

Dolor y resoleómica

Capítulo 5 / PNI 1 / PNI Clínica

Descargo de Responsabilidad

Este texto de referencia es una publicación de PNI Europe en Den Haag, en Los Países Bajos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida y/o publicada mediante impresión, fotocopia, microfilm o de cualquier otra forma, sin el consentimiento previo por escrito del editor.

Este texto de referencia está dirigido exclusivamente a personas con educación médica o paramédica y/o personas que trabajan en el sector de la salud. La información en este texto de referencia no es adecuada para pacientes, y en ningún caso debe estar disponible para los pacientes.

La responsabilidad por el texto, por la información científica contenida en el mismo y por el contenido de las lecciones recae en los profesores. Aunque el texto se ha compilado con sumo cuidado, no está del todo excluido que la información proporcionada, por el motivo que sea, no sea del todo exacta. Ni los docentes, ni PNI Europe, ni sus empleados aceptan ninguna responsabilidad, por el motivo que sea, por las consecuencias, directas o indirectas, que se deriven del uso de este texto de referencia.

© PNI Europe

Capítulo 5 Tejido conjuntivo, curación de heridas y resolectómica, dolor

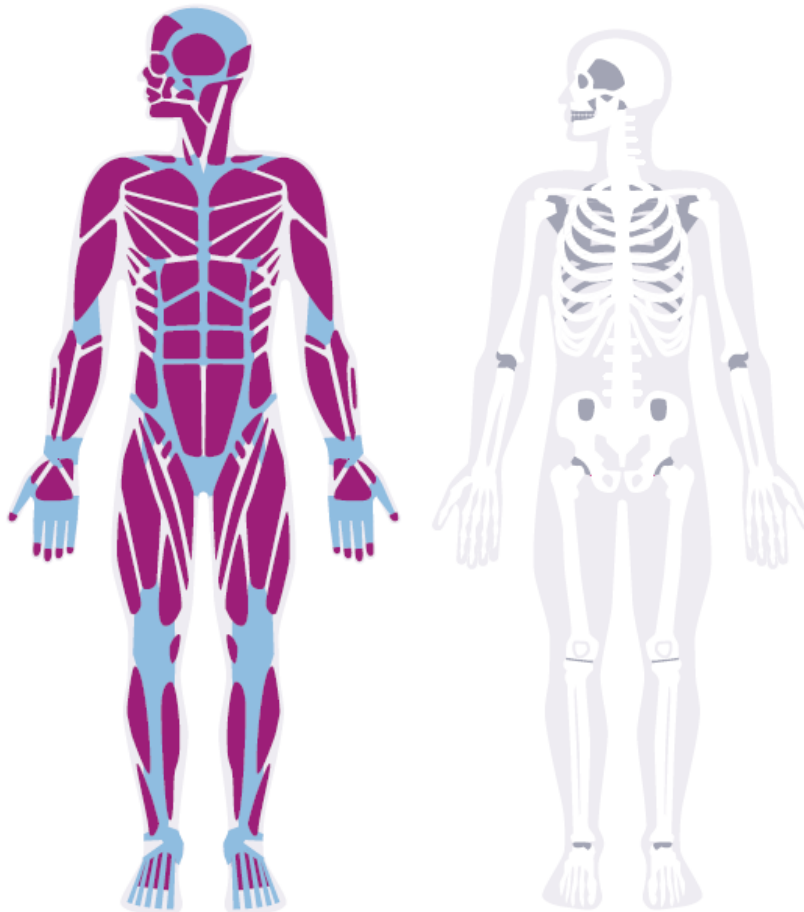
"La gente que más dolor sufre suele ser la que siempre está intentando hacer sonreír a los demás".

Anónimo

Este módulo se mueve en las áreas de la curación normal de heridas, la cronificación de una inflamación (curación de heridas fallida), el dolor y la manera en que algo no se resuelve porque no se puede *finalizar* la inflamación. Normalmente, una inflamación empieza y termina con o sin dolor mediante un proceso completamente coordinado: la resolectómica. La ausencia de las llamadas señales de detención hace que se prolonguen las inflamaciones locales o sistémicas, resultando en un dolor que después puede seguir cronificándose a través de toda clase de procesos.

En el módulo sobre dolor/resolectómica se tratarán los procesos tanto normales como patológicos y se les dará aplicación práctica. El concepto de la resolectómica es uno de los más potentes, si no el que más, para poder ayudar a sus clientes con dolor crónico, a menudo en muy poco tiempo. Una parte importante de este módulo es la aplicación de técnicas de aprendizaje profundo y reencuadre en personas que padecen este mal.

5.1 El tejido conjuntivo



El tejido conjuntivo está presente en el organismo en grandes cantidades. Es, literalmente, el material que une el conjunto del cuerpo y se le llama también tejido conectivo. Está formado por células que constituyen componentes conectores y protectores con los que las estructuras del organismo se ven escudadas, sostenidas y cohesionadas entre sí. Tiene su origen en el mesodermo embrionario y se genera a partir de células madre mesenquimales. Presenta uno de los tipos célula evolutivamente más antiguos y evolucionó a partir de un medio pobre en oxígeno. Por ello, el tejido conjuntivo es particularmente resistente a condiciones de escasez de este elemento. No obstante,

el aporte de oxígeno influye en el desarrollo de las células madre mesenquimales a células conjuntivas específicas. Algunos tejidos tienen una mayor concentración que otros; así, en función del contenido en oxígeno, una célula conjuntiva puede desarrollarse en forma de condroblasto (célula de cartílago) o colágeno (tejido de soporte). La figura 1 muestra un resumen del origen embrionario e histológico del tejido conjuntivo.

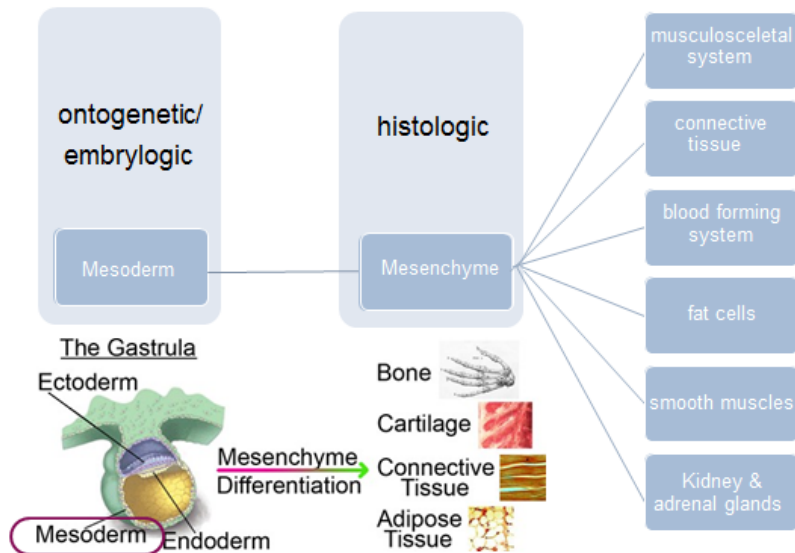


Figura 1
Origen embrionario e histológico del tejido conjuntivo.

El tejido conjuntivo se adapta a la carga a la que se ve sometido (Ley de Wolff). Por tanto, tal carga influye en su composición, degradación y resistencia. Este tejido es un ejemplo excelente del principio de “lo que no se usa se pierde”: si no tiene ninguna carga se atrofia; por otro lado, se hipertrofia si tiene una carga intensa o durante el crecimiento. La capacidad de carga depende de un gran número de factores, como la constitución del cuerpo, la fuerza muscular, el estado de forma, la alimentación, el cansancio, la tensión (estrés), etc. Por tanto, la carga no es un dato fijo, sino que varía de una persona a otra y, en la misma persona, de un momento a otro según las circunstancias. En ello influyen el funcionamiento del sistema nervioso y el hormonal así como el límbico, sistema del cerebro que regula las emociones, las conductas de aprendizaje y la motivación. Tales vías contribuyen al control central de la carga local. Resulta este un ámbito perfecto para ver la interacción entre la P, la N y la I. Las emociones, la motivación y el estrés determinan mediante regulación neural y hormonal la carga y el suministro energético de los tejidos conjuntivos y, con ello, el grado en el que los tejidos de una persona están en condiciones de hacer frente y recuperarse o, por el contrario, degradarse. La actividad ergotrópica, en la que el simpático y los ejes del estrés se ven activados en pro de la actividad, inhibe el desarrollo del tejido conjuntivo a través de, entre otros, el efecto del cortisol, que rompe proteínas de tal tejido en favor de la gluconeogénesis y que inhibe el funcionamiento de los fibroblastos mediante los receptores de glucocorticoides. Por ello resulta importante que tras un periodo de actividad ergotrópica venga uno de trofotrópica, dirigida por el parasimpático, en la que tienen lugar el crecimiento y la restauración. El estrés continuado y, por tanto, una mayor actividad del simpático y el HHA (distrés) bloquean los procesos trofotrópicos y ejercen, por consiguiente, una influencia perjudicial en el tejido conjuntivo.

Las células conjuntivas tienen la capacidad de producir macromoléculas complejas funcionales, para formar fibras de mayor o menor elasticidad en función de los requerimientos del lugar del organismo en el que se encuentren. La principal célula formadora de tejido conjuntivo del cuerpo es el fibroblasto, que produce fibras conectivas y sustancia protectora de soporte. Los espacios entre las células del organismo están rellenos de lo que se conoce como matriz extracelular (MEC), compuesta por piezas producidas por los fibroblastos. Estos últimos elaboran macromoléculas que constituyen el estadio preliminar de fibras del tejido conjuntivo como el colágeno y la elastina, proteoglucanos y moléculas de unión como la fibronectina. El tejido conjuntivo requiere todos estos elementos; sin fibras no hay resistencia mecánica, sin proteoglucanos las fibras no pueden estabilizarse bien y sin moléculas de unión no es posible adherirse a la matriz del tejido. Vamos a examinar sucesivamente todos estos tipos de forma más profunda.

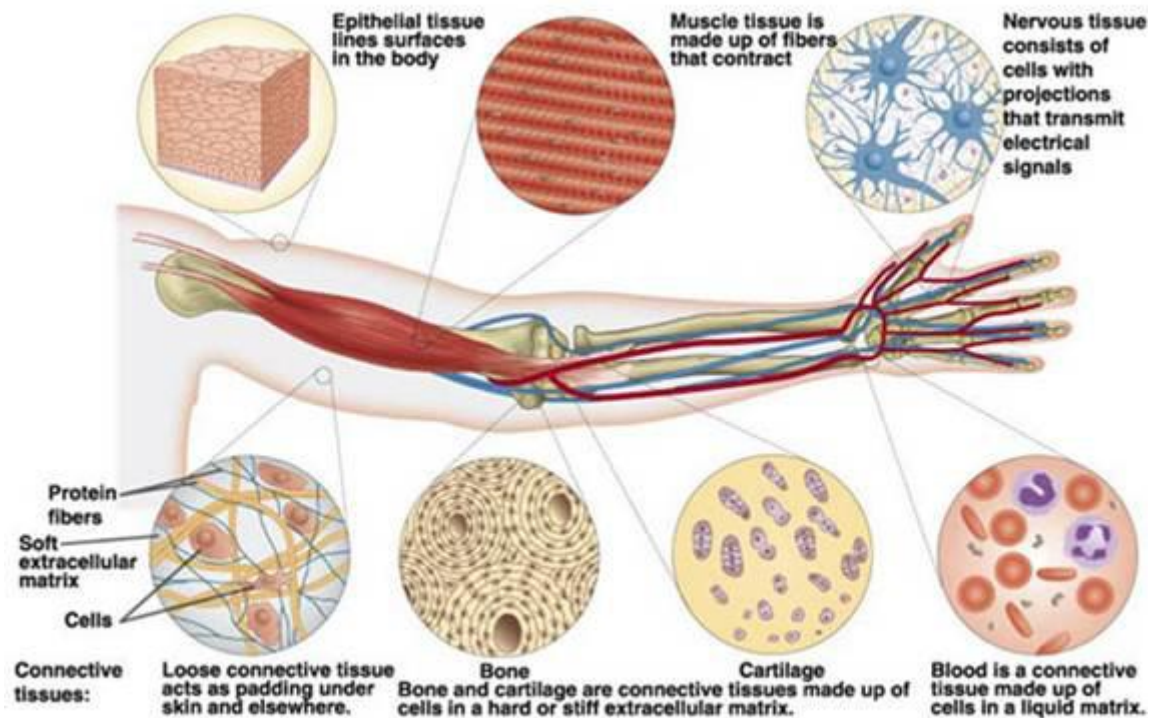


Figura 1B Distintos tejidos conjuntivos en un miembro, como, en este caso, el brazo.

5.1.1 El fibroblasto

Los fibroblastos son células formadoras de tejido conjuntivo. Producen moléculas muy diversas que colectivamente dan lugar a tal tejido:

1. Macromoléculas que constituyen los estadios preliminares del colágeno y la elastina (pro y tropocolágeno, tropoelastina)
2. Proteoglucanos
3. Glucoproteínas
4. Moléculas de unión, como la fibronectina, que conectan células y matriz
5. Las metaloproteasas de matriz (MMP) que pueden descomponer el tejido conjuntivo.

Los fibroblastos tienen un fuerte esqueleto celular con el que se estabilizan internamente y se protegen frente a carga mecánica. El esqueleto celular está compuesto por filamentos de actina, que intervienen en la adaptación de la forma celular ante la carga, filamentos intermedios, que aportan resistencia, y microtúbulos para el transporte de estructuras celulares, moléculas y cromosomas. Con ayuda de unas moléculas de unión, las integrinas, este esqueleto se fija a través de la membrana celular a fibras de tejido conjuntivo del entorno del fibroblasto. Las integrinas asoman tanto por el lado interior de la célula como por el exterior. La fijación da al fibroblasto una mayor estabilidad en el tejido en el que se encuentra. Los fibroblastos tienen la capacidad de migrar al punto en el que se les necesita, por ejemplo para una cicatrización. Entonces, se mueven por las fibras del tejido conjuntivo con ayuda de filamentos de actina en la membrana celular. Para percibir dónde tienen que fijarse, disponen de lo que se conoce como filopodios. Los fibroblastos reaccionan a estímulos mecánicos en su entorno inmediato; diversos estímulos locales selectivos provocan adaptaciones funcionales de ese tejido y dan así al fibroblasto una señal para que produzca un tipo determinado de fibra, como colágeno o elastina. También reaccionan a factores de crecimiento locales, como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), que son percibidos por receptores en la membrana celular del fibroblasto y estimulan a la célula a movilizarse y producir tejido conjuntivo. También influyen en los fibroblastos estímulos sistémicos, como hormonas, componentes inmunitarios, estímulos del sistema nervioso simpático, factores inflamatorios y sustancias de la alimentación. La figura 2 muestra un fibroblasto.

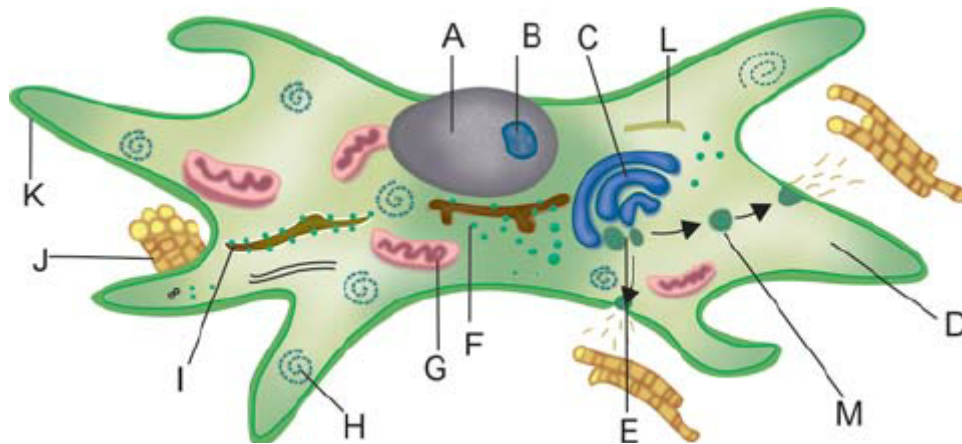


Figura 2¹ Fibroblasto

Estructura del fibroblasto: A: núcleo; B: nucléolo; C: aparato de Golgi; D: citoplasma; E: vesículas de transporte; F: ribosomas; G: mitocondria; H: polirribosomas; I: retículo endoplasmático rugoso; J: fibrillas de colágeno; K: procesos celulares; L: microtúbulos; M: gránulos de secreción

Los fibroblastos funcionan mejor por el día que por la noche, lo cual resultó un descubrimiento sorprendente porque siempre se había considerado que la restauración de tejidos se produce de forma nocturna. Sin embargo, tal supuesto no se aplica al fibroblasto, que depende de estímulos y funciona mejor en presencia de carga. Por tanto, la inmovilización por una lesión tiene el efecto contrario para el tejido conjuntivo. La carga hace aparecer el efecto piezoeléctrico: un potencial que se libera en tal circunstancia, de forma orientada según la dirección de la carga, de tal manera que el tejido conjuntivo se forma en la dirección correcta. Es importante que la carga no sea excesiva, ya que supondría un incremento del daño, motivo por el cual es fundamental estar atentos al umbral de dolor.

5.1.2 El colágeno

El colágeno supone alrededor del 30 % de las proteínas presentes en el organismo. Tiene una gran capacidad de carga pero una elasticidad longitudinal limitada. Para su producción, los fibroblastos elaboran a nivel intracelular procólágeno, compuesto por tres cadenas alfa, cuyos principales componentes son los aminoácidos glicina y prolina o lisina. En la cadena, la glicina se encuentra siempre en el tercer puesto. Es el aminoácido más pequeño que se da en el cuerpo humano y puede producirse a partir de todos los demás aminoácidos, por lo que siempre está disponible para incorporar en el tejido conjuntivo. La lisina y la prolina son aminoácidos esenciales que deben obtenerse con la alimentación. Si hay falta de estos aminoácidos, surgen alteraciones en la estructura del colágeno. El orden de sucesión de aminoácidos en las cadenas alfa determina distintos tipos de colágeno que se encuentran en diversos tejidos. La tabla 1 recoge varios de estos tipos y sus funciones.

Type	Gene name	Chains	Characteristic features	Tissue distribution	Major function
I	Col1A1 Col1A2	$\alpha 1(I)$ 3 $\alpha 1(I)$ 2	Most abundant collagen	Abundant in skin, bone dentin cementum, tendons, ligaments and most connective tissue	Provides tensile strength to connective tissue
II	Col2A1	$\alpha 1(II)$ 3	Forms hetrofibrils with colix	Cartilage, vitreous humor, intervertebral disk	Provides tensile strength to connective tissue
III	Col3A1	$\alpha 1(III)$ 3	Abundant in elastic tissue	Embryonic connective tissue, pulp, skin, blood vessels, lymphoid tissue	Provides tensile strength to connective tissue
V	Col5A1 Col5A2 Col5A3	$\alpha 1(V)$ 2 $\alpha 2(V)$	Forms the core of Type I fibrils. Binds to DNA heparin sulfate, thrombospondin, heparin, and insulin	Basal lamina, blood vessels, ligaments, skin, dentin, periodontal tissues	Provides tensile strength to connective tissue
XI	Col1A1 Col1A2	$\alpha 1XII$ $\alpha 2XI$ $\alpha 3XII$	Forms core of Type II fibrils	Cartilage, vitreous humor, placenta	Provides tensile strength, controlling lateral growth of Type II fibrils
XXIV	Col24A1	$\alpha 11(XXIV)$ 3	Displays structural features unique to invertebrates fibrillar collagen	Bone cornea	Regulation of Type I fibrinogenesis
XXVII	Col27 A1	$\alpha 1(XXVII)$ 3	Presence of triple helix imperfection	Cartilage, eye ear, lungs	Association of Type II fibrils
VI	COL6A1, A2, A3	$\alpha 1(VI)$ $\alpha 2(VI)$ $\alpha 3(VI)$	Highly disulfide crosslinked	Ligaments, skin, placenta, cartilage	Bridging between cells and matrix
XII	COL13A1	$\alpha 1(XIII)$ 3	Single transmembrane domain	Epidermis, hair follicle, cell surface	Cell matrix, cell to cell adhesion
XXV	COL25A1	$\alpha 1(XXV)$ 3	Extracellular domain deposited in β amyloid plaques	Neurons	Neuron adhesion
XV	COL15A1	$\alpha 1(XV)$ 3	Contains antiangiogenic factor	Epithelial and endothelial basement membranes	Stabilizes skeletal muscle cells and microvessels
IX	COL9A1	$\alpha 1(IX)$	Interacts with glycosaminoglycans in cartilage	Cartilage, vitreous humor	Attaches functional groups to surface of Type II fibrils
XIV	COL14A1	$\alpha 1(XIV)$ 3	Associated with Type I	Widespread in many connective tissue	Modulates fibril interactions
XXVI	COL26A1	$\alpha 1(XXVI)$ 3	Disulfide bonds are made into N-terminal noncollagenous domain	Developing and adult testis and ovary	Unknown
IV	COL4A1	$\alpha 1(IV)$ 2	Interaction with Type IV, laminin, nedogen, integrin	Basal laminae	Structural network of basal lamina together with proteoglycans and laminin, nedogen, integrin
VIII	COLBA1	$\alpha 1(VIII)$ 2		Cornea, endothelium	Tissue support, porous network
X	COL10A1	$\alpha 1(X)$ 3		Hypertrophic zone of cartilage growth plate	Calcium binding
VII	COL7A1	$\alpha 1(VII)$ 3	Forms bundles made of dimmers anchored in anchoring plaques and basal lamina	Epithelium (skin, mucosa)	Strengthens epithelial-connective tissue junction

Tabla 1 Tipos de colágeno y sus funciones²

El proceso de formación de colágeno por parte del fibroblasto es el siguiente:

1. Transcripción de ARNm: hay asociados a la formación de colágeno unos 34 genes, cada uno de los cuales codifica una secuencia específica de ARNm y mayoritariamente llevan el prefijo "COL". La primera fase de la síntesis de colágeno comienza con la activación de genes que están asociados a la formación de un péptido alfa determinado (en general alfa 1, 2 o 3).
2. Formación de pre-propéptido: tan pronto como sale el último ARNm del núcleo celular y entra en el citoplasma, se produce el proceso de traducción. Una vez completada la síntesis del nuevo péptido, va inmediatamente al retículo endoplasmático para procesamiento post-traduccion. Ahora se le denomina pre-procolágeno.
3. De pre-propéptido a procolágeno: para la formación del péptido alfa son necesarias tres modificaciones del pre-propéptido:
 - Hidroxilación de las lisinas y prolinas en el propéptido por las enzimas prolil-hidroxilasa y lisil-hidroxilasa para producir hidroxiprolina e hidroxilisina con el fin de fomentar la reticulación de los péptidos alfa. Este paso enzimático exige vitamina C como cofactor.
 - Glucosilación por adición de monómeros de glucosa o galactosa a los grupos hidroxilo de las lisinas (pero no de las prolinas).
 - Una vez producidas estas modificaciones, tres de estos propéptidos hidroxilados y glucosilados se unen en una triple hélice formando procolágeno.
4. Modificación en el aparato de Golgi: en el aparato de Golgi, el procolágeno sufre una última modificación post-traduccion antes de ser secretado fuera de la célula. En este paso se añaden oligosacáridos (no monosacáridos, como en el paso 3) y a continuación el procolágeno se ve envuelto en una vesícula de secreción con rumbo al espacio extracelular.
5. Formación de tropocolágeno: una vez fuera de la célula, unas enzimas unidas a la membrana conocidas como peptidasas del colágeno quitan los extremos sueltos de la molécula de procolágeno. Lo que queda constituye el tropocolágeno. Los defectos en este paso producen una de las numerosas collagenopatías conocidas como síndrome de Ehlers-Danlos. Esta etapa está ausente en la síntesis del tipo III, una clase de colágeno fibrilar.

6. Formación de la fibrilla de colágeno: la lisil-oxidasa, una enzima extracelular que depende del cobre, se encarga del último paso en la ruta de la síntesis de colágeno. Esta enzima actúa sobre las lisinas y las hidroxilisinas produciendo grupos aldehído, para acabar llegando a un enlace covalente entre las moléculas de tropocolágeno. Este polímero de tropocolágeno es lo que constituye la fibrilla de colágeno. Se trata de una fibra gruesa de moléculas de colágeno acumuladas que se agrupan en haces con una estructura estriada y una alta capacidad de carga. Las células productoras de tejido conjuntivo determinan la colocación y el diámetro de las fibrillas de colágeno, en función del tipo de tejido.

La formación de fibrillas de colágeno, de elastina y de agregados de proteoglucanos se ilustra en la figura 3.

Synthesis and Assembly of CT components

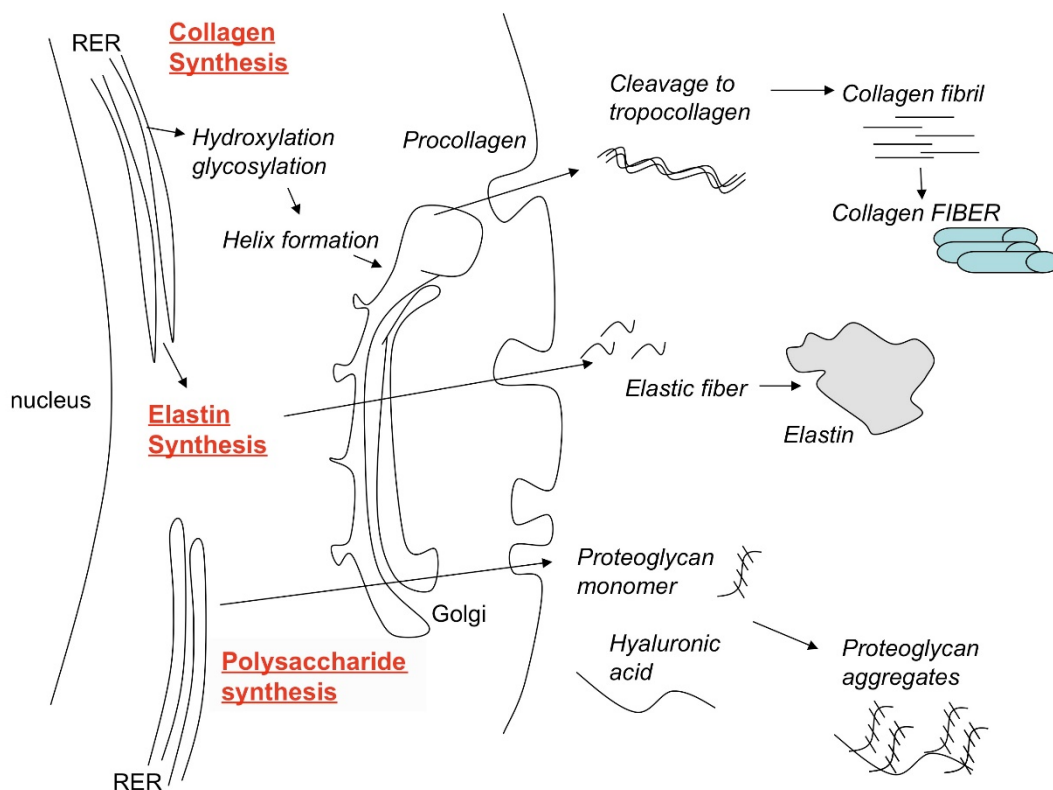


Figura 3³ La formación de fibrillas de colágeno, elastina y agregados de proteoglucanos.

Para formar agregados de colágeno grandes, como las fibrillas, la unidad básica es la molécula individual de colágeno, el tropocolágeno. Tiene unos 300 nm de longitud y 1,5 nm de diámetro y está formado por tres segmentos polipeptídicos (los péptidos alfa, ver paso 3), cada uno de ellos con configuración de hélice levógira (no confundir con las hélices alfa, que son dextrógiras). Estas tres hélices levógiras se unen formando una triple hélice, o "superhélice", dextrógira (figura 4), con una resistente estructura estabilizada por numerosos puentes de hidrógeno.

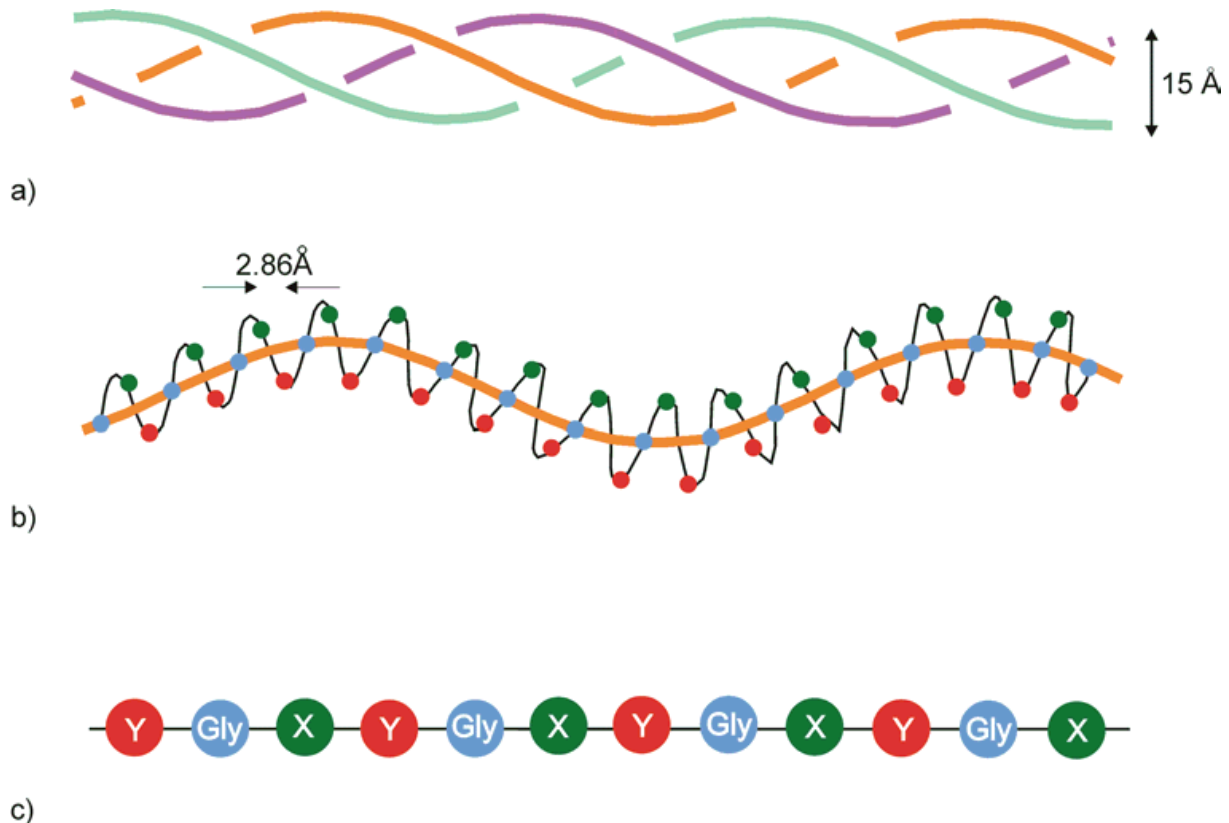


Figura 4⁴

(a) La triple hélice del colágeno. Esta hélice se caracteriza por una disposición dextrógira de tres cadenas alfa polipeptídicas con un paso de 9,5 Å. (b) Cada cadena alfa está estructurada en forma de hélice levógira en la que cada tercera posición se encuentra situada hacia el centro de la triple hélice. Aquí sólo hay espacio para glicinas, los aminoácidos más pequeños, y se forman puentes de hidrógeno entre las tres cadenas. Por ello, la secuencia de aminoácidos de las cadenas alfa se caracteriza por la repetición Gly-X-Y (c), donde X e Y son mayoritariamente residuos de prolina e hidroxiprolina.

Una característica distintiva del colágeno es la colocación regular de aminoácidos en cada una de las tres cadenas de estas subunidades de colágeno. El orden de sucesión suele seguir la pauta glicina-prolina-X o glicina-X-hidroxiprolina, donde X puede ser un residuo de uno de los otros aminoácidos. La prolina o la hidroxiprolina suponen en torno a 1/6 de la secuencia total. El elevado contenido en glicina del colágeno resulta importante con relación a la estabilización de la hélice de colágeno, ya que posibilita una asociación muy estrecha de las fibras de colágeno en la molécula, facilitando el enlace por hidrógeno y la formación de entrecruzamientos intermoleculares.

La cantidad relativamente alta de anillos de prolina e hidroxiprolina, con sus grupos carboxilo y amino (en su caso secundarios) geométricamente limitados, junto con la abundancia de glicina, explican la tendencia de los segmentos polipeptídicos individuales a formar espontáneamente hélices levógiras, sin enlaces de hidrógeno.

Como la glicina es el aminoácido más pequeño sin cadena lateral, tiene un papel particular en las proteínas estructurales fibrosas. En el colágeno, la glicina es necesaria cada tres puestos porque el ensamblaje de la triple hélice coloca esta posición en el lado interno (eje) de la hélice, donde no hay espacio para grupos laterales mayores que el átomo de hidrógeno de la glicina. Por estas mismas razones, los anillos de la prolina y la hidroxiprolina tienen que quedar hacia afuera. Estos dos aminoácidos ayudan a estabilizar la triple hélice por medio de los puentes de hidrógeno. Los puentes de hidrógeno son enlaces entre aminoácidos en los que un átomo de hidrógeno (H) de una cadena se ve atraído por uno de nitrógeno u oxígeno en la cadena de enfrente.

Las subunidades de tropocolágeno se ensamblan espontáneamente, con extremos espaciados de forma regular, para formar series aún mayores en los espacios extracelulares de los tejidos. En los colágenos fibrilares, las moléculas se disponen con unas separaciones específicas. En cada repetición de la microfibrilla hay partes con cinco moléculas transversalmente, todas solapadas, y partes con solo cuatro, con el hueco. Estos solapamientos y huecos se mantienen cuando las microfibrillas se unen en fibrillas. Hay algunos entrecruzamientos covalentes

dentro de las triples hélices y también los hay en cantidad variable entre las hélices de tropocolágeno, que, bien organizadas, forman agregados como las fibrillas (ver figura 5).

