicativo de la activación de neuronas en la médula espinal producida por un estímulo cortical. En efecto, si se lesiona el tracto corticoespinal, a nivel de las pirámides bulbares, este potencial ya no se presenta (Figura 6.1). Estos resultados sugieren que las células que se activan por la estimulación cortical podrían ser las responsables de la disminución de las respuestas nociceptivas observada en este trabajo.

## 7.2. Mecanismos de modulación cortical

A pesar de la abundancia de trabajos en donde se describen los efectos antinociceptivos producidos por la estimulación cortical, son pocos los grupos que se han enfocado a esclarecer

los mecanismos por los cuales esta inhibición podría llevarse a cabo. Aquí tratamos de dilucidar los mecanismos por los cuales la corteza modula las respuestas nociceptivas en la médula espinal de la rata.

### 7.2.1. Acción cortical sobre la PPT

El paso de información a través de una sinapsis es un proceso dinámico y puede ser modulado por el incremento o la disminución de la actividad a través de esa misma sinapsis. Un medio por el cual se modulan los patrones de respuesta de las células postsinápticas es la plasticidad de corta duración. Un ejemplo de esta forma de plasticidad es la PPT. La PPT se refiere al incremento de las respuestas después de un estímulo de alta frecuencia que puede durar desde segundos hasta varios minutos (Fioravante y Regehr, 2011). La duración de la PPT depende de la duración del tren de alta frecuencia; entre mayor es la duración del tren, mayor es el tiempo en que las respuestas permanecen incrementadas (Fioravante y Regehr, 2011). Aunque los mecanismos que subyacen la PPT no se han caracterizado por completo, este fenómeno se ha observado en muchas sinapsis del sistema nervioso. Quizás las más estudiadas, con respecto a esta forma de plasticidad, son la sinapsis del cáliz de Held (Habets y Borst, 2005; Lee et al., 2008), la sinapsis sensorimotora en *Aplysia* (Bao et al., 1997; Jin y Hawkins, 2003) y las sinapsis del hipocampo (Brager et al., 2003). Con base en estos trabajos, se cree que los mecanismos son principalmente presinápticos y dependen de una gran entrada de  $\text{Ca}^{+2}$  a las células. Incluso, en la sinapsis del cáliz de Held, se ha descrito una correlación entre el incremento en la concentración presináptica de  $\text{Ca}^{+2}$  con la duración de la PPT (Habets y Borst, 2005). Sin embargo, la entrada de  $\text{Ca}^{+2}$  no explica totalmente esta potenciación y se ha sugerido que el  $\text{Ca}^{+2}$  activa cascadas de señalización intracelular que regulan la duración de la PPT (Fioravante y Regehr, 2011). Así, también se ha descrito la participación de segundos mensajeros y cinasas dependientes de  $\text{Ca}^{+2}$ , como la calmodulina (CAM; Balakrishnan et al., 2010) y la proteína cinasa de calcio (PKC; Brager et al., 2003), además de otras proteínas sensibles a este ión (Fioravante y Regehr, 2011).

En este trabajo usamos un protocolo para producir PPT en las sinapsis entre fibras aferentes

nociceptivas y las neuronas de segundo orden en la médula espinal. De esta forma, mostramos que la duración de la PPT producida por un tren de alta frecuencia al NC (100 Hz) depende de la duración del estímulo. Así, un tren de 100 ms de duración produce un incremento de las respuestas nociceptivas durante 20 minutos. Un tren de 250 ms incrementa las respuestas de fibras C durante 30 minutos y un tren de 500 ms produce un aumento importante de las respuestas, las cuales no disminuyen hasta después de 1 hora de registro (Figura 6.5). Se usaron los trenes de 100 y 250 ms porque, si bien, las respuestas no se incrementaron de manera tan importante como en el tren de 500 ms, nos interesaba una potenciación de corta duración, más que una potenciación a largo plazo (PLP). La potenciación de las respuestas de fibras C producida por un tren de 250 ms produce un incremento de las respuestas similar al observado en otras sinapsis (Draganic et al., 2001; Jin y Hawkins, 2003; Habets y Borst, 2005). En estas condiciones, la estimulación cortical es capaz de modificar la dinámica de la PPT. Observamos que al estimular la corteza sensorimotora, junto con el tren de alta frecuencia, las respuestas se incrementan, pero sólo durante 20 minutos. El incremento de las respuestas no involucra la fase tardía de la PPT (Figura 6.6). Este decremento en el tiempo de potenciación puede deberse a dos efectos. Uno, que haya menor incremento presináptico de  $Ca^{+2}$  durante el tren de alta frecuencia, como sucedería con un tren de menor duración (100 ms). O bien, que se afecte la entrada de  $Ca^{+2}$  a la postsinapsis.

De hecho, la PPT se ha explicado también por la participación de la postsinapsis. En este sentido, Bao et al. (1997) inyectaron un quelante de  $Ca^{+2}$  en la célula postsináptica de la sinapsis sensorimotora de *Aplysia* y observaron una disminución en el porcentaje de incremento de las respuestas durante la PPT. En formas de plasticidad a largo plazo (PLP), un incremento sostenido de las respuestas depende de la activación del receptor NMDA en la postsinapsis. Así, para evaluar si la PPT producida por la estimulación del NC depende de receptores NMDA, en este trabajo se produjo la potenciación en presencia de CPP (antagonista del receptor NMDA). Aquí mostramos que la duración del incremento de las respuestas, producida por un tren de 250 ms, depende de la activación de receptores NMDA, ya que en presencia de CPP, las respuestas se incrementaron después del HFS, pero sólo durante la fase inicial de la PPT (Figura 6.8), lo cual indica que la fase tardía involucra la activación de receptores NMDA. Además,

