



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIRECCIÓN DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN BIOLOGÍA ORAL**



**IMPACTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA NOCIVA TRIGEMINAL
BUCAL SOBRE LA MÉDULA ESPINAL LUMBAR EVALUADO
MEDIANTE LOS POTENCIALES EVOCADOS EN LA RATA**

AUTORA: MARIBEL CHAGÍN NAZAR

C.I: V- 4.453.833

VALENCIA, JUNIO 2014



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIRECCIÓN DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN BIOLOGÍA ORAL**



**IMPACTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA NOCIVA TRIGEMINAL
BUCAL SOBRE LA MÉDULA ESPINAL LUMBAR EVALUADO
MEDIANTE LOS POTENCIALES EVOCADOS EN LA RATA.**

Trabajo de Grado presentado para optar al Título de Magister en Biología Oral

**AUTORA: MARIBEL CHAGÍN NAZAR
TUTOR: ANTONIO EBLEN ZAJJUR**

VALENCIA, JUNIO 2014

AVAL DEL TUTOR

Dando cumplimiento a lo establecido en el reglamento de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo en su artículo 133, quien suscribe **ANTONIO EBLEN ZAJJUR** titular de la Cédula de Identidad N° **V- 12.030.014** en mi carácter de Tutor del **Trabajo de Magister** titulado:

“IMPACTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA NOCIVA TRIGEMINAL ORAL SOBRE LA MÉDULA ESPINAL LUMBAR EVALUADO MEDIANTE LOS POTENCIALES EVOCADOS EN LA RATA”.

Presentado por la ciudadano **MARIBEL CHAGÍN NAZAR** titular de la Cédula de Identidad N° **V-4.453.833**, para optar por el título de **MAGISTER EN BIOLOGÍA ORAL**, hago constar que dicho trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado examinador que se designe.

En Valencia a los veintisiete días del mes de Junio del año Dos Mil Catorce.

ANTONIO EBLEN ZAJJUR

C.I.: V-12.030.014

Se dedica este trabajo a:

A Dios; el gran amor de mi vida, mi compañero y guía, en cada paso que transito, a **EL**, este y todo mis éxitos.

A mis hijos Ulises, Víctor y María Victoria, mi alegría de vivir, fuerza motivadora y cuyo amor profundo me inspira a querer ser cada día mejor.

A mis amigas, colegas y compañeras; María Cristina, Daisy y Marxlenin, porque sin su apoyo nada habría sido igual.

Se agradece por su contribución para el desarrollo de esta tesis a:

Al Dr. Antonio Eblen-Zajjur, Médico Neurofisiólogo, Jefe del laboratorio de Neurofisiología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, gracias por confiar desde el primer momento en mí y guiarme como profesional y como persona. Gracias **“Tony”** por tu motivación, comprensión, paciencia, seriedad, responsabilidad y compromiso para conmigo, sin tu valiosa colaboración no hubiera sido posible la realización y culminación de la Tesis.

Al Profesor Cirilo Orozco, gracias por haberme permitido aprender de sus ganas de saber.

A la Coordinadora de la “Maestría en Biología Oral” amiga, confidente y compañera Alba Bolaños, gracias por confiar en mí.

A mis profesores de la Maestría, por ser ejemplo de profesionalismo, brindándome sus conocimientos y experiencias, permitiéndome lograr tan anhelada meta.

A **Marco Tulio Mérida** ideólogo de este gran proyecto, mi eterno agradecimiento (QEPD).

A todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron en la elaboración de este trabajo de grado.

Gracias a todos

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
Neurofisiología del dolor	2
Lesión Tisular y sopa inflamatoria	2
Dolor orofacial	4
Circuitos Neuronales Implicados en el Dolor Orofacial.	5
Proceso nociceptivo	9
Nociceptores	9
Médula Espinal	9
Asta Dorsal Medular	13
Modulación nociceptiva por neurotransmisores.	14
Fenómeno de Sensibilización y Potenciación.	15
Potenciales evocados somatosensoriales lumbares.	16
Objetivos	20
Objetivo general	20
Objetivos específicos	20
II. MATERIALES Y MÉTODOS	21
Tipo de Investigación y Sujeto experimental	21
Procedimiento quirúrgico	21
Estimulación Trigeminal o Sural	22
Registro Electrofisiológico	22
Protocolo experimental	22
Procesamiento Matemático y Estadístico	23
III. RESULTADOS	23
Potenciales Evocados Lumbares por estimulación Trigeminal	23
Comparación con los Potenciales Evocados Lumbares por estimulación Sural	24
Efecto de la estimulación eléctrica trigeminal de alta frecuencia.	25
IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	33
V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIRECCIÓN DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN BIOLOGÍA ORAL



IMPACTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA NOCIVA
TRIGEMINAL BUCAL SOBRE LA MÉDULA ESPINAL LUMBAR
EVALUADO MEDIANTE LOS
POTENCIALES EVOCADOS EN LA RATA.

RESUMEN

La vía trigeminal contribuye como entrada de señales al sistema de modulación del dolor, sin embargo, las características de dicha contribución se desconocen en detalle. Para averiguarlo, se utilizaron 5 ratas adultas, macho, anestesiadas (Tiobarbital $60\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$; i.p.), mantenidas a 37°C y laminectomizadas (T_{11} - L_5) para registrar durante 20min los potenciales evocados lumbares (PEL) ante estimulación eléctrica (25V ; $0,05\text{ms}$; $0,2\text{Hz}$) de la mucosa oral. Se promediaron 1200 PELs, observándose una onda negativa (N) inicial (latencia: $25,3\pm 3,8\text{ms}$; amplitud: $18,0\pm 2,3\mu\text{V}$; duración: $29,0\pm 3,8\text{ms}$; área bajo la curva $298,3\pm 39,4\mu\text{V}\cdot\text{ms}^{-1}$) seguida por una onda positiva (P) de menor amplitud y mayor duración ($47,4\pm 5,8\text{ms}$; $5,0\pm 1,4\mu\text{V}$; $16,0\pm 2,1\text{ms}$; $107,0\pm 10,5\mu\text{V}\cdot\text{ms}^{-1}$), ambas estables y con efecto graduado. La alta frecuencia de estimulación (AF; 5Hz ; 5 min) redujo mas intensamente la amplitud de la onda P ($-70,7\%$) que la onda N (hasta $56,4\%$) de los valores basales, con recuperación de ambas ondas. Estos resultados sugieren que la estimulación trigeminal induce una excitación sincrónica de las interneuronas del asta dorsal medular lumbar y la despolarización de aferentes primarios, lo que aporta evidencias de la acción pronociceptivaheterotópicatrigeminal sobre el ADM lumbar.

Palabras claves: Trigémino; Nocicepción; Asta Dorsal medular; Potenciales Evocados Espinales.



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIRECCIÓN DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN BIOLOGÍA ORAL**



**IMPACT OF NOXIOUS BUCAL TRIGEMINAL ELECTRICAL
STIMULATION ON LUMBAR SPINAL CORD EVALUATED BY
EVOKED POTENTIAL IN THE RAT**

ABSTRACT

Trigeminal contribution is part of the pain modulation system, however, detailed characteristics of such contribution are unknown. To this aim, 5 male, adult rats were used, anesthetized with (Thiobarbital 60mg.Kg⁻¹; i.p.) at 37°C and laminectomized (T₁₁-L₅) for recording the lumbar evoked potentials (LEP) by electrical trigeminal stimulation of the oral mucosa (25V; 0.05ms; 0.2Hz) for 20min. From an average of 1200 LEPs, an initial negative wave (N) was observe (latency: 25.3±3.8ms; amplitude: 18.0±2.3µV; duration: 29.0±3.8ms; area under the curve 298.3±39.4µV.ms⁻¹), followed by a positive wave (P) of lower amplitude and longer duration (47.4±5.8ms; 5.0±1.4µV; 16.0±2.1ms; 107.0±10.5µV.ms⁻¹), both waves were stable and with graduated effect. High frequency stimulation (5Hz; 5 min) induces amplitude reduction more intense for P wave (-70,7%) than for N wave (56,4%) from basal values, showing a restoration for both waves. These results suggest that the trigeminal oral stimulation induces a synchronous excitation in the lumbar spinal dorsal horn (SDH) interneurons (N wave), and a primary afferent depolarization (P wave), which describes original evidences for a trigeminal pronociceptive heterotopic action on the lumbar SDH.

Key Words: Trigemini, Heterotopic stimulation, Spinal Evoked potentials, Nociception, Spinal dorsal horn

INTRODUCCIÓN

El dolor orofacial es una de las dolencias más comunes y el que demanda más consultas con el odontólogo, según su localización se clasifica en odontogénico y no odontogénico, a esta última categoría pertenece el dolor de la mucosa bucal, presentándose entre un 12% y 14% en la consulta odontológica. La mucosa bucal forma parte del tracto digestivo superior y en ella puede producirse dolor asociado a enfermedades de origen local o sistémico (1,2).

La mucosa de la cavidad oral o mucosa bucal, recubre las paredes de las cavidades y espacios anatómicos, tapizando tanto las estructuras blandas como los huesos maxilares, incluyendo los rebordes óseos que soportan los órganos dentarios (rebordes alveolares) reaccionando en respuesta a lesiones locales, endógenas o exógenas, físicas (quemaduras térmicas y eléctricas, traumatismos), químicas y agentes infecciosos, entre otras muchas (1,2).

El dolor orofacial es muy complejo, entre las razones que explicarían su complejidad estarían: la complicada inervación orofacial (V par craneal o nervio Trigémino); la amplia representación cortical sensitiva de las estructuras orofaciales, la alta prevalencia de patología oral y las numerosísimas anastomosis neurológicas en esa zona (dolor reflejo referido a zona no lesionadas), además de las probables interconexiones entre áreas distantes del sistema nervioso central (1,2,3,4).

La percepción y la expresión del dolor trigeminal, como es el caso del dolor orofacial impacta intensamente al individuo y está determinado por el grado de atención, el estado emocional, la cognición, la personalidad y las condiciones de vida del paciente entre otras; que se expresan mediante complejas interacciones entre los impulsos nociceptivos en las vías ascendentes y la activación de sistemas de modulación descendentes (3,4,5,6).

El dolor es una experiencia sensorial y emocional, displacentera, que se asocia a daños reales o potenciales del organismo. El dolor agudo representa un sistema de alerta, sobre la existencia de una noxa, que es necesario diagnosticar y tratar (3,4,5,6). Es una manifestación y signo indicador de lesión producida por un agente externo o por la presencia de procesos nocivos en el organismo que también sirve para localizar la zona afectada y como mecanismo protector que inicia una acción refleja que permite la eliminación o el alejamiento del órgano o de la parte afectada de la fuente de la lesión (3).

Neurofisiología del dolor.

Lesión tisular y la sopa inflamatoria.

La ruptura celular constituye el común denominador del daño tisular de cualquier etiología, el vaciado del medio intracelular en el medio extracelular, incrementa en este último el potasio (K^+), principal catión intracelular, y el hidrogenión (H^+) dada la hipoxia asociada. A esto se añade la histamina liberada por los mastocitos, y la serotonina liberada por las plaquetas, que al igual que las otras células son atraídos por factores quimiotácticos tisulares, varias citocinas, factores tróficos y prostaglandinas del grupo E, conformando la llamada sopa inflamatoria (3,5,6).