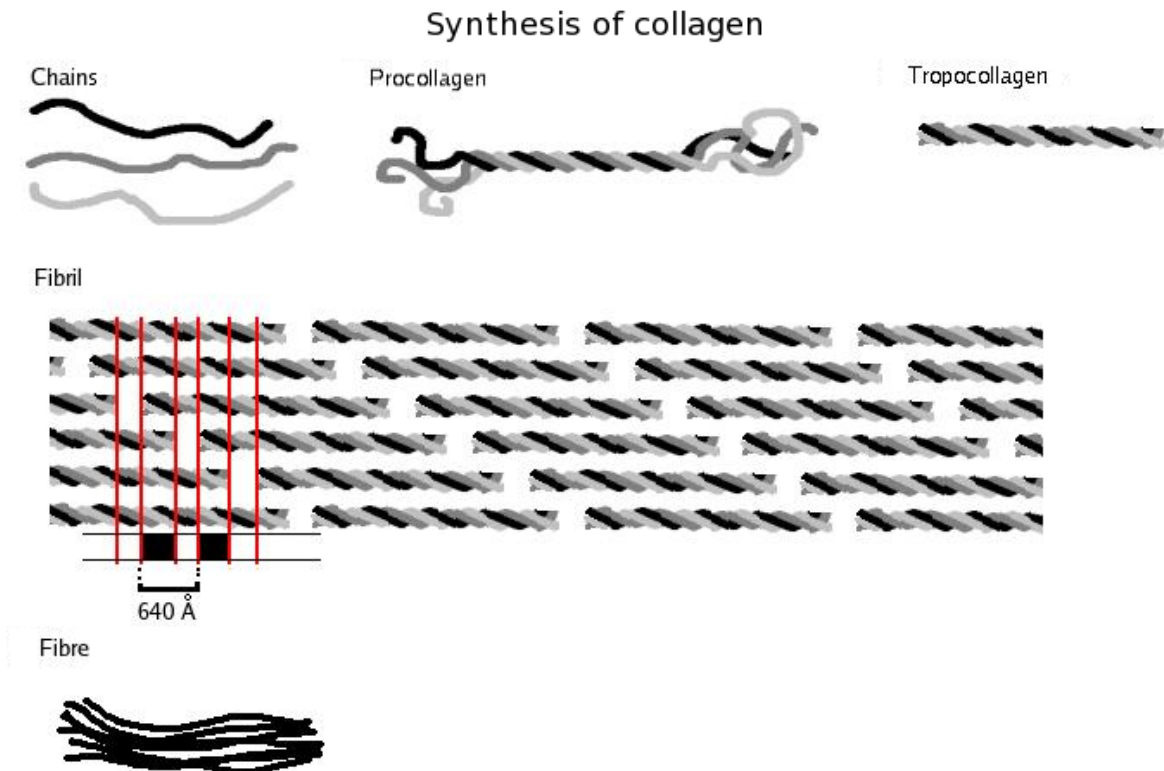


Figura 5
Formación del colágeno

Como ya se ha dicho, el colágeno tiene una elasticidad limitada: si se ve estirado excesivamente en sentido longitudinal, aparecen desgarros. El colágeno presenta distintos tipos de enlaces que le aportan su resistencia:

1. Puentes de azufre en la propia fibra; los puentes de azufre (S-S) son fuertes enlaces covalentes dentro de la proteína que resultan importantes para la estructura de esta.
2. Enlaces electrovalentes (+/-) o bien interacciones de Van der Waals que no son resultado de un enlace electrónico químico y resultan relativamente débiles y más vulnerables a alteraciones.
3. Puentes de hidrógeno (H), un enlace del átomo de hidrógeno de la glicina con un átomo de nitrógeno u oxígeno de otro aminoácido situado enfrente.
4. Grupos OH; grupos hidroxilo formados por hidroxilación con ayuda de enzimas hidroxilasas y los cofactores oxígeno, vitamina C, hierro y alfa-cetoglutarato. El α -cetoglutarato contribuye a la reacción oxidándose conjuntamente con el sustrato principal.
5. Entrecruzamientos; enlaces covalentes estables de grupos aldehído o bases de Schiff (grupo aldehído de lisina). Ver figura 6.

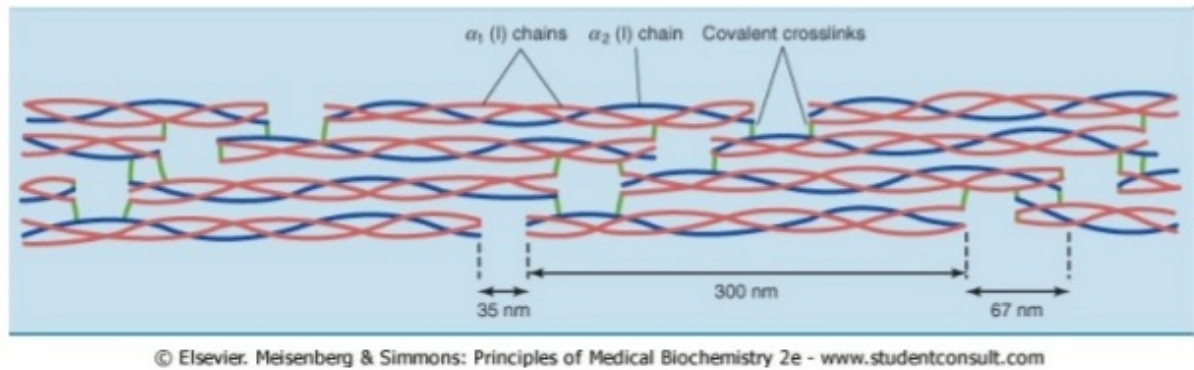


Figura 6
Las conexiones transversales verdes son entrecruzamientos.

La fascia

Por todo el cuerpo, bajo la piel, alrededor y entre los músculos y entre los huesos hay una serie de membranas de tejido conjuntivo: las fascias. Las fascias están formadas por tejido de colágeno y su función es aportar estructura y resistencia al aparato locomotor que protegen. Conjuntamente constituyen el esqueleto fibroso. Además de resistencia también proporcionan la posibilidad de movimiento flexible, ya que donde es necesario pueden moverse relativamente sin fricción, y transmisión de fuerzas. También entre las propias membranas y entre la membrana y el tejido que protege hay conexiones de tejido conjuntivo: el tejido conjuntivo laxo, que tiene una estructuración menos estricta que la de tejidos como los tendones o las cápsulas articulares. Contiene una gran cantidad de agua, que facilita el deslizamiento y no constituye obstáculo mecánico. En último término, todas las estructuras del tejido conjuntivo del organismo forman un continuo estructural sin separaciones claras con espacios vacíos.

5.1.3 La elastina

Además de colágeno, los fibroblastos también producen elastina. Se trata de una proteína sumamente elástica del tejido conjuntivo, que posibilita que los tejidos del cuerpo retomen su forma tras una extensión o contracción. En el ser humano, la elastina se codifica por el gen ELN. La precursora de la elastina es la tropoelastina. En el organismo, la elastina está generalmente asociada a otras proteínas en los tejidos conjuntivos. De hecho, las fibras elásticas del cuerpo son una mezcla de elastina y fibrilina fibrosa. Ambos componentes están principalmente hechos de aminoácidos, como glicina, valina, alanina y prolina; los aminoácidos forman zonas hidrofóbicas móviles delimitadas por entrecruzamientos entre residuos de lisina. La elastina tiene una importante función en las arterias, favoreciendo la circulación sanguínea; en particular, está muy presente en vasos sanguíneos elásticos grandes, como la aorta. Es también muy importante en los pulmones, los ligamentos elásticos, el cartílago elástico, la piel y la vejiga.

Se forma por la unión de gran cantidad de moléculas de su precursor soluble, la proteína tropoelastina, para así dar lugar al complejo de elastina, mucho más grande, insoluble y estable. Las moléculas de tropoelastina sueltas se ven incorporadas en forma de red en fibras de elastina (figura 7) inmediatamente tras ser sintetizadas por la célula, mientras son exportadas a la matriz extracelular.

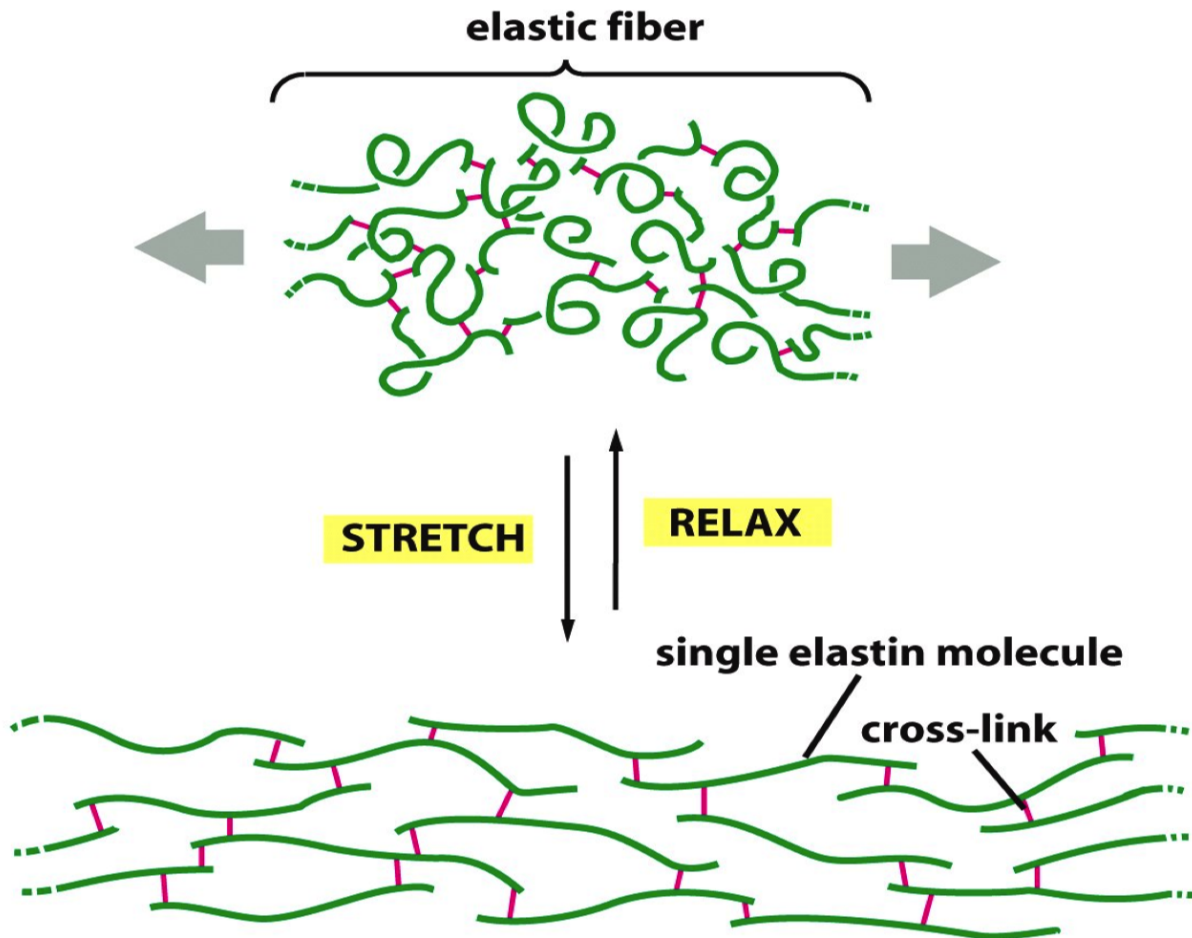


Figure 19-71 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Figura 7⁵

La fibra de elastina, formada por moléculas de elastina. Arriba: fibra en reposo. Abajo: fibra estirada.

Cada tropoelastina se compone de una serie de 36 pequeños dominios, colocados en formación de espiral sin una disposición especial, si bien los dominios se alternan entre hidrofóbicos e hidrofílicos. Los dominios hidrofílicos contienen unidades lisina-alanina y lisina-prolina que intervienen en el entrecruzamiento a la hora de formar elastina madura. Por su carácter principalmente hidrofóbico, la elastina no se disuelve fácilmente en agua y no se une a proteoglucanos (ver más abajo). En el lado exterior de la fibra hay microfibrillas, compuestas por glucoproteínas como la fibrilina. La fibrilina forma una especie de armazón por el que la elastina se deposita en la MEC.

Para elaborar fibras de elastina madura, las moléculas de tropoelastina se entrecruzan a través de sus residuos de lisina con moléculas de enlace de desmosina e isodesmosina. La enzima que se encarga de este entrecruzamiento es la lisil-oxidasa.

Si se da una insuficiencia de lisina, surge el problema de que, como no hay la suficiente para producir elastina, en el lugar de esta última se deposita colágeno, lo cual conlleva que el tejido pierde elasticidad. Para la elastina resultan muy dañinos los rayos solares: destruyen sus fibras finas y provocan su aglomeración, lo cual causa la aparición de arrugas. Otra causa de las arrugas relacionada con la elastina es la acumulación de fosfato de calcio en esta última, que reduce su elasticidad. La calcificación de la elastina puede ser también causa de aparición de alta presión arterial en edades avanzadas.

5.1.4

Los

proteoglucanos

Los fibroblastos también producen proteoglucanos, que acumulan agua y contribuyen a la estabilización de los tejidos conjuntivos uniéndolos o separándolos. Los proteoglucanos están compuestos por una cadena proteica central a cuyos lados se sitúan cadenas de polisacáridos, los glucosaminoglucanos (GAG), figura 8.

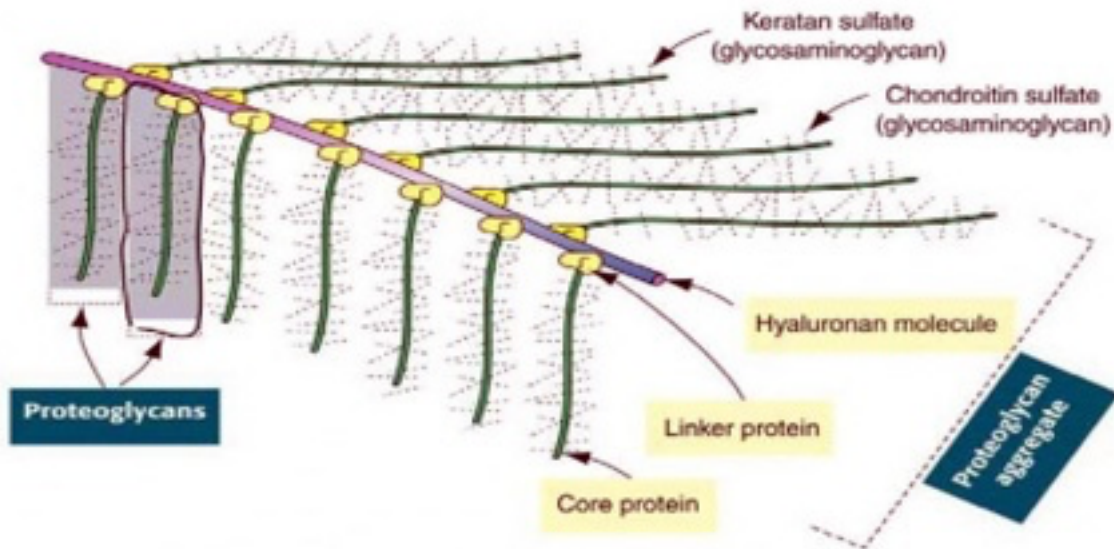


Figura 8⁶

Un agregado compuesto por proteoglucanos, que a su vez contienen glucosaminoglucanos.

Los GAG son largas cadenas de polisacáridos no ramificadas de distinta longitud, provistas de grupos sulfato que en el cuerpo humano son en concreto sulfatos de condroitina, sulfatos de queratina, sulfatos de dermatán, sulfatos de heparina y ácido hialurónico. Los sulfatos y grupos carboxilo motivan que los GAG tengan una carga fuertemente negativa. Esta última provoca la repulsión de grupos con la misma carga, por lo que los GAG y los proteoglucanos se extienden en el espacio de la matriz y pueden cubrir un gran volumen. La carga negativa también atrae una gran cantidad de agua (con ion H^+), que se dispone en torno a los GAG como un manto. Así por ejemplo, el cartílago se compone en un 80 % de agua, atraída con tal fuerza que permanece en el cartílago incluso si este es sometido a esfuerzo mecánico. El agua posibilita que las fibras de colágeno se mantengan separadas entre sí y no se adhieran, lo cual provocaría arrugas. Para terminar, la carga negativa motiva también que las fibras de colágeno, con sus cargas positivas, se dispongan en la matriz entre los proteoglucanos. Si se ve sometido a fuerza, el colágeno puede desplazarse en la matriz, pero las cargas lo guían y lo estabilizan. Las ramas laterales de los proteoglucanos son muy sensibles a los cambios de acidez. Cuanto más ácido el entorno, menos brazos laterales se forman. Por ello, también es importante aquí un aporte correcto de oxígeno, ya que este elemento influye en el grado de acidez de los tejidos (a menos oxígeno, más acidez; véase el apartado 5.1.9).

El tipo de colágeno que se forma (e incluso la velocidad con la que se forma) depende de la composición de los proteoglucanos en la matriz. Como los proteoglucanos los producen los fibroblastos, estos últimos influyen a través de este factor en el tipo de colágeno formado. Los GAG formados con ácido hialurónico pueden acumular gran cantidad de agua; los de sulfato de condroitina producen la condensación de fibras de colágeno delgadas; los de sulfato de dermatán la condensación de fibras de colágeno gruesas y los de sulfato de queratina se encargan de fibrillas muy finas (como en el ojo).

Los GAG son objeto de la gestión energética. Pueden verse descompuestos por determinadas bacterias y transformados en piruvato.⁷ También la transformación de lactato en glucosa en el ciclo de Cori puede influir en la disponibilidad de glucosa para la biosíntesis de GAG. El lactato puede ir asociado a la inhibición de biosíntesis de GAG y el grado de tal inhibición se ve reflejado en la relación entre las concentraciones de lactato y las de piruvato.⁸ En inflamaciones crónicas (IBG), esto es un problema: el sistema inmunitario funciona anaeróbicamente con piruvato/lactato y esto provoca que haya menos glucosa disponible para la síntesis de GAG. Las bacterias (LPS) suponen un problema adicional, al poder descomponer estos GAG, lo cual acarrea inestabilidad de las articulaciones. Así por ejemplo, una infección bacteriana puede provocar degradación del ligamento amarillo, que une las vértebras, causando su desestabilización. Los GAG, flexibles, se ven sustituidos por sustancias como el calcio, que, si bien confiere resistencia, también provoca pérdida de flexibilidad y bloqueo de las vértebras.

5.1.5 Las glucoproteínas

Las glucoproteínas son proteínas que contienen cadenas de oligosacáridos (glucanos) unidas de forma covalente a cadenas laterales de aminoácidos. Se producen en los fibroblastos y se fijan a la proteína en una modificación cotraduccional o post-traduccional. Este proceso se conoce como glucosilación. Una glucoproteína muy común en el tejido conjuntivo es la fibronectina. Tiene como cometido sujetar células en la matriz entre sí y a esta última. Esta función de fijación se ilustra en la figura 9.

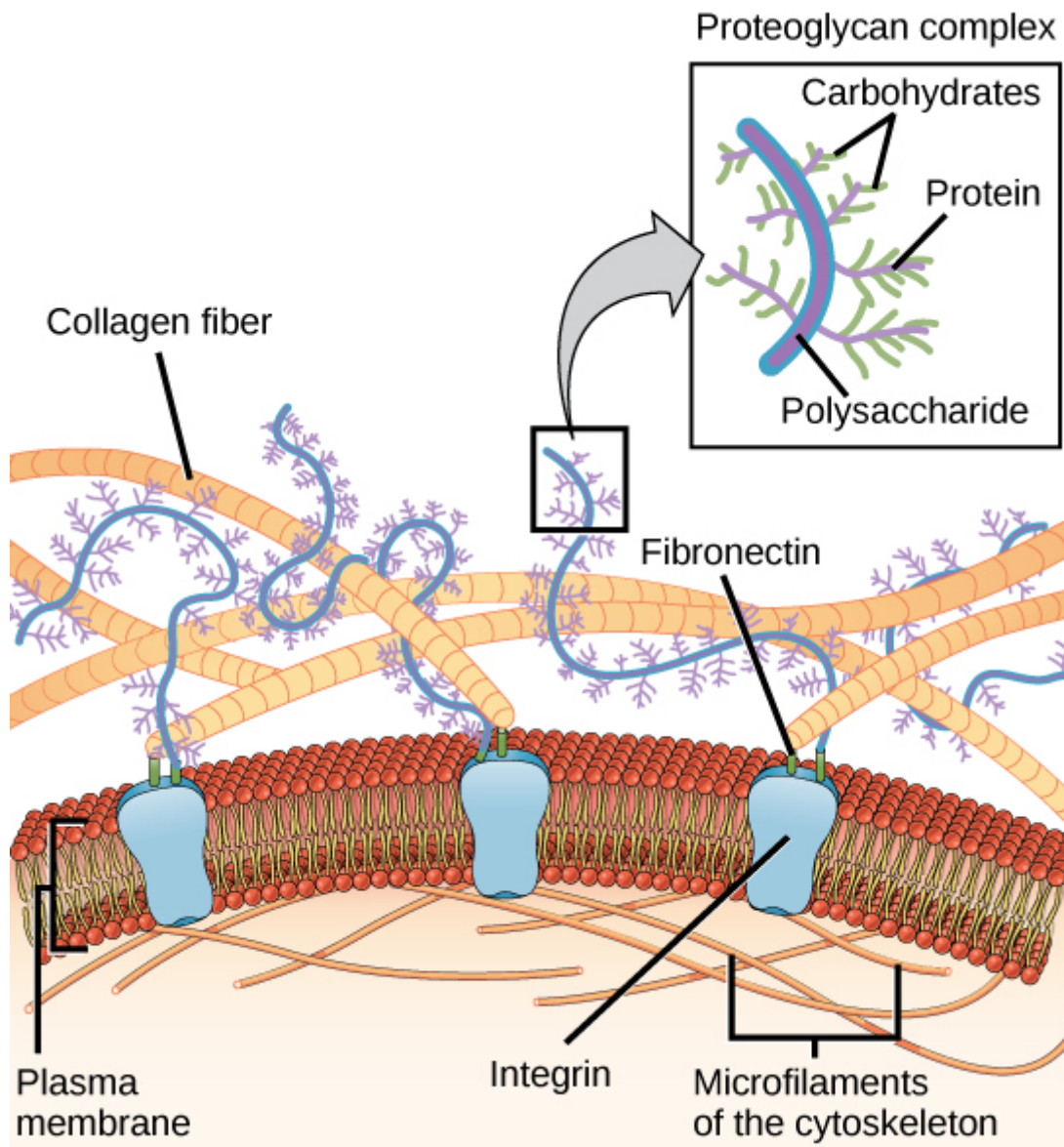


Figura 9^a

El lugar de la fibronectina en la matriz

En los tejidos en crecimiento apenas hay presencia de fibronectina, por lo que mantienen su movilidad. En los tejidos que han completado su crecimiento o están inactivos, se da de forma abundante. Estas fibronectinas son solubles, por lo que le permiten al tejido un cierto grado de flexibilidad si es necesario. La fibronectina puede unirse a integrinas en el fibroblasto, vía a través de la cual interviene en la migración de los fibroblastos dentro del tejido. También la glucoproteína laminina, un componente esencial de la lámina basal (una capa de matriz extracelular secretada por las células epiteliales), se produce en los fibroblastos.

AGE

Los AGE, productos finales de glicación avanzada, son productos finales avanzados de glicación, una forma de fijación de azúcares a otras moléculas. En concreto, se trata de la reacción no enzimática entre azúcares reductores, como la glucosa, y proteínas, lípidos o ácidos nucleicos. Debe diferenciarse la glicación de la glucosilación, que sí

es enzimática. La formación de AGE es un proceso molecular complicado. Se produce una reacción entre grupos carbonilo electrófilos de glucosa u otros azúcares reactivos con grupos amino libres de aminoácidos (sobre todo residuos básicos de lisina o arginina), lo cual lleva a la formación de una base de Schiff inestable. Por reajuste posterior se llega a la formación de una cetoamina más estable (producto de Amadori). Las bases de Schiff y los productos de Amadori son productos de reacción reversibles. Sin embargo, pueden reaccionar de forma irreversible con restos de aminoácidos de péptidos o proteínas y formar así entrecruzamientos. El oxígeno, las especies reactivas de oxígeno (ERO) y los metales de transición con actividad redox aceleran la formación de AGE. Cuando se trata de un paso oxidativo, los productos se denominan productos finales de glicoxidación avanzada. La formación de los AGE se ilustra en la figura 10¹⁰.

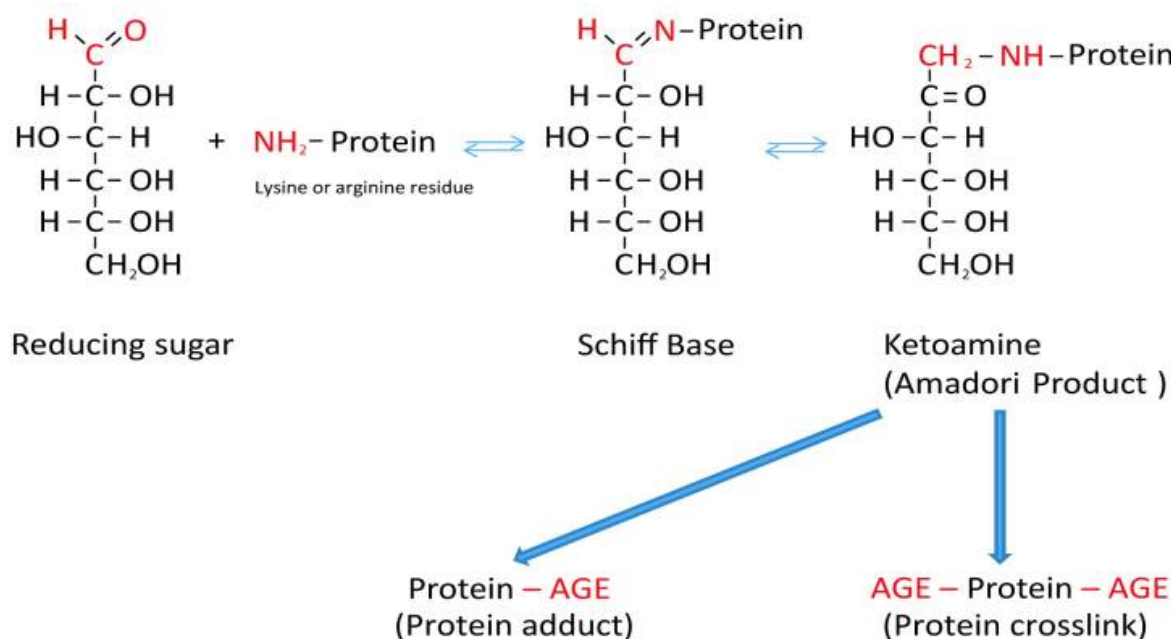


Figura 10¹¹

Representación esquemática de la formación de AGE. Los grupos carbonilo reactivos de un azúcar reductor reaccionan con grupos amino libres neutrófilos de proteínas para formar una base de Schiff reversible. Tras un reajuste, se forma un producto de Amadori más estable. En función de la naturaleza de estos primeros productos finales de glicación, se forman aductos (productos de reacción) o entrecruzamientos con proteínas.

Los AGE pueden incorporarse de manera exógena (a través de la dieta) o producirse de manera endógena. La formación endógena de AGE se ve incrementada en la diabetes; sin embargo, también se producen, a menor velocidad, por los procesos metabólicos normales del organismo. Influyen en la rapidez de la producción de AGE factores del entorno como la dieta o el tabaco. Además, parece que el nivel de AGE circulantes está determinado genéticamente. Los AGE no solo tienen efectos nocivos por las propiedades biológicas que presentan en sí mismos, sino también por su interacción con determinados receptores. Los receptores de AGE (RAGE) son un grupo miembro de una superfamilia de receptores de la superficie celular, las inmunoglobulinas. Son receptores de reconocimiento de patrones que, además de a los AGE, pueden unirse también a diversas otras moléculas. La unión de ligandos a los RAGE estimula diferentes rutas de señalización. La estimulación del RAGE provoca la activación de un factor de transcripción, el factor nuclear kappa-B (NFκB), y la subsiguiente transcripción de numerosos genes proinflamatorios. Un aspecto interesante es que la activación del NFκB inducida por el RAGE se caracteriza por una acción sostenida y protectora, mediante inducción de bucles de feedback positivo y bucles de feedback negativo autorregulatorios con capacidad de asumir prioridad. La activación del RAGE puede causar estrés oxidativo directo, por activación de la NADPH[nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato]-oxidasa (NOX) e inducción de una menor actividad de la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y otras rutas, e indirecto por disminución de la defensa antioxidante celular, como el GSH y el ácido ascórbico¹².

El colágeno es vulnerable a la glicación, proceso que deteriora su función de varias maneras. La formación de entrecruzamientos produce rigidez y pérdida de flexibilidad del tejido. La modificación de la carga y la formación de AGE en las fibrillas de colágeno interfieren en los puntos de contacto con células y otras proteínas de la matriz y reducen su capacidad de reaccionar con ellas. La agregación de monómeros en la triple hélice puede verse interferida por la entrada de moléculas de AGE, al igual que la asociación del colágeno IV con la laminina en la

membrana basal. El colágeno modificado es resistente a la descomposición por parte de las MMP, lo cual impide su retirada y su sustitución por colágeno funcional recién sintetizado. De esta forma, la permeabilidad y renovación de los tejidos se ven dificultadas, lo cual puede darse durante un tiempo prolongado. Pensemos en las arrugas de las personas mayores. Otras proteínas de la matriz extracelular que pueden sufrir glicación avanzada son la elastina y la fibronectina. También las proteínas citoesqueléticas, las enzimas y los factores de crecimiento pueden ser blanco de modificación no enzimática por azúcares, al igual que otros componentes intracelulares, como el ADN y los lípidos, con efectos perjudiciales para su función¹³.

5.1.6 La irrigación y el metabolismo

El tejido conjuntivo, los huesos, la piel, los tendones y las cápsulas articulares tienen una baja irrigación en reposo y cuestan poca energía; el metabolismo basal es muy bajo y supone solo el 6 % del metabolismo total. Esto resulta llamativo, si se tiene en cuenta que una gran parte del cuerpo es tejido conjuntivo. Este último depende totalmente del movimiento para disponer de irrigación. Los niveles de oxígeno tienen un gran impacto en la célula. Como ya se ha mencionado, el tejido conjuntivo es un tejido hipóxico. El grado de hipoxia es responsable del desarrollo de células madre en la fase embrionaria, en el crecimiento y cada vez que estas células se ven movilizadas en la vida adulta. Las células madre de la médula ósea se encuentran en un medio con poco oxígeno. Se considera que estas condiciones pobres en oxígeno funcionan como mecanismo que conserva la pluripotencia de las células madre. Para ejercerse la capacidad de estas células de diferenciarse en osteoblastos, condrocitos, miocitos y adipocitos, se requieren diferentes niveles de oxígeno. La proliferación de las células madre de la médula ósea se incrementa cuando se cultivan en condiciones pobres en oxígeno, que son similares a su medio original. Por su parte, la diferenciación celular se ve influida por los cambios en el nivel de este elemento¹⁴.

La rotación del colágeno es, por su bajo metabolismo, generalmente baja: 300 – 500 días para los ligamentos, 10 años para los huesos y más de 100 años para el cartílago articular. Una excepción son los ligamentos periodontales y el hueso mandibular, con una rotación de unos pocos días, por su importancia para respirar, comer y beber. La rotación (y el metabolismo) del colágeno también presentan un enorme incremento en situaciones de curación de heridas.

5.1.7 Tejidos específicos y sus particularidades

5.1.7.1 Los músculos

Los músculos, conectados a los huesos a través de los tendones, posibilitan el movimiento. Están formados por tejido muscular y tejido conjuntivo. Las fibras musculares presentan una estructura estriada (no confundir con el colágeno estriado). Tienen su origen en los mioblastos. La fibra muscular está formada por sarcómeros con miofibrillas, en cuya composición destacan la actina y la miosina. El sarcómero (la unidad contráctil) es la estructura repetitiva más pequeña de un músculo con finalidad contractiva. Se compone de gruesos filamentos de miosina y finos filamentos de actina que se solapan entre sí. Entre los sarcómeros se halla un disco de proteínas, denominado línea Z. Asimismo, forman parte del citoesqueleto otras proteínas, como la titina, elástica, que hace que las miosinas y las actinas no se escindan unas de otras al producirse el movimiento. La titina recorre el sarcómero de una línea Z a otra. De la fijación de las miosinas se encargan las desminas. Por su parte, la nebulina determina la longitud normal de los filamentos de actina en el sarcómero, con respecto a los cuales presenta una disposición paralela. Conjuntamente, todas las proteínas dan lugar a la cohesión estructural del músculo. En la figura 11 se muestra una representación esquemática de la organización de la fibra muscular.

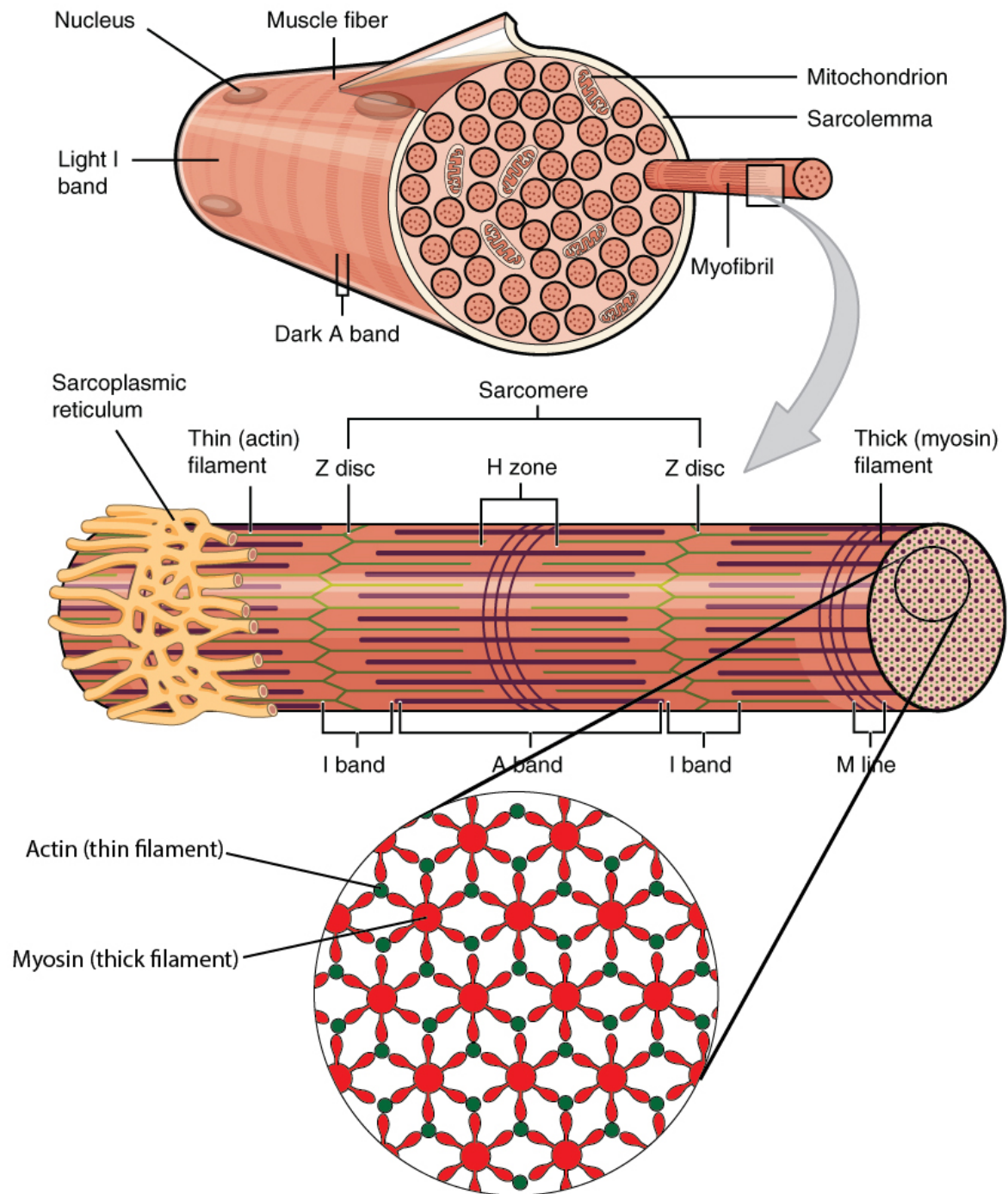


Figura 11¹⁵

Estructura de la fibra muscular

Además del tejido contráctil, las fibras musculares presentan también fibras de colágeno a modo de envolturas de tejido conjuntivo que protegen el músculo frente a fuerzas intensas. Estas fibras conjuntivas también se encargan de transmitir fuerzas de un tejido a otro. El tejido conjuntivo que rodea los músculos tiene una composición tripartita. Alrededor de la fibra muscular individual está la lámina basal, compuesta por una fina red de fibras de colágeno frágil, de tipo IV, elaborada por las propias células musculares. Constituye una conexión entre la fibra muscular y el endomisio, una estructura de finas fibras de colágeno extendida por toda la longitud de las fibras musculares que conecta estas entre sí y con los capilares. El perimisio, una capa con fibras de colágeno más resistentes, envuelve grupos de fibras musculares como una especie de tabique. El grosor depende de la función y ejercitación de los

músculos. Para terminar, también el músculo como unidad completa está rodeado de tejido conjuntivo: el epimisio, que por una parte separa cada músculo como unidad diferenciada pero, por otra, lo une a los demás (figura 12).