el porcentaje de incremento de las respuestas fue menor, aunque no de manera significativa. Es así que se evaluó el efecto de la estimulación cortical sobre la PPT producida por un tren de estimulación de 250 ms en presencia de CPP. En este caso, se observó un incremento de las respuestas muy similar, en amplitud y duración, a la obtenida por el tren al NC en presencia del fármaco (Figura 6.10). Estos resultados sugieren que la corteza podría estar produciendo sus efectos también con la participación del receptor NMDA. De acuerdo con lo anterior, en el asta dorsal de la médula espinal, el receptor NMDA no sólo es expresado en las neuronas de segundo orden, también las fibras aferentes de bajo calibre (fibras A $\delta$  y C) expresan receptores NMDA presinápticos en sus terminales (Ma y Hargreaves, 2000; Bardoni et al., 2004). Estos canales participan en la liberación de glutamato (Bardoni et al., 2004) y otros neuropéptidos, como la SP (Liu et al., 1997), de las aferentes primarias. Por otro lado, se ha demostrado que el DRP en fibras delgadas, indicativo de DAP, es dependiente de receptores NMDA (Russo et al., 2000). Estos resultados indican que este receptor influye de manera importante en la transmisión de la información sensorial nociceptiva y en los fenómenos de plasticidad de corta duración como la PPT en el asta dorsal de la médula espinal. Esto hace que la administración del CPP no sea la manera más clara de evaluar el efecto cortical sobre la PPT producida por la activación de fibras C.

En nuestros experimentos, un tren de menor duración (100 ms) produce una PPT de corta duración, similar a la producida por un tren de estimulación de 250 ms en presencia de CPP (Figura 6.5A). Estas observaciones sugieren que el incremento de las respuestas por un tren de 100 ms no involucra la participación de la postsinapsis. Es así que usamos esta potenciación más corta para evaluar el efecto producido por la corteza. Nuestros resultados muestran que al estimular la corteza con este tren de menor duración, las respuestas no se incrementaron en absoluto (Figura 6.7); la estimulación cortical inhibe por completo la PPT producida por un tren de 100 ms. Esto sugiere que la corteza impide el establecimiento de la PPT cuando la duración del tren es muy corto. En este sentido, nuestros resultados proponen que la estimulación cortical podría producir un menor incremento de  $Ca^{+2}$  en la presinapsis durante el HFS. De esta manera, la corteza sensorimotora podría modular las respuestas nociceptivas a través de un mecanismo presináptico. Sin embargo, nuestros experimentos no nos permiten

descartar la posibilidad de que la corteza actúe también a nivel postsináptico. Es por esto que nuestro grupo de trabajo ha comenzado con otras aproximaciones experimentales. Así, se han hecho pruebas de excitabilidad de las fibras aferentes, donde se han analizado los potenciales antidrómicos producidos por la activación de las terminales de las aferentes del asta dorsal y registrados en nervios periféricos cutáneos. De esta manera, la estimulación de la corteza sensorimotora produce un incremento en la amplitud de los potenciales antidrómicos, lo cual es un indicativo de una DAP (Wall, 1958; Wall y Lidierth, 1997). Aunque todavía no nos es posible descartar un efecto postsináptico, estos resultados nos hacen afirmar con más certeza que la corteza modula las respuestas nociceptivas a través de un mecanismo presináptico.

### 7.2.2. Modulación cortical a través de GABA

La noción de que el GABA participa en la modulación de las respuestas nociceptivas en el asta dorsal de la médula espinal surgió a partir de las observaciones de que este neurotransmisor está presente en neuronas de las láminas superficiales (I-II de Rexed), así como en las dendritas y axones dentro de estas mismas láminas (Todd y McKenzie, 1989). Particularmente, Alvarez et al. (1992) encontraron botones presinápticos de axones GABAérgicos sobre fibras nociceptivas  $A\delta$ , lo que sugiere un control presináptico sobre estas aferentes. El GABA puede actuar sobre dos tipos de receptores: el receptor ionotrópico,  $GABA_A$ , y su receptor metabotrópico,  $GABA_B$ . Ambos receptores se han descrito en el asta dorsal de la médula espinal, y se localizan tanto en aferentes primarias como en neuronas de segundo orden, donde se encuentran modulando la transmisión de información, principalmente a nivel presináptico (Malcangio y Bowery, 1996). En este sentido, varios grupos han explorado el papel de estos receptores en la modulación de las respuestas nociceptivas. Por ejemplo, se ha visto que la administración de agonistas GABAérgicos, tanto muscimol para activar el receptor  $GABA_A$  (Dirig y Yaksh, 1995), como baclofeno, para el receptor  $GABA_B$  (Hammond y Washington, 1993; Dirig y Yaksh, 1995), tienen efectos antinociceptivos. Además, el GABA, cuando actúa a través de su receptor  $GABA_A$ , se ha implicado en un mecanismo de inhibición presináptica conocido como DAP, el cual participa en la regulación de la información transmitida por fibras aferentes

musculares y cutáneas rápidas (Vyklícký y Knotková-Urbancová, 1998). A raíz de esta observación surgió la propuesta de explorar el papel de este neurotransmisor en la inhibición de las respuestas nociceptivas mediada por la corteza sensorimotora, a través de la administración de picrotoxina y bicuculina (antagonistas del receptor GABA<sub>A</sub>). Nuestros resultados muestran que la administración de estos antagonistas elimina la inhibición producida por la estimulación cortical de manera reversible (Figuras 6.3 y 6.4). Las respuestas vuelven a ser inhibidas después del lavado de los fármacos (Figura 6.4). Las respuestas nociceptivas en la médula espinal están sujetas a un tono inhibitorio GABAérgico. Se ha mostrado que la administración de estos antagonistas eliminan este tono inhibitorio lo cual produce un incremento de las respuestas, asociado a condiciones nociceptivas alteradas como la alodinia y la hiperalgesia Daniele y MacDermott (2009). Es así que se comparó la amplitud de las respuestas nociceptivas control antes y después de la aplicación intratecal de los fármacos (Cuadro 6.1). La presencia de nuevos componentes produjo respuestas muy complejas después de la aplicación de los fármacos lo cual dificultó la medición de las respuestas de interés. Aún así, en nuestras condiciones experimentales no se observó un cambio significativo en la amplitud de estas respuestas. Esto sugiere que, aunque la administración de antagonistas del receptor GABA<sub>A</sub> abole el tono inhibitorio GABAérgico, en nuestros experimentos el efecto de esta administración participa sólo en el bloqueo de la inhibición producida por la estimulación cortical.