Los canales ionotrópicos para el sodio y/o calcio de la membrana de los nociceptores, son activados generando un influjo catiónico gracias a sus gradientes de concentración, inundando así el medio intracelular y despolarizando a los nociceptores. El hidrogenión es un factor permisivo para la acción de los restantes elementos de la sopa inflamatoria además de favorecer la aparición de radicales libres como el radical superóxido, capaces de generar la peroxidación lipídica de la membrana celular, lesionar mitocondrias, promover la liberación de neurotransmisores excitatorios e inhibir su recaptación (5,6). El potasio, por su parte, al incrementar su concentración extracelular contribuye grandemente a la

despolarización de los nociceptores y al incremento de su actividad eléctrica tanto basal como evocada por los estímulos nocivos al punto que, los estímulos nocivos, también son capaces de superar los umbrales de descarga con reclutamiento de las neuronas adyacentes (3,4,5,6).

Cuando se ocasiona lesión o trauma directo del tejido por estímulos mecánicos, térmicos o químicos se produce daño celular, desencadenándose una serie de eventos que conllevan a la activación de terminales nociceptivos aferentes con liberación de potasio, síntesis de Bradiquinina (BK) del plasma, y síntesis Prostaglandina (PG) en la región del tejido dañado, los cuales aumentan la sensibilidad del terminal a la Bradiquinina y otras sustancias productoras del dolor (7,8).

Posteriormente ocurre activación secundaria por impulsos antidrómicos en nociceptores aferentes primarios que se propagan no sólo a la médula espinal sino que lo hacen a otras ramas terminales donde ellas inducen la liberación de péptidos incluyendo sustancias P (SP) la cual está asociada con aumento en la permeabilidad vascular y va a ocasionar liberación marcada de Bradiquinina con un incremento en la producción de Histamina desde los mastocitos y de la serotonina desde las plaquetas; ambos son capaces de activar poderosos nociceptores. La liberación de Histamina combinada con liberación de sustancia P aumenta la permeabilidad vascular. El aumento local de Histamina y Serotonina, por la vía de activación de nociceptores ocasiona un incremento de la sustancia P que autoperpetúa el ciclo ocasionado por el desarrollo en cada región de fibras nerviosas nociceptivas aferentes en el tejido dañado (8). Los niveles de Histamina y 5-HT (Serotonina) aumentan en el espacio extracelular; sensibilizando secundariamente a otros nociceptores y es lo que produce la Hiperalgnesia (5,6,8).

Dolor orofacial

Se han descrito dos clases de dolor: el dolor nociceptivo que resulta de la activación de los nociceptores en los tejidos, como respuesta a los estímulos de injuria o daño. Usualmente el tejido lesionado se encuentra acompañado de procesos inflamatorios. Por otra parte, el dolor neuropático, es producido por daño directo en las vías por las cuales transcurren las sensaciones dolorosas, como la lesión del nervio periférico, o por el daño de las diferentes centros nociceptivos como la médula espinal, el tallo cerebral, el talámo, la corteza cerebral, entre otros (9).

El dolor orofacial es uno de los tipos de dolor más comunes y el dolor de la mucosa bucal representa un tipo de dolor orofacial presentándose entre un 12% y 14% entre la población. La mucosa de la vía aerodigestiva superior y en particular la mucosa de la cavidad oral, recubre las paredes de las cavidades y espacios anatómicos que conforman esa parte de la economía, tapizando tanto las estructuras blandas como los huesos maxilares, incluyendo los rebordes óseos que soportan los órganos dentarios (rebordes alveolares). Existen también múltiples anomalías o enfermedades de la mucosa bucal de las más diversas causas asociadas a dolor orofacial entre las cuales se describen con mayor frecuencia: a) Trastornos inflamatorios, b) Enfermedades infecciosas, c) Trastornos inmunitarios, d) Lesiones tumorales benignas, premalignas o malignas, sin embargo, poco se sabe de los mecanismos fisiopatológicos del dolor e inflamación de la mucosa bucal y de los mecanismos centrales asociados a estas patologías (2,3).

La percepción y la expresión del dolor trigeminal, como es el caso del dolor orofacial impacta intensamente al individuo y está determinado por el grado de atención, el estado emocional, la cognición, la personalidad y las condiciones de vida del paciente entre otras; que se expresan mediante complejas interacciones entre los impulsos nociceptivos en las vías ascendentes y la activación de sistemas de modulación descendentes (5,6,9,10,11).

Circuitos Neuronales Implicados en el Dolor Orofacial.

El dolor orofacial por los circuitos implicados, es uno de los dolores más intensos y desagradables que se presenta en el organismo (2,3,12). El V Par o Nervio Trigémico: conduce la Sensibilidad General del Rostro y la Cabeza (todo lo anterior al pabellón auricular) e inerva los músculos de la masticación. Es el nervio craneal más grande y contiene fibras motoras y sensitivas proporcionando la inervación somatosensorial de los 2/3 anteriores de la cara y la inervación motora de ocho músculos branquiales, de los cuales cuatro son esenciales en la masticación (Tabla 1), (3,12).

El nervio trigémico está formado por fibras que provienen de cuatro grupos nucleares: Núcleo Espinal, Núcleo Sensitivo Principal, Núcleo Mesencefálico y Núcleo Motor. Su ganglio se denomina Semilunar. Gasser o Trigeminal y es netamente sensitivo. Posee en su interior Neuronas Pseudomonopolares equivalentes al ganglio de la raíz dorsal medular.

El Ganglio Trigeminal yace dentro de un saco de duramadre llamado caverna trigeminal (de Meckel) desde donde recibe sus 3 ramos: Nervio Oftálmico (V1), Nervio Maxilar (V2) y el Nervio Mandibular (V3), Fig. 1, (3,12).

Las proyecciones centrales del nociceptor son mayoritariamente fibras A δ recogiendo estímulos (tacto, dolor, presión y temperatura), forman las tres grandes raíces (oftálmica, maxilar y mandibular) del V par craneal sensitivo. Todas confluyen al ganglio del V par sensitivo para formar el nervio trigémico que se extiende hasta la protuberancia.

La primera neurona de la vía aferente nociceptiva orofacial es pseudomonopolar. Su cuerpo está localizado en el ganglio del V (Gasser o ganglio

trigémimo) ubicado sobre la cara anterosuperior de la roca o peñasco del temporal (3,12).

Inervación dada por el V par

Cada división inerva una zona específica de la cara, con pequeñas áreas de superposición de los dermatomas.

División Oftálmica	Sensitiva	Córnea Piel de la Frente Cuero Cabelludo Párpados Nariz Mucosa de los Senos Paranasales Cavidad Nasal	Fisura Orbitaria Superior
División Maxilar	Sensitiva	Piel sobre el maxilar Dientes del maxilar superior Mucosa Nasal Seno Maxilar y Paladar	Agujero Redondo
División Mandibular	Sensitiva	Piel de la mejilla Mandíbula Dientes del Maxilar Inferior Articulación Temporo-Mandibular Mucosa de la Boca Porción Anterior de la Lengua	Agujero Oval
	Motora	Músculos de la Masticación Milohioideo Ventre Anterior del Digástrico Tensor del Velo del Paladar Tensor del Tímpano.	

Tabla 1. Distribución en ramas y subramas de inervación sensitiva y motora del V par. Tomado de Wilson y Col. (12)

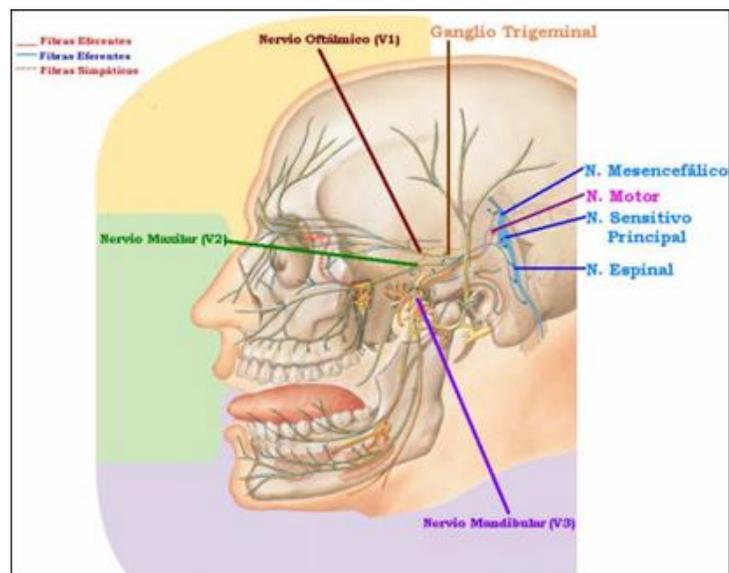


Fig. 1. Distribución del nervio trigémino (V1: rama oftálmica; V2: nervio maxilar superior; V3: nervio maxilar inferior) Tomado de Wilson y Col. (12)

La segunda neurona con característica pseudomonopolar, es llamada neurona tallo talámica. Tienen sus cuerpos en la protuberancia donde forman los siguientes núcleos: a) Núcleo Sensitivo Principal que se ubica lateralmente al núcleo motor, en la porción posterior del puente, recibiendo sensibilidad táctil epicrítica y algo de protopática de la porción anterior de la cabeza (3,12); b) Núcleo del Tracto Espinal, se extiende a lo largo de todo el bulbo hasta mezclarse con la sustancia gelatinosa de C₁ y C₂. Recibe sensibilidad exteroceptiva (dolor, temperatura y tacto) presenta organización somatotópica. Posee subnúcleos: oral (tacto de mucosa oral), interpolar (dolor dental) y caudal siendo equivalente a la sustancia gelatinosa de Rolando del ADM procesando dolor y temperatura (3,12).

Las sensaciones de dolor y temperatura orofacial, en cambio, llegan al núcleo de la raíz descendente (Fig. 2). Las fibras que salen de este núcleo descienden primero hacia el bulbo raquídeo, luego recurren y ascienden hasta el tálamo. En ese trayecto forman el lemnisco trigeminal situado por delante del lemnisco medial de la vía del cordón posterior que lleva las sensaciones finas somáticas (del resto del cuerpo: cuello hacia abajo). Estos circuitos neuronales, llamados vía lemniscal y vía lemnisco-trigeminal, por estar conformadas por fibrasmielinizadas son las encargadas de conducir las sensaciones finas, las cuales se caracterizan por permitir captar pequeñísimas variaciones en la amplitud del estímulo y lograr una perfecta ubicación en el lugar estimulado (3,12).

Las neuronas tálamocorticales con entrada trigeminal se proyectan a diferentes sitios de la corteza cerebral somestésica y descendentes a hipotálamo, sistema límbico, amígdala, hipocampo y sistema reticular; unos excitatorios y otros inhibitorios. De esta integración neuronal perfecta resulta lo que conocemos como la modulación del dolor. Estos circuitos descargan la información en un orden perfecto, a una velocidad y frecuencia adecuada para no sólo percibir la sensación de dolor sino también desencadenar las cinco respuestas fisiológicas al dolor.