Structure of a Skeletal Muscle

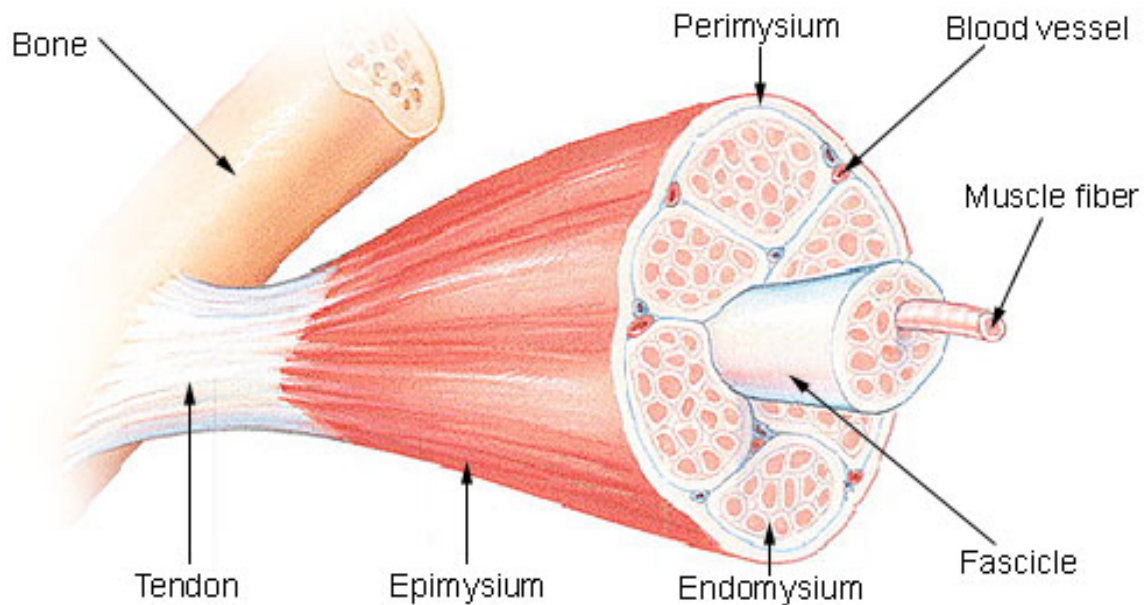


Figura 12¹⁶

El endomisio, perimisio y epimisio

Alrededor de los músculos y grupos de músculos se encuentran las fascias. En el extremo del músculo, el conjunto de fibras musculares y tejido conjuntivo se une a un tendón, que conecta el músculo con otras estructuras. Las fuerzas activas que pone en marcha un músculo en contracción son resultado de la interacción entre los filamentos de actina y miosina en los sarcómeros. La fuerza se transmite a otras estructuras a través de los tendones (transmisión miotendinosa) pero también a través de toda la longitud de los tejidos musculares por transmisión miofascial.

5.1.7.2 Los tendones

Los tendones trasladan la fuerza de los músculos a los huesos. Tienen un contenido de colágeno muy alto, ya que se ven sometidos a intensas cargas. El colágeno de los tendones está organizado en fascículos, que están rodeados por el endotenon, una fina membrana atravesada por pequeños vasos sanguíneos y linfáticos y fibras nerviosas. Entre los haces de colágeno del fascículo hay fibroblastos, que, siendo de los tendones, se denominan tenoblastos. Estos últimos se encargan de la producción de proteoglucanos y colágeno. En un tendón cuyo crecimiento esté completo, la rotación de colágeno es muy baja. Los tendones están rodeados por una membrana, el epitenon, que además de ponerlos en contacto con fibroblastos y vasos sanguíneos, funciona como revestimiento antifricción, facilitando el movimiento. El aporte de alimento y oxígeno al tendón tiene lugar en la conexión con el hueso y el músculo mediante vasos sanguíneos del perimisio y el epimisio del músculo y el periostio (la membrana que rodea el hueso). Como ya se ha referido, el tendón está provisto de pequeños vasos sanguíneos y linfáticos. Los tendones presentan una muy alta capacidad de carga, pero una elasticidad menor. La recuperación de daños tendinosos es un proceso difícil, al ser un tejido muy hipóxico, con muy baja irrigación y aporte de oxígeno.

5.1.7.3 El cartílago

El cartílago es un tejido flexible y elástico que tiene una muy buena capacidad de absorber presiones. Sin embargo, una vez completado su crecimiento, casi no tiene capacidad de regeneración. Para evitar su desgaste, el cartílago se ve lubricado con fluido articular (líquido sinovial), en función de la carga. Por ello, el ejercicio lleva a la renovación del líquido sinovial y la entrada de nuevos nutrientes y retirada de sustancias de desecho. El cartílago puede estar compuesto de hasta un 80 % de agua intracelular, fijada en grandes agregados de proteoglucanos en la matriz. La célula básica del cartílago es el condrocito. Los condrocitos se encuentran en la matriz entre los agregados de

proteoglucanos. Si hay insuficiencia de movimiento, el estado nutricional de los condrocitos y, con ello, la calidad del cartílago se degradan rápidamente. Se distinguen tres tipos de cartílago: el hialino, que absorbe presiones de impacto y desplazamiento, el fibroso, en lugares en los que es necesaria una mayor resistencia a la tracción, y el elástico, que vuelve a recuperar su forma original tras verse sometido a deformación. Los cartílagos están compuestos sobre todo de colágeno tipo II. Como afecciones típicas de estos tejidos están la artritis reumatoide y la artrosis. El cartílago necesita vitamina K, que obtiene del líquido sinovial. Este último depende a su vez de la microbiota intestinal. Por ello, los problemas de cartílago están a menudo asociados a una composición inadecuada de la flora del intestino.

5.1.7.3 El hueso

También el hueso está formado a partir de tejido conjuntivo. Los huesos son resultado de la acción de los osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. El tejido óseo se compone de mineral de hueso y fibras de colágeno, lo cual hace que tenga poco margen de deformación. Dentro del hueso se encuentra la médula ósea, en la que se forman los glóbulos sanguíneos. En caso de fractura de hueso, su recuperación tiene una gran prioridad, por las consecuencias de tales lesiones para la movilidad. En estas situaciones, la renovación del tejido óseo es muy elevada. Por lo habitual, los huesos son energéticamente muy económicos, pero la recuperación de una fractura requiere grandes cantidades de energía. Sobre los huesos se profundizará más en el próximo capítulo (órganos internos 1).

5.1.8 Daños y recuperación del tejido conjuntivo

En lo tratado hasta ahora, ya se ha referido toda una serie de factores que influyen en el tejido conjuntivo. La base de un tejido conjuntivo sano es ejercicio suficiente, regular y adaptado a la capacidad, suficiente aporte de oxígeno al tejido, suficiente sueño (regeneración, periodo trofotrópico), reducción del estrés (evitar ergotropías excesivas), una buena red social (relajación), ingesta de las proteínas adecuadas (aminoácidos azufrados, arginina, glutamina y BCAA para el desarrollo del tejido), las vitaminas A, C y D como cofactores, los minerales zinc, hierro, selenio y manganeso como cofactores, alimentos ricos en proteasa para fomentar la división de los aminoácidos, un pH óptimo para un buen mantenimiento del grado de acidez del tejido y mantener una buena sensibilidad central a la insulina para evitar un crecimiento excesivo del tejido conjuntivo (el exceso de insulina funciona sobre este último como factor de crecimiento).

Si se producen daños en el tejido conjuntivo, se pone en marcha un proceso inflamatorio. Esto se describe de forma extensa en el capítulo 4 y en el apartado 5.3 (resoleómica). Tal proceso es una reacción fisiológica en el tejido ante lesiones locales. Tras la primera reacción, dirigida a eliminar los patógenos que pueda haber y limitar los daños ulteriores restringiendo el área afectada, el tejido dañado se dismantela y, finalmente, se produce tejido nuevo. En la eliminación del tejido dañado están implicadas enzimas de los fibroblastos (MMP) y lo mismo ocurre con la producción de nuevo tejido mediante la sintasa de la matriz y el colágeno. La señal de comenzar la fase de construcción tras un daño viene de los macrófagos presentes en la zona afectada. Estos últimos secretan factores de crecimiento para movilizar fibroblastos y formar nuevos capilares, que permitan la entrada de oxígeno y nutrientes. Cuando los macrófagos se reducen en número, la fase de inflamación llega a su fin y comienza la de proliferación, en la que aumenta la cantidad de fibroblastos. En primera instancia forman, además de los nuevos capilares, el tejido granular, un tejido de cicatrización que cubre la herida. Para ello, los fibroblastos necesitan oxígeno, que les llega por los nuevos vasos sanguíneos, elemento sin el cual no pueden ejercer su función. Por ello, es importante que se ponga fin oportunamente a la actividad del HIF-1 (ver más abajo), responsable de la inducción de hipoxia (falta de oxígeno) en la primera fase inflamatoria. Si esto no ocurre así, los nuevos vasos sanguíneos mueren y la actividad de los fibroblastos se ve inhibida, con lo cual no puede tener lugar una buena curación. Los fibroblastos forman primero mayoritariamente proteoglucanos fijadores de agua y colágeno tipo III para organizar la zona de la herida. El ácido hialurónico proporciona en los primeros días, por su alta capacidad de acumulación de agua, un gel que puede llenar rápidamente grandes espacios. A continuación, en esta matriz gelatinosa, los fibroblastos comienzan a sintetizar fibronectina y colágeno. En el lugar de la herida, los fibroblastos se ven reconvertidos a miofibroblastos por factor de crecimiento transformante B (TGF-B). Con ello, pasan a comportarse de forma diferente: elaboran intracelularmente filamentos de actina conforme a la dirección de tracción del tejido. Estos filamentos terminan, en la superficie celular, en un complejo de adhesión que une los microfilamentos internos con haces de fibronectina extracelulares, los microtendones. Este complejo funciona como mecanismo contráctil que permite a los miofibroblastos ejercer fuerza en la matriz extracelular circundante y contraer esta última, lo cual

reduce la zona de la herida. Esta fuerza contractiva se ve con el tiempo mantenida y reforzada por la acumulación de colágeno¹⁷. La actividad de los miofibroblastos se detiene cuando los macrófagos abandonan el área afectada y, así, cesa la secreción de TGF- β . Entonces, los miofibroblastos entran en apoptosis. Si lo que hay es una inflamación crónica, los miofibroblastos se mantienen activados, lo cual puede desembocar en una fibrosis en el tejido. Una vez curada la herida, tiene lugar la fase de remodelación, en la que se rehabilita el tejido para sus funciones, incrementando su capacidad de carga. Sin embargo, nunca se vuelve exactamente a la estructura original, ya que siempre hay una cierta formación de cicatrices, en mayor o menor grado. El desarrollo de fibras nerviosas en el tejido cicatrizado incrementa su sensibilidad y el tejido se reintegra en el uso cotidiano (fase de integración). Para la restauración de los tejidos reviste una gran importancia que haya carga pero que no supere el umbral del dolor. Las cargas excesivas producen nuevos daños, pero la inmovilización conduce a un tejido débil no adaptado a la dirección de tracción. En un tejido inmovilizado, los fibroblastos no diferencian entre la composición de las distintas capas de tejido conjuntivo (como dermis, hipodermis, fascia, tejido muscular). Entonces, las capas quedan adheridas entre sí y provocan una limitación de la movilidad.

En el capítulo 2 se hizo una descripción del tejido muscular, en la que se trató también la célula satélite, un tipo de célula madre muscular. Las células satélite median en la respuesta regenerativa tras una lesión de músculos esqueléticos. En el tejido muscular, tras la lesión e inflamación, las células satélite entran en actividad y se diferencian en distintos tipos de fibras musculares. Un factor decisivo para una correcta regeneración del músculo es el mantenimiento de la lámina basal de las fibras. En una lámina basal intacta, las células satélite y los mioblastos pueden multiplicarse y formar fibras musculares casi normales en un tiempo breve. Sin embargo, la regeneración muscular puede también llevar a una remodelación considerable del tejido con distintos patrones (ver figura 13). Las fibras musculares en regeneración dentro de la misma lámina basal pueden verse unidas, lo cual llevaría a la formación de racimos de fibras más pequeñas, o fusionarse únicamente en un extremo, lo que llevaría a la formación de fibras bifurcadas. Las lesiones en forma de muñón en el músculo pueden llevar a la aparición de una cicatriz entre las dos partes y la formación de nuevas células satélite. Finalmente, la regeneración puede llevar a la formación de células musculares fuera de la lámina basal por migración de células satélite o por aportación de células madre no musculares, que quedarían como pequeñas fibras incrustadas en los tejidos intersticiales. Si se agota la capacidad regenerativa de las células satélite, esto puede llevar con el tiempo a una fibrosis muscular.

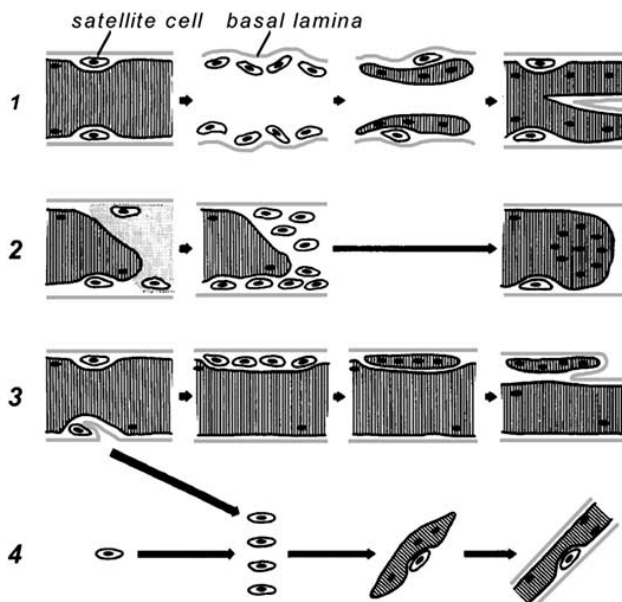


Figura 13¹⁸

Patrones de regeneración muscular. El esquema ilustra distintos patrones de regeneración muscular, entre los que están: (1) fusión incompleta de los nuevos mioblastos, con formación de fibras bifurcadas; (2) necrosis segmental seguida de fusión de células satélite con el muñón de miofibra viable; (3) diferenciación de células satélite y fusión bajo la lámina basal de fibras supervivientes con mioblastos procedentes de células satélite; (4) formación de nuevos mioblastos fuera de la lámina basal a partir de células satélite emigradas.

Los desgarros musculares suponen rotura de fibras musculares, la lámina basal y vasos sanguíneos. En los extremos desgarrados de las fibras se produce una activación, proliferación y fusión de células satélite y se crean nuevas conexiones que unen las puntas de las fibras que se están regenerando y el tejido cicatricial que se forma en medio (figura 14A). Para la sucesiva maduración del tejido cicatricial y la remodelación muscular resulta esencial la carga mecánica. La restauración de la función muscular tras la lesión requiere la inervación con fibras nerviosas que crucen el tejido cicatricial de tal modo que pueda volver a controlarse ambas mitades de la fibra muscular (figura 14B). Si los nervios no consiguen crear nuevos puntos de conexión neuromusculares, las fibras musculares denervadas sufren atrofia y no pueden contribuir a la función muscular.

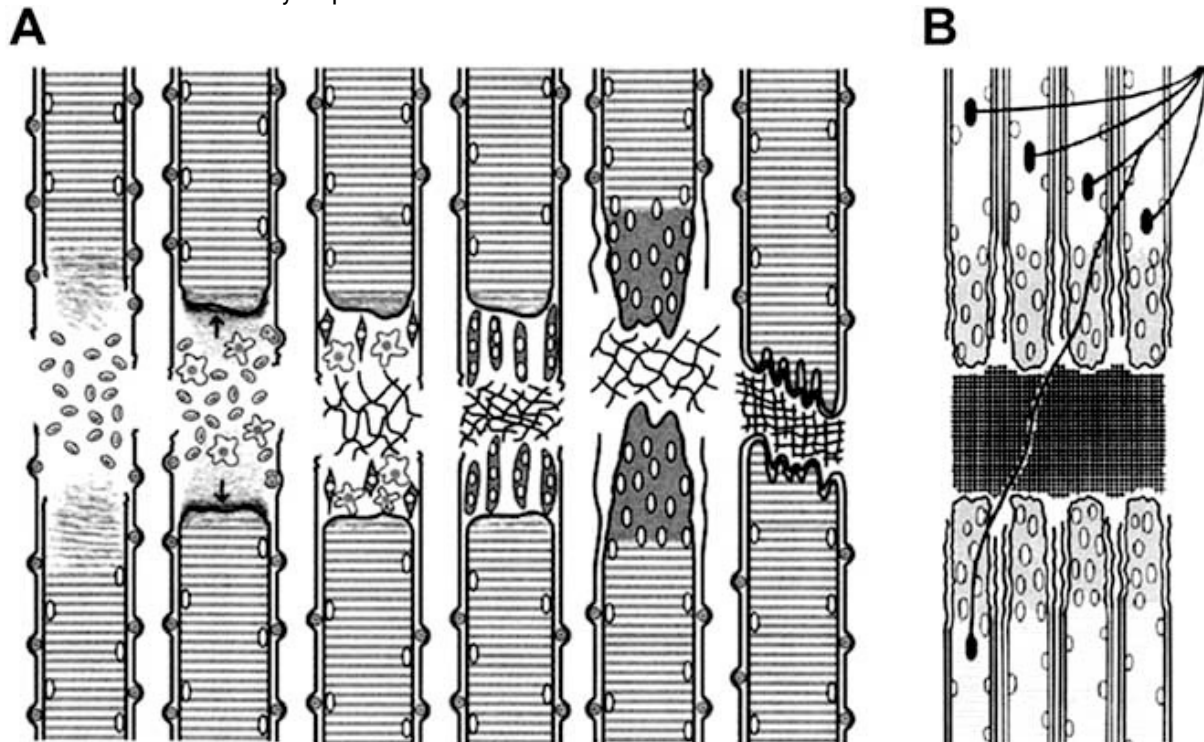


Figura 14¹⁹. Regeneración muscular tras una lesión por distensión muscular. A. La rotura de fibras musculares provoca la formación de tejido cicatricial, que evita la fusión de las dos mitades. B. A consecuencia de la rotura de las fibras y de la separación de las puntas resultantes por el tejido cicatricial, los extremos que no tienen puntos de conexión neuromusculares se ven denervados; sin embargo, el tejido puede volver a inervarse mediante brotes de axones que consiguen atravesar el tejido cicatricial.

En la restauración del tejido conjuntivo tras una herida, tienen un papel destacado el HIF-1 y la PARP. A ellos se dedican los dos próximos apartados.

5.1.9 El papel fisiológico y patológico del HIF-1 en los problemas del tejido conjuntivo

La homeostasis del oxígeno se controla de manera estricta para mantener sus niveles intracelulares dentro de unos límites precisos, que responden por una parte a la necesidad de contar con oxígeno para numerosos procesos metabólicos y, por otra, a la elevada toxicidad de este elemento. Este control tiene lugar tanto a nivel sistémico como celular. Comprende una gran cantidad de mecanismos de regulación y adaptación a los cambios en el aporte de oxígeno. A nivel celular, una concentración de oxígeno insuficiente (hipoxia) lleva a la activación de rutas metabólicas alternativas que no dependen de él. El cambio de metabolismo aeróbico a glucólisis anaeróbica está mediado por la inducción de enzimas glucolíticas y la expresión de transportadores de glucosa (GLUT). Asimismo, se incrementa la expresión de distintas proteínas del estrés responsables de muerte celular o supervivencia. Otras modificaciones que se producen a nivel sistémico y de los tejidos llevan a un aumento del aporte de oxígeno. Entre ellas están la inducción de eritropoyesis (producción de glóbulos rojos), angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos) e hiperventilación. De entre las diversas proteínas que se incrementan, la eritropoyetina (EPO) es el principal factor de crecimiento que induce la maduración de eritrocitos y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) el principal mediador de la angiogénesis y la permeabilidad vascular. La regulación dependiente de la hipoxia

de estas y otras proteínas se produce a nivel de la transcripción y está mediada por el factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF-1)²⁰. La figura 15 muestra el paso a nivel celular de una normoxia a hipoxia.

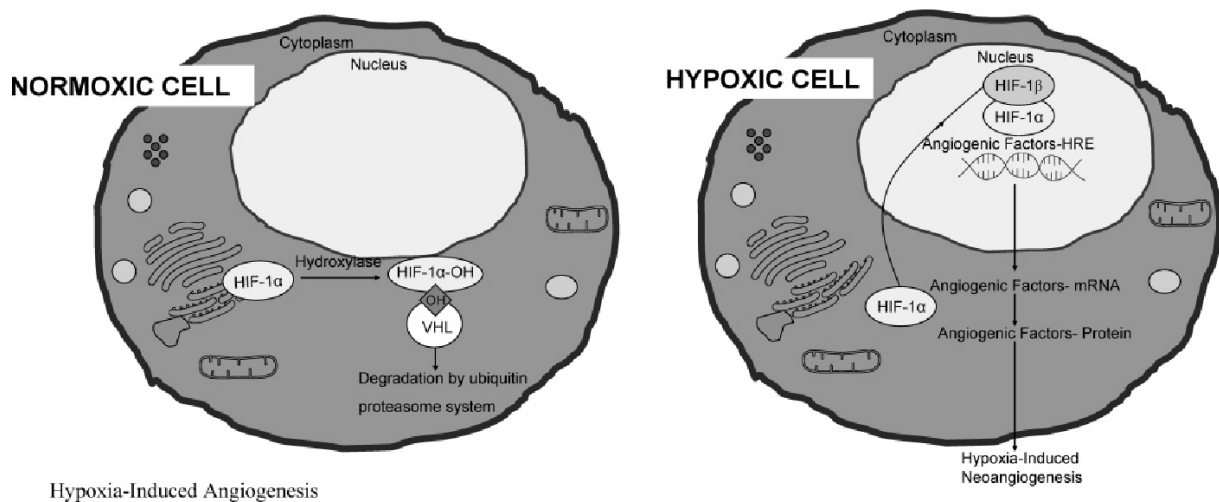


Figura 15²¹

Degradación de HIF-1α en células normóxicas (izquierda) y migración de HIF-1α al núcleo y estimulación de factores proangiogénicos en células hipóxicas (derecha).

Los genes activados por el HIF-1 pueden dividirse en cuatro grandes grupos. El primero está formado por genes implicados en el desarrollo y el funcionamiento del sistema vascular; promueven la angiogénesis o modulan el tono vascular. El segundo grupo se compone de genes cuyos productos proteicos inducen eritropoyesis. El tercero comprende genes cuyos productos están implicados en el metabolismo energético. Su intervención lleva a una mayor presencia de glucosa y al paso a la glucólisis como principal fuente de energía. El cuarto grupo está formado por genes cuyos productos son responsables de la proliferación y viabilidad celulares²². En conjunto, estos genes y sus productos proporcionan una reacción a un estado de menor presencia de oxígeno que en primera instancia es fisiológica, dirigida a la supervivencia de las células en condiciones de hipoxia y a la recuperación de los niveles de oxígeno. En el apartado 5.2, centrado en la curación de heridas y la resoléomica, se profundiza en el papel del oxígeno y el HIF en el proceso de curación.

El HIF-1 tiene dos subunidades principales: HIF-1α y HIF-1β. En la regulación de la actividad del HIF-1 participa sobre todo la subunidad HIF-1α. En condiciones de normoxia, la supresión de la actividad del HIF-1 es principalmente resultado de la degradación constitutiva de la HIF-1α. Como el organismo no necesita estar constantemente activando los diversos procesos para incrementar el aporte de oxígeno, se dan procesos que precisamente evitan la activación de la HIF-1α. En un estado de normoxia, esta subunidad se ve sometida a ubiquitinación y degradación mediante proteólisis por parte del proteasoma 26S. La ubiquitinación consiste en la unión enzimática de una proteína ubiquitina al HIF, que destina a este último a ser degradado. Los proteasomas son complejos proteicos que degradan las proteínas dañadas o innecesarias mediante proteólisis, una reacción química que rompe los compuestos peptídicos en aminoácidos o polipéptidos de menor tamaño con ayuda de enzimas proteasas. El complejo proteolítico responsable de la degradación de proteínas marcadas por la ubiquitina se denomina proteasoma 26S y depende del ATP. En la ubiquitinación de la HIF-1α desempeña un gran papel la proteína supresora de tumor de Von Hippel-Lindau (VHL)²³. La VHL ubiquitina el HIF por medio de prolin-hidroxilación; para esta hidroxilación se necesita vitamina C. Por ello, esta vitamina resulta crucial para la inhibición de la actividad del HIF²⁴. La interacción entre la VHL y la HIF-1α depende del oxígeno: la VHL se asocia con la HIF-1α en condiciones de normoxia pero no en hipoxia. Por ello, en una situación hipóxica no se produce la degradación de HIF-1α, con lo cual pasa entonces a estar activa. Este mecanismo se encarga de desactivar el HIF en condiciones normales (siempre que cuente con la suficiente vitamina C), cosa que para de hacer mientras haya insuficiencia de oxígeno²⁵.

Una cantidad creciente de estudios muestra que también podría producirse estabilización del HIF-1 de maneras independientes de la hipoxia. El primer grupo de inductores de actividad del HIF-1 que funcionan con independencia

de los niveles de oxígeno está formado por inhibidores directos de las prolil-hidroxilasas y las asparaginil-hidroxilasas, que intervienen en la activación y desactivación del HIF, como los quelantes de hierro y las moléculas sustitutorias de hierro. Los inhibidores directos de las prolil-hidroxilasas, como el cobalto o el níquel, inducen estabilización del HIF-1 en condiciones normóxicas al desactivar las prolil-hidroxilasas, con lo cual no tiene lugar la degradación del HIF. Este proceso depende del hierro²⁶.

El segundo grupo está representado por distintas hormonas y factores de crecimiento. La inducción de expresión de VEGF en células musculares lisas vasculares por parte de hormonas vasoactivas como la angiotensina II y la trombina está mediada por la activación del HIF-1. Esta inducción de HIF-1 en células musculares lisas vasculares con independencia de la hipoxia tiene como responsables dos rutas distintas: un incremento de la transcripción del gen del HIF-1 y un incremento de la traducción del ARNm del HIF-1. También algunos otros factores de crecimiento, como la insulina, los factores de crecimiento insulínicos 1 y 2, el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento de fibroblastos 2, el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el factor de crecimiento transformante 1 y citocinas inflamatorias como la interleucina-1 o el factor de necrosis tumoral α , pueden activar el HIF-1 en condiciones de normoxia. La mayoría de ellos funcionan a través del receptor de tirosina-quinasa. Esta activación del HIF-1 por factores de crecimiento es importante en la tumorigénesis²⁷.

Finalmente, el tercer grupo se compone de factores inflamatorios, como citocinas proinflamatorias, monóxido de nitrógeno, aumento de temperatura o estrés mecánico. Entre el HIF-1 y el óxido de nitrógeno existe una interacción: el HIF-1 induce producción de óxido de nitrógeno (NO) y el NO influye en la acumulación y actividad del HIF-1²⁸ (para más detalles, ver la figura 19, en el próximo apartado, con la ruta ONOO-PARP).

Equilibrio ácidos-bases

La hipoxia provoca, en función de su grado y circunstancias, modificaciones en la situación de ácidos-bases que pueden ser desde leves hasta graves e ir desde una alcalosis hasta una acidosis. Estas alteraciones funcionan en parte a través del metabolismo del HIF. La alcalosis respiratoria mediada por hipoxia reduce el tono simpático, induce a vasoconstricción pulmonar y vasodilatación cerebral hipóxicas e incrementa la afinidad por el oxígeno en la hemoglobina. Esto tiene efectos en el suministro y consumo de oxígeno en los tejidos. En casos de hipoxia grave se desarrolla acidosis metabólica e hipercápnica junto con una formación considerable de lactato y el pH baja a menos de 6,8. Si bien convencionalmente esto se considera dañino para la función y la supervivencia celulares, puede tener funciones citoprotectoras por medio de distintos mecanismos antiinflamatorios, antioxidantes y antiapoptóticos que limitan el daño total por hipoxia e isquemia-reperfusión (ver apartado 5.2). Esto se conoce como la "paradoja del pH" o acidosis permisiva²⁹. Entre las alteraciones ácidos/bases y la señalización del HIF hay complejas relaciones mutuas. Los cambios extra e intracelulares en las primeras influyen en la segunda de forma parcialmente independiente de la hipoxia y comprenden, entre otros, efectos en la citoprotección y la apoptosis. A la inversa, la señalización del HIF puede influir en la producción de ácido sistémica y local³⁰. Para influir en el pH del organismo contamos con intervenciones como los baños en sustancias alcalinas, la sauna (en la que se excretan protones H⁺), ejercicios respiratorios, alimentos y bebidas (infusiones y agua alcalina) y suplementos como el polvo alcalino.

El papel del HIF en la inflamación

La hipoxia, y con ella el HIF, desempeñan un importante papel en la inflamación. La hipoxia no solo induce la ruta del HIF, sino también la del NF- κ B, que es proinflamatoria. Además, el HIF puede regular el funcionamiento del NF- κ B y, a la inversa, el NF- κ B es un modulador directo de la expresión del HIF.

La respuesta hipóxica y la inmunidad innata y adquirida están estrechamente relacionadas. La interacción sinérgica entre estas reacciones está mediada principalmente por un bucle regulador en el que están implicados los factores de transcripción HIF y NF- κ B (figura 16³¹).

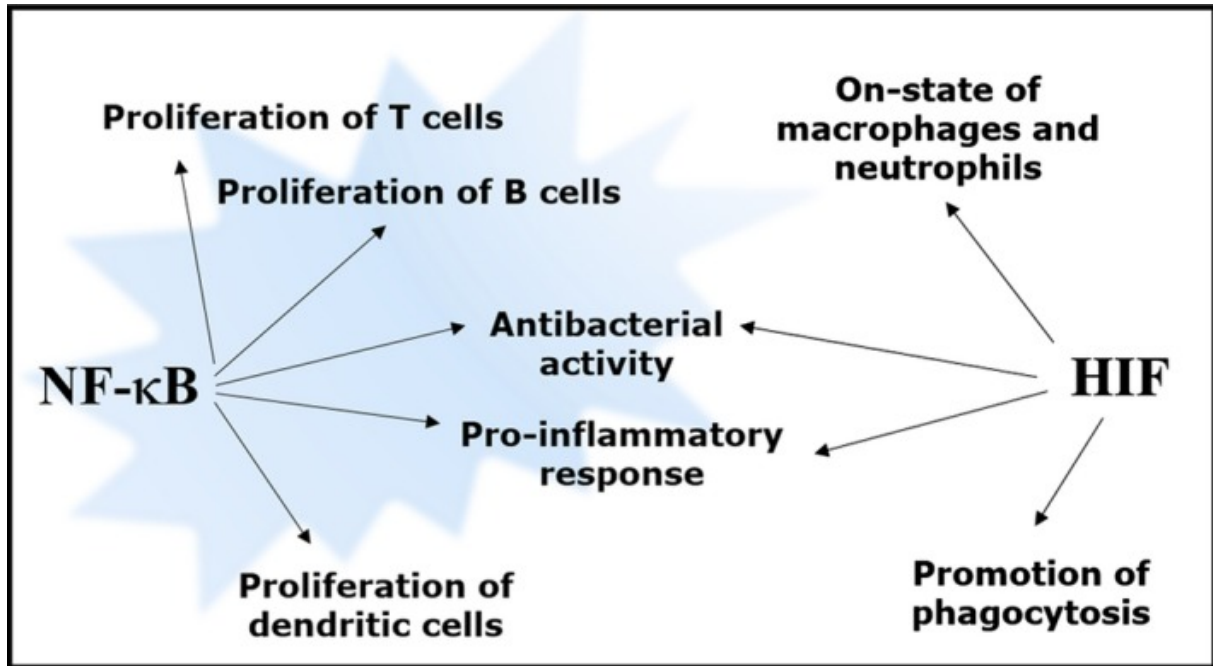


Figura 16³²

Diagrama esquemático de las funciones del NF-κB y el HIF en la respuesta inmune. El NF-κB está implicado en la inducción de la proliferación de diversas células inmunitarias (células T, B y dendríticas).

Una situación de hipoxia puede estimular la activación del NF-κB. Diversos estudios apuntan a un importante papel de la HIF-1α en la estimulación de la actividad de macrófagos y neutrófilos tras la activación de citocinas inflamatorias reguladas por el NF-κB. Los neutrófilos y macrófagos no activados retienen sus propiedades bactericidas y proinflamatorias, mientras circulan en la sangre rica en oxígeno. Al entrar en un tejido lesionado infectado, pasan de esta última a un entorno pobre en oxígeno (causado por un mayor consumo de oxígeno por las células inmunitarias y, con ello, una mayor estabilización de HIF-1α), por lo cual se ven activados. Tras la exposición directa de los macrófagos y neutrófilos a patógenos, entre otros, la respuesta inflamatoria se ve fomentada por el NF-κB y se estimula la transcripción de HIF-1α a través de elementos de respuesta sensibles a la hipoxia de células inmunitarias presentes en la lesión. De hecho, la actividad del HIF está implicada en toda una serie de acontecimientos que fomentan la respuesta inmunitaria, a saber: liberación de citocinas proinflamatorias y péptidos antimicrobianos, estimulación de la fagocitosis, incremento de la vida de los fagocitos por inhibición de la apoptosis y activación de la producción de monóxido de nitrógeno (NO). Además, el NF-κB y el HIF comparten ciertas funciones en la activación de la respuesta inmunitaria contra una infección, favoreciendo la expresión de citocinas proinflamatorias y aumentando la actividad antibacteriana. El HIF es también importante para la activación de macrófagos, así como para fomentar la fagocitosis³³. El HIF constituye por tanto un regulador de la inmunidad intrínseca y la reacción inflamatoria y desempeña un importante papel en las estrategias de resolución, es decir, la resolómica (ver apartado siguiente). La figura 17³⁴ presenta el diálogo entre el HIF y el NF-κB en distintas células inmunitarias.