Nuestros resultados sugieren que la disminución de las respuestas producida por la estimulación cortical podría estar mediada de manera presináptica, a través de un mecanismo dependiente de receptores GABA<sub>A</sub> (Figura 7.1).

### 7.3. Aspectos funcionales

La proyección de los axones de células en la corteza cerebral a la médula espinal -el tracto corticoespinal- se ha descrito en todas las especies de mamíferos. A pesar de ello, el origen cortical de los axones que se proyectan a la médula espinal no es igual en todas las especies descritas. Además, la distribución de las terminales en la médula espinal también es distinta para diferentes especies. Estas diferencias sugieren que el tracto corticoespinal no es respon-

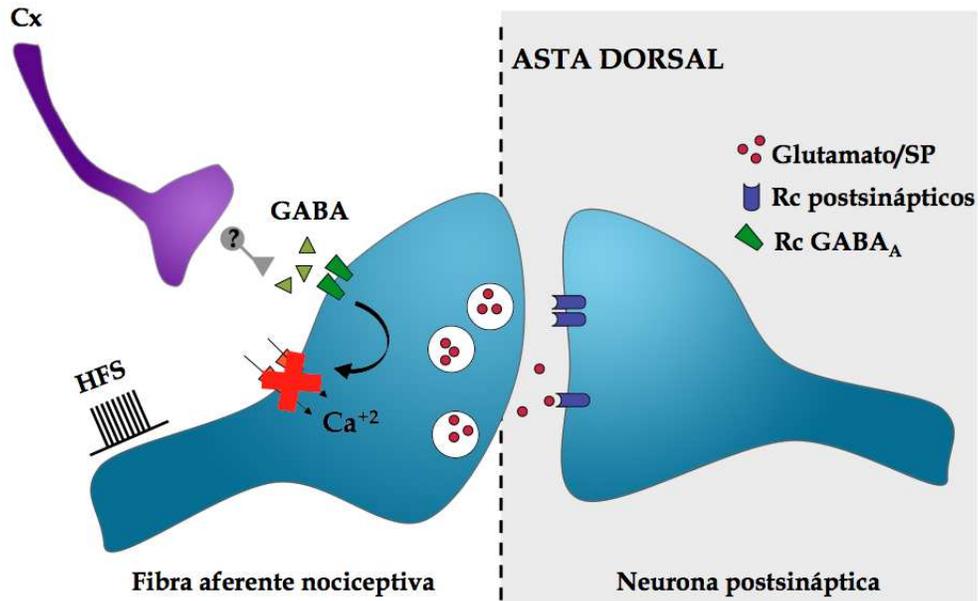


Figura 7.1: Mecanismo de acción de la corteza sensorimotora para modular las respuestas nociceptivas en el asta dorsal de la médula espinal. La estimulación cortical produce una disminución de las respuestas nociceptivas actuando a través de receptores  $GABA_A$  que reducen la entrada de  $Ca^{+2}$  a las fibras aferentes primarias.

sable de una sola función sino que conforma un sistema que tiene múltiples funciones, con una propiedad en común que es que la corteza regula la actividad de la médula espinal (Lemon y Griffiths, 2005). Quizás la función más conocida de este tracto es la de su participación en el control motor y en la ejecución de movimientos finos en primates y particularmente, en humanos. En estas especies, la proyección corticoespinal termina de manera importante en el asta intermedia, donde influye sobre interneuronas, y en algunos casos haciendo contactos directos con motoneuronas del asta ventral, donde participa directamente en la contracción de los músculos. Sin embargo, en la mayoría de las especies, los axones corticoespinales terminan de manera densa en el asta dorsal de la médula espinal. De manera particular, en los roedores las proyecciones corticoespinales son muy abundantes en esta región. Incluso, se ha mostrado que distintas poblaciones de neuronas piramidales de la corteza sensorimotora proyectan de manera diferencial al asta dorsal y al asta ventral, donde podrían estar ejerciendo sus efectos de forma específica en ambos destinos (Hurtado-Santiago, 2011). En el caso de la proyección al asta dorsal, este tracto participa en la modulación de la información aferente. En efecto, una lesión del tracto corticoespinal en estos animales no tiene un impacto

importante en la función motora, pero si en la discriminación sensorial (Brown, 1971). En este trabajo nos enfocamos en esta propiedad del tracto corticoespinal de modular la información sensorial aferente.

El asta dorsal de la médula espinal juega un papel muy importante en la regulación de la información sensorial (Kato et al., 2009). De hecho, este sitio recibe entradas de diversas fibras aferentes primarias que transmiten información de estímulos provenientes de la piel, de los músculos, de las articulaciones y de las vísceras. Es así que el asta dorsal contribuye al procesamiento de la información sensorial, donde se recibe la información, se integra y se transmite a diversas regiones supraespinales. Es por esto que el flujo de información a través de la primera sinapsis en la médula espinal está altamente regulada por interacciones inhibitorias que permiten incrementar la resolución espacial y temporal durante el procesamiento inicial de este tipo de información (Rudomín, 2009). La inhibición presináptica mediada por DAP contribuye al incremento del contraste sensorial que participa en la conformación de la información sensorial aferente (Russo et al., 2000). Incluso, se ha mostrado que la información que se transmite por una misma fibra aferente no lo hace de forma homogénea, sino que puede haber DAP en algunas colaterales, y en otras no, lo que indica una regulación local y selectiva en fibras aferentes específicas (Eguibar et al., 1997; Lomelí et al., 1998). De particular interés, tenemos que este control diferencial de inhibición presináptica está mediado por estructuras supraespinales, como la corteza motora (Eguibar et al., 1997). De esta manera, esta compartimentalización funcional participa en la dirección de la información a blancos específicos, lo cual permite la selección de la información dependiendo de la tarea que se va a realizar (Lomelí et al., 1998). Estas observaciones corresponden con lo que se ha visto en humanos en donde se han usado métodos no invasivos para medir los cambios en la inhibición presináptica de aferentes musculares al inicio de un movimiento voluntario. En este sentido, de manera anticipada a una contracción voluntaria, la inhibición presináptica se reduce en las aferentes que inervan el músculo que se va a contraer, mientras que la inhibición presináptica se incrementa en las fibras que inervan el músculo que no se contrae (Hultborn et al., 1987). Además, la estimulación de la corteza motora, así como la estimulación de aferentes cutáneas, reduce la inhibición presináptica producida por la entrada de aferentes musculares a una extremidad

(Iles, 1996). Estos resultados sugieren que al inicio de cada movimiento hay comandos descendentes, provenientes de la corteza motora, que son capaces de seleccionar la información sensorial para producir un movimiento adecuado (Eguibar et al., 1997).