La corteza cerebral postcentral interpreta y localiza el dolor y su intensidad dependiendo de la suma algebraica de estímulos excitatorios e inhibitorios que le lleguen. En el homúnculo sensorial de la corteza cerebral somestésica, la cara y en especial los labios, mucosa bucal, lengua y dientes tienen una gran superficie de representación, esto sumado a la gran densidad de receptores periféricos hacen de la cara y boca la parte más sensible del cuerpo humano (3,12).

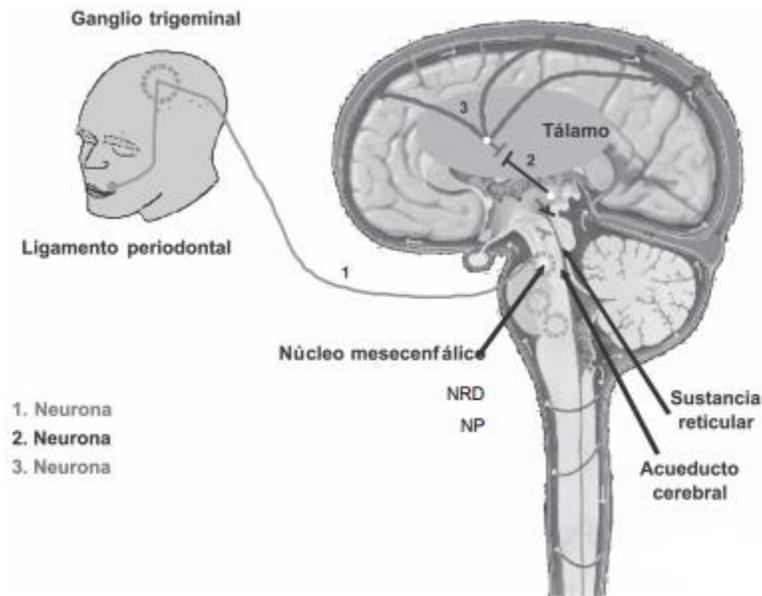


Fig. 2. Vía del dolor orofacial con conectividad en el tallo cerebral y proyecciones talamo-corticales. Tomado de Wilson y Col. (12).

El gran impacto sistémico del dolor orofacial queda demostrado con los devastadores efectos de la neuralgia trigeminal en la cual el dolor es tan intenso que induce respuestas patológicas en los miembros inferiores (3,12) pero a pesar del detallado trazado anatómico de la viatrigeminal y del dolor orofacial, no ha sido descrito hasta la presente fecha una vía funcional directa (corta latencia) y descendente entre el sistema sensorial trigeminal y el ADM.

Proceso Nociceptivo.

Nociceptores

Los nociceptores son los receptores periféricos del dolor que por medio de neurotransmisores envían sus mensajes hacia la vía central. Su principal función es diferenciar los estímulos inocuos de los lesivos, esta función la realizan ignorando los estímulos de baja intensidad y codificando el estímulo lesivo dentro de un rango de intensidades y transmitiéndolo al SNC. Histológicamente son terminaciones periféricas de las neuronas monopolares que tienen su soma en los ganglios raquídeos y cuyo axón centrípeto penetra en el asta dorsal de la médula espinal, mediante fibras del tipo A δ (mielinizadas, de 1-5 μm y velocidad de conducción entre 4 a 30 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) y C (amielínicas, de 0,3 a 1,5 μm y velocidad de conducción entre 0,4 a 2 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) estas son más numerosas, están asociadas a nociceptores polimodales es decir sensibles a estímulos térmicos, mecánicos y químicos (13).

Médula Espinal

La vía neuroanatómica y neurofisiológica de la nocicepción se inicia periféricamente en tejidos donde una población celular lesionada de cualquier forma, genera una modificación en el microambiente de las células nociceptoras, desencadenando una compleja secuencia de eventos que engloban al aferente primario, al ganglio de la raíz posterior, al asta dorsal medular y al resto de la vía nociceptiva(5). El asta dorsal de la médula espinal juega un rol crítico en la organización de las respuestas a los estímulos sensoriales, ya que contiene las neuronas que integran y transmiten la información somatosensorial que entra a la médula espinal desde las neuronas sensoriales en la periferia a los objetivos centrales (3,5,6).

La médula espinal no es una simple estación de relevo sináptico en la transmisión de la nocicepción, si no que representa un lugar de importantes interacciones entre los componentes aferentes periféricos, los sistemas inhibitorios

descendientes supraespinales y las propias neuronas medulares. El resultado final de estas interacciones permitirá que un impulso nociceptivo pueda seguir su curso hacia porciones superiores o sea total o parcialmente bloqueado. La información sensorial nociceptiva que ingresa al asta dorsal medular (AD) a través de fibras aferentes primarias (AP), establece conexiones sinápticas con tres tipos de neuronas: las de proyección supraespinal cuyo blanco es el tálamo y la formación reticular; las neuronas propioespinales que proyectan a otros segmentos de la médula espinal y las interneuronas medulares localizadas en el mismo segmento. Todas ellas poseen características excitatorias o inhibitorias (3) e integran, en las diferentes láminas del AD, circuitos donde sus propiedades celulares concurren con las vías moduladoras supraespinales descendentes y/o las vías propioespinales, ejerciendo una potente modulación ya sea excitatoria o inhibitoria de la experiencia nociceptiva (3,4,5,6).

La médula espinal es el mayor punto de reflejos y vía de conducción entre el cuerpo y el cerebro. Esta estructura cilíndrica, ligeramente aplanada por la parte posterior y por la parte anterior, está protegida por las vértebras, sus ligamentos y músculos asociados, las meninges espinales y el líquido cefalorraquídeo (LCR). En los adultos, la médula espinal mide entre 42 y 45 cm de longitud y se extiende desde el foramen magno en el hueso occipital hasta el nivel de las vértebras L1 y L2. La médula espinal se extiende en dos zonas en relación con la inervación de los miembros. El ensanchamiento cervical se extiende a través de los segmentos C4 y T1 de la médula espinal y la mayor parte de los ramos anteriores de los nervios espinales que surgen de éste forman el plexo nervioso branquial que inervan los miembros superiores. El ensanchamiento lumbosacro (lumbar) se extiende desde los segmentos T11 al S1 de la médula espinal, inferior por donde la médula continúa disminuyendo hasta el cono medular (14). En secciones transversales de la médula espinal, la sustancia gris aparece como un área con forma de H, rodeada por una matriz de

sustancia blanca. Los puntos de apoyo de la H son las astas; es así que existen astas derechas e izquierdas, anteriores (ventrales) y posteriores (dorsales) (14).

El asta dorsal de la médula espinal juega un rol crítico en la organización de las respuestas a los estímulos sensoriales, ya que contiene las neuronas que integran y transmiten la información somatosensorial que entra a la médula espinal desde las neuronas sensoriales en la periferia a los objetivos centrales (15). La información sensorial nociceptiva que ingresa al asta dorsal medular (AD) a través de fibras aferentes primarias (AP), establece conexiones sinápticas con tres tipos de neuronas: las de proyección supraespinal cuyo blanco es el tálamo y la formación reticular; las neuronas propioespinales que proyectan a otros segmentos de la médula espinal y las interneuronas medulares localizadas en el mismo segmento. Todas ellas poseen características excitatorias o inhibitorias (3,16) e integran, en las diferentes láminas del AD, circuitos donde sus propiedades celulares concurren con las vías moduladoras supraespinales descendentes y/o las vías propioespinales, ejerciendo una potente modulación ya sea excitatoria o inhibitoria de la experiencia nociceptiva (3,4,5,6). Sobre una misma neurona de proyección supraespinal pueden converger aferentes viscerales y cutáneos, lo que explica el dolor referido del infarto de miocardio, cólico biliar y litiasis renal.

La teoría de la compuerta de Melzack y Wall, postula un circuito medular con fibras gruesas mielínicas (tacto) con prioridad de proyección supraespinal sobre las fibras delgadas amielínicas (dolor). Este es el fundamento del dolor por desaferenciación de fibras gruesas y métodos terapéuticos como la estimulación eléctrica nerviosa transcutánea (TENS) (3,4,5,6).

La activación de gran número de sinapsis, inicialmente inactivas y el reclutamiento neuronal intra y extra segmentario explica la expansión de los campos receptivos, es decir el incremento del área dolorosa. Ante un estímulo

nocivo persistente, la neurona va incrementando progresivamente el número de potenciales de acción creando un estado de hiperexcitabilidad central (potenciación C) dependiente de la liberación del glutamato (receptores ionotrópicos: NMDA, AMPA y metabotrópicos: mGLU acoplados a PLC), SP, CGRP (acoplada a AC) además de la participación de muchos de los factores ya descritos en la sopa inflamatoria que inducen la activación de redes neuronales polisinápticas y reverberantes en el asta dorsal conforman un sistema complejo no lineal (5,6).

Desde la médula espinal el estímulo es transmitido a través de vías ascendentes a diferentes regiones del SNC, principalmente al tálamo a través de los haces espinotalámico, espinoreticular y cervicotalámico; al mesencéfalo, sustancia gris periacueductal y núcleos parabraquiales a través del haz espinomesencefálico, y al hipotálamo a través del haz espinohipotalámico. Desde el tálamo, la información nociceptiva es transmitida a la corteza cerebral, donde se produce el procesamiento definitivo de la sensación dolorosa. En el procesamiento de la señal dolorosa a través de todas estas vías desempeñan un papel fundamental los diferentes tipos de neurotransmisores, sus receptores y por extensión las proteínas encargadas de regular su síntesis y transporte (17).

Las fibras aferentes hacen sinapsis en 3 tipos neuronas: a) Las neuronas con proyección supraespinal (información de centros superiores); b) Las neuronas propioespinales (otro estadio medular) y c) Las interneuronas medulares inhibitorias o excitatorias (mecanismos de control o reflejos espinales). Tras el proceso de activación de los nociceptores periféricos; es en la médula dónde se modulan las respuestas nociceptivas a través de las fibras A δ y C que terminan a nivel superficial del asta dorsal de la médula (1,3), la cual, no es una simple estación de relevo sináptico, si no que es un lugar de importantes interacciones que permiten la

facilitación o inhibición de los estímulos nociceptivos por medio de vías descendentes supraespinales, interneuronas medulares e impulsos periféricos (3).

Las interneuronas específicas responden casi únicamente a estímulos nociceptivos (térmicos o mecánicos intensos), a través de las fibras aferentes A δ y C. Se localizan mayoritariamente en las láminas I y II del ADM. Las neuronas de rango dinámico o de convergencia (NARD) se activan ante estímulos nociceptivos y no nociceptivos a través de las aferencias procedentes de las fibras A β , A δ y C (15). se localizan en las láminas V, VI y también I, II y I V de la médula espinal (3,16,17). La activación de las fibras periféricas A α y A β (transmisoras de la sensación táctil) ejerce efectos inhibitorios segmentarios espinales sobre la nocicepción. Esto es el fundamento de la analgesia inducida por masaje y/o por la estimulación eléctrica transcutánea (3).