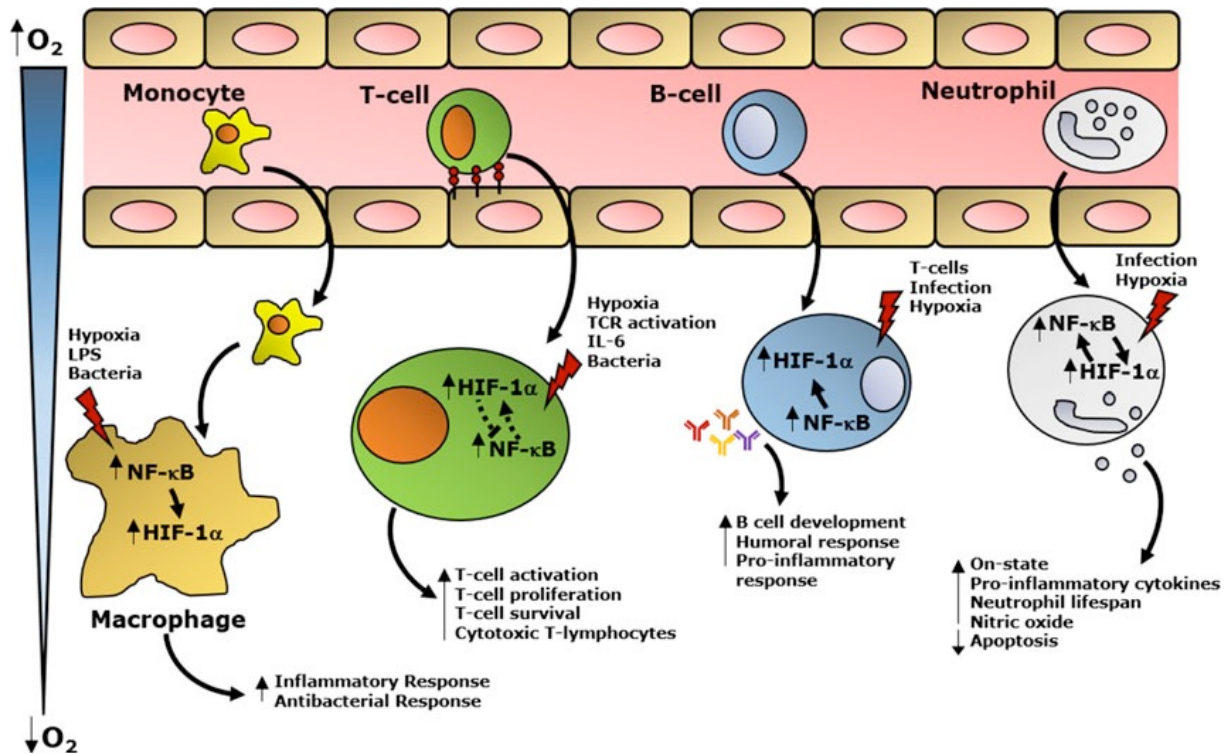


Figura 17³⁵. Diálogo entre el HIF y el NF- κ B en distintas células inmunitarias. En los macrófagos, el NF- κ B aumenta la transcripción de HIF-1 α como reacción a hipoxia, LPS o infección bacteriana. El incremento tanto de NF- κ B como de HIF lleva al aumento de una reacción inflamatoria por subida de la expresión de citocinas proinflamatorias. En las células T el HIF tiene un papel a la hora de mantener controlada la actividad del NF- κ B. En una situación de hipoxia, se incrementa la activación del TCR (receptor de células T) y suben los niveles de HIF y NF- κ B, lo cual lleva a una mayor proliferación, supervivencia y activación de las células T. La hipoxia y la infección también pueden aumentar la actividad del HIF a través de la activación del NF- κ B, lo cual lleva a un incremento del desarrollo de las células B y la respuesta humoral. En los neutrófilos, el HIF aumenta la actividad del NF- κ B. El aumento de estos factores de transcripción activa neutrófilos, lo cual lleva a una mayor producción de monóxido de nitrógeno y citocinas proinflamatorias, así como reducción de apoptosis celular.

Activación del HIF por patógenos

Los mecanismos moleculares del HIF-1 y la activación de genes diana dependiente de este último se ven inducidos de forma directa por infecciones patógenas. Tienen influencia en la señalización del HIF-1 al menos seis virus oncogénicos: el virus del herpes asociado con el sarcoma de Kaposi (KSHV), el virus de Epstein-Barr (EBV), el virus del papiloma humano (HPV), el virus de la hepatitis B (HBV), el virus linfotrópico de células T humanas (HTLV) y el virus de la hepatitis C (HCV). Estos virus tienen, mediante diversos mecanismos, la capacidad de incrementar el HIF-1 celular para favorecer su propia supervivencia en condiciones pobres en oxígeno. La regulación del HIF-1 por parte de bacterias (en particular *Helicobacter pylori* y *Bartonella*) o parásitos (helmintos y *Leishmania*) debe atribuirse principalmente a efectos indirectos de la infección, como iNOS y ROS inducidas por *H. pylori*. En tales casos, para reducir la actividad del HIF-1 es imprescindible combatir los patógenos presentes³⁶.

Influencia de la hipertensión en el HIF y la curación de heridas

Las cicatrices patológicas, en particular los queloides (crecimientos benignos formados por proliferaciones excesivas de tejido cicatricial) y las cicatrices hipertróficas, están causadas por un proceso de curación de heridas desmesurado. Detrás de ello puede haber una hipertensión sistémica, afección que interviene en alteraciones en las fases de la curación de heridas cutáneas, modificaciones funcionales profibróticas en las células que forman queloides y cicatrices hipertróficas (células endoteliales, pericitos/miofibroblastos, fibroblastos dérmicos y mastocitos) y remodelación profibrótica de la matriz extracelular. Estas alteraciones asociadas a la hipertensión se ven en cierto grado mediadas por la inflamación, la hipoxia y el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS). Por tanto, la hipertensión puede constituir un factor agravante/de riesgo para la aparición de queloides y cicatrices hipertróficas, debido a que por un lado suben las demandas metabólicas de las células durante la inflamación pero por otro hay una reducción de los niveles de sustrato metabólico por la vasoconstricción causada por la hipertensión.

intersticial. Estos efectos provocan hipoxia de los tejidos, lo cual motiva una mayor actividad del HIF-1, que a su vez lleva a una mayor angiogénesis y fibrogénesis³⁷.

Los factores de riesgo para el desarrollo de cicatrices patológicas son la adolescencia y el embarazo (por las hormonas sexuales con efectos vasodilatadores), la hipertensión (como se acaba de referir), citocinas proinflamatorias que mantienen en marcha la reacción inflamatoria y factores de riesgo genéticos como el color de la piel y mayores sensibilidades genéticas de genes proinflamatorios en la piel³⁸.

El papel del HIF en la patología del tejido adiposo

La fibrosis también tiene un importante papel en las disfunciones del tejido adiposo. Los adipocitos están rodeados por una red de proteínas de la matriz extracelular (MEC) que hacen de soporte mecánico y reaccionan ante diversos acontecimientos que funcionan como señal. El mantenimiento de un alto grado de flexibilidad de la MEC permite al tejido adiposo expandirse de manera sana, sin consecuencias metabólicas negativas. En un tejido adiposo en expansión rápida surge hipoxia porque los adipocitos pueden alcanzar pronto el límite de difusión de oxígeno a consecuencia de la incapacidad por parte de la neovascularización de seguir el ritmo a la expansión del tejido. Esto conduce a la inducción de HIF-1 α , que a su vez lleva a un potente programa de transcripción profibrótico. Una creciente fibrosis en el tejido graso puede mermar la flexibilidad de la MEC, lo cual reduce la plasticidad del tejido, circunstancia que acaba llevando a disfunción de los adipocitos. El depósito anormal de colágeno, una característica del desarrollo de fibrosis en el tejido adiposo, está estrechamente vinculado a una inflamación tisular caracterizada por infiltración de macrófagos y muchas otras células inmunitarias, lo que resulta en un tejido graso inflamado. La acumulación de fibrosis es la cumbre de distintos procesos patológicos y puede influir en diversos órganos, como el hígado, el corazón o los riñones. El proceso de fibrosis y disfunción del tejido adiposo se representa gráficamente en la figura 18³⁹.

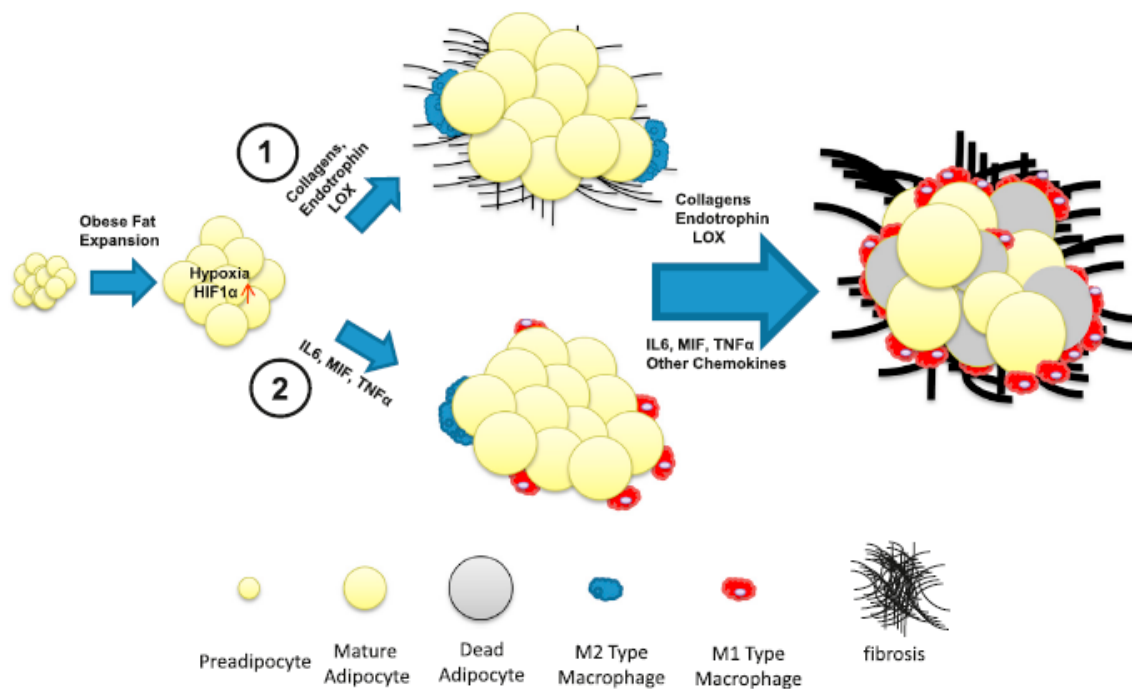


Figura 18⁴⁰. Pasos sucesivos que llevan a fibrosis del tejido adiposo y disfunción metabólica.

La expansión rápida del tejido adiposo lleva a una situación de hipoxia. A consecuencia de ello se induce HIF-1 α .

(1) Toda una serie de genes de "respuesta fibrótica", lo cual incluye los colágenos y las enzimas biosintéticas relacionadas, como la LOX, sufren un drástico incremento en su expresión. Esta regulación motiva un desarrollo anormal de la MEC, lo cual lleva a fibrosis local, que causa necrosis de adipocitos. Entonces, los adipocitos muertos atraen macrófagos M1 proinflamatorios clásicamente activados, que acaban conduciendo a inflamación y disfunción metabólica.

(2) Otros modelos apuntan a que también la HIF-1 α puede inducir de forma directa factores proinflamatorios, como la IL-6 y el MIF, lo cual a su vez provoca infiltración de macrófagos M1. Los preadipocitos, los macrófagos y las

interacciones entre estos tipos de células producen componentes fibróticos que finalmente llevan a una expansión patológica del tejido graso.

Inhibición del HIF mediante la dieta y la respiración

Vista la gran escala de los efectos patológicos que conlleva el HIF si no se le pone freno, la inhibición de este factor constituye una diana interesante en la mediación de la respuesta inflamatoria. El HIF puede inhibirse eficazmente con ayuda de nutrientes específicos, como quinonas, fenoles, flavonoides, vitaminas y aminoácidos como la vitamina C (en particular en combinación con molibdeno, ver apartado 2.2) o la cúrcuma, GABA, purpurina, sesamina, quercetina, arginina, nicotinamida y catequinas⁴¹. Otro recurso eficaz para inhibir el HIF es la aplicación de ejercicios respiratorios como la hipoxia con respiración lenta y rápida y/o la creación de hipoxia local, lo que induce una hipoxia aguda que es capaz de desactivar un HIF activado crónicamente.

5.1.10 El papel de la poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1) en la curación de heridas y su relación con el HIF

La proteína poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1) es la isoforma más común de la familia de enzimas PARP. La PARP-1 está implicada en la regulación de varias funciones celulares fisiológicas, como la reparación de ADN, la transcripción génica, la progresión del ciclo celular, la muerte celular, la función de la cromatina y la estabilidad genómica en la célula. La PARP se activa en reacción a roturas en el ADN en el núcleo de la célula, como señal de daño celular. Ante esto, activa, conforme al grado del daño, enzimas reparadoras del ADN o mecanismos que llevan a apoptosis o necrosis. La PARP se desactiva al ser dividida por la enzima caspasa, que interviene en la muerte celular programada, y a través de un bucle autorregulador por el que puede ajustar su propia actividad⁴².

Un desencadenante fisiopatológicamente relevante de la activación de la PARP es el peroxinitrito (ONOO, una especie reactiva de nitrógeno formada a partir de monóxido de nitrógeno y el anión superóxido). El óxido de nitrógeno (NO) se ve inducido, entre otros, por el HIF-1. El NO media en diversos efectos fisiológicos en los procesos de curación de heridas, como la plasticidad sináptica, la vasodilatación o la inhibición de la agregación de plaquetas, y tiene acción inflamatoria, remodelante y antiapoptótica. Sin embargo, en condiciones fisiopatológicas, el óxido de nitrógeno (NO) reacciona con superóxido ($\cdot O_2^-$) para formar peroxinitrito (ONOO), que induce daño celular por oxidación y nitración. Son particularmente vulnerables a los efectos del peroxinitrito las enzimas mitocondriales, que en tal situación tienen una merma en su función y, por tanto, se reduce la formación de ATP. El peroxinitrito también lleva a la inducción de una mayor permeabilidad membranal en las mitocondrias y, por tanto, disminución del potencial de membrana mitocondrial. Esto tiene como resultado paralización del transporte de electrones y de la formación de ATP, hinchazón mitocondrial y secreción de diversas moléculas proapoptóticas de las mitocondrias, como citocromo c y factor inductor de apoptosis (AIF). Además de las consecuencias nocivas para las mitocondrias, el peroxinitrito y otros oxidantes causan daño oxidativo en el ADN, lo que provoca roturas en cadenas de ADN que activan la PARP-1. La PARP-1 activada consume NAD para construir polímeros de poli (ADP-ribosa), PAR, que se ven rápidamente metabolizados por la actividad de la poli (ADP-ribosa)-glucohidrolasa (PARG). Una parte de la PAR libre puede salir del núcleo celular y migrar a las mitocondrias, donde refuerza la secreción mitocondrial de AIF. En función de la gravedad del daño inicial por peroxinitrito y otras sustancias oxidantes, la célula puede recuperarse (daño leve) o morir por apoptosis (daño medio no reparable) o por necrosis (daño grave y falta de energía). De esta manera, la actividad excesiva de la PARP-1 lleva a la expresión de diversos genes inflamatorios que conducen a una mayor inflamación y al correspondiente daño en los tejidos (figura 19)⁴³.

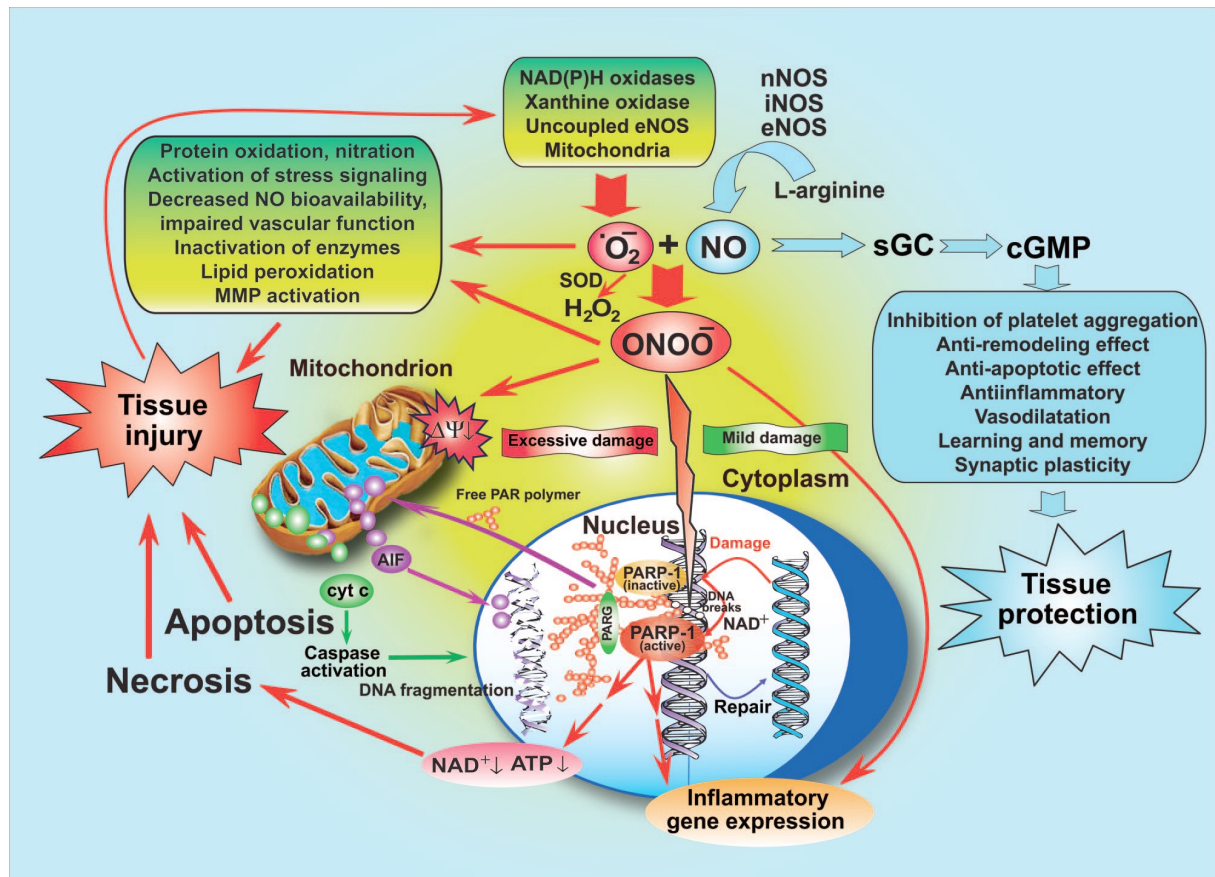


Figura 19⁴⁴. La ruta $ONOO$ -PARP en la salud y la enfermedad.

nNOS = óxido nítrico sintasa neuronal, iNOS = óxido nítrico sintasa inducible, eNOS = óxido nítrico sintasa endotelial, sGC = guanilato ciclase soluble, cGMP = guanosín monofosfato cíclico, NADH = dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido, NADPH = nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida, O_2^- = superóxido, NO = óxido de nitrógeno, SOD = superóxido dismutasa, H_2O_2 = peróxido de hidrógeno, $ONOO^-$ = peroxinitrito, PAR = poli (ADP-ribose), PARP-1 = poli (ADP-ribose) polimerasa 1, NAD^+ = dinucleótido de nicotinamida y adenina, ATP = adenosín trifosfato, AIF = factor inductor de apoptosis, cyt-c = citocromo c

Desde un punto de vista fisiopatológico, la activación de la PARP puede contribuir a una curación de heridas deficiente a través de dos mecanismos principales:

1. poniendo la célula en un estado de insuficiencia energética y disfunción y
2. catalizando la activación de rutas proinflamatorias.

La PARP-1 funciona en el primer mecanismo como molécula sensora y de señalización de daños en el ADN, que se une a roturas en el ADN tanto de una como de dos cadenas. En esta unión, la PARP-1 forma homodímeros y cataliza la división de NAD^+ en nicotinamida y ADP-ribose, con el fin de formar cadenas largas de polímeros de ADP-ribose en proteínas diana como las histonas y la propia PARP-1. Este proceso causa agotamiento energético celular, disfunción mitocondrial y, finalmente, necrosis. Por lo que respecta a la segunda ruta, la PARP-1 puede aplicar a numerosos factores de transcripción y factores de replicación de ADN polímeros de ADP-ribose. En ello parece tener una importancia decisiva la activación mediada por la PARP del factor nuclear kappa beta ($NF\kappa\beta$), inductor de inflamación. La actividad de la PARP-1 puede verse modulada por diferentes factores endógenos, como los estrógenos, las hormonas tiroideas, la nicotinamida, los metabolitos del NAD, la vitamina D y distintas quinasas, y a su vez la PARP-1 puede modular importantes rutas de señalización. Varios factores endógenos pueden influir en la acción de la PARP o bien formando un complejo con esta o bien inhibiendo la unión del NAD^+ al sitio activo de la PARP. También pueden modular la actividad de la PARP diversos factores exógenos (como la cafeína y los metabolitos que genera endógenamente, la teofilina y los antibióticos a base de tetraciclinas). Por la cantidad y diversidad de rutas por las que la PARP-1 puede verse desencadenada, puede acumularse daño en el ADN. El exceso

de actividad de PARP agota el sustrato de NAD⁺ y ralentiza la velocidad de la glucólisis, el transporte de electrones y la formación de ATP, lo cual acaba llevando a limitación funcional o muerte celular, así como a un aumento de la actividad de diversas rutas proinflamatorias. La acumulación de daños en el ADN es el mecanismo que está en la base tanto del envejecimiento como de la aparición de tumores, si bien a través de vías diferentes. A la vista de todo ello, la inhibición de la PARP parece ofrecer considerables posibilidades terapéuticas en el tratamiento de enfermedades⁴⁵.

Inhibidores de la PARP

Como inhibidores de la PARP tenemos, entre otros, los flavonoides naturales quercetina y rutina. La quercetina, representante de la subclase de los flavonoles dentro de los flavonoides, se da de forma común en la fruta y las hortalizas. La rutina está presente en el trigo sarraceno, el ruibarbo, las manzanas, las cebollas, el té, los espárragos, los cítricos como la naranja, la lima, el limón, el pomelo o la toronja y frutos del bosque como los arándanos rojos. Además de su actividad antioxidante, se ha constatado que la quercetina y la rutina ejercen diversos efectos inhibitorios beneficiosos en las células de los mamíferos, como la inhibición de la PARP⁴⁶. Otro inhibidor de la PARP es la nicotinamida, la amida del ácido nicotínico (vitamina B3)⁴⁷. Esto último no es de extrañar, visto el papel del NAD⁺, dinucleótido de nicotinamida, en la ruta de la PARP y en la generación de energía. Asimismo, también intervienen en la inhibición de la PARP otras sustancias presentes en la naturaleza, como compuestos relacionados con el triptófano, purinas, polifosfatos de diadenosina, vitaminas (D, A, K) y sustancias de tipo vitamínico, sustancias endocrinas (hormonas y glucocorticoides), taurina e iones metálicos⁴⁸.

5.2 Curación de heridas y resoléomica

En el capítulo anterior se tocó brevemente el tema de la resoléomica. Antes de profundizar en él, primero se resumirá la típica reacción inflamatoria aguda.

5.2.1 La reacción inflamatoria aguda

Una reacción inflamatoria aguda es una reacción de tejido vascularizado a un estímulo dañino, con las siguientes características: rojez (*rubor*), calor (*calor*), hinchazón (*tumor*), dolor (*dolor*) y mal funcionamiento (*functio laesa*) (en cursiva los términos en latín). Los microorganismos (patógenos) que penetran en el cuerpo son atacados directamente por el sistema inmune innato (H4) y la mayoría son desactivados y eliminados directamente por sustancias bactericidas. Después tiene lugar una reacción de limpieza por medio de fagocitosis (sobre todo granulocitos neutrófilos y macrófagos). Además, los microorganismos (patógenos) provocan la estimulación de citocinas y quimiocinas como TNF- α , IL-1 e IL-6. Estas citocinas hacen que las células inmunes sigan activadas. A continuación, también es activado el endotelio de los vasos sanguíneos de alrededor de la inflamación, con el resultado de que se expresan las moléculas de adhesión de leucocitos en las células endoteliales locales. La consecuencia es que se convocan más células del sistema inmune innato al lugar de la infección para ayudar a combatirla. En muchos casos estas actividades de limpieza transcurren tranquilamente y sin provocar más daños. Sin embargo, si la infección es más grave y la reacción a ella más fuerte, se producen grandes cambios en los vasos sanguíneos que sí producen fenómenos clínicos perceptibles. Entonces se atraen tantos granulocitos neutrófilos y monocitos que acarrearán daño tisular local. En ese caso hay reacción inflamatoria (inflamación). Su objetivo final es limitar el agente o proceso que está perjudicando, neutralizarlo, diluirlo o hacerlo inocuo de algún otro modo.

Las reacciones inflamatorias no solo se ponen en marcha tras una infección por microorganismos, sino que también se inician con otros estímulos nocivos, tanto externos (no estériles) (PAMP) como internos (estériles) a través de alarminas y DAMP. La causa de la infección es determinante para la forma en que se desarrolla, como ya se ha hablado en el capítulo anterior, y activa los sistemas inmunes innato y adquirido, incluyendo el sistema del complemento. Con ello se liberan multitud de mediadores de inflamación, citocinas y quimiocinas. La inflamación, la reacción de tejido vascularizado a un estímulo dañino, comprende también la fase de restauración, en la que se cura y repara el tejido estropeado. Por tanto, la reacción inflamatoria es en primer lugar tisuloespecífica: primero llegan a la herida sustancias quimiotácticas como prostaglandinas y leucotrienos (véase más adelante) desde el torrente sanguíneo, y después estos atraen células inmunes.

Una reacción inflamatoria aguda puede desarrollarse en un periodo de entre varios segundos hasta algunos minutos, y suele ser de duración relativamente corta (entre unos minutos y varios días). Durante este proceso se forma un gran número de moléculas diferentes, los mediadores inflamatorios. Estos mediadores de la inflamación inician una

cascada de cambios vasculares y tisulares: la inflamación. Estos cambios están orientados a dirigir las proteínas plasmáticas y los leucocitos (primero sobre todo granulocitos neutrófilos) desde la circulación al foco de la infección y a eliminar o neutralizar el agente nocivo. Cuando el agente que desencadenó la inflamación es eliminado y los mediadores inflamatorios han desaparecido por descomposición catabólica o dilución en la circulación, en principio la reacción inflamatoria cesa por sí misma. Además, existen mecanismos antiinflamatorios que reprimen activamente la reacción inflamatoria y pueden modularla para que no se desborde. Se trata de los llamados "mecanismos de detención", sobre los que se hablará más extensamente en este capítulo.

Tanto en la inflamación aguda como en la crónica se producen cambios en los vasos sanguíneos y en el tejido bajo la influencia de los mediadores inflamatorios. Especialmente los cambios en los vasos son los que provocan fenómenos clínicos de inflamación: *rubor* (rojez), *calor* (calor), *tumor* (hinchazón), *dolor* (dolor) y *functio laesa* (mal funcionamiento). Las reacciones inflamatorias agudas comprenden las siguientes fases:

1. Hiperemia: Mayor circulación en el tejido (provocando rojez y calor) a consecuencia de la dilatación del vaso, iniciada, entre otros, por histamina, bradiquinina y monóxido de nitrógeno (NO).
2. Exudación: El escape de los vasos sanguíneos de líquido con proteínas plasmáticas y ácidos grasos hacia el espacio intersticial (con la consecuencia de *tumor*, *dolor* y *functio laesa*) como resultado de una mayor permeabilidad de los capilares, iniciada, entre otros, por histamina, bradiquinina y monóxido de nitrógeno (NO). El líquido que se acumula en el tejido conjuntivo se llama exudado y produce hinchazón, que activa los receptores de dolor. El dolor, a su vez, puede provocar pérdida de funcionamiento.
3. Infiltración: La migración (diapédesis) de leucocitos de la circulación al foco de infección. Esta es la fase en la que tiene lugar la solución activa de la inflamación. Grandes cantidades de fagocitos son convocados al lugar de la infección. Primero son granulocitos neutrófilos y después, monocitos, linfocitos y plasmocitos. Estas células tienen que infiltrarse en el tejido desde los vasos sanguíneos. El paso de la pared del vaso por parte de estos leucocitos se llama diapédesis, y requiere una interacción entre los leucocitos y las células endoteliales: estas, bajo la influencia de citocinas proinflamatorias segregadas por macrófagos (tisulares) activados y células dendríticas, hacen que se expresen moléculas de adhesión en el sitio de la inflamación, tras lo cual los leucocitos abandonan el torrente sanguíneo en ese lugar.
4. Reparación: Finalización de la inflamación seguida por reparación del tejido. La inflamación termina cuando es eliminado el estímulo inflamatorio primario y los mediadores de la inflamación son desintegrados. Después de limpiar la zona de microorganismos, células muertas y restos celulares es cuando puede producirse la regeneración del tejido dañado. Esto puede dar lugar a la resolución total y absoluta de la inflamación o a la fibrosación del tejido (formación de cicatriz). Si la inflamación no finaliza del todo, aparece inflamación crónica.

En todo el proceso de curación de herida el oxígeno desempeña un papel principal. Los cambios en las concentraciones de oxígeno activan rutas reguladas con precisión que reaccionan a la hipoxia (falta de oxígeno) intentando restablecer el suministro de oxígeno a las células y modulando la función celular en circunstancias hipóxicas. Durante la primera fase del proceso inflamatorio, la herida suele ser hipóxica a consecuencia de una alteración de la vasculatura de las proximidades de la herida, lo que conlleva un menor suministro de oxígeno y una entrada más rápida de células inflamatorias implicadas en el proceso de curación y que tienen alta demanda metabólica de oxígeno. Este gradiente hipóxico también influye en la proliferación de fibroblastos. La hipoxia aguda induce un aumento temporal de la replicación celular y contribuye a la iniciación del proceso de curación. Sin embargo, para que la curación tenga éxito se requiere restablecer las condiciones normóxicas reparando la microvasculatura local. La producción de colágeno, necesaria para cerrar bien la herida, es un proceso que depende del oxígeno. Hace falta oxígeno molecular para la hidroxilación de la prolina y la lisina durante la síntesis del colágeno y para la maduración de protocólagenos en el colágeno estable triple con forma de espiral. Al contrario que la falta aguda, la falta crónica de oxígeno reduce considerablemente la actividad de los fibroblastos. La hipoxia induce la activación del HIF-1 (factor inducible por hipoxia 1), que regula muchos procesos que son necesarios para la reparación de heridas en caso de isquemia del tejido dañado (figura 1)⁴⁹. De acuerdo con su papel en la adaptación a la hipoxia, el HIF-1 tiene una función clave en la modulación de las respuestas inflamatorias. Los tejidos inflamados y las zonas que circundan a las heridas externas se caracterizan por tener bajas concentraciones de oxígeno. Las células efectoras del sistema inmune innato tienen que ser capaces de reaccionar a estas difíciles circunstancias. Los neutrófilos y los macrófagos son muy dependientes de la glucólisis anaeróbica para la producción de ATP. Las células mieloides son casi completamente dependientes de la respiración anaeróbica. El HIF-1 puede influir en la reacción inflamatoria celular, ya que controla el interruptor metabólico para pasar a glucólisis. El HIF-1a es un regulador esencial del metabolismo energético, la migración, la agregación y la actividad bactericida en las células inflamatorias. Además, se ha demostrado que la expresión de HIF-1a tiene un papel fundamental a la hora de favorecer la diferenciación de células mieloides en monocitos y macrófagos. La activación de HIF-1 es también un estímulo primario para la angiogénesis. La angiogénesis está regulada por un equilibrio entre factores de

crecimiento estimulantes e inhibitorios y por cambios fisiológicos en los niveles de oxígeno. La hipoxia estimula el crecimiento y la remodelación de la vasculatura existente. Así pues, la regulación de la angiogénesis por el HIF-1 es crucial para el reabastecimiento de oxígeno y nutrientes al lugar donde se está curando la herida y mejora la supervivencia celular. Sin la activación del HIF-1, la alteración vascular continuada puede provocar que se detenga la circulación, isquemia, hipoxia y necrosis del tejido. La HIF-1 también regula la expresión de muchos otros genes que mejoran el proceso de reparación de la herida, como proteínas metabólicas (GLUT-1), proteínas de adhesión (integrinas), factores de crecimiento solubles (TGF- β y VEGF) y componentes MEC (colágeno tipo I y fibronectina). Por estos motivos, se considera que el HIF-1 es en general un regulador positivo de la curación de heridas y un regulador potencial de la fibrosis de los tejidos.⁵⁰ Sin embargo, una expresión excesiva/prolongada del HIF tiene repercusiones muy negativas para el metabolismo celular: activación permanente de la inflamación, angiogénesis continua y crecimiento tisular. Debido a su papel múltiple en el proceso inflamatorio, el HIF es una diana terapéutica interesante. Un inhibidor de HIF muy interesante es la vitamina C en combinación con molibdeno.^{51 52}

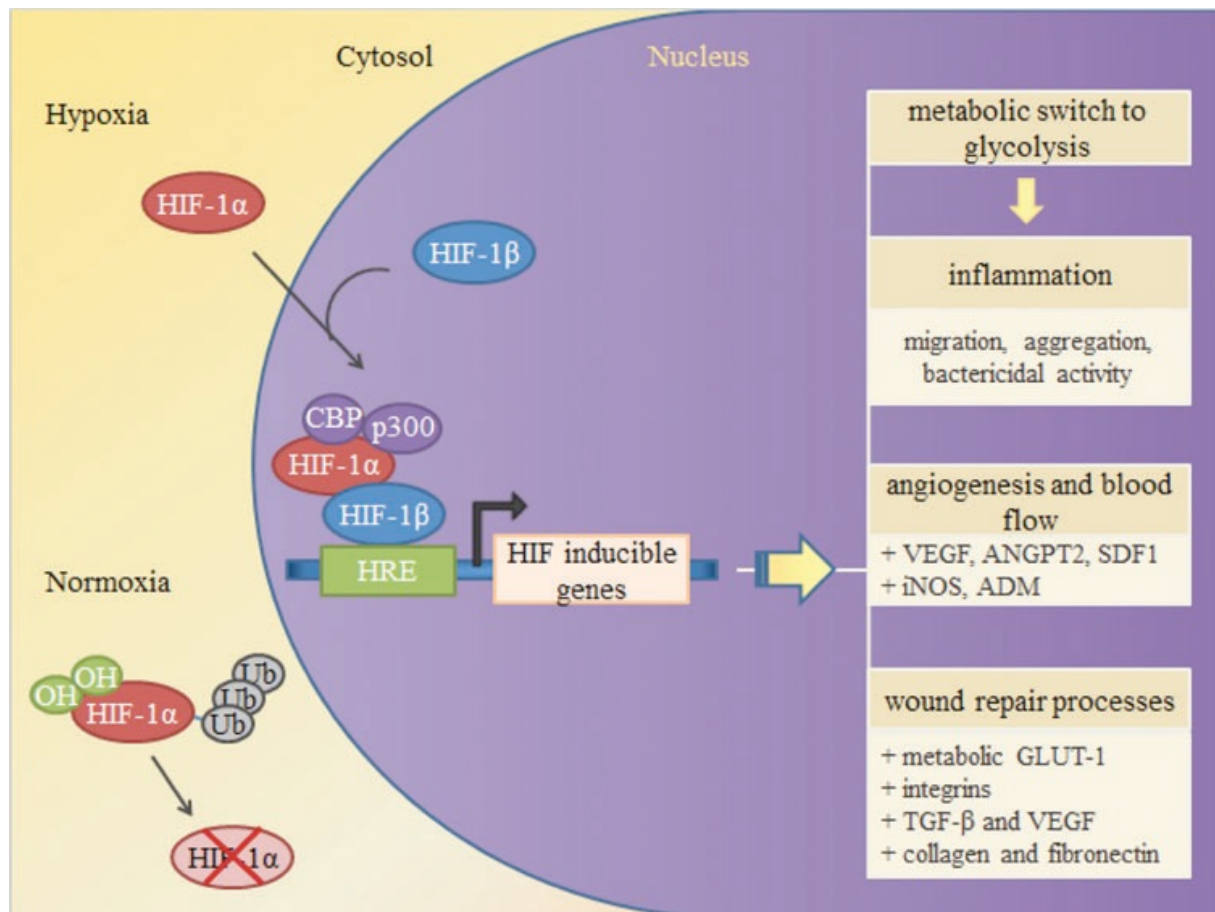


Figura 1⁵³.