Además de su participación en la ejecución de movimientos voluntarios, este control motor también se ha relacionado con el dolor. Es así que en humanos, durante la preparación de un movimiento voluntario, las respuestas provocadas por estimulación nociceptiva se reducen (Le Pera et al., 2007). De esta manera, la activación fisiológica del sistema motor modula la transmisión nociceptiva al asta dorsal (Le Pera et al., 2007), reflejándose un efecto analgésico en humanos (Brown y Barbaro, 2003). Esto sugiere que el sistema corticoespinal representa un sistema complejo de modulación que involucra la interacción entre el sistema motor y el somatosensorial en la médula espinal. Como se mencionó anteriormente, en este trabajo mostramos que la estimulación de la corteza sensorimotora de la rata es capaz de disminuir las respuestas nociceptivas producidas por la activación de fibras C cuando los intervalos entre la estimulación cortical y las respuestas de fibras C son cortos: de 15-30 ms. De esta manera, podríamos considerar que el sistema corticoespinal conforma un sistema de modulación rápido y de corto plazo, mediado por receptores GABA<sub>A</sub>. Estas observaciones están de acuerdo con lo sugerido por Seki et al. (2003), donde los receptores GABA<sub>A</sub> producen una inhibición presináptica de corta duración, como la que se requiere para la ejecución de tareas motoras específicas, como serían los movimientos de retirada ante un estímulo nociceptivo. Esto sugiere que la participación directa del tracto corticoespinal, más que producir un fenómeno de analgesia general, regula el paso de la información nociceptiva a través de sus canales sensoriales. De esta forma, es posible sugerir que durante la preparación de un movimiento voluntario se modula de manera selectiva el paso de la información sensorial, incluyendo la nociceptiva, y nuestras observaciones de que la inhibición producida por la corteza se llevan a cabo de manera presináptica contribuyen a esta propuesta.

Sin embargo, la analgesia producida por la estimulación cortical capaz de aliviar el dolor crónico en pacientes humanos no se explica por el efecto inhibitorio cortical de corta duración que observamos en este trabajo. En este caso, es adecuado pensar que la corteza participa en la

activación de otros sistemas endógenos de analgesia como el PAG y el BRV. La participación de estas áreas en la inhibición de respuestas nociceptivas producida por estimulación cortical se ha evaluado en modelos de dolor neuropático, como la ligadura del NC, que produce inflamación y dolor crónico (Pagano et al., 2010). Por el contrario, en el presente trabajo las respuestas nociceptivas se obtuvieron con las intensidades mínimas necesarias para producir estas respuestas, lo cual implica que estas respuestas puedan no ser interpretadas como dolor en sujetos no anestesiados. En este sentido, un estímulo nociceptivo breve requiere un movimiento de retirada para no causar daño al organismo por una exposición mayor. En cambio, cuando el estímulo nociceptivo es persistente, como en el caso del dolor neuropático, se requiere la activación del sistema analgésico para modular las respuestas nociceptivas de manera global y más a largo plazo, como la analgesia producida por la estimulación cortical en pacientes humanos.

En conclusión, podríamos pensar que la corteza sensorimotora conforma un sistema dual para modular las respuestas nociceptivas. Por un lado, una inhibición directa y de corta duración, mediada por el tracto corticoespinal, para producir los movimientos de retirada ante un estímulo nocivo. Por otro lado, la activación de otros sistemas descendentes, que integran los sistemas endógenos de analgesia, para producir una inhibición de las respuestas nociceptivas más a largo plazo (Figura 7.2).