Asta Dorsal Medular

Hay dos grupos de sustancias que intervienen en la transmisión del impulso nociceptivo en las astas posteriores de la médula: los neurotransmisores excitatorios, que se corresponden con los aminoácidos glutamato y aspartato; y los neuromoduladores, que pertenecen al grupo de neuropéptidos, entre estos destacan la SP, somatostatina, PRGC, colecistoquinina y neurocinina A (5,6).

La formación reticular bulbar es una zona de control e interacción de diversos sistemas que integran entre otras funciones: Conciencia, Control de la respiración, Regulación cardiovascular, motricidad y control nociceptivo (4,5,6,17). Por su parte la formación retículo mesencefálica es la interfase entre los mecanismos del dolor y los relacionados con la amígdala y el hipotálamo. Está implicada en reacciones emocionales, comportamentales y neuroendocrinas como la liberación de hormonas de estrés (4,5,6,17).

El Tálamo es el centro de convergencia de numerosas vías, la vía ventro-postero-lateral participa en la transmisión de información y análisis de estímulos en relación con la duración, intensidad y localización. El tálamo proyecta a áreas corticales o elabora reacciones motrices y emociones (4,5,6,17). El córtex cerebral en la nocicepción participa diferencialmente, el córtex somestésico recibe la proyección de neuronas ventro-postero-laterales del tálamo, con función de localización e intensidad. El córtex cingular e insular pertenecen al sistema límbico y participan en la génesis de las emociones asociadas al dolor (4,5,6,17).

Modulación Nociceptivo por neurotransmisores.

El GABA, la glicina y la serotonina inhiben la conducción nociceptiva medular, por su parte las Catecolaminas producen analgesia dependiente de la actividad de los receptores alfa-2 presinápticos (5,6,18). Los péptidos opiodes endógenos como la encefalina y endorfinas poseen acción inhibitoria sobre la nocicepción al cerrar el canal de sodio a través de la membrana así como inhibir la liberación de la sustancia P en el asta posterior (5,6,19).

Los mecanismos de modulación suprasegmentaria o supraespinal del dolor tienen su origen en estructuras nerviosas que se encuentran por encima de la médula: tronco del encéfalo (SGPA de la FR mesencefálica), la región bulbar ventromedial (RVM), que incluye los núcleos del rafe magno (NRM), el paragigantocelular y el gigantocelular). Otros posibles lugares de inicio de sistemas moduladores podrían encontrarse en: tálamo, hipotálamo y corteza. Las proyecciones de la RBM hacia las astas posteriores contienen dos tipos básicos de neuronas: las Células ON que aumentan la actividad con un estímulo nociceptivo, favorecen la transmisión del dolor y se inhiben con opiáceos; por otro lado, las Células OFF que son inhibidas por las células ON, inhiben la transmisión del dolor, son activadas por opioides y algunas de ellas son serotoninérgicas (20).

El mecanismo inhibitor descendente denominado DNIC (del inglés, controles inhibitorios difusos inducidos por estimulación nociceptiva), postula que la aplicación de un estímulo nociceptivo es capaz de enmascarar la sensación dolorosa que se siente en otra región anatómica distante (extrametámerica). La activación de este sistema se produce por estimulación de las fibras A δ y en apariencia existen mecanismos tronculares, además de espinales implicados en ello. Su acción se realiza exclusivamente sobre las neuronas de amplio rango dinámico.

Fenómeno de Sensibilización y Potenciación.

La estimulación reiterada de las fibras C en especial con pulsos eléctricos de alta frecuencia, produce un incremento de su sensibilidad, disminución del umbral de dolor y respuesta aumentada y mantenida a la estimulación. Este fenómeno se denomina sensibilización o potenciación, que se expresa clínicamente con hiperalgesia primaria (5,6). El fenómeno de la sensibilización central (3,5,6) que denota el incremento exponencial de las descargas neuronales ante un mismo estímulo nocivo constante término inglés: (wind up) o incluso no nocivo (alodinia) se fundamenta en los efectos directa o indirectamente excitadores de estos neurotransmisores y, de estos, es el glutamato el determinante en la creciente actividad de las neuronas del asta dorsal en especial en las de amplio rango dinámico de vital importancia en la codificación de la intensidad del estímulo nocivo (3,5,21). El persistente incremento intracelular de IP₃, DAG y calcio inducen a la PKC γ la cual, por un lado, tiene un efecto inhibitor sobre el dímero G $\beta\gamma$ reduciendo su acción inhibitor sobre los canales ionotrópicos dependientes de voltaje de calcio y sodio y por otro, induce la formación de protooncogenes y factores de transcripción nuclear (c-Fos, Fos-B, Jun-D, Kronx-24, c-jun entre otros) que promueven la síntesis y expresión de canales de calcio y de sodio voltaje dependientes en la membrana neuronal, lo que unido a los demás factores perpetúa el proceso de hiperexcitabilidad (3,9,4,21).

El inicio del fenómeno de sensibilización central depende aparentemente de los receptores metabotrópicos para aminoácidos excitatorios presentes en las membranas neuronales, es el mGluR 1 con el AMPA (aminometilpropionato) como agonista, los receptores de neurokininas NK1 y NK2 y los correspondientes a CGRP1 y CGRP2 NK1, NK2, CGRP1, CGRP2 quienes más tempranamente son activados iniciando el proceso con potenciales postsinápticoexcitatorios y los consecuentes fenómenos de sumación temporal y espacial (3,5,6,21).

El escenario fisiopatológico se complica al añadirse la pérdida de la actividad inhibitoria gabaérgica y/o glicinérgica ejercida por los aferentes primarios del grupo A β y B, quienes ahora presentan una acción excitadora debido a que los brotes axónicos anómalos de estos se reconectan directamente con las neuronas de proyecciónespinalámicas medulares. La activación de la proteincinasa C (PKC) asociada al aumento intracelular de calcio, produce un aumento en la expresión de proto-oncogenes como el C-fos. La proteína Fos originada por éste actúa como tercer mensajero celular y participa en el control transcripcional de genes que codifican la producción de diversos péptidos como POE y taquikininas. El desarrollo temporal de la hiperalgesia ha sido parejo a la expresión de proteína Fos. Los ARNm que codifican la dinorfina, encefalinas, la sustancia P y el CGRP en el asta dorsal y en el ganglio espinal aumentan en situaciones de inflamación periférica, o de lesiones nerviosas (22,23).

Potenciales evocados somatosensoriales lumbares.

Los Potenciales Evocados Somatosensoriales (PES) constituyen respuestas eléctricas del sistema nervioso ante estimulación nerviosa o sensorial, registrados en el trayecto de nervios o en áreas específicas del sistema nervioso central. Estas respuestas son la integración de las descargas neuronales individuales sincronizadas por la acción del mismo estímulo. Los PES medulares se generan como respuesta eléctrica de la médula espinal a un estímulo aplicado a alguno de los nervios

periféricos aferentes, en las cuales, si la intensidad del estímulo se encuentra por encima del umbral doloroso, permite analizar el componente nociceptivo del sistema sensorial (24,25). Los PEL se presentan como una serie de ondas positivas y negativas que reflejan la activación secuencial de poblaciones neuronales a lo largo de vías somatosensoriales que responden al estímulo. Su uso permite la evaluación funcional de las redes neuronales en condiciones más cercanas a las fisiológicas, como es el caso del registro de los potenciales evocados lumbares (PEL); ellos aportan información acerca de la activación neuronal y los circuitos moduladores envueltos en la respuesta a un estímulo (24,25).

En el caso de los potenciales evocados lumbares (PEL) generados ante un estímulo eléctrico en el nervio sural o en el ciático, presentan típicamente una onda negativa (onda N) seguida de una onda positiva (onda P) de mayor duración y menor amplitud (Fig. 3). Al colocar el electrodo de registro sobre el dorso de la médula y estimular el nervio periférico las interneuronas del asta dorsal son despolarizadas por estímulos que entran a través de las fibras aferentes primarias mielínicas $A\alpha$ y $A\beta$, generándose un potencial negativo inicial que expresa la dirección del flujo de corriente que se aleja (en dirección ventral) del electrodo de registro. Si la intensidad del estímulo aumenta, se activaran progresivamente también las fibras $A\delta$. Las distintas velocidades de conducción de las fibras $A\alpha$, $A\beta$ y $A\delta$ modifican la morfología global de la onda N, en función de sus diferentes latencias (26).

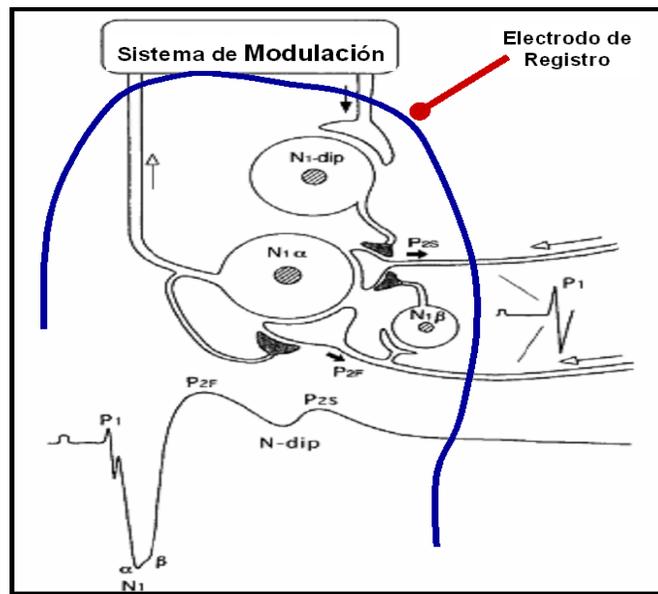


Fig. 3. Esquema de la circuitería neuronal del asta dorsal medular propuesta para explicar la generación de las ondas N y P ante estimulación periférica en el territorio de inervación de la metámera correspondiente (27).

La señal activadora es recibida por las neuronas de proyección espinotalámicas de las láminas profundas del ADM las que envían la señal a estructuras supraespinales desde las cuales descienden impulsos de modulación hacia los AP y creando una despolarización de estos y de las interneuronas del ADM estableciéndose un vector descendente hacia el dorso medular y hacia el electrodo de registro lo cual genera una onda positiva (onda P) de menor amplitud pero mayor duración que la onda N (27).

El método permite medir la latencia de las ondas (en ms) que depende la velocidad de conducción nerviosa de las fibras en cuestión (28) y la amplitud (en μV) que representa el voltaje detectado durante el registro y es una medida indirecta del número de neuronas que están respondiendo sincrónicamente ante un estímulo (29).

La caracterización electrofisiológica de la actividad de la población neuronal del ADM en respuesta a estímulos nocivos orofaciales del territorio trigeminal, aún no ha sido estudiada a pesar de que su conocimiento es importante para entender el impacto de la nocicepción trigeminal sobre áreas distantes del sistema nervioso central como es el caso de la medula espinal lumbar.