Activación de HIF-1. Con hipoxia, el HIF-1 α es estabilizado y se une a la subunidad HIF-1 β para formar el factor de transcripción activo HIF-1. El HIF-1 se desplaza al núcleo, donde se une a elementos de respuesta a la hipoxia (ERH) en la región del promotor de genes inducibles por HIF-1 junto con los coactivadores p300 y CBP para estimular la expresión de genes diana HIF-1, como VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) y SDF-1 (factor derivado de células estromales 1), y llevar a efecto su papel en la curación de heridas.

La compleja reacción inflamatoria aguda tiene que estar regulada con precisión por mediadores de la inflamación. Estos incluyen un gran grupo de moléculas, extremadamente diversas en cuanto a función y características. A menudo hay en el plasma formas precursoras de estos mediadores (moléculas precursoras) que tienen que ser activadas antes de poder realizar su función. Ejemplos son las proteínas del complemento y los factores de coagulación. Muchos mediadores inflamatorios son producidos por el hígado y segregados a la circulación. Otros mediadores no están en el plasma sanguíneo de forma constitutiva, sino que solo se segregan como reacción al estímulo inflamatorio. Estos mediadores de la inflamación pueden almacenarse en gránulos de la célula y ser

expulsados de la misma mediante estimulación (como la histamina por los mastocitos) o ser fabricados mediante estimulación (la neosíntesis, como sucede con las prostaglandinas y las citocinas).

Los mediadores inflamatorios tienen una serie de características en común:

- La mayoría de las veces ejercen su actividad biológica uniéndose a receptores específicos en células diana. A veces tienen directamente actividad enzimática o biológica de otra naturaleza.
- Los mediadores pueden estimular uno o varios tipos de células diana, pudiendo ser diferente el efecto en función del tipo de célula diana (pleiotropía).
- La mayoría de los mediadores de la inflamación tiene una vida corta, ya que se desintegran espontáneamente, sufren descomposición enzimática o son eliminados mediante antioxidantes.
- Muchos mediadores inflamatorios pueden tener efectos dañinos sobre células y tejidos, pudiendo ser proinflamatorios.

Uno de los primeros mediadores que se libera en la reacción inflamatoria aguda es la histamina. La histamina se almacena a altas concentraciones en los mastocitos y en los granulocitos basófilos. El estímulo para su liberación puede proceder de un trauma, calor o frío, la interacción de un alérgeno o antígeno con un anticuerpo IgE unido al mastocito o de citocinas, quimiocinas y fragmentos de complemento. La activación de la histamina produce dilatación de los vasos y aumento de la permeabilidad. Otro mediador inflamatorio temprano es la serotonina. Esta tiene un efecto similar a la histamina, y se libera con la agregación de plaquetas y tras la activación de las mismas con factor activador de plaquetas (PAF).

En el plasma sanguíneo hay tres sistemas enzimáticos diferentes que activan la producción de mediadores inflamatorios: el sistema del complemento, el sistema de coagulación y fibrinólisis y el sistema cinina. Estos tienen una fuerte interdependencia y actúan como cascadas que se refuerzan mutuamente, haciendo que la reacción sea más enérgica. El sistema del complemento favorece la estimulación (véase el capítulo 4). El sistema de coagulación y fibrinólisis se ocupa de la formación de coágulos (coagulación) para mantener el proceso inflamatorio al nivel más local posible. El sistema cinina, cuya quinina más importante es la bradiquinina, está implicado en la regulación de la presión sanguínea, la inflamación y la percepción del dolor al unirse a los receptores de quinina. Esto eleva la permeabilidad de los vasos, los dilata y se envían señales de dolor.

Un segundo grupo de mediadores inflamatorios está compuesto por mediadores gaseosos: monóxido de nitrógeno (NO), monóxido de carbono (CO) y sulfato de hidrógeno (H₂S). Estos gases son producidos por enzimas, y se fabrican endógenamente en prácticamente todos los órganos. Tienen multitud de funciones protectoras. Bajo la influencia de LPS o citocinas como TNF- α e IFN- γ , también los macrófagos pueden producir NO por inducción de NOS (óxido nítrico sintasa). El NO contribuye a matar microorganismos fagocitados por estrés nitrosativo y reacciona con aniones de superóxido, formándose peroxinitrito (ONOO), un metabolito con propiedades oxidativas muy potentes. El CO tiene un papel en la supervivencia de las células endoteliales y en la proliferación e inhibición de los procesos proinflamatorios. El H₂S participa en la regulación de la presión sanguínea, el equilibrio electrolítico y la apoptosis, y puede regular el estrés oxidativo y las inflamaciones.

Además de péptidos y mediadores inflamatorios gaseosos, también influyen en la reacción inflamatoria varios mediadores lipídicos. El ácido araquidónico (AA), un ácido graso poliinsaturado, es el precursor de una serie de mediadores inflamatorios lipídicos: los eicosanoides. Estos median la vasoconstricción, la quimiotaxis de leucocitos, la permeabilidad vascular, el dolor, el calor y la fiebre, la vasodilatación y el edema. Los eicosanoides pueden subdividirse en cinco grupos: prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina, leucotrienos y lipoxinas. En la formación de los eicosanoides a partir de AA están implicados dos grupos de enzimas: las ciclooxigenasas (COX), que generan prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano, y las lipoxigenasas, que son responsables de la síntesis de leucotrienos y lipoxinas. Las ciclooxigenasas (COX) pueden ser divididas en dos grupos: COX1 y COX2. COX 1 está presente constitutivamente, y posee cierta actividad basal que se puede activar más mediante estimulación. COX2 solo se expresa mediante estimulación. Varias formas de LOX tienen un papel en el proceso de síntesis de leucotrienos y lipoxinas, las más importantes de las cuales son 5-LOX, 12-LOX y 15-LOX. La prostaglandina D2 (PGD2) y (especialmente) la E2 (PGE2) y los leucotrienos B4 (LTB4) son los eicosanoides inflamatorios más importantes. La PGE2, además, tiene un doble papel y tiene tanto función proinflamatoria como antiinflamatoria (véase más adelante). Las lipoxinas son los principales eicosanoides antiinflamatorios, y se ocupan de la señal de detención de la inflamación. Forman parte del mecanismo regulador con el que la inflamación se mantiene a sí misma bajo control: la resolémica (véase más adelante). El momento de la reacción inflamatoria en el que los eicosanoides antiinflamatorios empiezan a dominar a los proinflamatorios se denomina conmutación de clase de eicosanoides. Se trata nada más y nada menos que del paso de un estado proinflamatorio a otro antiinflamatorio.

El proceso arriba descrito se resume en la figura 2.⁵⁴

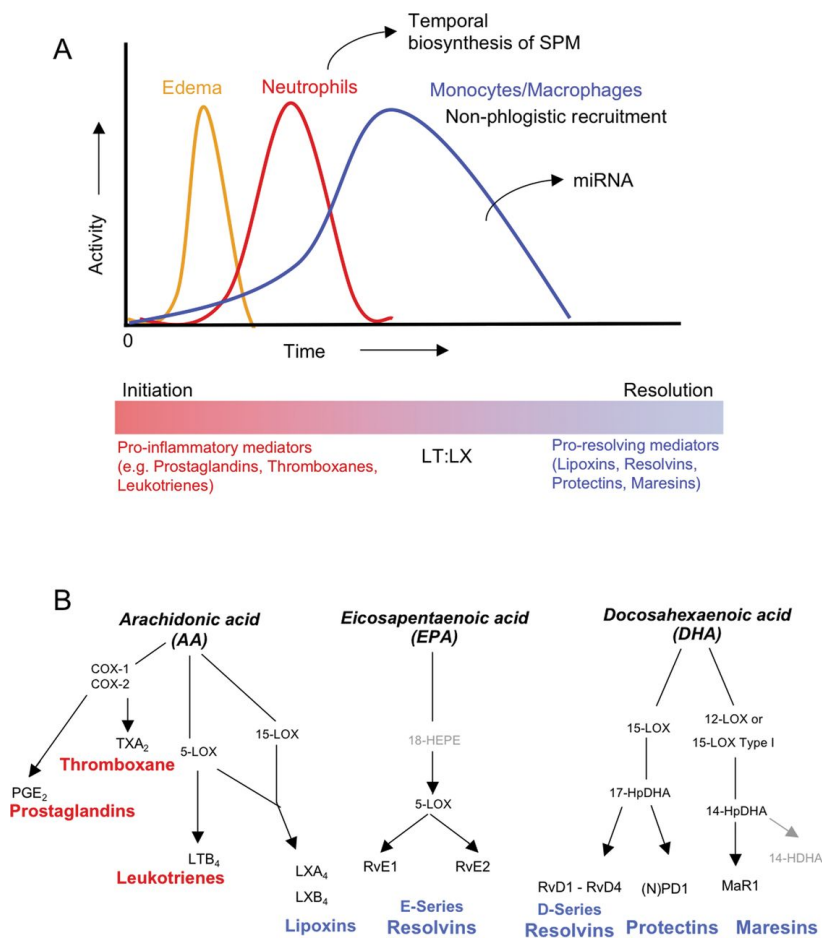


Figura 2⁵⁵

Mediadores celulares y químicos en la inflamación aguda

(A) Al comienzo de la inflamación aguda se produce una fuga vascular (edema). Los neutrófilos son de los primeros en responder durante la reacción inflamatoria aguda, seguidos por monocitos y macrófagos. La primera característica celular de la resolución tisular es la reducción de la infiltración de neutrófilos. Eicosanoides como PGE₂, TXA₂ y LTB₄ (B, rojo) poseen un efecto proinflamatorio, como la vasodilatación, la activación plaquetaria o la quimiotaxis. Las moléculas prorresolutorias generadas durante la inflamación bloquean la vasodilatación y la formación de edema, y limitan la quimiotaxis, haciendo posible la vuelta a la homeostasis (B, azul). El punto en el que el rojo pasa a ser azul es el conmutador de clase de eicosanoides.

(B) Esquema de la generación de eicosanoides y SPM (mediadores prorresolutivos especializados). Los eicosanoides derivados de AA de color rojo son proinflamatorios. Las lipoxinas derivadas de AA de color azul, las resolvinas de la serie E derivadas de EPA y las resolvinas de la serie D derivadas de DHA, las protectinas y las maresinas de color azul son antiinflamatorias.

Las lipoxinas, resolvinas, protectinas y maresinas también se denominan en conjunto mediadores prorresolutivos especializados (SPM, *specialized proresolving mediators*, en inglés). El panorama completo de la conversión del ácido araquidónico en eicosanoides/SPM y de los ácidos grasos omega 3 en SPM, incluyendo las enzimas que participan en esta conversión, aparece representado en la figura 3.⁵⁶

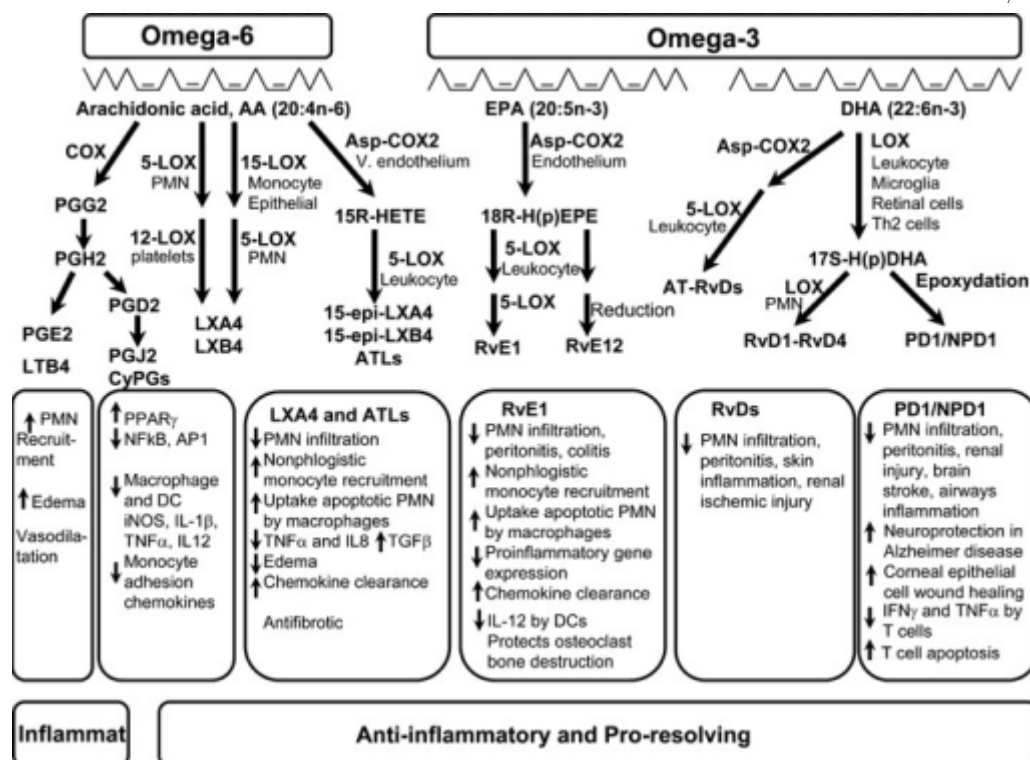


Figura 3⁵⁷

Conversión de ácidos grasos omega 6 y omega 3.

El AA es metabolizado por COX1 o COX2 y convertido en prostaglandina E2, y por 5-LOX en leucotrienos B4, que inician la reacción inflamatoria. Tras el inicio de la inflamación aguda por parte de PG y LT, al cabo del tiempo se produce una conmutación de clase (de eicosanoides) a mediadores lipídicos prorrresolutivos, que empiezan a generar el eicosainode, pero también el SPM lipoxina (LX) a partir de AA vía tres rutas biosintéticas diferentes. En primer lugar, la 5-lipooxigenasa (5-LOX) metaboliza AA en leucocitos polimorfonucleares (PMN) y la 12-LOX de las plaquetas en lipoxinas A4 y B4 (LXA4 y LXB4). En segundo lugar, el AA puede ser transformado a través de la 5-LOX en monocitos o células epiteliales y la 5-LOX en PMN en producto intermedio de epóxido, que las époxido hidrooxilasas de los leucocitos convierten en LXA4 y LXB4. En tercer lugar, la acetilación de COX-2 por la aspirina modifica la enzima de forma que pueda actuar como una LOX, que sintetiza el precursor de la lipoxina ácido 15-hidroxi-eicosatetraenoico (15-HETE) a partir de AA. Entonces el 15-HETE es transformado por la acción de la 15-LOX leucocitaria en las llamadas lipoxinas inducidas por la aspirina (ATL) 15-epi-lipoxina A4 o 15-epi-lipoxina B4, que tienen efectos antiinflamatorios más potentes que la LXA4. Este último proceso es en el que la aspirina sintética (el AINE ácido acetilsalicílico) puede intervenir en el proceso inflamatorio. En cuanto el AA es metabolizado en ATL, es sustituido por los omega 3 EPA y DHA como sustratos de las resolvinas de las series E y D y de las protectinas. También la conversión del EPA en DHA está regulada por las COX y LOX.

Los mediadores prorrresolutivos especializados (SPM) reducen o limitan la infiltración de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y reducen los mediadores lipídicos y citocinas, e inducen el reclutamiento de células mononucleares y la estimulación de macrófagos para que fagociten microbios PMN apoptóticos y partículas microbianas. En la figura 4⁵⁸ se representan las acciones específicas de los SPM. Todas ellas están orientadas a resolver la inflamación.

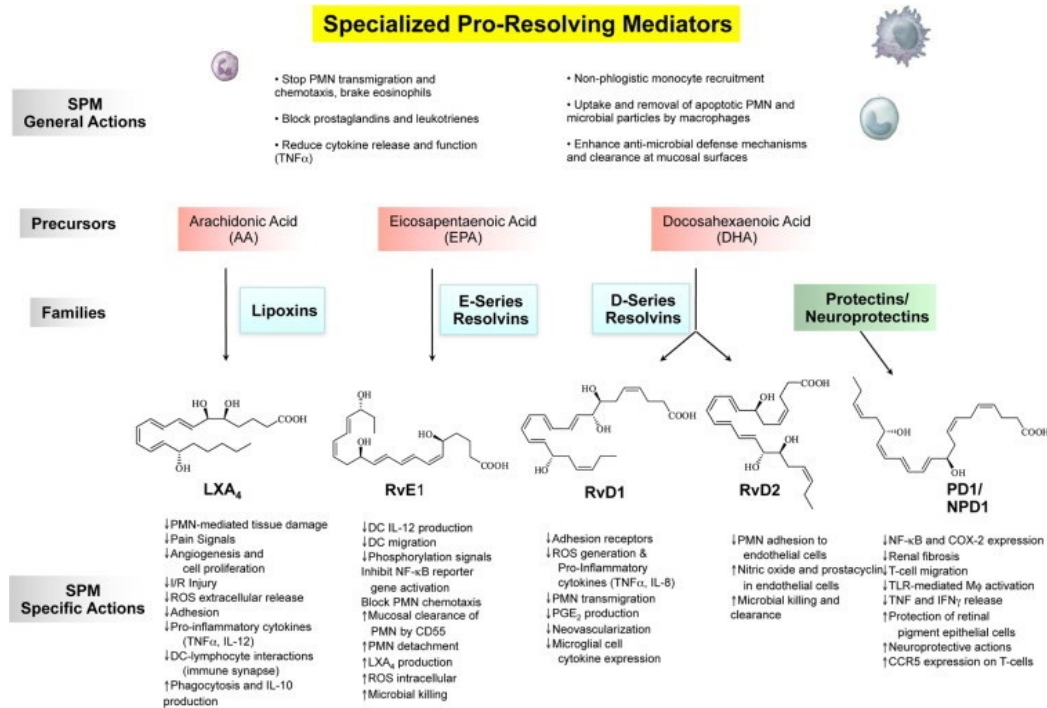


Figura 4⁵⁹
SPM y sus acciones

Lo intrigante de los SPM es que están regulados por micronutrientes, en concreto, AA, EPA y DHA. Estos forman parte de las membranas celulares. Al dañar la célula se rompe la membrana y se liberan ácidos grasos. La composición de los ácidos grasos de la membrana celular determina el tipo de prostaglandinas o leucotrienos que se producen durante los procesos de inflamación. Así pues, los ácidos grasos determinan directamente por esta vía el nivel de inflamación que se produce en el tejido. Los SPM no tienen efecto inmunosupresor, sino que refuerzan la defensa del hospedante y estimulan la resolución. Por estos motivos, las proresolvinas son sustancias orientadas a la resolución.

5.2.2 Resoleómica

El término "resoleómica" fue introducido por Serhan y sus colegas para describir un proceso de inflamación autolimitante, ejecutado y controlado por el sistema inmune innato y regulado por el sistema nervioso simpático y el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal. Este proceso regula la inflamación con ayuda del ácido araquidónico (AA), el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA). La resoleómica actúa a nivel local cuando neutrófilos polimorfonucleares (granulocitos neutrófilos con varios núcleos celulares, PMN) son atraídos por un aumento de citocinas proinflamatorias y la producción de eicosanoides en el transcurso de una herida o invasión microbiana. Su función es limitar la reacción inflamatoria. El sistema de control central de las reacciones de inflamación es muy complejo. Los procesos locales y centrales se influyen mutuamente, y ambos son responsables de que la respuesta resolutoria sea óptima (figura 5).⁶⁰

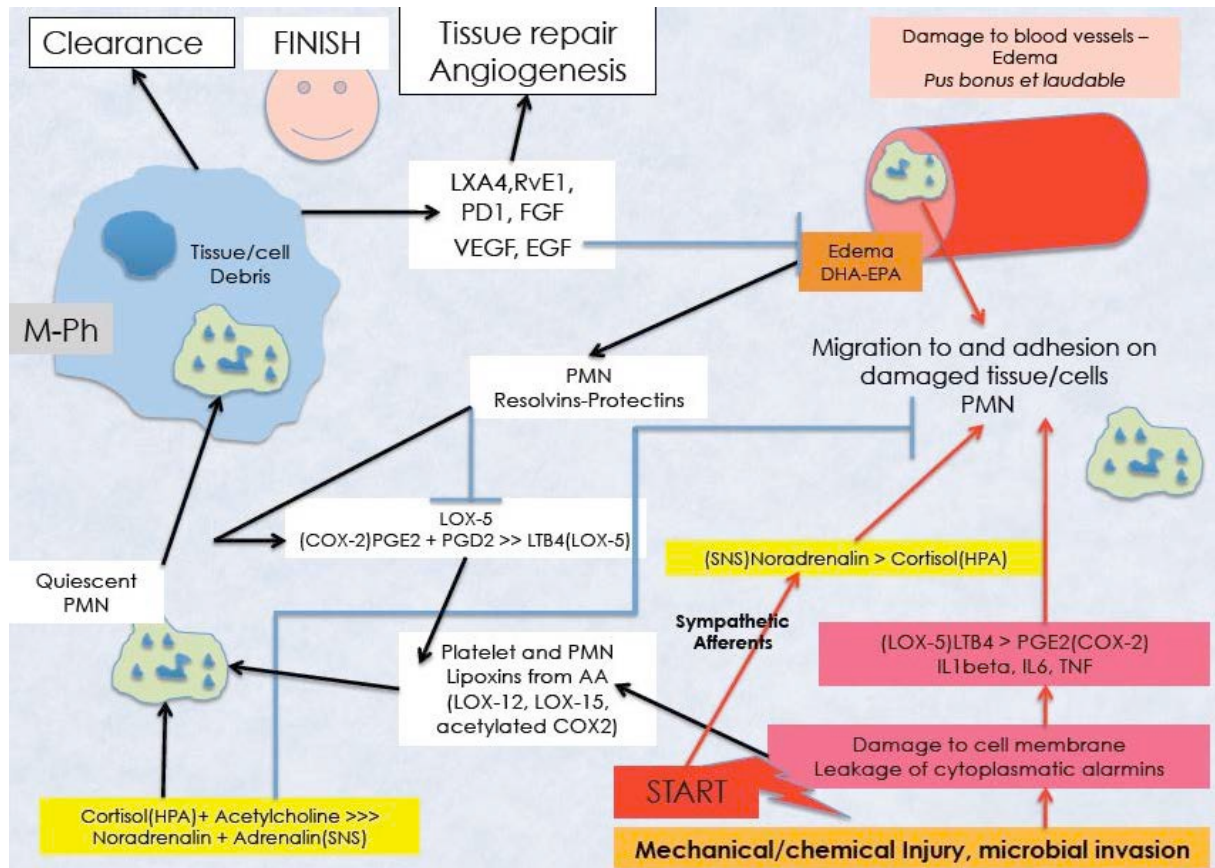


Figura 5⁶¹

Principio y final de una reacción inflamatoria fisiológica en la curación de heridas y en situaciones de desafío microbiano.

El daño celular y la fuga de alarminas atraen PMN a la zona dañada. Los aferentes simpáticos activan el locus cerúleo y se segrega noradrenalina (NE). La NE segregada activa la médula adrenal que induce la producción de catecolaminas sistémicas para reforzar la activación de los PMN. Los vasos sanguíneos dañados son una fuente de edema rica en omega 3 (EPA y DHA). El EPA y el DHA inhiben la LOX-5 directamente y por conversión en resolvinas y protectinas. Tanto la PGE2 como la PGD2, producidas por la descomposición de AA por la actividad de la COX-2, anulan en este momento el fuerte efecto quimiotáctico del LTB4. La acción combinada de protectinas, resolvinas y lipoxinas producidas a partir de AA, reforzada por la mayor producción de cortisol sistémico, detiene la actividad proinflamatoria de los PMN. El cortisol activa aún más los macrófagos (M-Ph) para desencadenar la fagocitosis de restos y desactivan los PMN liberando en el mismo momento sustancias como LXA4, resolvina E1 (RvE1), prostanoide D1 (PD1), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y factor de crecimiento epitelial (EGF). Se evita que siga habiendo escape de edema, mientras que se produce angiogénesis y producción de tejido conjuntivo, finalizando la reacción inflamatoria e iniciándose la producción de nuevo tejido.

El proceso local puede ser subdividido en tres fases:

1. Fase de inicio
2. Fase de resolución
3. Fase de finalización

La fase de inicio

Los eicosanoides proinflamatorios, como leucotrienos B4 (LTB4) y prostaglandinas (PG), inician la respuesta inflamatoria. Los PMN generan LTB4 y PGE2 a partir del precursor AA utilizando lipooxigenasa 5 (LOX-5) y ciclooxigenasa 2 (COX-2). Ambos eicosanoides inducen inflamación, siendo el LTB4 el atractor

quimiotáctico de neutrófilos citotóxicos más fuerte. Al principio, la PGE2 y/o la PGD2 están presentes en menor medida que el LTB4, y determinan el paso a la siguiente fase, la resolución de la inflamación.

Fase de resolución

Esta fase comienza con la conmutación de clase de eicosanoides. Cuando el nivel de PGE-2 y/o PGD-2 es igual al de LTB4, los PMN activan el cambio de la producción de eicosanoides proinflamatorios a la de antiinflamatorios al limitar la producción de LOX-5. Esta conmutación es la responsable de la producción de lipoxinas antiinflamatorias a partir de AA a través de la activación de la lipooxigenasa 12 (LOX-12), la lipooxigenasa 15 (LOX-15) y la COX-2 acetilada. Otros metabolitos resolutivos que refuerzan a las lipoxinas son las resolvinas, las (neuro)protectinas y las maresinas producidas, respectivamente, a partir de EPA y DHA. Durante esta fase, un segundo aumento sustancial de la actividad de la COX-2 producirá PG (PGD2 y PGF2a).

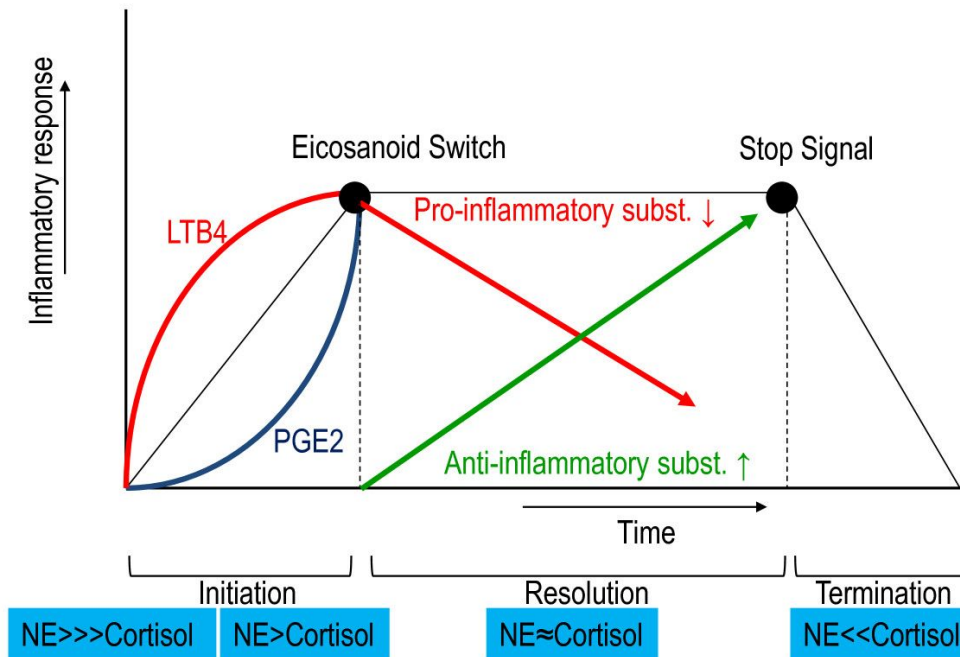
Fase de finalización

Esta fase empieza cuando se produce la señal de detención, es decir, tan pronto como hay suficientes mediadores antiinflamatorios como las lipoxinas para parar el proceso proinflamatorio. Las lipoxinas son capaces de inhibir tanto los PMN como la infiltración y la actividad de las células citotóxicas del sistema inmune. Además de las lipoxinas, también funcionan como señal de detención para el proceso proinflamatorio el ácido láctico, la adenosina, el PD-L1 y la proteína S; véase 5.2.3.

5.2.3 Ejes de estrés centrales y resoleómica

En los capítulos 3 y 4 ya se trató la influencia del estrés sobre el funcionamiento del sistema inmune. En esta ocasión se profundizará en la influencia en la resoleómica de los ejes de estrés, el sistema nervioso simpático, el parasimpático y el eje HHA. El sistema de estrés está estrechamente ligado al sistema inmune a través de los ejes de estrés. Todos los factores que pueden activar los ejes simpático-adrenomedular (SAM) y HHA influyen sobre el sistema inmune y, por tanto, sobre la resoleómica. A la inversa, el sistema inmune también puede activar los ejes de estrés, apareciendo una reacción de estrés sistémica en el organismo. En el sistema nervioso simpático, que activa en primera instancia el sistema inmune, tiene lugar la inhibición del sistema inmune por parte del potente neurotransmisor antiinflamatorio acetilcolina (ACh), producida por el sistema nervioso parasimpático. La reacción de estrés sistémica se compone de dos olas, siendo la activación del eje SAM (noradrenalina) y de las glándulas suprarrenales (catecolaminas) la primera de ellas. Las catecolaminas inducen la proliferación y activación de las células del sistema inmune. El NF- κ B aumenta la segregación de citocinas proinflamatorias como interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral (TNF). Tanto el sistema inmune innato como las células Th1 del SI adaptativo contienen receptores que son sensibles a las catecolaminas. Las catecolaminas cerebrales influyen en la actividad del bazo, el timo, la médula ósea y los ganglios linfáticos. La noradrenalina activa el sistema inmune al comienzo de la inflamación, pero a largo plazo lo inhibe. La segunda ola de la reacción de estrés sistémica es la activación del eje HHA, siendo los glucocorticoides el producto final. El cortisol es capaz de inhibir el sistema inmune aumentando el factor inhibidor kappa beta (I κ B), que inhibe el NF- κ B. El cortisol, que es el regulador de la respuesta inmune, puede así llevar la inflamación a la fase de resolución. Este efecto finalizador del cortisol normalmente está reforzado por una reacción antiinflamatoria vagal compensadora. La producción resultante de acetilcolina inhibe el sistema inmune (figura 6).⁶²

Phases of Inflammation and Stress Axes



Figura

6⁶³

La inflamación es un proceso controlado, con fases de inicio, resolución y finalización.

Tras la invasión microbiana, la herida o la lesión química, comienza la fase de inicio con la producción de mediadores proinflamatorios como LTB₄ y PG₂. Estos mediadores hacen que la inflamación aumente hasta que se produzca la conmutación de clase de eicosanoides, el final de la fase de inicio. Esto sucede cuando el nivel sumado de PGE₂ y PGD₂ es igual al de LTB₄. La fase de resolución empieza a continuación, lo que motiva la generación de mediadores antiinflamatorios como LK, resolvinas, protectinas, maresinas, PGD₂ y PGF_{2a}. Cuando el nivel total de mediadores antiinflamatorios supera el de LTB₄, se produce la señal de detención. Esta es la última fase, en la que la inflamación es finalizada barriéndose la zona afectada. Las hormonas de estrés producidas por los ejes de estrés sistémico ejercen un efecto directo sobre las fases de la inflamación. Una invasión microbiana, herida o lesión envía una alarma al cuerpo, activándose el sistema de estrés. La conmutación de clase de eicosanoides hacia una resolución solo puede darse cuando la NA es igual al nivel de cortisol y se restablece la sensibilidad al cortisol. La señal de detención requiere un bajo nivel de señalización de NA y una sensibilidad al cortisol normalizada. La fase de finalización se introduce cuando se desactivan los ejes de estrés.

(NE = noradrenalina, NA)

El sistema nervioso simpático (noradrenalina) aumenta al principio la respuesta inmune proinflamatoria en la fase de inicio, mientras que la respuesta de cortisol retardada, inducida por el eje HHA, la inhibe. Al comienzo de la fase de inicio, es necesario que haya resistencia tanto al cortisol como a la insulina para activar el sistema inmune. La insulinoresistencia (hígado) provoca la reasignación de la glucosa al sistema inmune, y la resistencia al cortisol (sistema inmune), la reasignación del cortisol al hígado. Al final de esta fase se restablece la sensibilidad al cortisol y a la insulina para posibilitar la conmutación de clase de eicosanoides. Una exposición crónica al estrés reduce la capacidad de carga de la respuesta de estrés aguda, acarreando una reacción proinflamatoria que no es lo bastante alta. Las situaciones de estrés crónicas pueden ser las responsables de la producción continua de catecolaminas por parte del eje SAM y, así, de los niveles altos de citocinas proinflamatorias en circulación. Esta situación requiere un alto nivel de consumo de energía. El metabolismo es aumentado para proporcionar energía extra al cerebro (excitación de todos los sentidos), el miocardio y el sistema locomotor. Las células existentes del sistema inmune son activadas y proliferan (gasto energético relativamente bajo), mientras que se

bloquea la proliferación de nuevas células inmunes (muy alto consumo de energía). Otras consecuencias de la activación crónica del eje SAM son la disminución del espectro celular del sistema inmune y la total pérdida de actividad del sistema Th1 del SI adaptativo, lo que produce una insuficiente capacidad de combatir virus y otros patógenos presentados a nivel intracelular. Que la reacción inflamatoria conduzca a una resolución depende de la sensibilidad de los receptores de glucocorticoides y catecolaminas del sistema inmune. Factores como el estrés a edad temprana, los traumas y los polimorfismos son posibles factores de riesgo para la pérdida de receptores de glucocorticoides y sensibilidad a las catecolaminas. Una reacción inflamatoria subóptima por estrés crónico impide que pueda funcionar bien el conmutador de clase de eicosanoides, ya que para el paso a la fase de resolución requiere que se restablezca la sensibilidad al cortisol y a la insulina.

La fase de inicio de la inflamación tiene que tener una duración máxima de entre 8 y 12 horas, y tiene que ser capaz de excitar lo suficiente a los mediadores inflamatorios. Una mayor duración puede acarrear daños secundarios a tejidos circundantes debido a los fuertes efectos citotóxicos de los PMN activados. El diálogo entre el sistema inmune y los ejes de estrés es debido a que la producción aguda de altos niveles de catecolaminas activa mucho el sistema inmune, mientras que los eicosanoides producidos por el AA inducen la producción de catecolaminas locales y sistémicas. La activación a largo plazo puede originar resistencia a las catecolaminas y, en combinación con la mencionada posibilidad de resistencia a la insulina y al cortisol, hacer que la reacción inflamatoria sea subóptima y, en consecuencia, perpetuar y desarrollar una inflamación de bajo grado.

5.2.3 *Procesos intrínsecos con los que el sistema inmune se autocontrola*

El sistema inmune dispone de varios mecanismos con los que puede mantener bajo control su propia actividad. Estos mecanismos son necesarios para que no se descarrile la inflamación: funcionan como señal de detención.