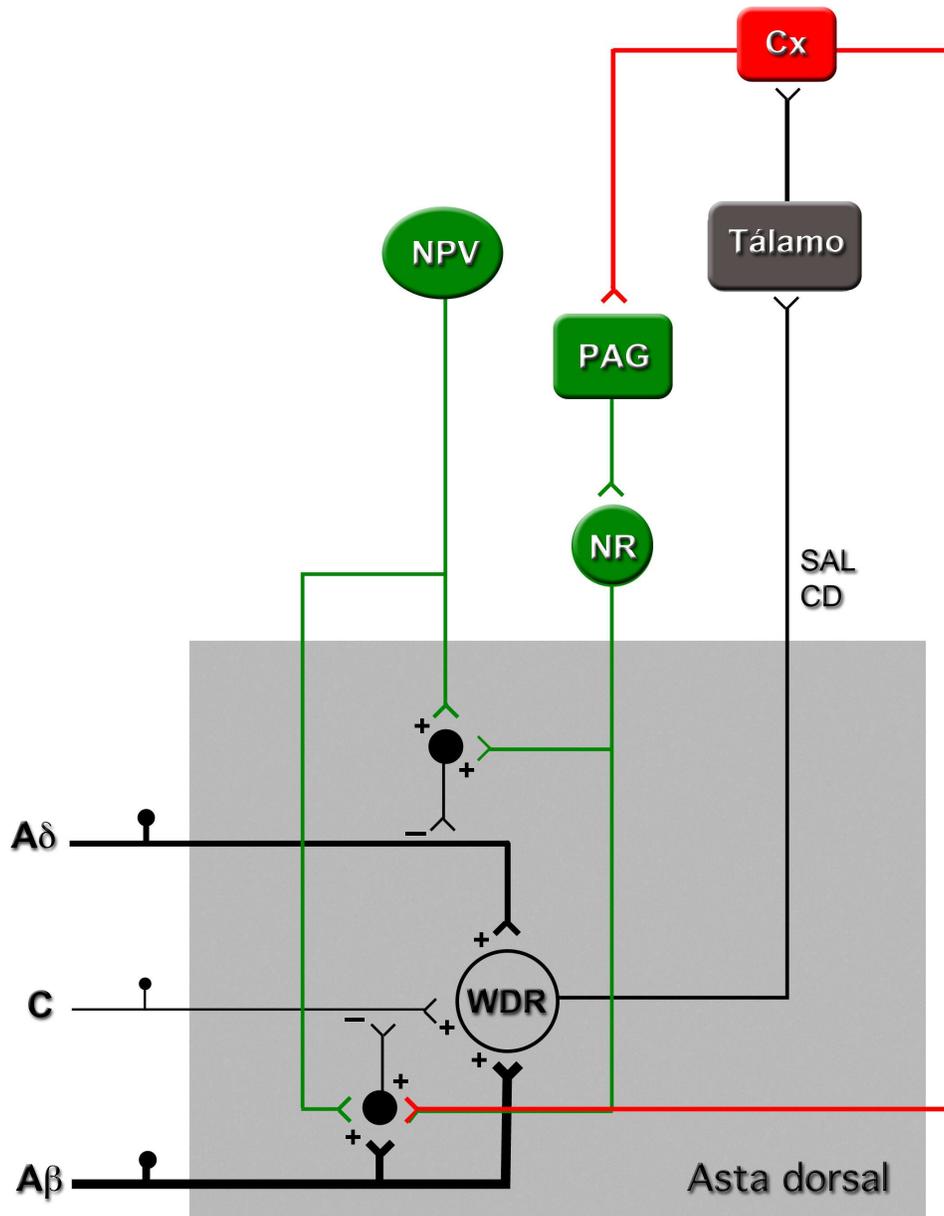


Figura 7.2: Sistema dual de modulación de la información nociceptiva mediada por la corteza sensorimotora. Los sistemas descendentes originados en el hipotálamo, en el área gris periaqueductal y en los núcleos del rafé inhiben las respuestas nociceptivas en la médula espinal (verde). La corteza sensorimotora (rojo) ejerce una acción sobre estos sistemas moduladores, aunque también puede actuar directamente sobre la médula espinal a través del tracto corticoespinal. La información aferente nociceptiva (negro) se transmite al asta dorsal, en donde estos sistemas tienen sus terminales. CD: Columnas dorsales; Cx: Corteza sensorimotora; NPV: Núcleo Paraventricular; NR: Núcleos del Rafé; PAG: Sustancia gris periacueductal; SAL: Sistema antrolateral; WDR: Neuronas de amplio rango dinámico. Esquema modificado de Melzack y Wall (1965).

## 8. Conclusiones

- La estimulación de la corteza sensorimotora disminuye la amplitud de los EFP asociados a la activación de fibras C en intervalos muy cortos de tiempo.
- La estimulación cortical reduce el tiempo de la PPT producida por un estímulo de 250 ms.
- La estimulación cortical abole el incremento de respuestas después de un HFS al NC con un tren de 100 ms.
- La administración de CPP reduce la amplitud y la duración de la PPT producida por un tren de 250 ms.
- La duración del incremento de las respuestas nociceptivas no cambia cuando se administra CPP con un tren de 100 ms.
- En presencia de CPP, la estimulación cortical no afecta la PPT obtenida con un tren de 250 ms.

## Bibliografía

- Almeida TF, Roizenblatt S, Tufiki S. 2004. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res.* 1000, 40-56.
- Alvarez FJ, Kavookjian AM, Light AR. 1992. Synaptic interactions between GABA-immunoreactive profiles and the terminals of functionally defined myelinated nociceptors in the monkey and cat spinal cord. *J. Neurosci.* 12(8), 2901-2917.
- Alvarez-Leefmans FJ, Nani A, Márquez S. Chloride transport, osmotic balance, and presynaptic inhibition. En: Rudomín, P., Romo, R., Mendell, L. (Eds.) 1998. *Presynaptic Inhibition and Neural Control*. Oxford University Press
- Andersen P, Eccles JC, Sears TA. 1963. Cortically evoked depolarization of the primary afferent fibers in the spinal cord. *J. Neurophysiol.* 27, 63-77.
- Balakrishnan V, Srinivasan G, von Gersdoff H. 2010. Post-tetanic potentiation involves the presynaptic binding of calcium to calmodulin. *J. Gen/ Physiol.* 136(3), 243-245.
- Bao JK, Kandel ER, Hawkins RD. 1997. Involvement of pre- and postsynaptic mechanisms in posttetanic potentiation at *Aplysia* synapses. *Science* 275, 969-973.
- Bardoni R, Torsney C, Tong CK, Prandini M, MacDermott AB. 2004. Presynaptic NMDA receptors modulate glutamate release from primary sensory neurons in rat spinal cord dorsal horn. *J. Neurosci.* 24(11), 2774-2781.
- Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. 2009. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 139, 267-284.