La vía nociceptiva trigeminal ha sido descrita clásicamente (3,30) y su relación con el sistema de modulación descendente del dolor se conoce desde hace décadas (20) sin embargo no ha sido reportada hasta la presente fecha una vía excitadora directa trigemino-espinal lumbar asociada con nocicepción así como un potencial espinal evocado por la estimulación trigeminal.

La posibilidad de la existencia de respuestas medulares lumbares ante la estimulación eléctrica nociva de la mucosa bucal podría explicar el gran impacto del dolor trigeminal sobre todo el eje del sistema nervioso central. Ramírez y Vanegas en 1989 (20), reportaron la interacción de las señales nocivas inducidas por la estimulación eléctrica de la pulpa dentaria conducidas por el trigémino hacia la médula rostroventral del bulbo del tallo cerebral generando una activación de las neuronas inhibitorias con proyección al asta dorsal medular espinal. Sin embargo este tipo de modulación es de tipo inhibitorio y forma parte de un complejo sistema descendente difuso cuya función es la de cerrar la compuerta del asta dorsal médula al ingreso de nuevas señales nociceptivas (3,4,10,11).

La existencia de una vía excitadora o pronociceptiva descendente hasta el ADM lumbar ha sido propuesta mediante evidencias obtenidas en experimentos de espinalización reversible y registros oligoneuronales (31), sin embargo, en la actualidad, no hay estudios que aporten evidencias de la acción pronociceptiva heterotópica distal de la estimulación nociva trigeminal en el asta dorsal medular lumbar. En este sentido, existe la necesidad científica de demostrar la

existencia de esta vía y la naturaleza de las conexiones nociceptivas entre el trigémino y áreas distantes del sistema nervioso central como el ADM lumbar y en especial en la entrada de las aferencias sensoriales para poder evaluar el impacto que del dolor trigeminal.

OBJETIVOS

GENERAL:

Evaluar el efecto de la estimulación eléctrica trigeminal nociva de la mucosa oral sobre la actividad eléctrica sincrónica de la red neuronal del asta dorsal lumbar medular de la rata.

ESPECÍFICOS:

1) Determinar la amplitud de la onda N de los PEL en condiciones basales de estimulación eléctrica trigeminal nociva de la mucosa bucal de la rata.

2) Determinar la amplitud de la onda P de los PEL en condiciones basales de estimulación eléctrica trigeminal nociva de la mucosa bucal de la rata.

3) Determinar la duración de la onda N de los PEL en condiciones basales de estimulación eléctrica trigeminal nociva de la mucosa bucal de la rata.

4) Determinar la duración de la onda P de los PEL en condiciones basales de estimulación eléctrica trigeminal nociva de la mucosa bucal de la rata.

5) Determinar la existencia del fenómeno de potenciación en la onda N de los Potenciales evocados lumbares inducidos por la estimulación eléctrica trigeminal nociva de alta frecuencia de la mucosa oral de la rata.

6) Determinar la existencia del fenómeno de potenciación en la onda P de los Potenciales evocados lumbares inducidos por la estimulación eléctrica trigeminal nociva de alta frecuencia de la mucosa oral de la rata.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio constituye una investigación de tipo experimental, explicativa, inferencial contextual.

Se usaron 5 ratas machos de la cepa Sprague Dawley, adultos (350-400g), alimentadas *ad libitum*, y mantenidas en un esquema de luz/oscuridad de 12:12 horas. Las ratas fueron aportadas por la Dirección de Investigación y Producción Intelectual de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo través de su Bioterio Central, con aprobación del Comité de Bioética de dicha Dirección, en concordancia con la Ley Orgánica de Protección de la Fauna Silvestre y en Cautiverio de la República Bolivariana de Venezuela y la Normativa Internacional para el uso de animales de experimentación del Instituto Nacional de Higiene de los Estados Unidos de Norteamérica (32).

Procedimiento Quirúrgico

Los animales se anestesiaron con tiopental sódico (Pentothal® sódico, Lab. Abbott) a una dosis de $60\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ vía i.p., se administró 0,05mg de atropina vía s.c. para reducir las secreciones respiratorias. La temperatura corporal se mantuvo constante ($37,5\pm 0,5^\circ\text{C}$; media \pm DE), En ausencia de reflejos nocifensivos, se practicó laminectomía de los segmentos T₁₁ a L₅ para exponer el engrosamiento lumbar de la médula espinal, el cual se protegió con aceite mineral contenido mediante pliegues de piel. Adicionalmente se disecó el nervio sural de la pata posterior izquierda para la estimulación convencional.

Estimulación Trigeminal o Sural

Un electrodo concéntrico tipo aguja No.27 se implantó en la mucosa oral incisiva de la línea media. El nervio sural izquierdo se colocó sobre un par de electrodos tipo anzuelo de platino. Se aplicó aceite mineral en los tejidos donde se implantaron los electrodos de estimulación para evitar su desecación. La estimulación eléctrica basal consistió en la aplicación de pulsos eléctricos cuadrados de 20 Voltios de amplitud, 0,5 ms de duración y una frecuencia de 0,05Hz, ya sea en la mucosa oral o en el nervio sural, para ello se utilizó un bioestimulador digital (A-M System 2100). Para la estimulación de alta frecuencia se usaron los mismos parámetros de amplitud y duración pero se incrementó la frecuencia de estimulación a 5Hz (100 veces mas que la estimulación basal) la cual se mantuvo por 10 minutos.

Registro electrofisiológico

Un electrodo de registro construido con un filamento de acero inoxidable de 100 μ m de diámetro de baja impedancia ($<50\Omega$), laqueado excepto en su punta (50 μ m), el cual se fijó a un micromanipulador tridimensional para su colocación sobre el dorso medular lumbar. La señal se conectó a un bioamplificador de bajo ruido (A-M System 1700). La señal amplificada se digitalizó con una tarjeta de conversión analógica/digital (WinDaQ[®] 148U) a 14.400Hz y 10 bits de resolución. Los potenciales se visualizaron en la pantalla del computador mediante el software WinDaQ/HS[®].

Protocolo experimental

Los PEL se registraron durante 20 minutos bajo las mismas condiciones estables del experimento, luego de lo cual se promediaron mediante superposición y curva de ajuste por mínimos cuadrados. Una vez colocados los electrodos de registro en el dorso medular lumbar, se inició el registro de la fase basal del experimento con la estimulación eléctrica trigeminal con una frecuencia de 0,05 Hz, 20 voltios y

pulsos de 0,5 ms durante 10 minutos, luego de la cual se incrementó la frecuencia de estimulación a 5 Hz dejando igual el voltaje y la duración del pulso, esta fase de estimulación de alta frecuencia (AF) duró 5 minutos. En la última fase de registro post estimulación (PE) se redujo la frecuencia de estimulación al valor inicial de 0,2 Hz manteniéndose así durante 10 minutos, luego de lo cual se sacrificó al animal con una sobredosis barbitúrica.

Procesamiento matemático y estadístico

Una vez almacenados los registros de los PEL, se procedió a la medición de la amplitud (μV), duración (ms), área bajo la curva (ABC: $\mu\text{V}\cdot\text{ms}^{-1}$), intervalo de las ondas N y P (ms) mediante el uso de un cursor de lectura digital de los programas WINDAQ XL[®] e ImageTools. Se calcularon los valores de tendencia central y de dispersión para las amplitudes y duraciones de los potenciales. Los valores de cada fase se comparó mediante el test no paramétrico de Mann-Whitney y las asociaciones entre valores se evaluaron mediante la correlación de Pearson con ajuste polinomial de 2 grado. Para el procesamiento estadístico se utilizó el paquete libre PAST versión 2.04.

RESULTADOS

Potenciales Evocados Lumbares por estimulación Trigeminal

La estimulación eléctrica de la mucosa bucal evocó potenciales en dorso medular lumbar similares a los potenciales evocados de esta área medular generados por la estimulación eléctrica de los aferentes sensitivos del nervio sural ipsilateral, es decir, los PEL registrados se caracterizan por una deflexión negativa inicial u onda N seguida de una deflexión positiva u onda P de menor amplitud y mayor duración (Fig. 4).

Comparación con los Potenciales Evocados Lumbares por estimulación Sural

Existen diferencias entre los PEL generados por la estimulación trigeminal y la sural. Los valores promedio de amplitud, duración, latencia, intervalo N-P y área bajo la curva de cada onda se presenta en la Tabla 2.

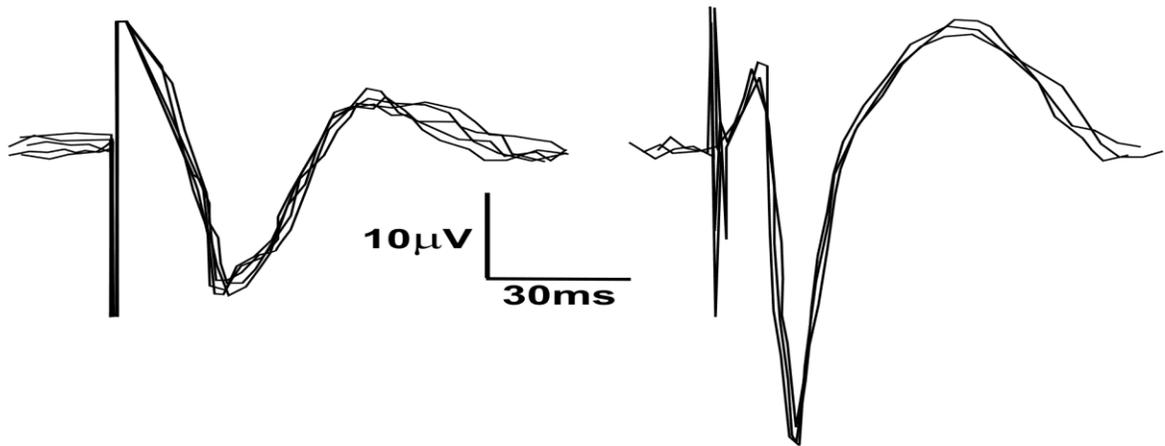


Fig. 4. Superposición de varios trazados de PEL por estimulación eléctrica de la mucosa oral incisiva (Panel izquierdo) y su comparación con un PEL convencional por estimulación eléctrica del nervio sural (Panel derecho). La calibración es la misma para ambos PEL.

Tabla 2.

Parámetros electrofisiológicos de las ondas N y P de los PEL evocados por estimulación eléctrica trigeminal o sural. Medias Aritméticas \pm Desviación Estándar.

	Onda N		Onda P	
	Trigeminal	Sural	Trigeminal	Sural
Amplitud (μV)	18,0 \pm 2,3	35,2 \pm 4,1	5,0 \pm 1,4	14,8 \pm 3,1
Duración (ms)	29,0 \pm 3,8	40,6 \pm 3,9	16,0 \pm 2,1	57,2 \pm 8,3
Latencia (ms)	25,3 \pm 3,8	14,4 \pm 2,3	47,4 \pm 5,8	59,4 \pm 6,3
ABC ($\mu\text{V}\cdot\text{ms}^{-1}$)	298,3 \pm 39,4	294 \pm 41,7	107,0 \pm 10,5	461,0 \pm 53,6
Intervalo N-P (ms)	22,1 \pm 2,6	45,1 \pm 5,1		

ABC= Área bajo la curva

Efecto de la estimulación eléctrica trigeminal de alta frecuencia.