1. *El ácido láctico producido por el metabolismo de las células inmunes*

Simultáneamente al cambio inducido en el metabolismo celular por el HIF, las células inmunes activadas hacen que se libere NF- κ B (inflamación), mTOR (crecimiento y división) y c-MYC (para una mayor capacidad de absorción de glucosa). La mTOR se ocupa del crecimiento celular y de la producción de canales GLUT1, de modo que se puede absorber glucosa de forma insulino independiente. A continuación, la glucosa es fermentada, lo que da lugar a la producción de aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos de ADN/ARN y ácido láctico. A través de la biosíntesis de nucleótidos, se producen ADN y ARN a partir de glucosa. También a partir de glucosa se producen mediante síntesis ácidos grasos y aminoácidos. La glucosa es convertida en lactato (ácido láctico), que puede volver a ser transformada en glucosa a través del hígado. Así, la célula inmune activada se provee a sí misma de toda la alimentación necesaria.^{64 65} Además, el ácido láctico funciona como señal de detención para el sistema inmune y lo desactiva mediante la producción de IL-10 y resolvinas: es un sistema de biorretroalimentación negativa (véase también: resolómica).⁶⁶

2. *La adenosina que sueltan las células inmunes activadas*

El sistema adenosina tiene un papel crucial en la regulación de la inmunohomeostasis. Funciona como señal autolimitante orientada a estimular la resolución de la inflamación. Las células inmunes están dotadas de un sistema muy sensible de receptores de adenosina. La adenosina extracelular puede ser producida en el espacio extracelular a partir de ATP que, por ejemplo, se escapa de los tejidos dañados. En monocitos y macrófagos hay una expresión variable de receptores de adenosina. Los receptores A1, A2A y A3 que apenas se expresan en los monocitos en reposo, aumentan su expresión durante la diferenciación de monocitos en macrófagos. La activación de los receptores A2A, A2B y A3 reduce la producción de diferentes citocinas proinflamatorias como TNF, IL-6 e IL-12, con lo que los monocitos y macrófagos son polarizados en dirección al fenotipo antiinflamatorio (M2). Este fenotipo conlleva también un aumento de la producción de citocina antiinflamatoria IL-10. La estimulación de los receptores de adenosina A2A y A2B inhibe la inflamación y favorece la restauración tisular, en parte por activación

alternativa de macrófagos (M2). Se ha demostrado que la adenosina modula las funciones de las células dendríticas. Esta modulación depende de la expresión de receptores de adenosina, lo que está relacionado con el estado de maduración de estas células. Las células dendríticas humanas inmaduras expresan principalmente receptores A1 y A3 que, una vez activados, estimulan el reclutamiento de células dendríticas al lugar de la inflamación al elevar el calcio intracelular. La maduración de las células dendríticas está asociada a reacciones de señalización mediadas por el receptor A2A, que asimismo trae consigo una reducción de la segregación de citocinas proinflamatorias. La adenosina desempeña un papel crucial en la modulación de las reacciones linfocíticas. En concreto, el receptor A2A inhibe la secreción de IL-2, IL-4 e IFN- γ de células vírgenes CD4+, y el receptor A3 hace lo mismo con los linfocitos estimulados por CD4+ y células CD8+. La figura 7⁶⁷ ofrece un resumen del efecto de la adenosina sobre diferentes células inmunitarias.

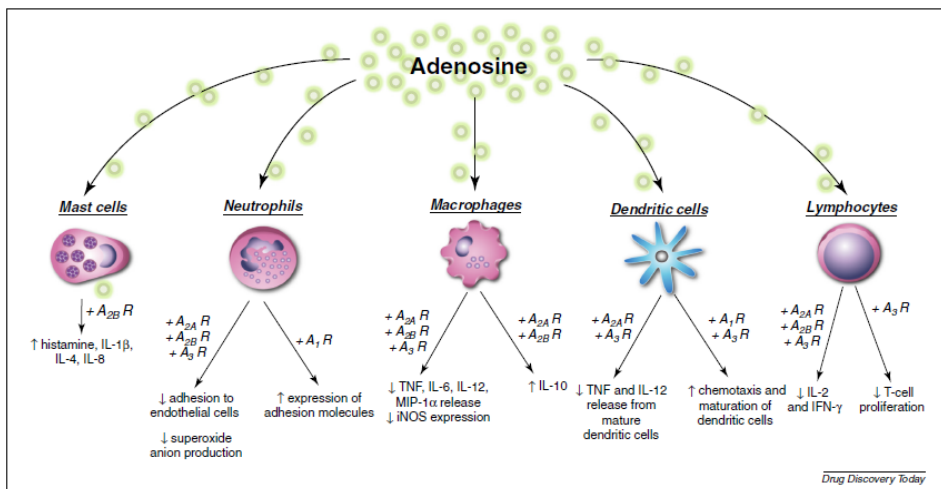


Figura 7⁶⁸

Representación esquemática de los efectos más importantes en células inmunes humanas mediados por receptores de adenosina.

Abreviaturas: IFN: interferón; IL: interleucina; iNOS: óxido nítrico sintasa inducible; MIP: proteína inflamatoria de macrófagos; TNF: factor de necrosis tumoral; ↑: aumenta; ↓: disminuye.

La relevancia funcional de los receptores de adenosina está estrechamente relacionada con la densidad de expresión y los niveles de la adenosina endógena en el microentorno extracelular. En especial, las enzimas 5'-nucleotidasa (5'-NT o CD73) y ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1 (NTPDase1, CD39) pueden cambiar el microentorno del tejido dañado de una activación de la célula inmune proinflamatoria accionada por ATP a una antiinflamatoria, controlada por adenosina. Paralelamente, la enzima catabólica adenosina desaminasa constituye un importante punto de control para regular a la baja los niveles de adenosina extracelular y, en consecuencia, modular la implicación de los receptores.⁶⁹

3. Proteína S (Seattle)

La proteína S (Seattle), una glucoproteína plasmática dependiente de la vitamina K, impide que sigan madurando células APC e induce la apoptosis de las células inmunes que ya no sean necesarias y la fagocitosis de las células rotas. La proteína S es sintetizada principalmente por hepatocitos, pero también otras células pueden hacerlo. Para su activación precisa de una forma reducida de la vitamina K. La proteína S es un ligando con relevancia biológica para los receptores TAM (TAMR), los receptores para las tirosina quinasas Tyro-3, AXL y MER. Los TAM forman una familia especial de receptores tirosina quinasa (RTK) que transducen señales del entorno extracelular hacia el citoplasma. Regulan procesos celulares desde la diferenciación a la muerte celular. Los TAMR se expresan en varios tipos de células, entre ellos, células de los sistemas inmune, nervioso, reproductor y vascular (como células dendríticas, células asesinas naturales,

macrófagos, células del epitelio pigmentario retinal (EPR) del ojo, células de Sertoli, miocitos lisos vasculares y células endoteliales). Normalmente, en un tipo de célula determinado se expresa más de un TAMR. Y es que los TAMR influyen en la fagocitosis de células apoptóticas y tienen un papel prominente en la regulación del sistema inmune al inhibir la inflamación en células dendríticas y macrófagos. La proteína S, junto con la GAS6 (proteína específica del gen 6 de la detención de crecimiento), es agonista de los TAMR: la unión de la proteína S como ligando a los TAMR depende del calcio. Las células apoptóticas hacen que se exprese en su superficie la fosfatidilserina, que une directamente la proteína S. La unión de la proteína S al receptor tirosina quinasa MER en la superficie de un fagocito y su unión simultánea a la fosfatidilserina de una célula apoptótica induce la activación de la actividad profagocítica de la proteína S (figura 8).⁷⁰

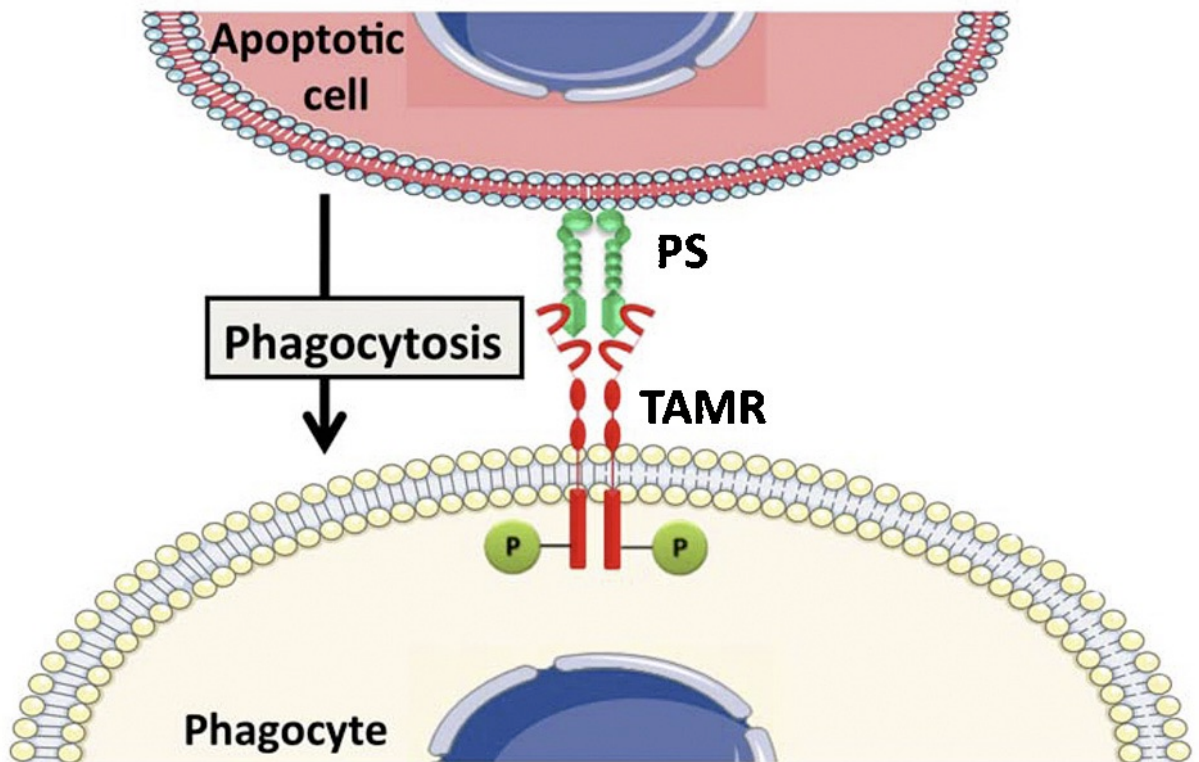


Figura 8⁷¹

Depuración de células apoptóticas a través de TAMR y sus ligandos. La depuración de células moribundas está originada por muchos procesos que activan la citosis de efectores, que hace posible su eliminación por parte de los fagocitos cercanos. Las células que sufren apoptosis hacen expresarse a la PtdSer (fosfatidilserina) en su superficie, de la cual se ha demostrado que une la proteína S (PS). Los TAMR que se han expresado en la superficie de células fagocíticas son atraídos, y unidos a sus ligandos inducen y activan la actividad profagocítica.

4. Ligando 1 de muerte programada (PD-L1)

El ligando 1 de muerte programada (PD-L1) es el ligando de PD-1, la proteína 1 de muerte celular programada, que reprime la activación de los linfocitos T e induce inmunotolerancia periférica. El PD-L1 se expresa en linfocitos T y B, macrófagos y células dendríticas. El interferón gamma (IFN- γ) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) son inductores clave de la expresión del PD-L1. IFN- γ y TNF- α pueden regular al alza la expresión de PD-L1, lo cual produce muerte celular controlada, especialmente de linfocitos T. IFN- γ y TNF- α también influyen en la expresión de diferentes micro-ARN (mi-ARN), y especialmente de micro-RNA 155 (miR-155), que tienen el potencial de reprimir la expresión de PD-L1. El miR-155 está implicado en el desarrollo y funcionamiento de linfocitos T y B y células mieloides. La hiperexpresión o inhibición del miR-155 conlleva, respectivamente, la inhibición o la potenciación de la expresión proteica de PD-L1. IFN- γ y TNF- α sinergizan para

inducir la expresión de PD-L1 y activar simultáneamente el miR-155 que reprime la expresión de PD-L1, cuyo supuesto objetivo es evitar una inmunosupresión prolongada (figura 9)⁷². La represión del miR-155 y la consecuente mayor expresión de PD-L1 están inducidas por curcumina, resveratrol, isoflavonas, galato de epigallocatequina (EGCG), licopeno, diindolilmetano (DIM) e indole-3-carbinol (I3C).

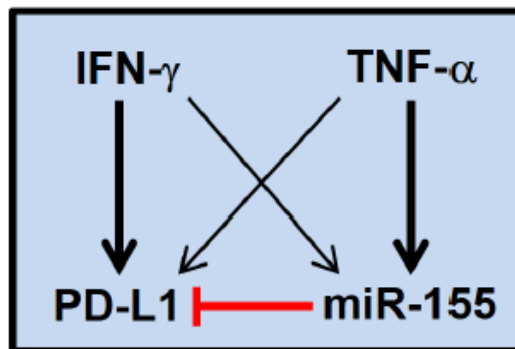


Figura 9⁷³.

Esquema propuesto de la regulación mediada por miR-155 del PD-L1 en las células que reaccionan a IFN y TNF. IFN y TNF inducen la expresión de PD-L1. Paralelamente, las dos citocinas provocan la inducción de miR-155, lo cual reprime la expresión de PD-L1. Las flechas gruesas indican la citocina predominante que controla la expresión de PD-L1 o miR-155.

5. Producción de resolvinas (procedentes de DHA, EPA y AA): este proceso ya ha sido descrito con detalle.

Además de estas estrategias de detención intrínsecas, existe una serie de estrategias de detención extrínsecas para finalizar las inflamaciones. Son mecanismos que no son controlados primariamente desde el propio sistema inmune, pero que influyen en la inflamación. Sin embargo, todos estos mecanismos también pueden ser aplicados por el sistema inmune como reactivador para mantenerse activado cuando una inflamación no ha finalizado y, por tanto, el sistema inmune debe permanecer activo. Estas estrategias incluyen el uso de:

1. Cortisol
2. Adrenalina/noradrenalina
3. Acetilcolina
4. Testosterona (conversión en estradiol)
5. Vasopresina
6. AGCC, AGCM y AGCL
7. Cannabinoides
8. Progesterona
9. Dopamina (en algunas personas)
10. Serotonina,
11. Insulina
12. T3 y rT3
13. Inducción de inflamación del hipotálamo (hormética)

Estas estrategias se tratarán en el transcurso de este libro, y algunas de ellas se pueden encontrar en el manual de PNIc *Mecanismos de acción*.

Finalmente, una vez que el sistema ha conseguido finalizar la inflamación, siempre hay un periodo de inmunosupresión (figura 10). El objetivo de este periodo es:

1. restaurar la energía;
2. restaurar los tejidos;
3. evitar las enfermedades autoinmunes (autointolerancia) por hiperactividad del sistema inmune;

4. evitar el cáncer (autotolerancia) limpiando todos los restos de la inflamación.
- A este periodo también se le llama periodo de "ventana abierta", porque la inmunosupresión conlleva vulnerabilidad ante nuevas infecciones.

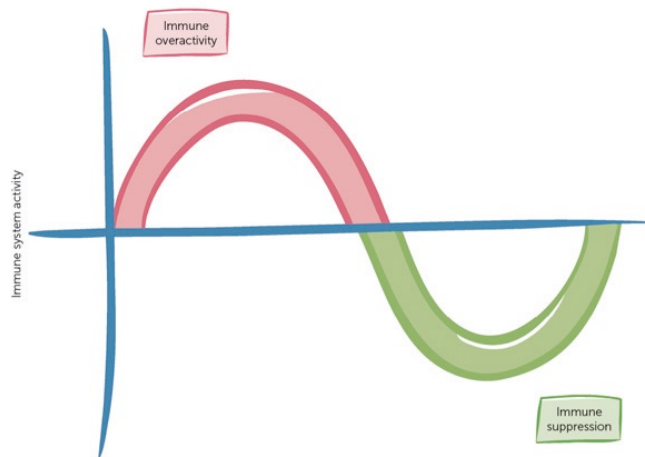


Figura 10
La actividad inmune va seguida de inmunosupresión.

5.2.4 Algunos mecanismos de detención extrínsecos

5.2.4.1 Hormona tiroidea como señal de detención

En el capítulo 3 se trató el funcionamiento de la tiroides y las diferentes hormonas tiroideas. La hormona tiroidea T3 induce la actividad mitocondrial en toda clase de células, entre ellas las inmunitarias. Las concentraciones de hormona tiroidea han sido asociadas positivamente con marcadores de inflamación, células asesinas naturales, expresión de interleucina 6 (IL-6) por monocitos activados, expresión de linfocitos T de memoria, linfocitos T colaboradores de memoria y linfocitos T citotóxicos de memoria y una mayor densidad de receptores IL2 en los linfocitos T. Esto refleja un papel de la T3 y la T4 en el mantenimiento de las subpoblaciones de linfocitos y en la mediación de la respuesta inflamatoria. Así, la T3 intracelular es una señal de detención: regula al alza la actividad inmune para que la inflamación pueda ser terminada. Para contrarrestar esto y mantenerse activado, el sistema inmune es capaz de bloquear la T3. Esto se realiza mediante la conversión de la T4 en rT3 en vez de en T3, como se explica en la figura 11.⁷⁴

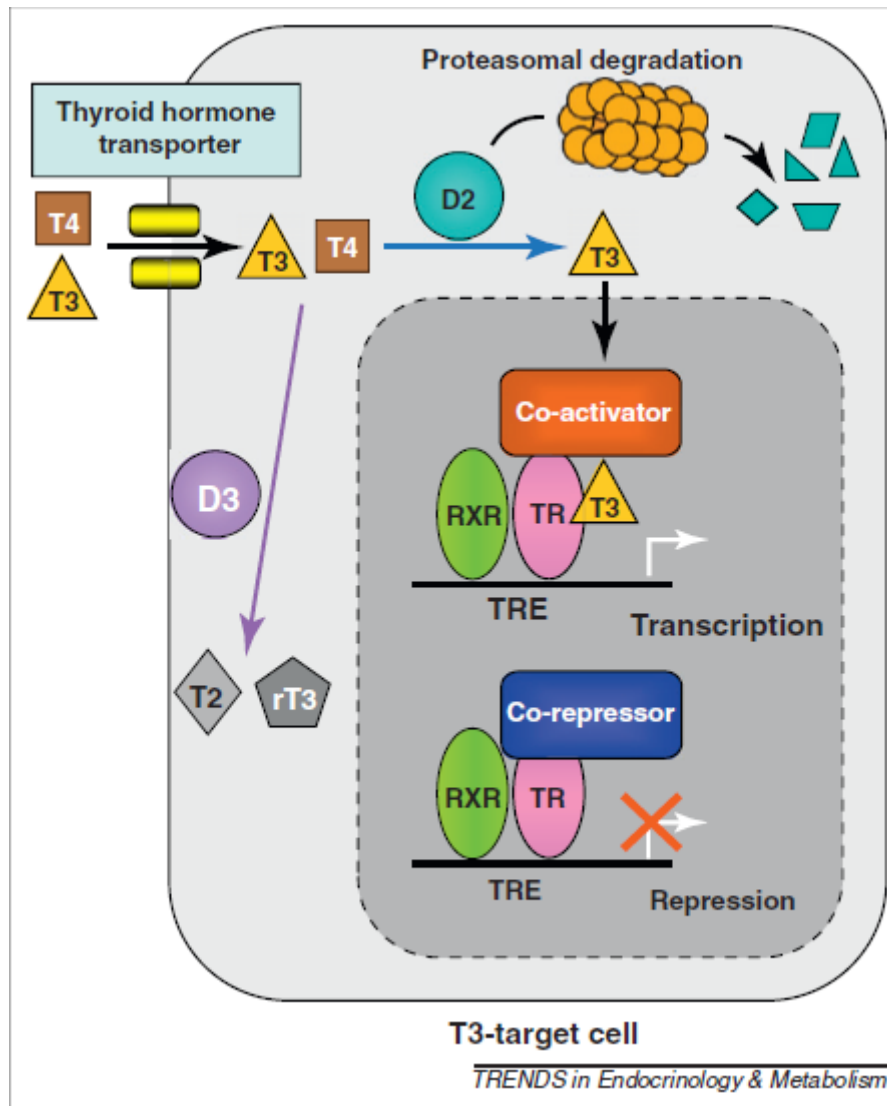


Figura 11⁷⁵. Control del estado tiroideo local. La T4 y la T3 penetran en células diana a través de transportadores de membrana celular específicos. La T4 se activa a T3 vía D2 o por D2 desactivada a rT3. La T3 entra en el núcleo de la célula o es desactivada a T2 por D3. Los receptores de hormona tiroidea (TR) forman heterodímeros con el receptor X retinoide (RXR) y se unen a elementos de respuesta a T3 (TRE) en la región del promotor de genes diana de la T3. En ausencia de T3, el heterodímero RXR-TR recluta proteínas correpressoras para inhibir la transcripción del gen diana. Tras la unión de T3, el complejo de receptores de ligando recluta proteínas coactivadoras, lo que origina la activación de la transcripción génica.

La rT3 no tiene el efecto activador de la T3, por lo que no regula al alza la actividad celular. La conversión de T4 en rT3 en vez de en T3 es, por este motivo, un mecanismo del sistema inmune para evitar que acaben las inflamaciones.

5.2.5.2 Acetilcolina como señal de detención

El capítulo 3 está dedicado a la neuroendocrinología, y en él se habla también del sistema nervioso central. En ese capítulo ya se apuntó que la neuroendocrinología y la inmunidad se influyen mutuamente. En esta ocasión se profundizará en la ruta acetilcolinérgica, una respuesta neural antiinflamatoria mediada por el neurotransmisor acetilcolina.

Los circuitos neurales regulan directamente la inmunidad innata. El reflejo inflamatorio, un circuito neural que modula la inmunidad innata, se activa por la presencia de citocinas u otros productos inflamatorios

en los tejidos, que envían potenciales de acción aferentes a través del nervio vago. La información aferente es transmitida a núcleos del tronco del encéfalo que devuelven a la periferia las señales neurales eferentes en forma de potenciales de acción a través del nervio vago. Esta información es transmitida al bazo y otros órganos productores de citocina. La expresión de citocina puede ser inhibida por un mecanismo molecular que requiere transducción de señal a través de la subunidad del receptor nicotínico de acetilcolina alfa 7. Los mecanismos de inhibición de citocina ejercidos por el reflejo inflamatorio, la "ruta antiinflamatoria colinérgica" (véase más abajo), evitan las consecuencias nocivas de una reacción inmune excesiva. El bazo filtra de la sangre hematíes envejecidos y microorganismos. También es una importante fuente orgánica de factor de necrosis tumoral (TNF). La producción esplénica de TNF está regulada por señales del nervio vago que son transmitidas a través del ganglio celiaco, donde termina anatómicamente el nervio vago. Las señales nerviosas del vago son transmitidas funcionalmente en el bazo a través del nervio esplénico, y activan las células inmunes (sobre todo macrófagos residentes) para que produzcan TNF. Además de regular la secreción de citocina por macrófagos residentes, estas señales neurales modulan también los neutrófilos y monocitos circulantes, por lo que son capaces de regularlos a la baja hasta un fenotipo antiinflamatorio, reduciendo su capacidad de ser reclutados a regiones periféricas de inflamación tisular (figura 12).⁷⁶ Esto también contribuye a la inhibición de la inflamación. Así, el *input* neural emite una señal con un potente valor antiinflamatorio a los monocitos y linfocitos que pasan por el bazo.

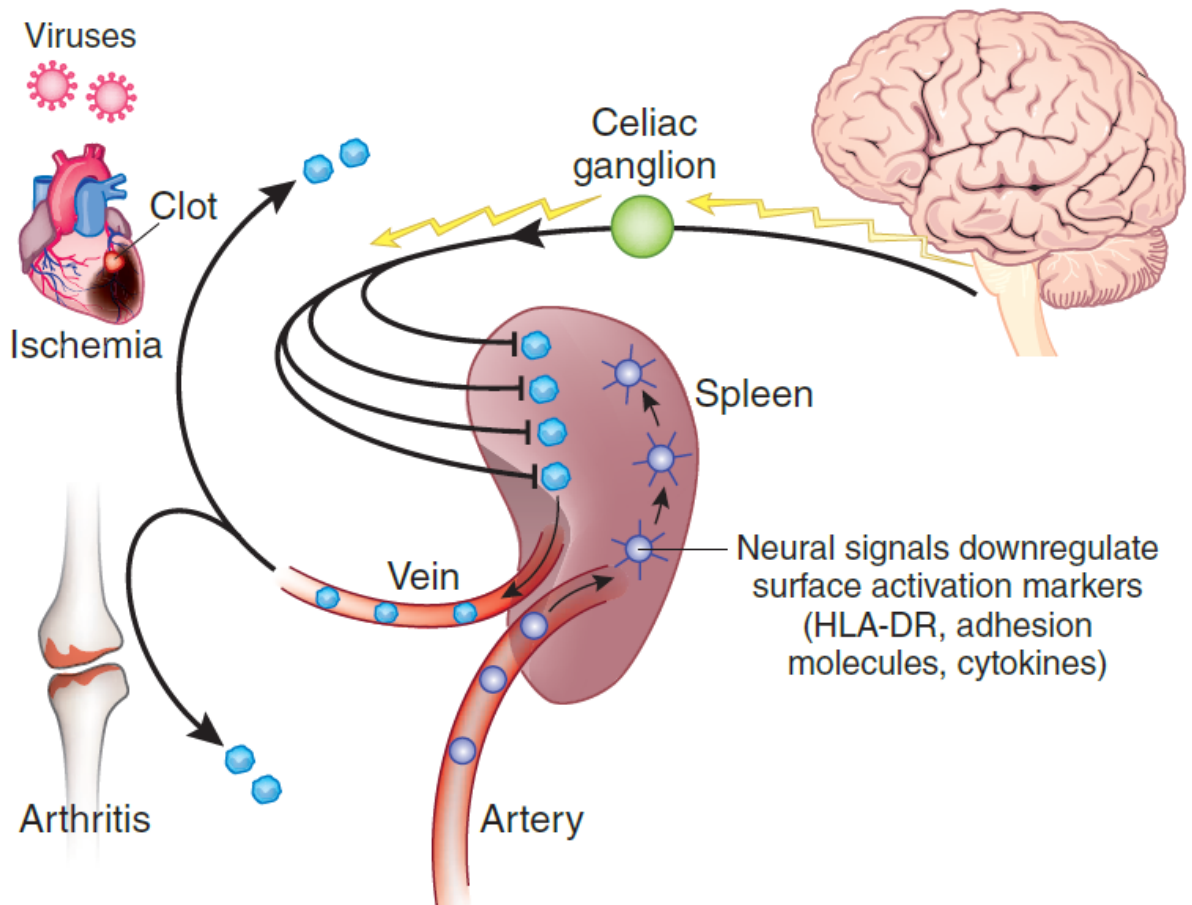


Figura 12⁷⁷ Las señales neurales que se envían eferentemente al bazo modulan los fenotipos inflamatorios de los linfocitos y monocitos que pasan. El bazo recibe cada minuto el 20% del gasto cardíaco, y tiene una posición única como sistema vascular poroso para hacer conexiones con la información que recibe del cerebro y transmitírsela a los monocitos, linfocitos y neutrófilos cuando pasan por su matriz. Las señales neurales derivadas de la ruta antiinflamatoria colinérgica regulan a la baja la expresión en superficie de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad HLA-DR y otros marcadores de activación, que envían

un fenotipo inocuo a las células que salen del bazo. Las células reguladas a la baja que abandonan el bazo no contribuyen a la progresión de inflamaciones nocivas en los lugares donde hay lesión y daño.

Tan pronto como el sistema nervioso recibe el *input* inflamatorio, lo integra en la respuesta inflamatoria: reúne información sobre los intrusos y el daño en los diferentes sitios del cuerpo, moviliza las defensas y crea recuerdos para mejorar las probabilidades de supervivencia. La inflamación en los tejidos periféricos cambia la señalización neural en el hipotálamo, basándose en la comunicación molecular vía ligandos y receptores. Las neuronas del SNC pueden, por ejemplo, sintetizar y hacer que se expresen TNF e IL-1, y estas citocinas pueden participar en la comunicación neuronal. Esta comunicación es bidireccional, porque las citocinas pueden activar la secreción hipotálamo-hipofisaria de glucocorticoides que, a su vez, pueden evitar que se sigan sintetizando citocinas. Además, las células del sistema inmune pueden producir neuropéptidos (endorfinas incluidas), acetilcolina y otros neurotransmisores. En concreto la acetilcolina desempeña un importante papel inhibitorio de la inflamación en la reacción antiinflamatoria neural. En la figura 13⁷⁸ se representa la ruta antiinflamatoria colinérgica.

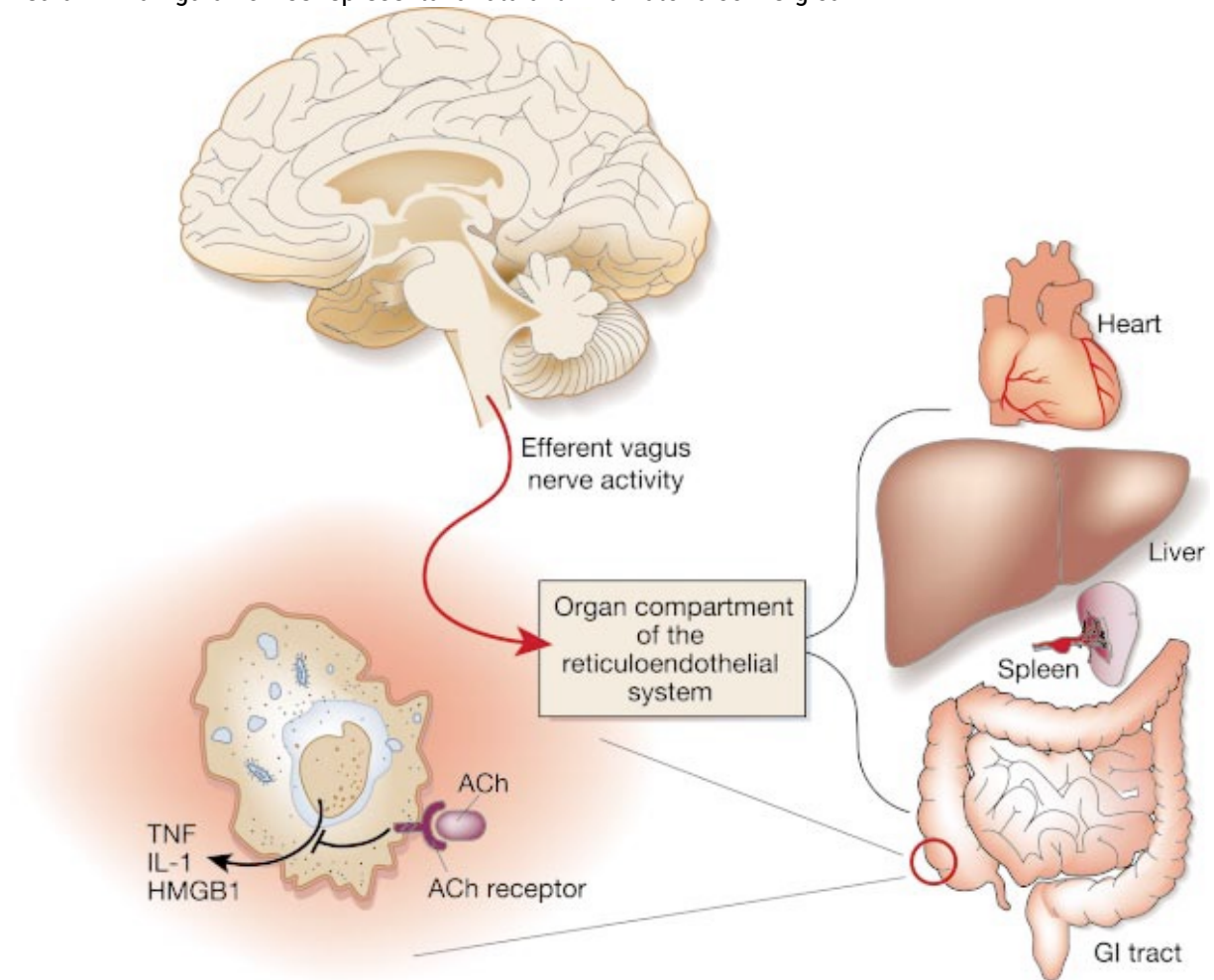


Figura 13⁷⁹ La ruta antiinflamatoria colinérgica

La actividad eferente en el nervio vago produce secreción de acetilcolina (ACh) en los órganos del sistema reticuloendotelial, incluyendo el hígado, el corazón, el bazo y el tubo digestivo. Este sistema está compuesto por las células fagocíticas que están en el tejido conjuntivo reticular de alrededor del riñón, el bazo, los ganglios linfáticos, las placas de Peyer y la médula ósea. Estas células son sobre todo monocitos y macrófagos, y se acumulan en los ganglios linfáticos y el bazo. La acetilcolina interactúa con receptores nicotínicos (receptor ACh) de los macrófagos tisulares que inhiben la secreción de TNF, IL-1, HMGB1 y otras citocinas.

El SNC recibe el *input* sensorial del sistema inmune vía rutas tanto humores (a través de las citocinas circulantes) como neurales (controladas por nervios). El complejo vagal dorsal reacciona a la mayor circulación de TNF modificando la actividad motora en el nervio vago. Esta ruta humoral de comunicación entre el sistema inmune y el nervioso está implicada en el desarrollo de la fiebre, la anorexia, la activación de reacciones hipotálamo-hipofisarias a la infección y herida y otras expresiones conductuales de enfermedad. La inervación sensorial de los órganos inmunes por fibras aferentes del nervio vago y otras vías aferentes ofrece un importante *input* acerca del estado de los desafíos invasivos y nocivos de la periferia. Estas rutas neurales sensibles a la inflamación pueden funcionar a bajos niveles y poner en marcha una respuesta incluso si las cantidades de reactantes inflamatorios en los tejidos no son lo suficientemente altas como para llegar al cerebro a través del torrente sanguíneo. Por consiguiente, es una vía muy sensible y rápida para detectar inflamaciones. Las señales del nervio vago pueden ser activadas por IL-1, TNF, otras citocinas, mecanorreceptores, quimiorreceptores y sensores de temperatura y de osmolaridad que son activados en el sitio infectado y emiten una señal sináptica en el núcleo del tracto solitario. El *input* sensorial somático en el SNC está organizado somatotópicamente: cada parte del cuerpo se corresponde con un área específica de la corteza motora, de forma que el *input* sensorial desde cada una de ellas está localizada de forma precisa en fibras axónicas aferentes y el cerebro, recibiendo esta información exacta del lugar de la inflamación. La detección de inflamaciones y las funciones antiinflamatorias descritas presentan los principales componentes del reflejo inflamatorio neural (figura 14).⁸⁰

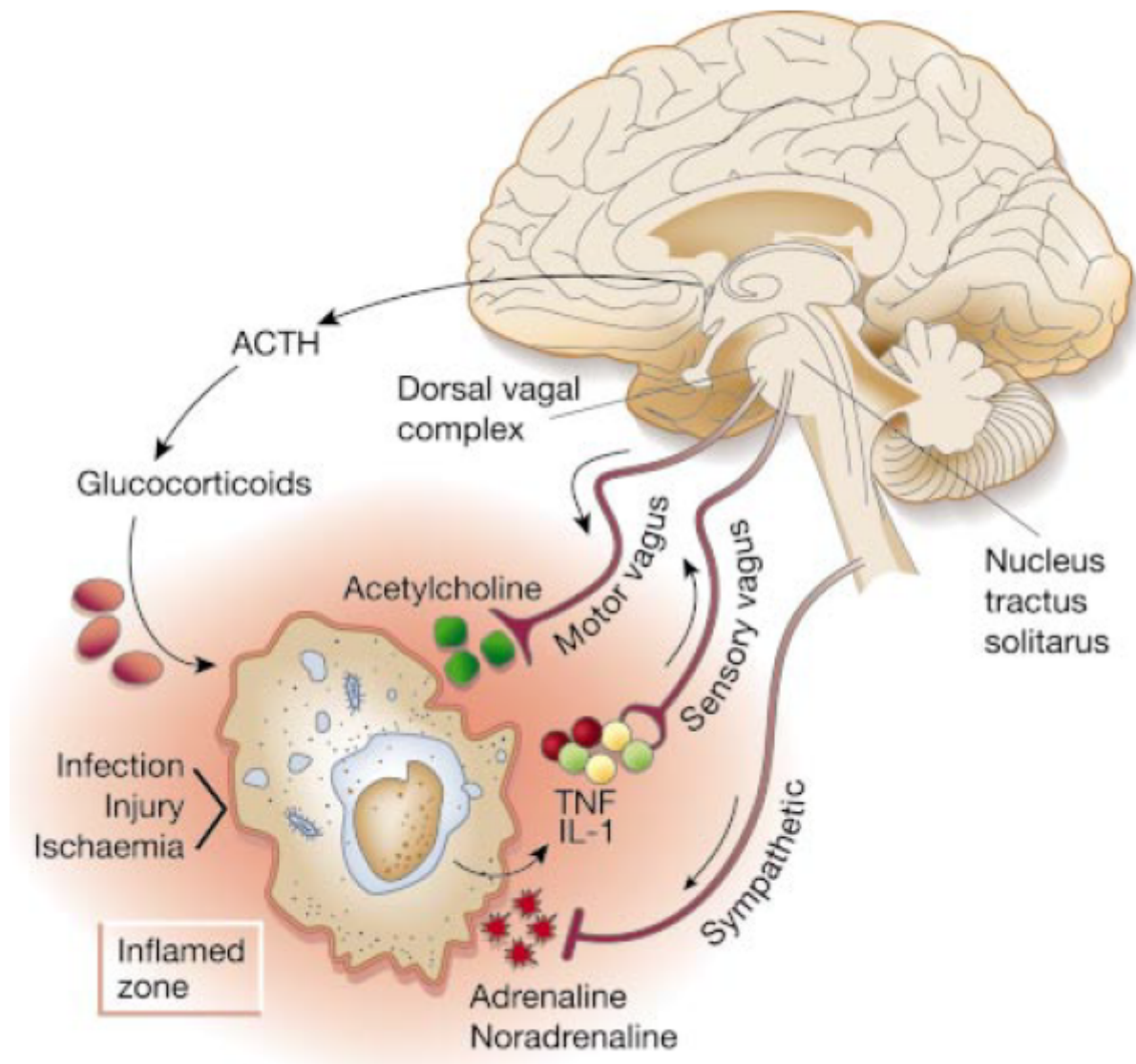


Figura 14⁸¹ "Cableado" del reflejo inflamatorio.