- Brager DH, Cai X, Thompson SM. 2003. Activity-dependent activation of presynaptic protein kinase C mediates post-tetanic potentiation. *Nat. Neurosci.* 6(6), 551-552.
- Brown LT. 1971. Projections and termination of corticospinal tract in rodents. *Exp. Brain Res.* 13, 432-450.
- Brown JA, Barbaro NM. 2003. Motor cortex stimulation for central and neuropathic pain: current status. *Pain* 104, 431-435
- Carpenter D, Lundberg A, Norrsell U. 1963. Primary afferent depolarization evoked from the sensorymotor cortex. *Acta Physiol. Scand.* 59, 126-142.
- Condés-Lara, M. 1978. Estimulación nociceptiva experimental. Tesis de Licenciatura. UNAM.
- Condés-Lara M, Rojas-Piloni G, Martínez-Lorenzana G, Rodríguez-Jiménez J, López Hidalgo M, Freund-Mercier MJ. 2006. Paraventricular hypothalamic influences on spinal nociceptive processing. *Brain Res.* 1081, 126-137.
- Condés-Lara M, Rojas-Piloni G, Martínez-Lorenzana G, Condés Diez-Martínez D, Rodríguez-Jiménez J. 2012. Functional interactions between the paraventricular hypothalamic nucleus and raphe magnus. A comparative study of an integrated homeostatic analgesic mechanism. *Neuroscience* 209, 196-207.
- Curtis DR. Two types of inhibition in the spinal cord En: Rudomín, P., Romo, R., Mendell, L. (Eds.) 1998. *Presynaptic Inhibition and Neural Control*. Oxford University Press.
- Daniele CA, MacDermott AB. 2009. Low-threshold primary afferent drive onto GABAergic interneurons in the superficial dorsal horn of the mouse. *J. Neurosci.* 29(3), 686-695.
- Dirig DM, Yaksh TL. 1995. Intrathecal baclofen and muscimol, but not midazolam, are antinociceptive using the rat-formalin model. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 275, 219-227.
- D'Mello R, Dickenson AH. 2009. Spinal cord mechanisms of pain. *Br. J. Anaesth.* 101(1), 8-16.
- Draganic P, Miletic G, Miletic V. 2001. Changes in post-tetanic potentiation of A-fiber dorsal horn field potentials parallel the development and disappearance of neuropathic pain after sciatic nerve ligation in rats. *Neurosci. Lett.* 301, 127-130.

- Drdla R, Sandkühler J. 2008. Long-term potentiation at C-fibre synapses by low level presynaptic activity in vivo. *Mol. Pain* 4, 18.
- Drdla R, Gassner M, Gingl E, Sandkühler J. 2009. Induction of synaptic long-term potentiation after opioid withdrawal. *Science* 325, 207-210.
- Eccles JC, Krnjević K. 1959. Presynaptic changes associated with post-tetanic potentiation in the spinal cord. *J. Physiol.* 149(2), 274-287.
- Eguibar JR, Quevedo J, Rudomín P. 1997. Selective cortical and segmental control of primary afferent depolarization of single muscle afferents in the cat spinal cord. *Exp. Brain Res.* 113, 411-430.
- Fetz EE. 1968. Pyramidal tract effects on interneurons in the cat lumbar dorsal horn. *J. Neurophysiol.* 31(1), 69-80.
- Fioravante D, Regehr WG. 2011. Short-term forms of presynaptic plasticity. *Curr. Opin. Neurobiol.* 21, 269-274.
- Fitzpatrick D. Pain En: Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, LaMantia A, McNamara JO, Williams SM. (Eds.) 2004. *Neuroscience*. Sinauer Associates.
- Fonoff ET, Dale CS, Pagano RM, Paccola CC, Ballester G, Teixeira MJ, Giorgi R. 2009. Antinociception induced by epidural motor cortex stimulation in naive conscious rats is mediated by the opioid system. *Behav. Brain Res.* 196, 63-70.
- Habets RLP, Borst GG. 2005. Post-tetanic potentiation in the rat calyx of Held synapse. *J. Physiol.* 564(1), 173-187.
- Hammond DL, Washington JD. 1993. Antagonism of L-baclofen-induced antinociception by CGP 35348 in the spinal cord of the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 234, 255-262.
- Heinricher MM, Tavares I, Leith JL, Lumb BM. 2009. Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. *Brain Res. Rev.* 60, 214-225.

- Hochman S, Shreckengost J, Kimura H, Quevedo J. 2010. Presynaptic inhibition of primary afferents by depolarization: observations supporting nontraditional mechanisms. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1198, 140-152.
- Hultborn H, Meunier S, Morin C, Pierrot-Deseilligny E, Shindo E. 1987. Changes in presynaptic inhibition of Ia fibers at the onset of voluntary contraction of homonymous and synergistic muscles in man. *J. Physiol.* 389, 757-772.
- Hurtado-Santiago E. 2011. Caracterización de las neuronas de la corteza sensoriomotora que proyectan al asta dorsal de la médula espinal. Tesis de maestría, UNAM.
- Ikeda H, Stark J, Fischer H, Wagner M, Drdla R, Jäger T, Sandkühler J. 2006. Synaptic amplifier of inflammatory pain in the spinal dorsal horn. *Science* 312, 1659-1662.
- Iles JF. 1996. Evidence for cutaneous and corticospinal modulation of presynaptic inhibition of Ia afferents from the human lower limb. *J. Physiol.* 491, 197-207.
- Jin I, Hawkins RD. 2003. Presynaptic and postsynaptic mechanisms of a novel form of homosynaptic potentiation at *Aplysia* sensory-motor neuron synapses. *J. Neurosci* 23(19), 7288-7297.
- Kandel ER, Siegelbaum SA. Transmitter release. En: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. 2000. *Principles of Neural Science*. McGraw Hill.
- Kato G, Kawasaki Y, Koga U, Uta D, Kosugi M, Yasaka T, Yoshimura M, Ji RR, Strassman AM. 2009. Organization of intralaminar and translaminar neuronal connectivity in the superficial spinal dorsal horn. *J. Neurosci.* 29(16), 5088-5099.
- Katz B, Miledi R. 1968. The role of calcium in neuromuscular facilitation. *J. Physiol.* 195, 481-492.
- Khasabov SG, López-García JA, Asghar AUR, King AE. 1999. Modulation of afferent-evoked neurotransmission by 5-HT<sub>3</sub> receptors in young rat dorsal horn neurones in vitro: a putative mechanism of 5-HT<sub>3</sub> induced anti-nociception. *Br. J. Pharmacol.* 127, 843-852.