Las amplitudes de las ondas N y P de los potenciales evocados lumbares ante estimulación eléctrica trigeminal evaluadas durante la fase basal se presentan en la Tabla A, en la que se aprecia que la onda N es 71,2% mayor que la onda P, siendo estos valores estables con un coeficiente de variación de 1,99% para la onda N y de 5,87% para la onda P.

Los PEL mostraron gran estabilidad a lo largo del periodo de estimulación basal tanto para la onda N como para la onda P. El aumento de la frecuencia de estimulación trigeminal redujo intensamente la amplitud de ambas ondas desde el mismo inicio de dicha estimulación y se mantuvo con igual intensidad durante toda esta fase (Figs. 4 y 5).

Al bajar la frecuencia de estimulación al valor basal, se observó una recuperación gradual hasta valores similares a los basales durante los primeros 2 minutos para ambas ondas, con una leve tendencia al incremento luego de este tiempo, sin que esta lograra ser significativamente mayor a los valores del periodo basal, al menos durante los 10 minutos de la fase postestimulación del presente protocolo (Tablas 3 y 4, Fig. 5).

Tabla 3

Estadística descriptiva de los valores de la amplitud (μV) de las ondas N y P evocadas en el dorso medular lumbar ante estimulación trigeminal basal (0,05Hz), alta frecuencia (AF; 5Hz) y postestimulación (PE; 0,05Hz), n=5 ratas.

	BASAL		Alta Frecuencia		Postestimulación	
	N	P	N	P	N	P
n	30		1500		30	
Media	37,67	10,73	16,38	3,17	35,27	9,69
EE	0,13	0,11	0,17	0,08	0,85	0,33
DE	0,75	0,63	0,64	0,32	4,65	1,80
Mediana	37,59	10,83	16,46	3,16	36,58	10,15
P-25	37,16	10,49	15,95	2,88	34,98	9,08
P-75	38,16	11,16	17,10	3,48	38,15	10,83

EE: Error Estándar; DE: Desviación Estándar; P-25 y P-75: Percentiles 25 y 75

Tabla 4

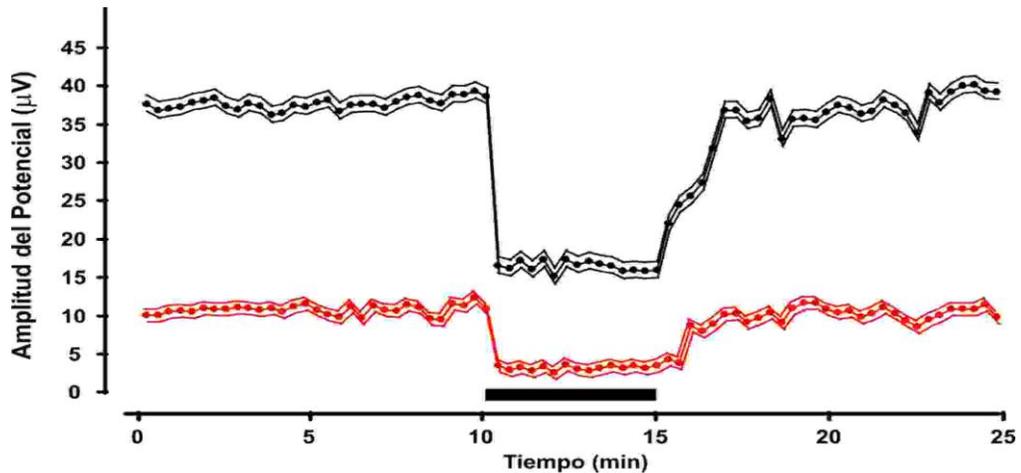
Comparación estadística (Mann-Whitney) de las amplitudes (μV) de las ondas N y P de los potenciales lumbares evocados por estimulación eléctrica Trigeminal durante la fase basal (0,05Hz; 10min), alta frecuencia (AF; 5Hz; 5 min) y postestimulación (PE; 0,05Hz; 10 min).

	Onda N	Onda P
Basal vs AF	U=0; P=0,00000005	U=0; P=0,00000005
AF vs PE	U=0; P=0,00000006	U=0; P=0,00000006
Basal vs PE	U=290,5; P=0,12	U=258,5; P=0,13

Valores de U y P según la prueba de Mann-Whitney.

Fig. 5.

Amplitudes (μV ; mediana \pm P25-75) de las ondas N (negro) y P (rojo) de los potenciales lumbares evocados por estimulación eléctrica trigeminal durante la fase basal (0,05Hz; 10min), alta frecuencia (5Hz; 5 min; rectángulo oscuro) y postestimulación (0,05Hz; 10 min).



La intensidad del efecto inhibitor de la estimulación trigeminal de alta frecuencia se evaluó al calcular el porcentaje de inhibición de la amplitud de las ondas N o P relativas a los valores registrados durante la fase basal. Los valores promedio se presentan en la Tabla 5 y Fig. 6 en la que se aprecia que la estimulación de alta frecuencia redujo más intensamente la amplitud de la onda P (-70,7%) que la onda N (hasta 56,4%) de los valores basales.

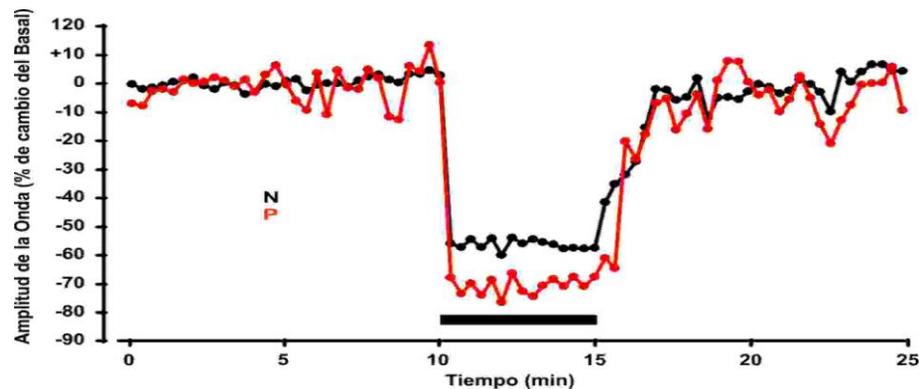
Tabla 5.

Porcentaje de inhibición promedio de la amplitud de las ondas N y P lumbares evocadas por estimulación trigeminal de alta frecuencia, con referencia a los valores del periodo basal. n=5 ratas, 75 potenciales analizados.

	N%	P%
Media	-56,43	-70,74
EE	0,44	0,77
DE	1,70	3,00
Mediana	-56,21	-70,82
Percentil 25	-57,57	-73,41
Percentil 75	-54,52	-67,91

Fig. 6.

Intensidad de inhibición (% de variación relativa a los valores basales) de las ondas N (negro) y P (rojo) de los potenciales lumbares evocados por estimulación eléctrica trigeminal durante la fase basal (0,05Hz; 10min), alta frecuencia (5Hz; 5 min; rectángulo oscuro) y postestimulación (0,05Hz; 10 min).



Evaluación del valor δ NP

La diferencia entre los valores de amplitud de las ondas N y P (δ NP) se evalúa en las Tablas 6 y 7 y en la Figura 7, en las que se aprecia que la estimulación de alta frecuencia redujo δ NP, volviendo a valores basales durante la fase de postestimulación.

Tabla 6.

Valores estadísticos de la diferencia de amplitud entre las ondas N y P (δ NP) evocadas en el dorso medular lumbar ante estimulación trigeminal basal (0,2Hz), alta frecuencia (AF; 5Hz) y postestimulación (PE; 0,2Hz).

	Basal	AF	PE
n	31	15	30
Media	26,93	13,21	25,58
EE	0,138	0,151	0,598
DE	0,774	0,584	3,272
Mediana	26,98	13,20	26,49
25 percentil	26,43	12,69	24,01
75 percentil	27,49	13,63	27,78

Tabla 7.

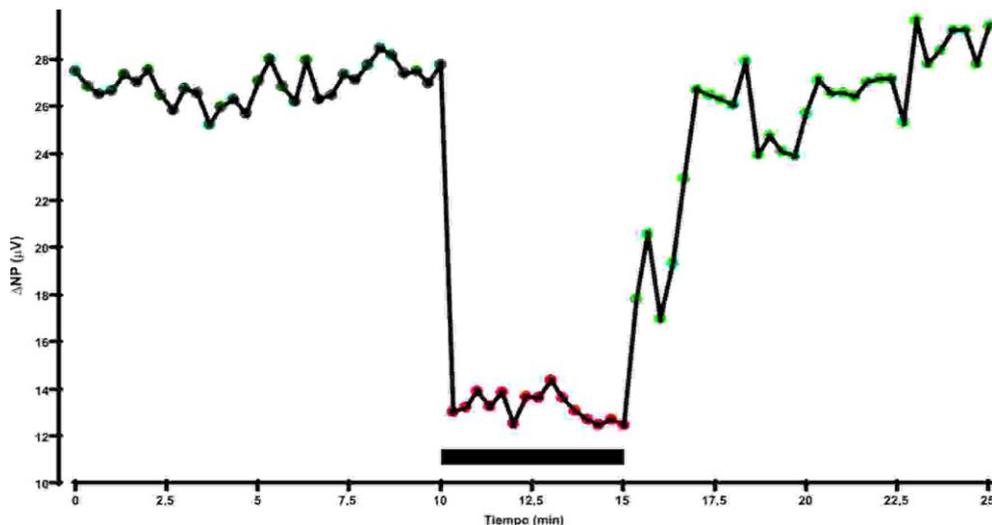
Comparación estadística (Mann-Whitney) de la diferencia de amplitud (μV) entre las ondas N y P (δNP) de los potenciales lumbares evocados por estimulación eléctrica trigeminal durante la fase basal (0,05Hz; 10min), alta frecuencia (AF; 5Hz; 5 min) y postestimulación (PE; 0,05Hz; 10 min).

δNP (μV)		
Basal vs AF	U = 0	P = 0,00000005
AF vs PE	U = 0	P = 0,00000006
Basal vs PE	U = 368	P = 0,1639

Valores de U y P según la prueba de Mann-Whitney.

Fig. 7.

Diferencia de amplitud (μV) entre las ondas N y P (δNP) de los potenciales lumbares evocados por estimulación eléctrica trigeminal durante la fase basal (0,05Hz; 10min), alta frecuencia (5Hz; 5 min; rectángulo oscuro) y postestimulación (0,05Hz; 10 min).