Los productos inflamatorios producidos en los tejidos dañados activan señales aferentes que son transmitidas al núcleo del tracto solitario: la subsiguiente activación de la actividad vagal eferente inhibe la síntesis de citocinas vía la ruta antiinflamatoria colinérgica ("el reflejo inflamatorio"). La información también puede ser transmitida al hipotálamo y el complejo vagal dorsal y estimular así la secreción de ACTH, lo cual activa la ruta antiinflamatoria humoral. La activación de la reacción simpática por la respuesta de estrés o el dolor, o por señalización directa, puede hacer aumentar las concentraciones de adrenalina y noradrenalina, lo cual puede contribuir aún más a la represión de las inflamaciones.

Los conocimientos sobre el reflejo inflamatorio (ruta simpática) y la ruta antiinflamatoria colinérgica (ruta parasimpática) hacen comprender ambas rutas fisiológicas y ofrecen todo tipo de perspectivas interesantes para las estrategias terapéuticas (figura 15).⁸² Está claro que aquí las rutas funcionan de forma sinérgica y no antitética: la activación del sistema nervioso simpático por patógenos o daño tisular (inflamación) provoca la activación del parasimpático (acetilcolina) para frenar la inflamación. La investigación acerca de las diversas posibilidades terapéuticas en estas áreas está en plena marcha.

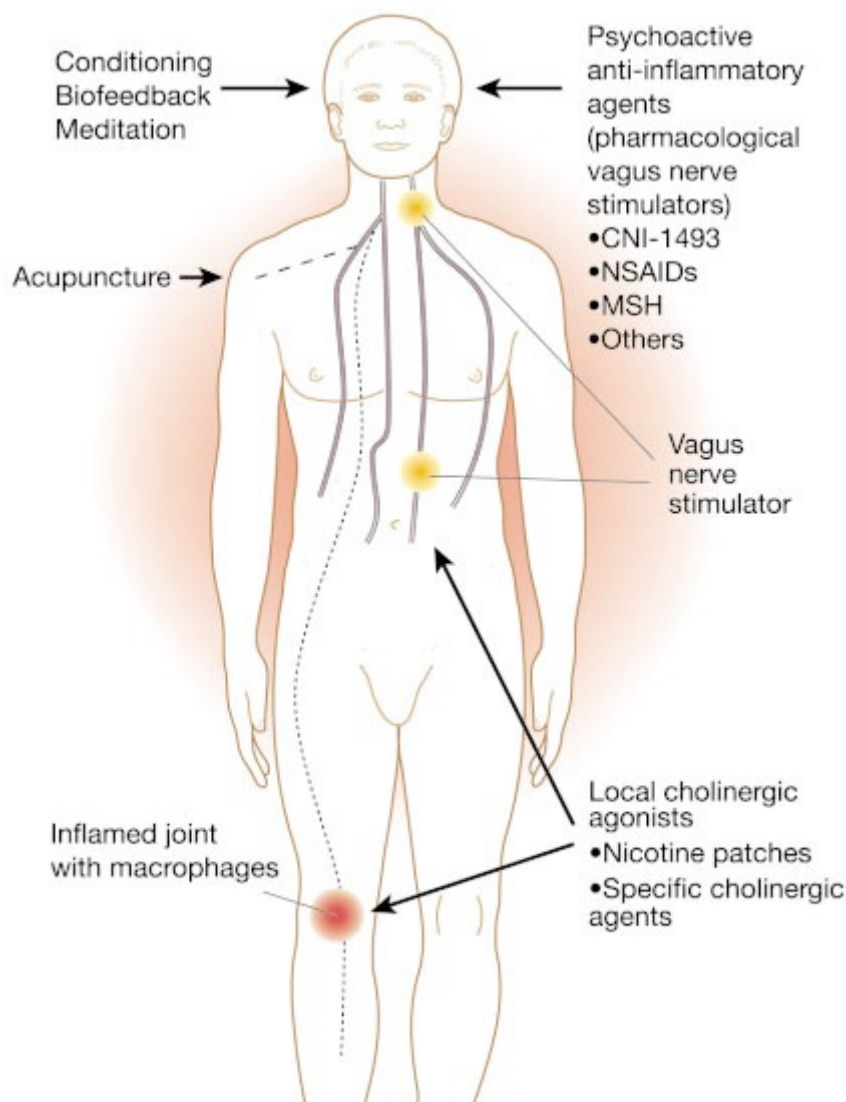


Figura 15⁸⁵ Focalización de terapias para la ruta antiinflamatoria colinérgica. El fundamento fisiológico de la ruta antiinflamatoria colinérgica puede utilizarse para desarrollar terapias basadas en la modulación de la actividad del nervio vago o de componentes específicos de la ruta. La biorretroalimentación, el condicionamiento, la meditación, la hipnosis o la acupuntura posiblemente puedan ser usadas para modular

el output del vago. Se pueden hacer medicinas "psicoactivas" a medida para aumentar la producción del vago, y se pueden utilizar otros medios para influir en los receptores colinérgicos de los macrófagos de la periferia. Las líneas discontinuas representan rutas conocidas del nervio vago; las líneas de puntos son hipotéticas.

Una de las formas posibles de influir en el reflejo inflamatorio es a través del receptor nicotínico, que, como ya se ha explicado, tiene un papel central en la señalización colinérgica. La ligazón del receptor nicotínico $\alpha 7$ nAChR con ayuda de agonistas no selectivos (como la nicotina) y agonistas muy selectivos (como la colina o la sustancia terapéutica experimental GTS-21) activa cascadas intracelulares pleiotrópicas de transducción de señales en monocitos y macrófagos que regulan a la baja la translocación nuclear de NF- κ B y la expresión de TLR4 e inhiben la transcripción de citocinas proinflamatorias. En monocitos y macrófagos, la transducción de señal de $\alpha 7$ nAChR inhibe la fosforilación de I κ B, el inhibidor de NF- κ B, un paso proximal que regula la activación de NF- κ B (figura 16).⁸⁴

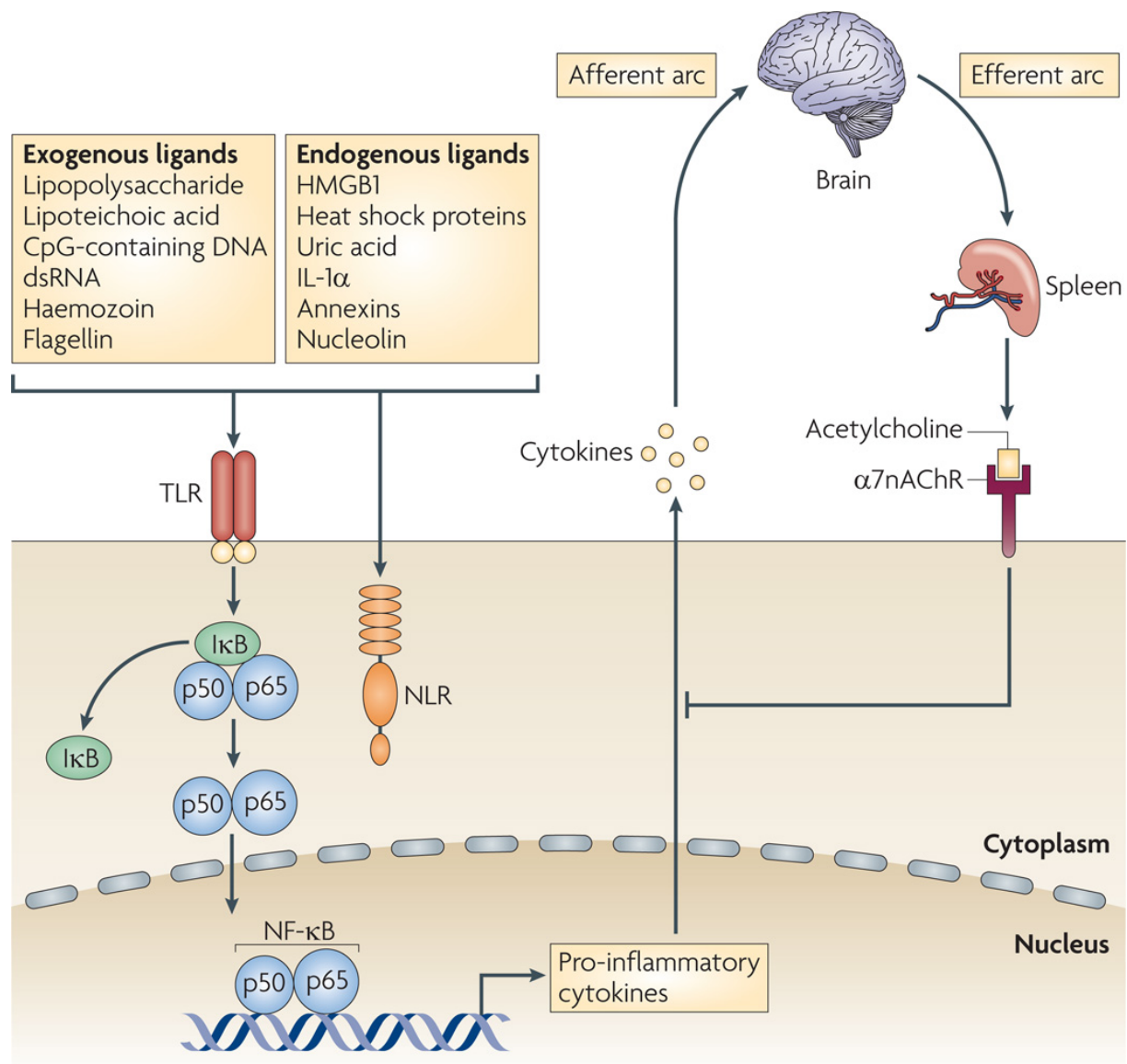


Figura 16⁸⁵

Los productos moleculares exógenos y endógenos de la infección y la herida actúan interactuando con receptores que se expresan en células del sistema inmune innato, como TLR y NLR. Las interacciones ligando-receptor activan respuestas del sistema inmune innato e inducen la secreción de citocinas proinflamatorias. Estas moléculas activan también neuronas sensoriales aferentes que forman el arco

sensorial del reflejo inflamatorio. Axones del nervio vago envían esta información al tronco del encéfalo como potenciales de acción. Esto activa a su vez el arco eferente, que se conoce como la ruta antiinflamatoria colinérgica (véase más arriba). Ello inhibe las respuestas inmunes innatas en el bazo mediante señales inhibitorias que surgen del tronco del encéfalo, atraviesan el nervio vago y señalizan a la subunidad $\alpha 7$ del receptor nicotínico de acetilcolina ($\alpha 7nAChR$), cuya expresión está activada por células inmunes productoras de citocinas. Esto acarrea la represión de la activación del NF- κB y la inhibición de las reacciones inmunes innatas.

dsRNA: ARN de doble hebra; HMGB1: proteína de alta movilidad del grupo de caja 1; I κ B: inhibidor de NF- κB ; IL-1 α ; interleucina 1 α .

Otra forma de influir en el reflejo inflamatorio es aumentando los niveles de acetilcolina en el cuerpo y reduciendo la acetilcolinesterasa, la enzima que divide en el espacio sináptico la acetilcolina liberada por neuronas en colina y acetato (figura 17).⁸⁶

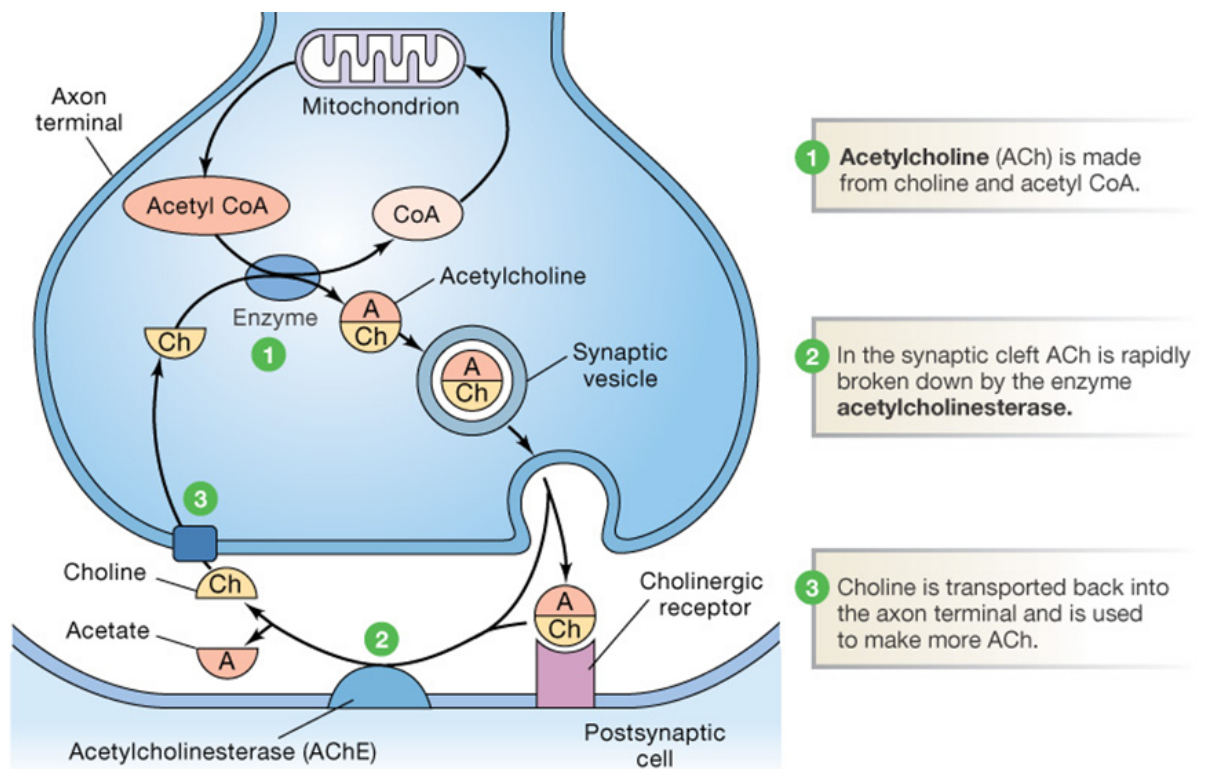


Figura 17⁸⁷
Síntesis y secreción de acetilcolina

Se puede influir en los niveles de acetilcolina mediante alimentos ricos en colina (hígado, huevo, chocolate, carne de vaca).⁸⁸ Se puede influir en los niveles de acetilcolinesterasa mediante extractos de plantas con efecto inhibitor sobre esta enzima, como *Salvia officinalis*, setas (extracto total), *Piper nigrum*, estragón, *Artemisia dracunculus* y *Lavandula officinalis*.^{89 90 91}

5.2.4.3 Endocannabinoides como señal de detención

También los endocannabinoides son una señal de detención para el sistema inmune. Tienen efecto sobre todo en la curación de heridas. Durante una reacción inflamatoria se puede causar daño tisular si el suministro de sangre al tejido retorna (reperfusión) tras un periodo de isquemia o falta de oxígeno (anoxia o hipoxia), como sucede en el proceso normal de curación de heridas. Este daño se denomina daño por isquemia-reperfusión (I/R). La restauración de la circulación sanguínea y la recuperación del suministro de nutrientes y oxígeno puede provocar inflamación y daño oxidativo por inducción de estrés oxidativo, mediado por especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (aniones de superóxido, peróxido de hidrógeno,

Figura 18⁹²
Formación de superóxido

El superóxido producido se recombina espontáneamente con otras moléculas para producir radicales libres reactivos. El superóxido reacciona con el monóxido de nitrógeno (NO), lo que resulta en la formación de peroxinitrito (OONO), por lo que se reduce el NO bioactivo necesario para dilatar los vasos sanguíneos en el proceso de curación de heridas y queda una mayor cantidad de vasos sanguíneos y circulación. Los aniones de superóxido, el peroxinitrito y otras especies reactivas de oxígeno provocan patología por peroxidación (degradación oxidativa) de proteínas y lípidos y por activación de cascadas de señales y nitrosilación proteica (reacción de NO con residuos de cisteína en proteínas, lo cual modifica postranslacionalmente la proteína) sensibles a la oxidación-reducción. Para combatir las infecciones, las células inmunes utilizan NADPH oxidasa para reducir el O_2 a radicales libres de oxígeno y, a continuación, a peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Los neutrófilos y los monocitos utilizan la enzima mieloperoxidasa para combinar después el H_2O_2 con cloruro (Cl⁻) para producir hipoclorito, que participa en la aniquilación de bacterias. El estallido de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno inmediatamente después de la reperfusión inicia una cadena de reacciones celulares nocivas que, cuando transcurre con normalidad, conduce a la resolución. Sin embargo, la ausencia de NADPH oxidasa motiva que no se puedan formar especies reactivas de oxígeno, lo cual puede acarrear la formación de granulomas: acumulaciones delimitadas de histiocitos (macrófagos) que vuelven a formar por sí mismos un foco de infección y pueden hacer que aumente la inflamación. En el proceso de detener a tiempo el estallido respiratorio, los endocannabinoides participan como señal de detención.

Estas sustancias funcionan a través de receptores de cannabinoides. Hasta hoy se han identificado dos receptores CB: CB1 y CB2. El receptor CB1 está abundantemente expresado en el tejido cerebral, pero también está presente en tejidos periféricos como los vasos sanguíneos, el corazón y el hígado. El receptor CB2 se expresa principalmente en el sistema inmune y en células hematopoyéticas, pero también en el cerebro y en células endoteliales. Los endocannabinoides (araquidonoil-etanolamida o anandamida (AEA) y 2-araquidonilglicerol (2-AG)) y, además, también los cannabinoides (fitocannabinoides o sintéticos) exógenos tienen, como ligandos de estos receptores, diferentes efectos antiinflamatorios y neuroprotectores por inhibición de la generación y secreción de citocinas y mediadores proinflamatorios. En el sistema inmune y en los tejidos se puede combatir el daño I/R producido por la activación del

receptor CB2 por parte de los (endo)cannabinoides debilitando la activación celular endotelial y la respuesta inflamatoria, reduciendo la quimiotaxis de las células inflamatorias, la adhesión de las células inflamatorias al endotelio, la migración transendotelial y la adhesión y activación de células parenquimáticas y modulando el estrés oxidativo/nitrosativo y la reacción de inflamación interrelacionados (figura 19⁹³).

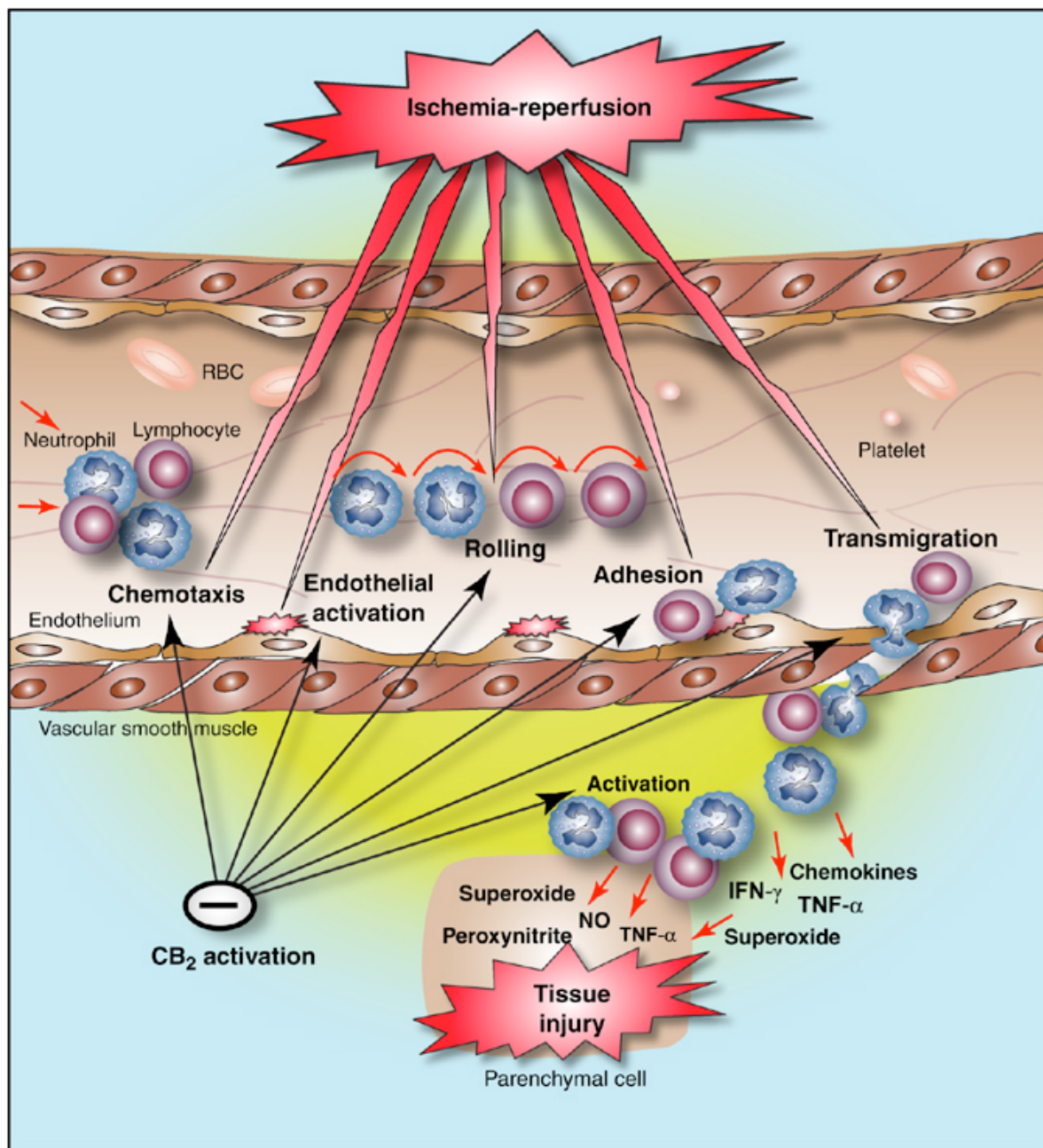


Figura 19⁹⁴ Mecanismos de protección dependientes del receptor CB2 en caso de isquemia-reperfusión (I/R). Los agonistas del receptor CB2 pueden proteger del daño I/R debilitando la activación de células endoteliales/reacción inflamatoria, la quimiotaxis de células inflamatorias, el alisamiento y adhesión de células inflamatorias para el endotelio, la migración transendotelial, la adhesión a las células parenquimáticas y la activación, así como el estrés oxidativo/nitrosativo y la reacción de inflamación interrelacionados.

Cuando la producción de cannabinoides endógenos no basta para afrontar la reacción inflamatoria (desbocada), se utilizan cannabinoides exógenos como los fitocannabinoides procedentes de plantas

(como el cannabis) para reforzar la reacción antiinflamatoria. La palmitoiletanolamida (PEA), una amida de ácidos grasos propia del cuerpo, parece actuar asimismo a través de receptores CB y tener así una función antiinflamatoria; también su administración exógena.⁹⁵

5.2.4.4 Cortisol como señal de detención

Los glucocorticoides (entre ellos, el cortisol) activan y reprimen muchos genes pro- y antiinflamatorios, así como efectos posttranscripcionales, y cumplen así su papel mediador en las reacciones inflamatorias. Los glucocorticoides se difunden por la membrana celular y se unen a receptores de glucocorticoides (GR) en el citoplasma de células diana. Los GR son activados y segregados desde proteínas chaperonas (proteína de choque térmico 90 y otras) por unión con ligando y se translocan rápidamente al núcleo celular, donde pueden ejercer sus efectos moleculares uniéndose a elementos de respuesta a glucocorticoides (GRE). La acción más importante de los glucocorticoides es desactivar los genes inflamatorios que codifican para citocinas, quimiocinas, moléculas de adhesión, enzimas inflamatorias y receptores. Estos genes son activados por factores de transcripción proinflamatorios como NF- κ B y el factor de transcripción AP-1 en las vías respiratorias. La mayoría de las veces ambos son activados en los lugares de la inflamación. Los GR activados interactúan con moléculas correpressoras para debilitar la actividad coactivadora asociada al NF- κ B, produciéndose una represión efectiva de los genes inflamatorios activados dentro del núcleo de la célula (figura 20).⁹⁶ Esta puede ser la razón por la que los glucocorticoides son tan efectivos en el control de las inflamaciones, pero también por la cual son relativamente seguros, porque no se ven influidos otros genes. Los glucocorticoides poseen potentes efectos inhibidores sobre las rutas de señalización de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) por inducción de MKP-1, y esto puede inhibir la expresión de varios genes inflamatorios.⁹⁷

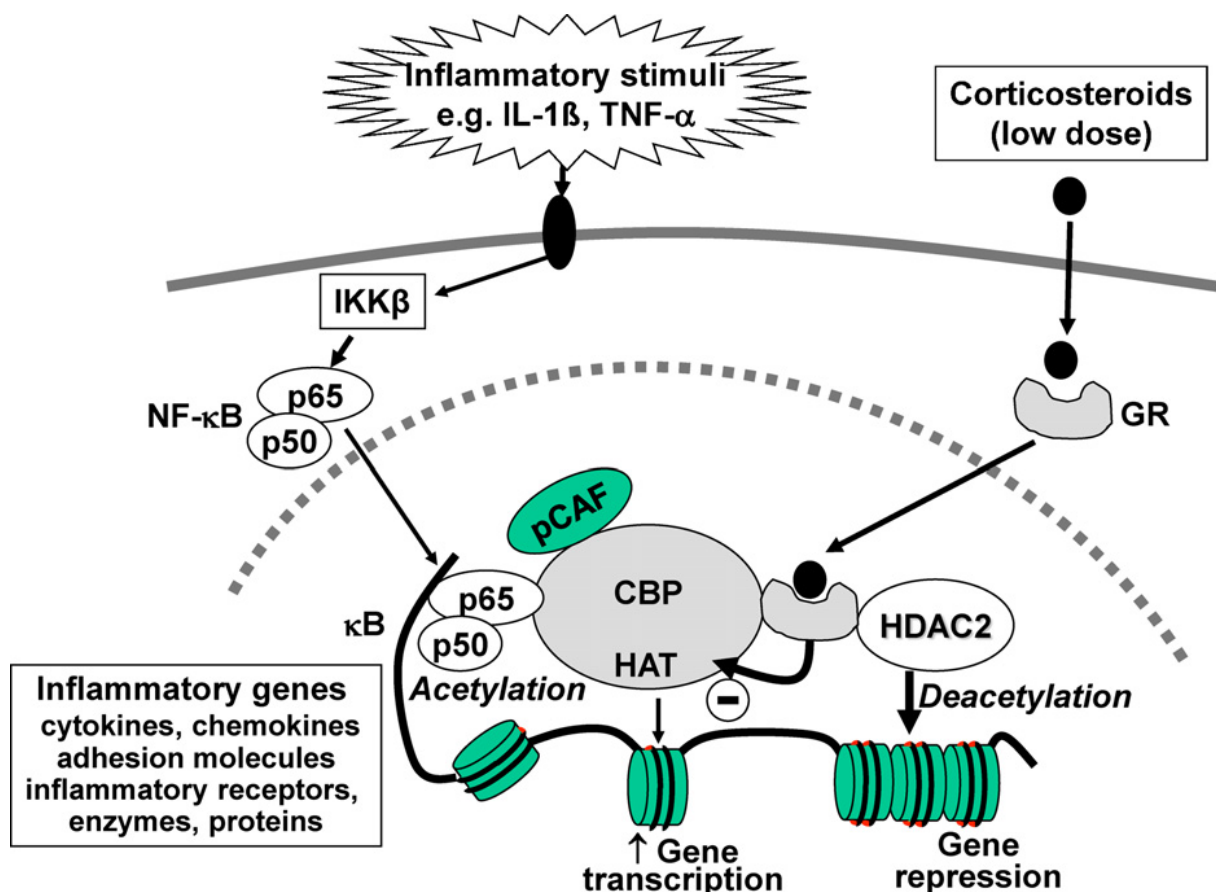


Figura 20⁹⁸ Represión por glucocorticoides de genes inflamatorios activados.

Los genes inflamatorios son activados por estímulos inflamatorios como interleucina 1 (IL-1) o factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), lo que da lugar a la activación de IKK (inhibidor de I κ B), que activa el NF- κ B. La acetilación de la histona H4 aumenta la expresión de genes que codifican para varias proteínas

inflamatorias. Los receptores de glucocorticoides (GR) se translocan tras su activación por corticosteroides hacia el núcleo celular y se unen a coactivadores, lo que produce represión de estos genes inflamatorios activados.

Así pues, el cortisol tiene un papel claramente antiinflamatorio orientado a finalizar la reacción de inflamación. La reducción de la sensibilidad al cortisol por resistencia a esta sustancia o la falta del mismo (deficiencia de cortisol) reducen la respuesta antiinflamatoria. Una de las causas de la resistencia al cortisol procede del propio sistema inmune. Al igual que este puede bloquear el funcionamiento de la hormona tiroidea como señal de detención, también puede evitar ser desactivado mientras no se resuelvan las inflamaciones. Lo consigue induciendo resistencia al cortisol (lo cual hace que los GR dejen de ser sensibles a los glucocorticoides circulantes, primero en las células inmunes y después a nivel sistémico).

Adaptógenos similares al cortisol

Los adaptógenos (véase el capítulo 3) aumentan el estado de la resistencia no específica en caso de estrés, y disminuyen la sensibilidad ante los estresores, resultando en protección ante el estrés y una mayor resistencia a este (efecto estimulante). En vez de agotamiento, se alcanza otro nivel de equilibrio (heterostasis). Este no es el nivel normal de equilibrio (homeostasis), sino un nivel superior protector: un nuevo "estado estable" por estimulación exógena de mecanismos adaptativos. En la heterostasis, el estado estable del medio ambiente interno no es absoluto ni se conserva por definición, como ocurre con la homeostasis. En la heterostasis hay una estabilidad relativa en la cual las reacciones defensivas son movilizadas para oponer resistencia a las alteraciones anormales. La diferencia más llamativa entre la homeostasis y la heterostasis es que la primera mantiene el estado estable mediante reacciones fisiológicas, mientras que la segunda conserva un estado defensivo mayor mediante intervenciones exógenas artificiales. La heterostasis se puede alcanzar por administración exógena de sustancias naturales o sintéticas.⁹⁹ En consecuencia, la heterostasis se puede considerar un estado protector temporal o constante, producto de un desplazamiento del valor de inicio (el valor homeostático) (véase la figura 21).¹⁰⁰

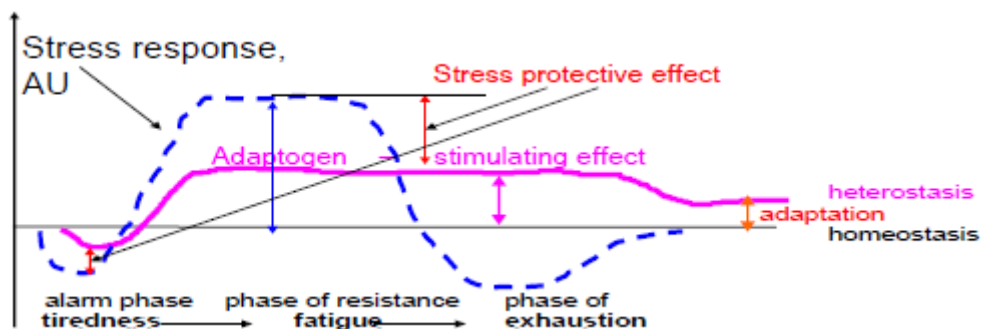


Figura 21¹⁰¹
Homeostasis y heterostasis

El mecanismo de acción que subyace a los adaptógenos se representa gráficamente en la figura 22.¹⁰² Los adaptógenos reducen el NO, la quinasa c-Jun N-terminal 1 (JNK, una proteína implicada en las reacciones inflamatorias inducidas por estrés) y el cortisol durante una situación de estrés, y estimulan/activan la expresión de la proteína de choque térmico 70 y la proteína O1 de caja *forkhead* (p-FoxO1). La estimulación de la biosíntesis de Hsp70 es un punto importante en el mecanismo de acción de los adaptógenos. Mejora la reparación de las proteínas dañadas. Inhibe la expresión inducida por estrés de genes NO, aumentando el ATP a niveles normales en la célula adaptada. Los valores reducidos de NO no son capaces de reprimir la formación de moléculas suministradoras de energía. Inhibe la JNK y, en consecuencia, la muerte apoptótica y la represión del sistema inmune mediante la activación de los GR y otros mecanismos. El funcionamiento normal de los GR y los niveles normales de ATP han sido asociados a los efectos antifatiga y antidepresivos de los adaptógenos y a la función cognitiva normal. Probablemente también esté relacionado con el efecto sobre la fosforilación de FoxO y su translocación

al núcleo celular y, en consecuencia, con una mayor resistencia al estrés y una vida más larga. En resumen, los adaptógenos funcionan como vacuna antiestrés (imitación del estrés) al activar mecanismos de autodefensa inducidos por estrés para adaptar la célula y el organismo con el fin de reducir las consecuencias perjudiciales del estrés.¹⁰³

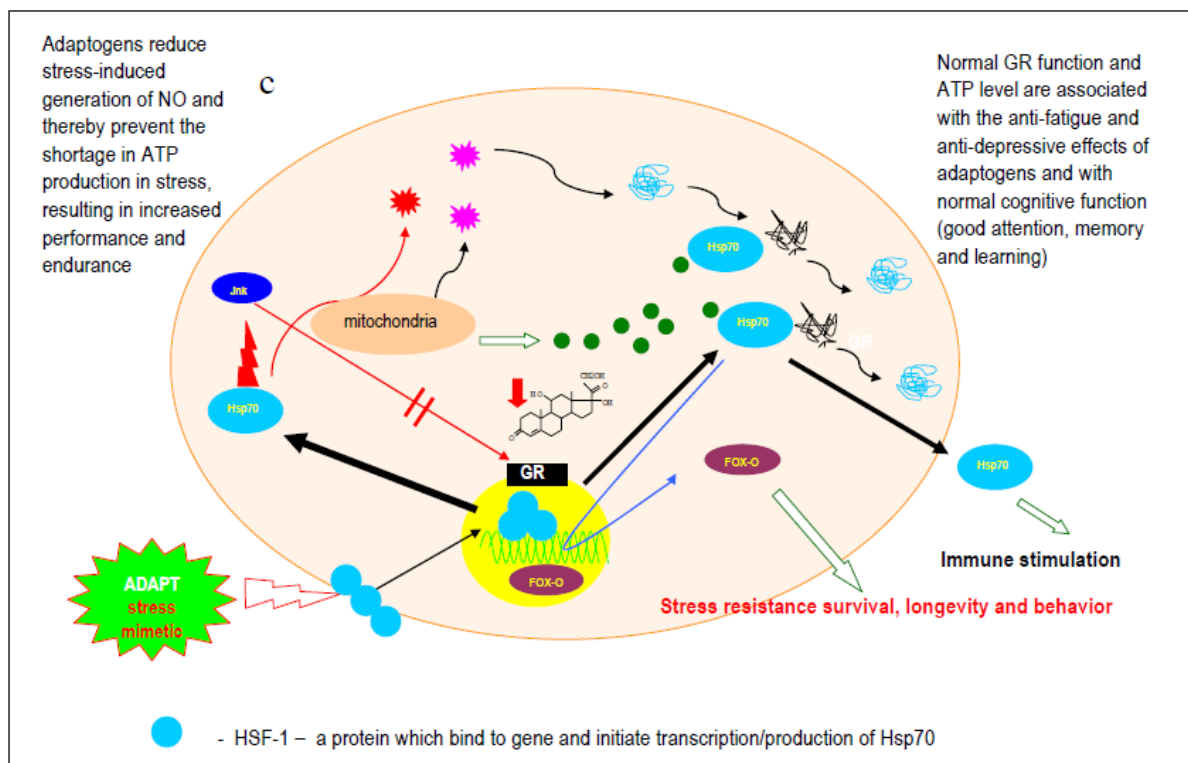


Figura 22¹⁰⁴ Mecanismo de acción de los adaptógenos

En la tabla 1 se recogen algunos adaptógenos similares al cortisol y su posología.