- Knabl J, Witschi R, Hösl K, Reinold H, Zeilhofer UB, Ahmadi S, Brockhaus J, Marina S, Hess A, Brune K, Fritschy J, Rudolph U, Möhler H, Zeilhofer HU. 2008. Reversal of pathological pain through specific spinal GABA<sub>A</sub> receptor subtypes. *Nature* 451, 330-334.
- Le Pera D, Brancucci A, De Armas L, Del Percio C, Miliucci R, Babiloni C, Restuccia D, Rossini PM, Valeriani M. 2007. Inhibitory effect of voluntary movement preparation on cutaneous heat pain and laser-evoked potentials. *Eur. J. Neurosci.* 25, 1900-1907.
- Lee JS, Kim MH, Ho WK, Lee SH. 2008. Presynaptic release probability and readily releasable pool size are regulated by two independent mechanisms during posttetanic potentiation at the calyx of Held synapse. *J. Neurosci.* 28(32), 7945-7953.
- Lemon RN, Griffiths J. 2005. Comparing the function of the corticospinal system in different species: organizational differences for motor specialization? *Muscle Nerve* 32, 261-279.
- Light AR. 1992. The Initial Processing of Pain and its Descending Control: Spinal and Trigeminal Systems Pain and Headache, Vol. 12 Karger.
- Liu H, Mantyh PW, Basbaum AI. 1997. NMDA-receptor regulation of substance P release from primary afferent nociceptors. *Nature* 386, 721-724.
- Lomelí J, Quevedo J, Linares P, Rudomín P. 1998. Local control of information flow in segmental and ascending collaterals of single afferents. *Nature* 395, 600-604.
- Lloyd DPC. 1949. Post-tetanic potentiation of response in monosynaptic reflex pathways of the spinal cord. *J. Gen. Physiol.* 33(1), 147-170.
- Ma QP, Hargreaves RJ. 2000. Localization of N-methyl-D-aspartate NR2B subunits on primary sensory neurons that give rise to small-caliber sciatic nerve fibers in rats. *Neuroscience* 101(3), 699-707.
- Malcangio M, Bowery NG. 1996. GABA and its receptors in the spinal cord. *Trends Pharmacol. Sci.* 17(12), 457-462.

- McNally GP. 1999. Pain facilitatory circuits in the mammalian central nervous system: their behavioral significance and role in morphine analgesic tolerance. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23(8), 1059-1078.
- Melzack R, Wall PD. 1965. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150, 971-979.
- Pagano RL, Assis DV, Clara JA, Alves AS, Dale CS, Teixeira MJ, Fonoff ET, Britto LR. 2010. Transdural motor cortex stimulation reverses neuropathic pain in rats: A profile of neuronal activation. *Eur. J. Pain*15(3), 268e1-268e14.
- Parent A. 1996. Spinal cord: Fiber tracts. En: *Carpenter's Human Anatomy*. Williams & Wilkins.
- Paxinos G, Watson C. 1998. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York: Academic Press.
- Porrero C, Rubio-Garrido P, Avendaño C, Clascá F. 2010. Mapping of fluorescent protein-expressing neurons and axon pathways in adult and developing Thy1-eYFP-H transgenic mice. *Brain Res.*1345, 59-72.
- Reynolds DV. 1969. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. *Science* 164, 444-445.
- Robinson DA, Wei F, Wang GD, Li P, Kim SJ, Vogt SK, Muglia LJ, Zhuo M. 2002. Oxytocin mediates stress-induced analgesia in adult mice. *J. Physiol.* 540(2), 593-606.
- Rojas-Piloni G, Martínez-Lorenzana G, Condés-Lara M, Rodríguez-Jiménez J. 2010. Direct sensorimotor corticospinal modulation of dorsal horn neuronal C-fiber responses in the rat. *Brain Res.*1351, 104-114.
- Rojas-Piloni G, Rodríguez-Jiménez J, Martínez-Lorenzana G, Condés-Lara M. 2012. Dorsal horn antinociception mediated by the paraventricular hypothalamic nucleus and locus coeruleus: A comparative study. *Brain Res.* 1461, 41-50.
- Rudomín P. 2009. In search of lost presynaptic inhibition. *Exp. Brain Res.* 196, 139-151.
- Ruscheweyh R, Wilder-Smith O, Drdla R, Liu XG, Sandkühler J. 2011. Long-term potentiation in spinal nociceptive pathways as a novel target for pain therapy. *Mol. Pain* 7, 20.

- Russo RE, Delgado-Lezama R, Hounsgaard J. 2000. Dorsal root potentiation produced by a TTX-insensitive micro-circuitry in the turtle spinal cord. *J. Physiol.* 528, 115-122.
- Russo RE, Delgado-Lezama R, Hounsgaard J. 2007. Heterosynaptic modulation of the dorsal root potential in the turtle spinal cord *in vitro*. *Exp. Brain Res.* 117, 275-284.
- Sandkühler J. 2009. Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia. *Physiol. Rev.* 89, 707-758.
- Seki K, Perlmutter SI, Fetisov EE. 2003. Sensory input to primate spinal cord is presynaptically inhibited during voluntary movement. *Nat. Neurosci.* 6, 1309-1316.
- Senapati AK, Huntington PJ, Peng YB. 2005. Spinal dorsal horn neuron response to mechanical stimuli is decreased by electrical stimulation of the primary motor cortex. *Brain Res.* 1036, 173-179.
- Senapati AK, Huntington PJ, LaGrazie SC, Wilson HD, Fuchs PN, Peng YB. 2005. Electrical stimulation of the primary somatosensory cortex inhibits spinal dorsal horn neuron activity. *Brain Res.* 1057, 134-140.
- Sivilotti L, Woolf CJ. 1994. The contribution of GABA<sub>A</sub> and glycine receptors to central sensitization: disinhibition and touch-evoked allodynia in the spinal cord. *J. Neurophysiol.* 72(1), 169-179.
- Stanfield BB. 1992. The development of the corticospinal projection. *Prog. Neurobiol.* 38, 169-202.
- Todd AJ, McKenzie J. 1989. GABA-immunoreactive neurons in the dorsal horn of the spinal cord. *Neuroscience* 31(3), 799-806.
- Viisanen H, Pertovaara A. 2010a. Roles of the rostroventromedial medulla and the spinal 5-HT<sub>1A</sub> receptor in descending antinociception induced by motor cortex stimulation in the neuropathic rat. *Neurosci. Lett.* 476, 133-137.
- Viisanen H, Pertovaara A. 2010b. Antinociception by motor cortex stimulation in the neuropathic rat: does the locus coeruleus play a role? *Exp. Brain Res.* 201, 283-296.