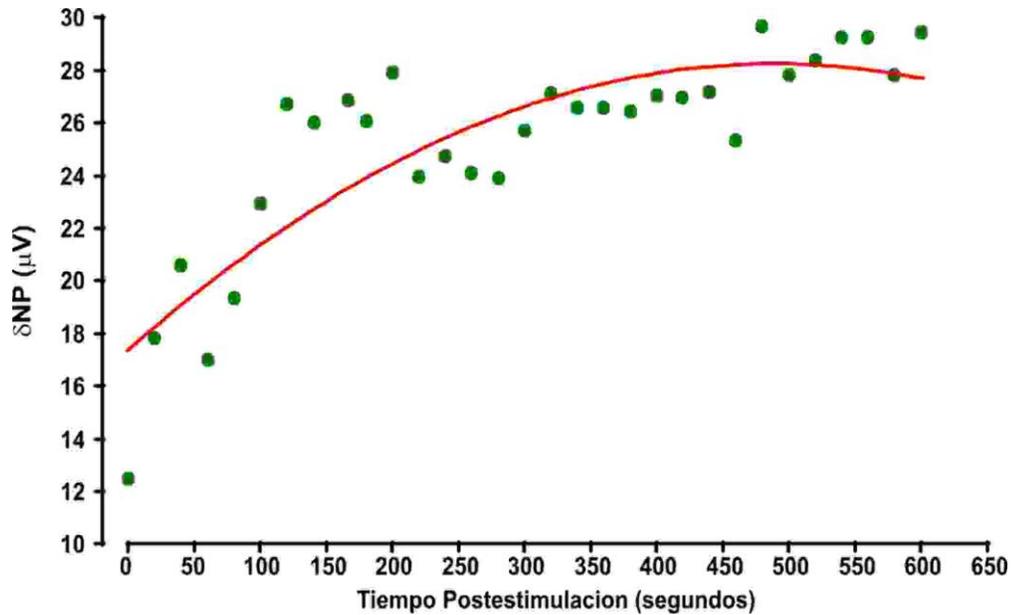


Al evaluar la correlación entre el valor δNP y el tiempo de recuperación durante la fase de postestimulación se detectó un ajuste estadísticamente significativo $X^2=132,86$; $r^2=0,72$; $F=36,31$; $P=0,000000016$, a una función polinomial de segundo orden (Fig. 8):

$$\delta\text{NP} (\mu\text{V}) = 17,3775 + (0,0444082 \times \text{segundos}) + (-4,54003\text{E-}05 \times \text{segundos}^2)$$

Fig. 8.

Diferencia de amplitud (μV) entre las ondas N y P (δNP) de los potenciales lumbares evocados por estimulación eléctrica trigeminal durante la fase de postestimulación basal (0,05Hz; 10min).

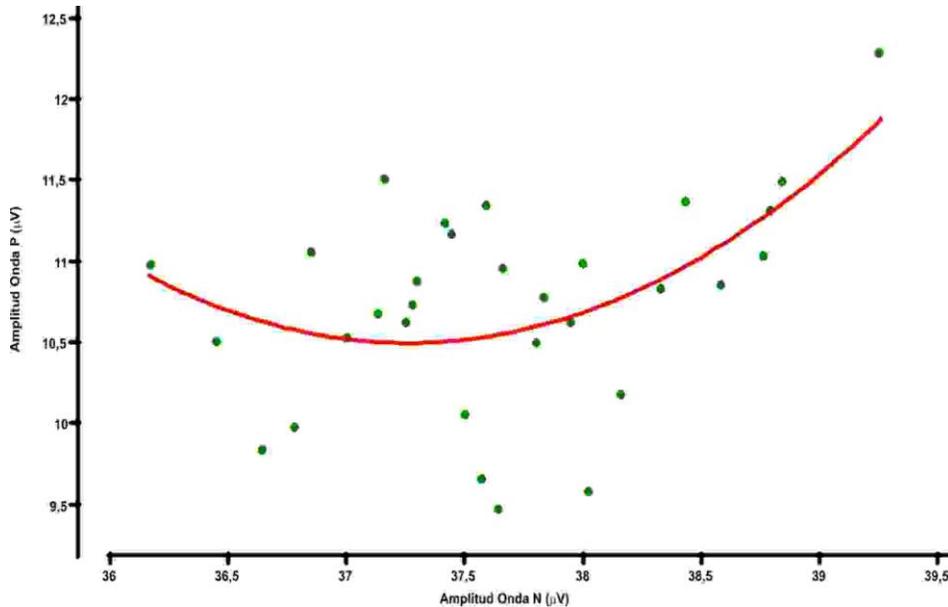


Al evaluar la relación existente entre las amplitudes de las ondas N y P en cada fase del experimento, se evidenció que durante la fase basal, la amplitud de ambas ondas se encuentran significativamente asociadas ($X^2=8,6693$; $r^2=0,27$; $F=5,28$; $P=0,011$) siguiendo una función de tipo exponencial de segundo orden (Figura 9):

$$\text{Onda P } (\mu\text{V}) = 487,596 - (25,6099 \times \text{Onda N}) + (0,34367 \times \text{Onda N}^2)$$

Fig. 9.

Gráfico de dispersión y curva de ajuste polinomial (rojo) entre las amplitudes (μV) de las ondas N y P de los potenciales lumbares evocados por estimulación eléctrica trigeminal durante la fase basal (0,05Hz; 10min).



La estimulación de alta frecuencia rompe con la correlación encontrada en la fase basal ($X^2=1,10$; $r^2=0,25$; $F=2,05$; $P=0,17$; Fig. D)

Durante la fase postestimulación reaparece con mucha mayor intensidad la correlación entre las amplitudes de las ondas N y P ($X^2=22,26$; $r^2=0,76$; $F=43,6$; $P=0,0000000035$), pasando de una intensidad de asociación de 25% en la fase basal a 76% en la fase postestimulación manteniendo una función polinomial de segundo grado y mayor pendiente (Figs. 10 y 11):

$$\text{Onda P } (\mu\text{V}) = -19,8277 + (1,50443 \times \text{Onda N}) - (0,0186175 \times \text{Onda N}^2)$$

Fig. 10.

Gráfico de dispersión y curva de ajuste polinomial (rojo) entre las amplitudes (μV) de las ondas N y P de los potenciales lumbares evocados por estimulación eléctrica trigeminal de alta frecuencia (5Hz; 5min).

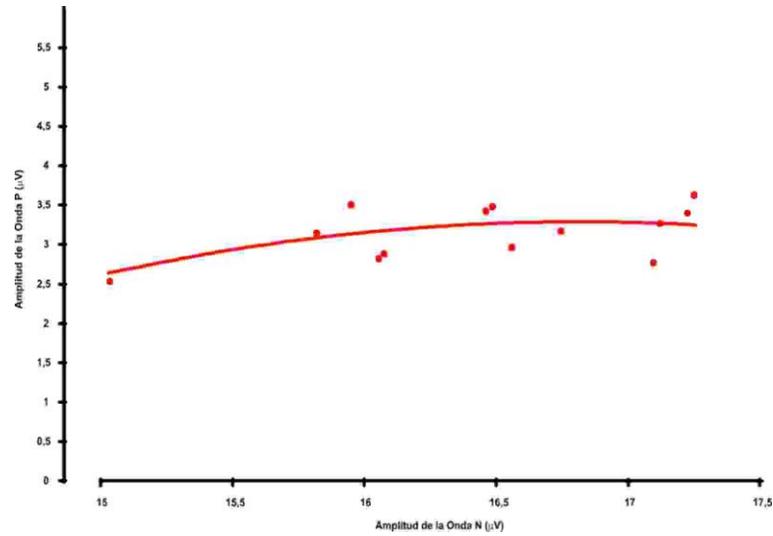
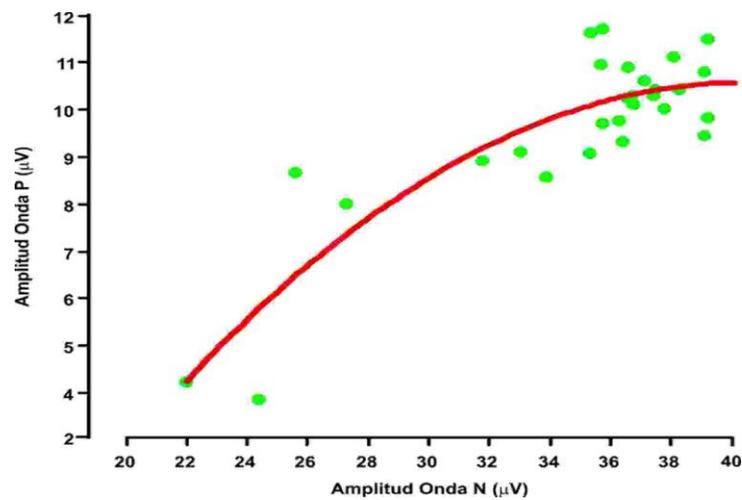
**Fig. 11.**

Gráfico de dispersión y curva de ajuste polinomial (rojo) entre las amplitudes (μV) de las ondas N y P de los potenciales lumbares evocados por estimulación eléctrica trigeminal durante la fase de postestimulación (0,05Hz; 10min).



DISCUSIÓN

En el presente estudio se presentan evidencias electrofisiológicas de la existencia de una vía funcional trigémino espinal lumbar de carácter excitadora que evoca en el dorso de la médula espinal potenciales similares a los obtenidos convencionalmente por la estimulación sural ipsilateralhomotópica, es decir una onda negativa N seguida de una onda positiva P (27). Las amplitudes de ambas ondas son de menor amplitud que las generadas por estimulación sural lo que sugiere una menor densidad de fibras trigémino-lumbares presentes en la respuesta. Otra característica es la menor latencia de las respuestas lumbares inducidas por la estimulación trigeminal que las generadas por estimulación sural, lo cual es fiel expresión de la distancia entre los sitios de estimulación y registro en cada caso (3,26) asumiendo diámetros de fibras y velocidades de conducción similares, sin embargo, la estimulación eléctrica a la intensidad usada es capaz de activar tanto a las fibras C nociceptivas, amielínicas de lenta conducción, sino también fibras mielinizadas A de gran velocidad de conducción. Por ello, es muy probable que las distintas latencias reportadas en el presente estudio, sean debidas a las diferentes distancias entre el sitio de estimulación (trigeminal o sural) y de registro (lumbar).

La existencia de las respuestas medulares lumbares ante la estimulación eléctrica nociva de la mucosa bucal reportadas en el presente estudio sugiere el gran impacto de la misma sobre todo el eje del sistema nervioso central. Es conocida la interacción de las señales nocivas inducidas por la estimulación eléctrica de la pulpa dentaria conducidas por el trigémino hacia la médula rostroventral del bulbo del tallo cerebral generando una activación de las neuronas inhibitorias con proyección al asta dorsal medular espinal (20). Sin embargo este tipo de modulación es de tipo inhibitorio y forma parte de un complejo sistema descendente difuso cuya función es la de cerrar la compuerta del asta dorsal médula al ingreso de nuevas señales nociceptivas (3,10,11,16,33,34). La existencia de una via excitadora o

pronociceptivatrigemino-espino lumbar ha sido propuesta con evidencias muy indirectas obtenidas en experimentos de espinalización reversible y registros oligoneuronales (31). El presente estudio reporta por primera vez evidencia directa de la existencia funcional de esta vía excitadora capaz de incrementar la sincronización de descargas de las interneuronas del ADM por encima del nivel de la actividad de fondo (35) y en concordancia con el periodo postdescarga aferente del asta dorsal de la médula espinal (36).