- Vyklický I, Knotková-Urbancová H. Primary afferent depolarization and presynaptic inhibition. En: Rudomín P, Romo R, Mendell L. (Eds.) 1998. Presynaptic Inhibition and Neural Control. Oxford University Press
- Wang H, Konho T, Amaya F, Brenner GJ, Ito N, Allchorne A, Ji RR, Woolf CJ. 2005. Bradykinin produces pain hypersensitivity by potentiating spinal cord glutamatergic synaptic transmission. *J. Neurosci.* 25, 7986-7992.
- Wall PD. 1958. Excitability changes in afferent fibre terminations and their relation to slow potentials. *J. Physiol.* 142, 1-21.
- Wall PD. 1967. Laminar organization of dorsal horn and effects of descending impulses. *J. Physiol.* 188(3), 403-423.
- Wall PD, Lidiérth M. 1997. Five sources of a dorsal root potential: their interactions and origins in the superficial dorsal horn. *J. Neurophysiol.* 78(2), 860-871.
- Willis WD. 1999. Dorsal root potentials and dorsal root reflexes: a double-edged sword. *Exp. Brain Res.* 124, 395-421.
- Willis WD. 2006a. John Eccles' studies of spinal cord presynaptic inhibition. *Prog Neurobiol* 78, 189-214.
- Willis WD. Pharmacology of the spinal cord. En: Shimoji K, Willis WD. 2006b. Evoked Spinal Cord Potentials. Springer-Verlag.
- Witschi R, Punnakkal P, Paul J, Walczak JS, Cervero F, Fritschy JM, Kuner R, Keist R, Rudolph U, Zeilhofer HU. 2011. Presynaptic  $\alpha 2$ -GABA<sub>A</sub> receptors in primary afferent depolarization and spinal pain control. *J. Neurosci.* 31(22), 8134-8142.
- Woolsey CN, Larrabee MG. 1940. Potential changes and prolonged reflex facilitation following stimulation of dorsal spinal roots. *Am. J. Physiol.* 129, 501-502.
- Yang K, Ma H. 2011. Blockade of GABA<sub>B</sub> receptors facilitates evoked neurotransmitter release at spinal dorsal horn synapse. *Neuroscience* 193, 411-420.

- Yang K, Wang D, Li YQ. 2001. Distribution and depression of the GABA<sub>B</sub> receptor in the spinal dorsal horn of the adult rat. *Brain Res. Bull.* 55, 279-285.
- Yeziarski RP, Gerhart KD, Schrock BJ, Willis WD. 1983. A further examination of effects of cortical stimulation on primate spinothalamic tract cells. *J. Neurophysiol.* 49(2), 424-441.
- Yoshimura M, Furue H. 2006. Mechanisms for the Anti-nociceptive Actions of the Descending Noradrenergic and Serotonergic Systems in the Spinal Cord. *J. Pharmacol. Sci.* 101, 107-117.
- Zhang D, Owens CM, Willis WD. 1991a. Short-latency excitatory postsynaptic potentials are evoked in primate spinothalamic tract neurons by corticospinal tract volleys. *Pain* 45, 197-201.
- Zhang D, Owens CM, Willis WD. 1991b. Two forms of inhibition of spinothalamic tract neurons produced by stimulation of the periaqueductal gray and the cerebral cortex. *J. Neurophysiol.* 65(6), 1567-1579.
- Zimmermann M. 1983. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16, 109-110.

## Índice de figuras

2.1. Regulación de la información sensorial aferente . . . . .	8
2.2. Despolarización de aferentes primarias (PAD) . . . . .	10
2.3. Control descendente de la información nociceptiva . . . . .	15
6.1. Caracterización de las respuestas corticales obtenidas en la médula espinal . . . . .	28
6.2. Disminución de la amplitud de los potenciales de campo de fibras C producida por la corteza sensorimotora a diferentes intervalos de tiempo . . . . .	30
6.3. La disminución de las respuestas de fibras C no se observa en presencia de picrotoxina . . . . .	31
6.4. Los potenciales de campo asociados a la activación de fibras C no se inhiben en presencia de bicuculina . . . . .	32
6.5. Potenciación post-tetánica de las respuestas de fibras C producida por estímulos de alta frecuencia (HFS) con diferentes duraciones . . . . .	34
6.6. Efecto de la estimulación cortical sobre la potenciación de las respuestas de fibras C provocada por un HFS de 250 ms al nervio ciático . . . . .	36
6.7. Efecto de la estimulación cortical sobre la potenciación post-tetánica de respuestas de fibras C provocada por un tren de 100 ms de duración . . . . .	38
6.8. Influencia de la administración de CPP sobre la potenciación de las respuestas de fibras C producida por un tren de 250 ms . . . . .	39
6.9. Potenciación de las respuestas de fibras C producida por un tren de 100 ms en presencia de CPP . . . . .	40

6.10. Efecto de la estimulación cortical sobre la potenciación de respuestas de fibras C en presencia de CPP . . . . .	41
6.11. Sitio de ubicación de los electrodos de registro en la corteza sensorimotora . . .	43
7.1. Mecanismo de acción de la corteza sensorimotora para modular las respuestas nociceptivas en el asta dorsal de la médula espinal . . . . .	51
7.2. Sistema dual de modulación de la información nociceptiva mediada por la corteza sensorimotora . . . . .	55

# Índice de cuadros

2.1. Clasificación de las fibras aferentes primarias . . . . .	4
6.1. Efecto de la administración de anagonistas GABAérgicos sobre la amplitud de las respuestas nociceptivas . . . . .	33