Es de hacer notar que si bien el estímulo utilizado en el presente estudio fue de tipo eléctrico, el sistema de nocicepción puede ser activado por una gran cantidad de tipos de estímulos y/o factores neuroquímicos, físicos, inmunológicos y metabólicos, que en su gran mayoría, comparte, vías finales comunes (5,6,37,38).

Las características morfológicas de las ondas N y P de los PEL ante estimulación trigeminal, coincide con las descripciones convencionales sobre la amplitud de los potenciales evocados del dorso medular lumbar ante estimulación homotópica, ipsilateral (27,36), con la diferencia de ser generada en el presente estudio por un estímulo heterotópico lejano.

La correlación proporcional encontrada entre las amplitudes de las ondas N y P durante la fase basal de estimulación a baja frecuencia respaldan la teoría de la generación de estas ondas planteada por Shimoji (27) en la que la primera onda (N) se genera por la despolarización sincrónica de las interneuronas del asta dorsal medular ante la entrada de los impulsos de los aferentes primarios, esta señal se proyecta a estructuras supraespinales las cuales ejerciendo su acción de modulación descendente hacia el ADM generan una despolarización presináptica de los terminales de los aferentes primarios cuya integral produce la onda P, en consecuencia la amplitud de la onda P depende inicialmente de la amplitud de la onda N.

A la luz del presente reporte, la impactante y devastadora experiencia del dolor orofacial empieza a encontrar explicaciones sobre su intensidad y extensión distal en la médula espinal lumbar.

Efecto de la estimulación eléctrica trigeminal de alta frecuencia.

La inhibición de las amplitudes de las ondas N y P durante la fase de estimulación de alta frecuencia puede ser explicada por varios factores, 1) el agotamiento en la liberación de los neurotransmisores, 2) bloqueo electrotónico, 3) periodo refractario, 4) activación de circuitos inhibitorios, 5) labilidad conductiva de Wedensky (3,4,5,6,36,37).

Luego de la inhibición de las amplitudes de las ondas N y P inducidas por la estimulación de alta frecuencia y al retomarse la estimulación basal de baja frecuencia, hubo una recuperación progresiva de carácter polinomial de segundo orden en la amplitud de ambas ondas. Si bien, en la fase postestimulación, no se observó un incremento en la amplitud de las ondas N y P por encima de los valores obtenidos en la fase basal, lo cual sería signo clásico de la presencia de potenciación posttetánica, el incremento de 3 veces en la correlación entre la amplitud de ambas ondas podría ser indicativo de los cambios que ocurren en la red neuronal del ADM y/o en los mecanismos de modulación descendente, dado el hecho de ser la onda P consecuencia de la onda N, lo cual sugeriría una mayor respuesta en amplitud de la onda P ante los valores de amplitud de la onda N, signo de algún tipo de potenciación post tetánica (3,30,39-44).

CONCLUSIONES

1. Se describió por primera vez los PEL (Amplitud, Duración y ABC) ante estimulación trigeminal nociva.

2. Se comparó los PEL trigeminales con los Surales estableciéndose sus diferencias en (Amplitud, Duración y ABC).
3. La estimulación trigeminal de alta frecuencia (5Hz; 5min) generó una reducción reversible de la amplitud de la onda N (-56%), P (70%) y δ NP de los PEL trigeminales.
4. La δ NP en la fase de recuperación post estimulación mostró indicios sugestivos de potenciación postetánica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Romero-Miranda G, Cepeda de Ramos MLB, Cepeda CS, Romero KA. El dolor orofacial actualización aspectos moleculares y neurofisiológicos., en: <http://sitios.platcom.net/cieo/images/stories/Odontos/Rev32/Actualizacion%20espectos%20moleculares%20y%20neurofisiologicos%20del%20dolor%20orofacial.pdf>
2. Sessle BJ, Dostrovsky JO. 2013. Orofacial pain. In *Encyclopedia of Pain* (pp. 2535-2540). Springer Berlin Heidelberg.
3. Willis WD Jr, Coggeshall R. 2004. Sensory mechanisms of the spinal cord: primary afferent neurons and the spinal dorsal horn. 3rd ed. Vol.1. Plenum Press. New York, USA.
4. Millan M. 1999. The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol.* 57: 1-164
5. Eblen-Zajjur A. 2005. Neurofisiología de la nocicepción. *Gac Méd Caracas*, 113.
6. Eblen-Zajjur A. 1998. Avances en la fisiopatología del dolor agudo. *Rev. Venez. Anest.* 3: S43-S47.
7. Jablonski S. 1992. Diccionario ilustrado de odontología. Editorial médica panamericana. Mexico.
8. González O, González E, Toro R, Márquez de B. 1998. Fisiología del Dolor. *Rev. Venez. Anest.* 3: 1: 26-33.
9. Workin R, Mirolar B, Rowbot H. 2003. Advances in neuropathic pain. *Jama* 60: 1625-1536.
10. Willis W.D. Jr. 2007. The somatosensory system, with emphasis on structures important for pain. *Brain Res. Rev.* 55: 297-313.
11. Millan MJ. 2002. Descending control of pain. *Prog Neurobiol.* 66: 355-474.
12. Wilson y Col. 2008. Nervios Craneales. 2da Edición. Editorial médica Panamericana. Mexico. 79-113.
13. Romera E, Perena MJ, Perena MF, Rodrigo MA. 2000. Neurofisiología del Dolor. *Rev Soc Esp Dolor* 7: Supl. II, 11-17.
14. Moore K, Dalley A. 2007. Anatomía con orientación clínica. 5ª edición. Editorial Médica Panamericana. México. 1205 p.
15. Helms AW, Johnson JE. 2003. Specification of dorsal spinal cord interneurons. *Curr. Opin. Neurobiol.* 13(1): 42-49.
16. Le Bars D, Dickenson AH, Besson J-M, Villanueva L. 1986. Aspects of sensory processing through convergent neurons, In Yaksh TL, ed. *Spinal afferent processing*. New York. Plenum, 467- 504.
17. Hoffert MJ. 1989. The Neurophysiology of Pain. *Neurol Clin.* 7: 1983-203.

18. Germain H, Frenette L, Neron A. 1987. Antinociceptive action of the clonidine in the epidural space. *PainSuppl* (4): 380.
19. Baños-Diez JE, Navarro Acebes X. 1996. Aspectos actuales de la transmisión nociceptiva: mecanismos periféricos y modulación espinal. *Rev. Neurología* 24:769 - 778 .
20. Ramírez F, Vanegas H. 1989. Tooth pulp stimulation advances both medullary off-cell pause and tail flick. *Neurosci Letters*. 89:153-156.
21. Basbaum A, Chi S-I, Levine J. 1992. Peripheral and central contribution to the persistent expression of the C-fosproto-oncogene in spinal cord after peripheral nerveinjury. En: Willis WD, editor. *Hyperalgesia and allodynia*. Nueva York (EE.UU): Raven Press.p.295-304.
22. Feria M. 1995. Neuroquímica funcional del dolor. En Aliaaga L, Baños JE, Barutell C, Molet J, Rodriguez de la Serna A. *Tratamiento del dolor teoría y práctica*. Ed. MCR 27-34.
23. Ollat H, Cesaro P. 1995. Neurogenicpain. *P ClinNeuropharmacol* 18: 391:404.
24. Delamónica EA. 1987. Potenciales evocados somatosensitivos. En: Delamónica, E.A. editor. *Electroencefalografía*. Buenos Aires: El Ateneo. p.581-98.
25. Coutin P. 2001. Potenciales evocados: Elementos y aplicaciones clínicas. 1ra edición. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela. 213 p.
26. Pellegrino F, Vidal R, Sica REP. 2003. Evaluación de la velocidad de conducción del nervio tibial y sus raíces a partir del registro espinal de potenciales somatosensitivos. *SeleccionesVeterinarias*. 11:206-10. s and the Spinal Dorsal Horn, Vol. 1. New York: Plenum Press.104-53.
27. Shimoji K. 1995. Origins and properties of spinal cord evoked potentials. En: Dimitrijevic MR, Halter JA, editors. *Atlas of human spinal cord evoked potentials*. Washington: Butterworth-Heinemann. 1-25.
28. Galik J, Conway C. 1997. *Evoked Potentials: Principles and Techniques*. Published by David Kopf Instruments. N° 48. Tujunga, California. 5 p.
29. Moore K, Dalley A. 2007. *Anatomía con orientación clínica*. 5ª edición. Editorial Médica Panamericana. México. 1205 p.
30. Villanueva L. 1998. Asta dorsal medular: ¿cuál es su rol en el procesamiento de los impulsos que generan la sensación dolorosa? *Rev. Soc. Esp. Dolor*. 5: 52-69.
31. Sandkühler J, Eblen-Zajjur A, Fu Q-G, Forster C. 1994. Differential effect of spinalization on the discharges of simultaneously recorded nociceptive and non-nociceptive spinal dorsal horn neurons. *Pain* 60: 55-65.

32. National Institute of Health (NIH). 1996. Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy Press. Washington, USA.
33. Lu Y, Perl ER. 2005. Modular organization of excitatory circuits between neurons of the spinal superficial dorsal horn (laminae I and II). *J Neurosci* 25(15): 3900-
34. Caviedes BE, Herranz JL. 2002. Avances en la fisiopatología y en el tratamiento del dolor neuropático. *Rev Neurol*. 35 (11): 1037-1048.
35. Eblen-Zajjur A, Sandkühler J. 1997. Synchronicity of nociceptive and non-nociceptive adjacent neurons in the spinal dorsal horn of the rat: stimulus-induced plasticity. *Neuroscience*. 76: 39-54.
36. Bosco R, Eblen-Zajjur A. 2008. Caracterización matemática del periodo posdescarga aferente del asta dorsal de la médula espinal. *ArchMexNeurosci*. 13:155-161.
37. Eblen-Zajjur A. 2005. Inmunología de la Nocicepción. *Dolor ClinTerap*. 3:17-19.
38. Gómez M, Bosco R, Eblen-Zajjur A. 2007. Influence of acute hyperglycaemia on the amplitude of nociceptive spinal evoked potentials in healthy rats. *Int. J. Neurosci*. 117: 1513-1521.
39. D'Mello R, Dickenson AH. 2008. Spinal cord mechanisms of pain. *Br J Anaesth*. 101:8-16.
- 40.Coderre TJ, Katz J, Vaccarino AL, Melzack R. 1993. Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. *Pain* 59: 259-285.
41. Stamford JA. 1995. Descending control of pain. *Br J Anesth* 75: 217-227.
42. Dray A. 1995. Inflammatory mediators of pain. *Br J Anaesth*. 75: 125-31.
43. Campbell JN, Mayer RA. 2006. Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron*. 52: 77-92
44. Treede R, Jensen T, Campbell JN. 2008. Neuropathic pain. Redefinition and grading system for clinical and research purposes. *Neurology* 70: 1630-1635.