Sustancia activa (intervención)	Fuente alimenticia	Posología
<i>Salvia officinalis</i>	Salvia	350-1050 mg/día
L-triptófano	Huevos, piña, papaya	500-3000 mg/día
L-tirosina	Pollo, pavo, pescado, aguacate, plátano, almendra, sésamo, semillas de calabaza	500-3000 mg/día
<i>Griffonia simplicifolia</i>	Griffonia	?
Vitaminas del grupo B		25-200 mg/día
<i>Mucuna pruriens</i>	Granos de terciopelo	350-1050 mg/día
GABA	Coles de Bruselas (crucíferas), valeriana, <i>Viscum album</i> , manzana	500-2000 mg/día

Fenilalanina	Leche materna	700-4200 mg/día
Ginseng		80-480 mg/día
Curcumina	Cúrcuma, curry	2-7 mg/día
<i>Ginkgo biloba</i>		50-300 mg/día
<i>Hypericum perforatum</i> (metabolismo de la serotonina)	• Plátanos • Frutos silvestres • Piña • Papaya	300-1200 mg/día
<i>Rhodiola</i>		60-180 mg/día

Tabla 1 Adaptógenos similares al cortisol y su posología

5.2.4.5 Hormesis

Además de los adaptógenos, los estímulos horméticos también tienen una influencia moduladora sobre las reacciones inflamatorias. El término hormesis se refiere al proceso mediante el cual la exposición a bajas dosis de un producto químico o factor ambiental que es nocivo a altas dosis induce un efecto adaptativo favorable en la célula o el organismo. La hormesis es un concepto fundamental en la teoría de la evolución. Desde el principio hasta el momento actual, la vida en la tierra existe en entornos duros llenos de radicales libres y sustancias tóxicas. Para evitar su extinción, los organismos han desarrollado complejos mecanismos para lidiar con los peligros del entorno. La relación dosis-respuesta bifásica, con una dosis baja favorable y una alta tóxica, es una función fundamental de la hormesis. Un ejemplo de proceso que presenta una clara relación dosis-respuesta bifásica es la isquemia, de la que ya se ha hablado, pues cortos periodos de ella son protectores, mientras que los largos provocan daño celular. Una observación muy frecuente en el estudio de la hormesis es que la exposición a bajos niveles de un tipo de estímulo hormético puede proteger a las células frente a más de un tipo de estrés. Este aspecto "intermodal" de la hormesis en los sistemas biológicos puede explicar las amplias ventajas de los estímulos horméticos como el ejercicio físico y la restricción energética. Hallazgos recientes sugieren que muchos productos fitoquímicos pueden hacer lo mismo y poner así en marcha mecanismos horméticos intermodales en los que un componente fitoquímico activa una o varias rutas celulares adaptativas de reacción al estrés.¹⁰⁵

El descubrimiento del Nrf2 (factor nuclear derivado de eritroide 2), el más importante factor de transcripción evolutivamente conservado, ha sido crucial para la comprensión del proceso de la hormesis. El Nrf2, que se conoce como CNC en moscas y SKN-1, en gusanos, realiza sus funciones a través de más de 270 genes diferentes uniéndose a elementos de respuesta antioxidante en el promotor del gen. El Nrf2 puede inducir la expresión de sus genes diana (230 genes) o reprimirla (30-40 genes). Es el factor de transcripción más importante para la activación de reacciones de oxidación-reducción y los sistemas desintoxicadores, entre ellos, las enzimas de fases I, II y III. Otros genes incluyen metabolismo intermediario, producción de hormonas del crecimiento e inflamaciones. Bajo estrés, el Nrf2 se activa y migra al núcleo celular, donde se une a sus genes diana y hace que se expresen moléculas que protegen a la célula. Aunque el estrés oxidativo basta por sí solo para activar la ruta Nrf2, la presencia de ciertas sustancias con propiedades electrófilas/de oxidación-reducción, como el sulforafano del brócoli y la curcumina de la cúrcuma, mejora la actividad del Nrf2. La estimulación del Nrf2 ejerce un efecto extremadamente protector en diferentes órganos y tejidos, incluyendo neuronas y el mantenimiento de las células beta pancreáticas. Además de los efectos citoprotectores de la mayor expresión del Nrf2, tiene efectos antiinflamatorios, induce la desintoxicación de un amplio espectro de xenobióticos, es antiapoptótico e influye en varias rutas metabólicas. El conocimiento de las relaciones dosis-respuesta

es de gran importancia a la hora de comprender los mecanismos de la farmacología, la inflamación, el envejecimiento y el cáncer. Un ejemplo de hipotético efecto hormético polifásico es la posología de la vitamina C en relación con la viabilidad mitocondrial y la salud general. 70 mg/día pueden producir daño mitocondrial: la dosis preventiva óptima varía entre 70 y 650 mg. Una ingesta media de 120 mg de vitamina C al día parece ser óptima para conservar la salud del ser humano y la función donante de la vitamina C. Sin embargo, una ingesta por encima de los 650 mg (1000 mg) repercute negativamente en el metabolismo mitocondrial y la mitohormesis. La mitohormesis (hormesis mitocondrial) guarda relación con el efecto dañino de los altos niveles de especies reactivas de oxígeno y el efecto mejorador de un bajo nivel de las mismas. Muchos factores de estilo de vida modernos producen estrés crónico y regulación a la baja del Nrf2 y sus correspondientes rutas. Las micotoxinas procedentes de los cereales y otros alimentos ricos en fécula se acumulan en muchos órganos como el hígado pero, sobre todo, los riñones. El uso de jengibre, una hormetina y conocido potente estimulador del Nrf2, muestra efectos hepatocitoprotectores contra las micotoxinas *in vitro* e *in vivo* por medio de una regulación al alza de varios mecanismos antioxidantes y desintoxicantes, incluyendo la ruta Nrf2. El uso de desafíos horméticos no solo es efectivo como abordaje precondicional para aumentar la tolerancia al estrés, sino también como posible contramedida postcondicional. Aunque la biología del Nrf2 es complicada y los efectos son bifásicos, parece ser que su activación intermitente por parte de estresores horméticos suaves es segura y produce en conjunto efectos beneficiosos para la salud.¹⁰⁶ La vida intermitente, como se explicará extendidamente en el capítulo 17, aporta varios estímulos horméticos y estimulación del Nrf2 y, en consecuencia, un estado preponderantemente antiinflamatorio en el organismo.

5.2.5 Factores de riesgo y soluciones

Tal como se ha descrito anteriormente, existen muchos mecanismos con los que mantener bajo control la reacción inmune, pero las inflamaciones no siempre finalizan a su debido tiempo (en un plazo de 42 días). Factores que pueden hacer que no funcionen las señales de detención son, entre otros:

1. El estrés crónico, que desregula los ejes centrales que pierden así su efecto inhibitor sobre el sistema inmune.
2. Un recambio proteico excesivamente elevado en caso de actividad inmune mucho mayor de lo normal: ello exige tantas proteínas (uno de los componentes de las señales de detención) que su deficiencia hace que no funcione la señal de detención.
3. Hambre (en países pobres).
4. El síndrome de reconstitución inmune (SRI), en el que el sistema inmune empieza a restablecerse, pero después reacciona a una infección oportunista contraída anteriormente, con una reacción inflamatoria abrumadora.
5. La inflamación de bajo grado (IBG), que exige una actividad permanente del sistema inmune.
6. Enfermedades autoinmunes en las que la presencia de autoanticuerpos provoca inflamación de los tejidos.
7. Enfermedades autoinmunes en las que los autoanticuerpos hacen que el sistema inmune esté constantemente activado.
8. No alcanzar los puntos de control en la reacción inflamatoria, por lo que la inflamación no se pone en marcha lo bastante bien como para iniciar la resolución.
9. Una alta ingesta de fructosa y valores elevados de ácido úrico, y una dieta con un alto valor glucémico, que contribuyen de muchas formas a la aparición y perduración de las inflamaciones.
10. La insulinoresistencia, que altera la distribución de la energía (glucosa).

Como ya se explicó en el capítulo anterior, el punto de partida de la inflamación lo constituyen las señales de peligro PAMP (patrones moleculares asociados a patógenos) y los DAMP (patrones moleculares asociados a daño/peligro). Tras una infección o daño tisular, los PAMP y los DAMP activan la reacción inflamatoria vía receptores tipo Toll y tipo NOD por medio de la transcripción de citocinas proinflamatorias. Además de los "AMP" clásicos, hay toda clase de señales de peligro moleculares procedentes de otros factores, como sociales, sexuales, cognitivos y emocionales. También estos AMP (SAMP, CAMP, EAMP) son capaces de desencadenar una inflamación, igual que los PAMP y los DAMP.

La estimulación prolongada de todos los AMP por una serie de factores de la vida moderna perpetúa el estímulo inflamatorio. Mientras que la medicina moderna se concentra principalmente en el tratamiento de los aspectos fisiológicos de la enfermedad, que provienen de los PAMP y los DAMP, la PNIc tiene en cuenta también el papel de los otros cuatro componentes, a saber, emocional, cognitivo, social y sexual, a la hora de evaluar y tratar la enfermedad (figura 23).

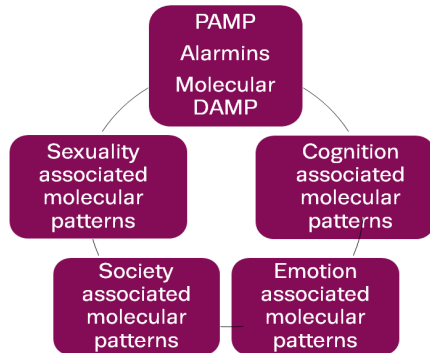


Figura 23
Los cinco componentes (físico, cognitivo, emocional, social y sexual) como señal de peligro

El componente físico comprende la parte bioquímica, medible, diagnosticable y visible de la enfermedad, como los valores inflamatorios, las alteraciones cutáneas, la temperatura corporal y la tensión muscular. El componente emocional está relacionado con las emociones, que, al igual que un patógeno o un daño tisular, pueden provocar enfermedades. El componente cognitivo se refiere a la influencia de los pensamientos sobre la enfermedad y la salud. Nuestra capacidad de pensamiento es capaz de pensar tanto de forma racional como irracional, e incluso de considerar como real un peligro completamente hipotético. El componente social trata de la influencia del entorno social sobre la enfermedad y la salud, y, por último, el componente sexual considera los aspectos sexuales y el contacto físico, que influyen en el estar sanos o enfermos. El proceso de averiguar el papel de cada componente es sistemático, partiendo de los aspectos físicos (como la tensión muscular, la frecuencia cardíaca o la respiración), siguiendo por las emociones, los pensamientos y la influencia sobre la vida social y sobre la vida sexual. Cómo funciona esto exactamente es algo que se trata en el capítulo "La P de PNI".

Cada componente tiene su propia posibilidad de solución. El componente físico exige solucionar problemas físicos, como suplir deficiencias de ciertos nutrientes, aliviar el dolor e inhibir la inflamación y tratar demás síntomas medibles y visibles. El componente emocional se puede abordar de la mano del reencuadre, en el que las emociones (negativas) se colocan en otro marco y la enfermedad o los síntomas se ven con otros ojos. La solución para el componente cognitivo requiere de aprendizaje profundo: explicar los procesos más importantes que han dado lugar a la enfermedad. Esto la hace menos amenazante y más comprensible, y consigue que el paciente sea parte de la solución. El componente social exige incidir activamente en la vida social y, si es necesario, cambiar el texto/contexto (metamodelo 3) en el que la persona se encuentra. Finalmente, el componente sexual es el más delicado de abordar, a causa de todos los tabús que siempre trae consigo el sexo. Pero no hablamos tan solo de la vida sexual: también el simple contacto físico (caricias) es de gran importancia para regular hormonas importantes como la oxitocina y reducir el estrés, por lo que puede contribuir sustancialmente a la solución.

Resumen

La resoléomica es un proceso inflamatorio autolimitante, ejecutado y controlado por el sistema inmune innato y regulado por el sistema nervioso simpático y el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal. La resoléomica desempeña un papel central en la curación de heridas, y cuando falla, el resultado es la cronificación de las inflamaciones. Existen muchos procesos intrínsecos y extrínsecos con los que poner freno a una reacción inmune. Sin embargo, hay toda una serie de factores que hacen que las inflamaciones no puedan resolverse. Los factores de riesgo más importantes para que las infecciones se perpetúen son

las señales de peligro (AMP). Desentrañar las AMP que influyen en la enfermedad y resolverlas es la base del tratamiento de la PNlc.

El siguiente apartado versa sobre el papel del dolor en la curación de heridas.

5.3 Dolor¹⁰⁷

El dolor es un síntoma de gran número de cuadros clínicos. Podría considerarse una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño potencial o real de un tejido determinado. El dolor es subjetivo: una experiencia. También se le considera una emoción. La sensación de dolor y la activación del sistema del dolor es un sistema de alarma que surgió ya en los comienzos de la evolución. La función evolutiva del dolor es ser notado y poder dar prioridad a la evasión, la reparación y la cura. Siempre que los demás puedan ayudar a huir, restablecerse o curarse, se requiere una comunicación efectiva del dolor. La presencia de dolor se evalúa por medio de una expresión facial clara y específica que siempre va acompañada de los mismos estímulos y que los demás pueden reconocer como dolor. El control voluntario del semblante cuando hay dolor es incompleto, y los demás son más capaces de percibirlo como "dolor" cuando el que lo siente lo reprime que cuando la expresión facial se utiliza para exagerarlo o fingirlo. Además de la expresión facial de dolor, también se pueden ver manifestaciones de dolor en la actividad vocal no verbal, la postura y el movimiento. Se supone que la expresión del dolor está influida por reacciones sociales como la simpatía, el cuidado y la ayuda práctica. Se parte de la idea de que una expresión facial de dolor intensa es un intento de manipular la reacción social deseada, por ejemplo, por miedo al escepticismo sobre la existencia y el nivel de dolor, al juicio de estar exagerando y a la falta de ayuda.¹⁰⁸ A pesar de la clara función del dolor, hay personas con una insensibilidad innata al mismo. La descripción de estas personas puso uno de los cimientos para la diferenciación rudimentaria entre los componentes sensoriales y afectivos del dolor de Melzack y Casey (1968). Estas personas suelen morir en la misma infancia, porque no detectan las lesiones ni las enfermedades, lo cual es una prueba convincente de que la capacidad de percibir el dolor tiene un gran valor de cara a la supervivencia. La sensación de dolor protege a las personas de los efectos dañinos para los tejidos de los estímulos peligrosos, y parece ser crucial para la supervivencia del organismo. Por tanto, el dolor es una necesidad evolutiva, y el significado de su señalización es de gran importancia.¹⁰⁹

5.3.1 Sensación de dolor

La sensación subjetiva del dolor puede referirse a un estímulo desencadenante (por ejemplo, una herida), pero no siempre tiene que ser así. El dolor puede existir sin estímulo ni daño tisular, al igual que el hambre o el miedo pueden darse sin un estímulo desencadenante. También puede tener un objetivo lógico. Al igual que pasa con el hambre, la sed o el miedo, el dolor impone un cambio de conducta. Así pues, el dolor tiene una función homeostática: proporciona un estímulo de adaptación a los cambios en las circunstancias para que se pueda restablecer la homeostasis. El dolor puede ser funcional, pero también adaptativo: puede facilitar un cambio de conducta protector de la homeostasis, pero también una sobre-reacción conductual a la percepción del dolor que altere más aún la homeostasis.

En la práctica, se puede diferenciar entre distintas formas de dolor: nociceptivo, inflamatorio, neuropático y psicogénico.

- El dolor nociceptivo es la consecuencia de una activación aguda de los nervios sensoriales periféricos ante un cierto nivel mecánico, térmico o químico (por ejemplo, tras una operación o traumatismo o como consecuencia de un proceso degenerativo como la artrosis). Se describe generalmente como un dolor agudo, punzante y bien localizable.
- El dolor inflamatorio es la reacción a un daño real, produciéndose no solo nocicepción, sino también un cambio morfológico en la sensibilidad de los nocisensores. Bajo la influencia del daño tisular continuo, la sensibilidad en sí de los nocisensores puede cambiar.¹¹⁰ El dolor inflamatorio es sordo, difuso y con carga emocional. En caso de estimulación prolongada de las vías nerviosas responsables de este tipo de dolor, puede originarse una sensibilización al nivel del cerebro y de la médula espinal. La sensibilización suele producir cronificación del dolor.
- El dolor neuropático o neurogénico se caracteriza por una mala localización, y se define como dolor causado o iniciado por una lesión primaria o una disfunción del sistema nervioso central. A menudo, el dolor neuropático va acompañado de síntomas sensoriales anormales como la alodinia (dolor causado por un estímulo no doloroso) e hiperalgesia (respuesta mayor de lo normal a un estímulo doloroso).

- El dolor psicogénico tiene una causa claramente psíquica. Las expectativas, las ideas, las emociones, el estrés y otros factores mentales pueden traducirse en dolor. La localización de este dolor tampoco es precisa.

El dolor nociceptivo es iniciado por reacciones locales a una alteración de la homeostasis local. En principio, la reacción inmunológica no influirá directamente en procesos centrales cuando no se trate directamente de un tejido neurológico. Pero si la reacción inmune es prolongada, se activan procesos inmunoneurológicos a nivel central, y el dolor puede pasar a ser inflamatorio. El daño mecánico, la inflamación, el crecimiento de un tumor o un proceso autoinmune pueden hacer que se libere gran cantidad de mediadores procedentes de células dañadas que, por un lado, pueden reducir el umbral de estimulación de los nocisensores y, por otro, también pueden causar dolor. Esta sensibilización periférica explica los fenómenos de la hiperalgesia (bajo umbral de dolor) y la alodinia (estímulos no nociceptivos producen sensación de dolor) en caso de daño tisular continuo. Además, la sensibilización puede reforzar los estímulos dolorosos normales y hacer que perduren más (véase más adelante). También, en función de la gravedad y la duración del daño, los nocisensores circundantes pueden sensibilizarse como una especie de reacción en cadena (propagación espacial).¹¹¹ Un dolor nociceptivo puede convertirse en inflamatorio cuando, por ejemplo, no se detiene un proceso inflamatorio, lo que hace que haya producción continua de citocinas proinflamatorias, cuando se produce acumulación por la confluencia de un proceso patológico local y otras emociones, o cuando la lesión aguda va acompañada de emociones intensas, siendo el miedo la más cronificante de ellas.

La sensación de dolor trae consigo una reacción a esta percepción de dolor. Se pueden distinguir cuatro niveles de percepción de dolor:

1. Estímulos nódicos (dañinos) a consecuencia de estímulos mecánicos, químicos o térmicos.
2. Estímulos nociceptivos (percepción): los procesos neurales por los que los estímulos dañinos se convierten en impulsos nerviosos a través de los receptores de dolor (también llamado "transducción").
3. Sensación dolorosa: la sensación subjetiva de dolor, desde la sensación dolorosa hasta la experiencia emocional que se produce en el cerebro.
4. Comportamiento de dolor: comportamiento perceptible que sigue al dolor (verbal y no verbal).

Las reacciones al dolor y la conducta pueden desvincularse a todos los niveles de la percepción del dolor, y esta puede producirse sin nocicepción ni daño tisular. Con vistas a la terapia, es importante saber qué niveles están activados: no tiene sentido atenuar la nocicepción cuando no hay tal, y reprimir la percepción del dolor puede ser dañino si continuamente hay estímulos dañando los tejidos.

Muchas estructuras neuronales están implicadas (en diversos grados) en el dolor. El sistema nervioso en su conjunto tiene un papel en la percepción del dolor. Las dimensiones de la percepción del dolor son:

1. sensorial-discriminativa (el dolor es un sentimiento diferente a otras percepciones sensoriales y puede localizarse bien);
2. afectivo-motivacional (dolor como percepción emocional);
3. cognitivo-evaluativo (comprensión y significado del dolor);
4. conciencia/excitación (excitabilidad neuronal);
5. expresión (manifestación de dolor);
6. reacciones autónomas del sistema nervioso (vasoconstricción, sudor, desmayo);
7. reacciones reflejas motoras somáticas;
8. cambios respiratorios (contener la respiración, hiperventilar).

Para cada individuo, los aspectos descritos se dan en diferentes medidas, y guardan relación con circunstancias personales como el nivel de desarrollo, las experiencias y la cultura. Por consiguiente, las circunstancias ejercen una gran influencia en la vivencia y la conducta del dolor, y nunca pueden soslayarse a la hora de tratarlo.

5.3.2 Neuromatriz

El dolor es una sensación eferente producida desde la neuromatriz. Aparece cuando hay un daño real o potencial en un tejido u órgano. Cuando el dolor es de corta duración y provoca una reacción de regeneración óptima, se le puede denominar fisiológico. Cuando el dolor se cronifica (a menudo, sin que (ya) haya daño), se convierte en una enfermedad o en un síndrome de dolor crónico. El dolor crónico está causado por una actividad de excesiva a espontánea de las neuronas sensibles al peligro dentro de la médula espinal y la neuromatriz. La base de la cronificación es una hipersensibilidad del componente afectivo-motivacional de la "neuromatriz del dolor" propia del cuerpo. Las emociones ligadas a la sensación de dolor (por ejemplo, el miedo y la ansiedad) activan determinadas

partes de la neuromatriz, lo que hace que haya aún más dolor (fenómeno del *wind-up*, aumento progresivo de la percepción del dolor). A la larga, estas emociones se sienten como dolor. El dolor como consecuencia de un estímulo mecánico o químico es una respuesta normal, incluso sana, de los animales y los seres humanos a un daño potencial o real de los tejidos. La respuesta de dolor trae consigo una acción para reducir al máximo posible la cantidad de daño (potencial). Los mamíferos en general y el ser humano en particular han desarrollado un sistema de dolor muy avanzado, formado por una red neuronal dentro del sistema nervioso central en colaboración con neuronas periféricas. Melzack¹¹² describe este sistema como la "neuromatriz del dolor".

La neuromatriz del dolor

Melzack afirma que el dolor siempre es una sensación producida por la neuromatriz del dolor: una (re)acción eferente a la información que llega (aferente), generada por transmisión neurológica desde tejidos y órganos, citocinas, neurotransmisores, inmunotransmisores, ojos y oídos. También los procesos intrínsecos dentro del cerebro en general y dentro de la propia neuromatriz informan a esta última, y pueden contribuir a la formación de la sensación de dolor. La neuromatriz del dolor está formada por una serie de áreas y órganos dentro del sistema nervioso central. Está presente en el nacimiento, y es más o menos igual para la mayoría de las personas. La forma en que la neuromatriz reacciona a los estímulos está determinada individualmente, y depende de factores (epi)genéticos y experienciales, la llamada "neurofirma de la neuromatriz propia del cuerpo" (figura 1).

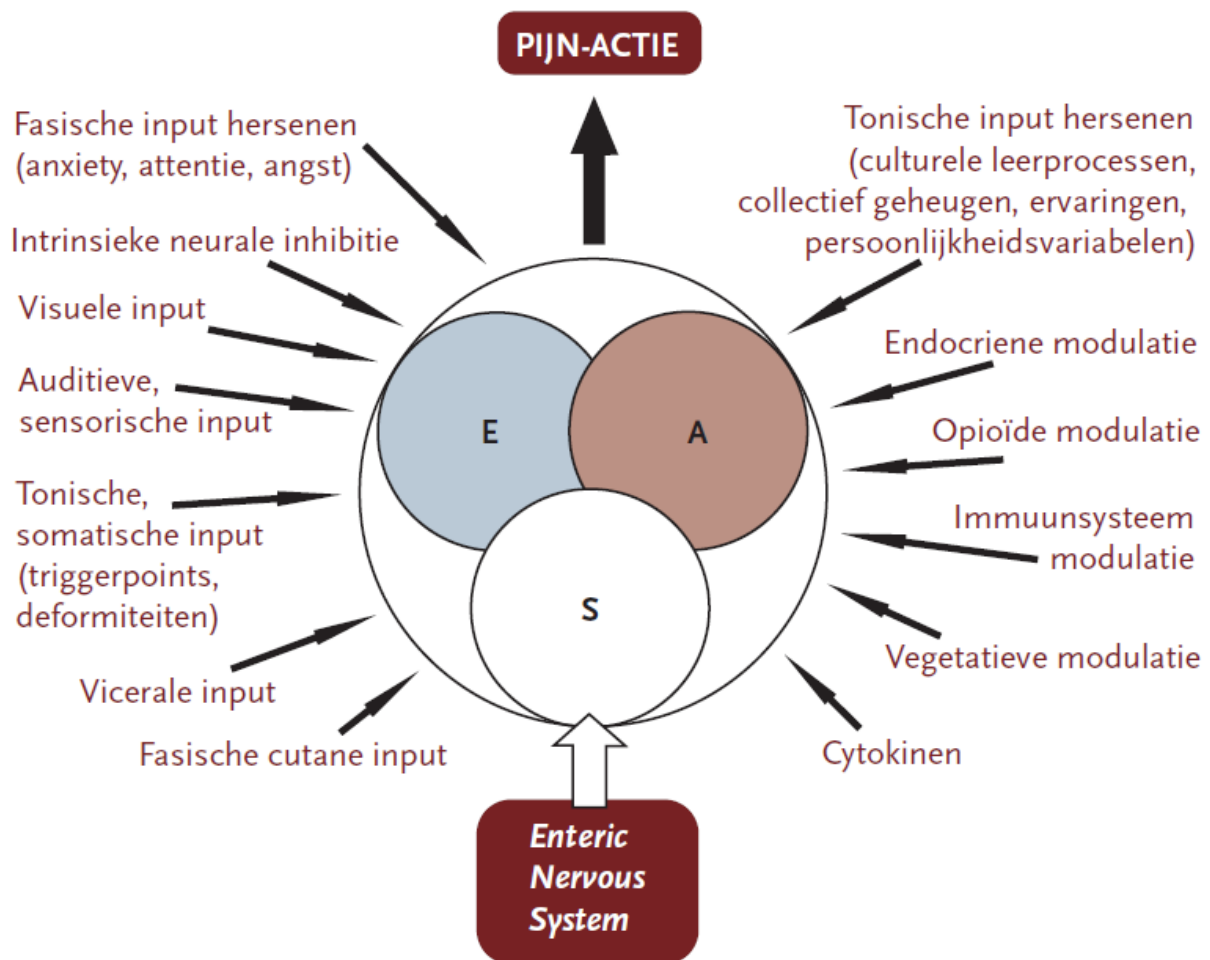


Figura 1

La neuromatriz propia del cuerpo como "cajón de sastre" central tanto de información intrínseca (dentro del sistema nervioso central) como extrínseca (desde la periferia y el mundo exterior). A través de procesos discriminatorios sensoriales (S), valoración emocional (A) y evaluación cognitiva (E) se produce una (re)acción.

Antes de que tenga lugar una reacción de dolor, primero la información es procesada dentro de los tres componentes funcionales de la neuromatriz:

1. La naturaleza del estímulo, su duración y su intensidad se procesan dentro del componente sensorial-discriminativo (S).

2. Dentro del componente afectivo-motivacional se procesan los aspectos emocionales de los estímulos (sensación desagradable, hambre, sed, saciedad) (A).
3. El componente cognitivo-evaluativo es responsable de la interpretación final de los estímulos y de la creación del plan de acción (E).

Neuromatrix - Component	Topografie	Funcies
Sensorisch - discriminatief	• Laterale thalamus • Primaire en secundaire somato-sensorische-cortex • Cortex insularis	• Analyse van de locatie van een prikkel (bijv. pijn in maag) • Intensiteit en duur van de prikkel
Affectief - motivationeel	• Prefrontale cortex • Reticulaire formatie • Locus coeruleus • Nuclei raphe • Amygdala • Gyrus cingularis • Hippocampus • Hypothalamus • Periaqueductaal grijs (PAG)	• Gevoel verbonden met de prikkel (onaangename pijn, overvol gevoel na het eten, 'lijden') • Arousal (alertheid, orgaanfixering) • Emotioneel en rationeel geheugen
Cognitief - evaluatief	• Prefrontale cortex • Pariëtale cortex	• Anticipatie • Attentie • Integratie van oude en nieuwe informatie • Reactieselectie

Tabla 1 Los componentes de la neuromatriz: topografía y funciones

Los diferentes componentes funcionales poseen una topografía anatómica bastante clara, y están interrelacionados, por lo que pueden influirse mutuamente. La información que llega a la neuromatriz del dolor puede ser de carácter normal (no amenazante) o anormal (amenazante). La información (fisiológica) normal inhibe la neuromatriz, mientras que la anormal la activa. Entonces, la neuromatriz solo generará la sensación de "dolor" si la información activante total (amenaza) supera a la inhibitoria (normal, fisiológica). La información amenazadora puede debilitarse mucho antes de llegar a la neuromatriz del dolor e incluso ser extinguida en la ruta que recorre la información, tanto a nivel local y de médula como a nivel central (véase más adelante en el procesamiento del estímulo de dolor). Se

puede afirmar que mientras la neuromatriz "crea" que hay daño, se "producirá" dolor. Esto significa que no solo el daño (en los tejidos) puede causar dolor y cronificación, sino también el daño potencial. El miedo al posible daño, la ansiedad y la atención excesiva a una molestia determinada hipersensibiliza la neuromatriz para esa molestia en concreto, con posibles consecuencias trascendentales, como el aumento de los receptores NMDA (que tienen un papel en el aumento progresivo del dolor o *wind-up* ; véase más adelante) y del número de sinapsis en el córtex sensoriomotor desde la ínsula y el giro cingulado, por lo que el dolor se transmite con más fuerza y se producen cambios plásticos dentro de este córtex sensoriomotor, haciendo que las neuronas "vecinas" participen en la señalización. Estos tres cambios estructurales hacen que el cerebro en general y la neuromatriz en particular sean extremadamente sensibles a la información amenazante (a veces, mínimamente) (el dolor aparece con solo pensar en ella). Estas modificaciones estructurales forman la llamada huella del dolor. Un papel importante dentro del desarrollo de la huella del dolor lo desempeña el factor atención o pensamiento excesivo. Este puede ser tanto exógeno (desde el mundo exterior) como endógeno (fijación orgánica). La atención continua desde el exterior ("¿qué tal estás ahora?", "qué mala pinta tienes") significa peligro o amenaza para la neuromatriz a través de la vía auditiva y, por tanto, activación. Lo mismo se puede decir de los procesos visuales. Además de estos procesos que hiperactivan directamente el componente afectivo-motivacional, con frecuencia las personas con enfermedades crónicas no comprenden su enfermedad. La incompreensión lleva a la duda y a más miedo y ansiedad. La incompreensión a nivel cognitivo, por ejemplo, acerca del pronóstico o del daño real, obstaculiza el componente cognitivo-evaluativo de la neuromatriz. El resultado suele ser más alarma y, por tanto, errores en la decisión de actuación, lo que intensifica la cronificación.¹¹³

5.3.3 Evolución del sistema de dolor

La dualidad del dolor puede relacionarse con el origen filogenético de la señalización del dolor. Los sistemas de fibras finas y de conducción lenta del cuerpo humano son viejas desde el punto de vista filogenético, de ahí el carácter impreciso del dolor con un fuerte componente emocional y conductual. Este dolor de aparición temprana influyó en el comportamiento del organismo de tal manera que surgieran óptimas posibilidades de supervivencia y restablecimiento. El hecho de que este dolor sea tan molesto no es sino algo esencial: hace que se restaure el funcionamiento de todo para deshacerse de la emoción desagradable y evitarla en lo sucesivo. Con el curso de la evolución, a este burdo sistema emocional se le añadió un sistema preciso en cuanto a localización, naturaleza y tiempo. La señalización de este sistema es más rápida, la localización es mejor y el comportamiento asociado es de carácter diferente. Más tarde en la evolución apareció el sistema del tacto fino. Este desarrollo subsiguiente trajo consigo un mayor refinamiento de la sensibilidad, de advertencia difusa/emocional a precisión/reconocimiento, con la consecuencia de un comportamiento más adecuado y un aumento de las probabilidades de supervivencia.

Un principio importante en la evolución es que nunca se renuncia a un sistema existente y ya evolucionado. Una vez adquiridos los sistemas, siguen existiendo y se añaden sistemas nuevos. Estos nuevos sistemas tienen una influencia moduladora sobre los antiguos sistemas filogenéticos: el procesamiento de impulsos a través de los sistemas viejos puede verse influido por la actividad de aquellos más nuevos.

5.3.4 El dolor es una emoción homeostática: *emovere* = me muevo

Las sensaciones o modalidades homeostáticas basales incluyen temperatura, picor, dolor muscular, hambre, sed y contacto sensual. Todas estas sensaciones generan de forma inherente una emoción que controla el comportamiento homeostático. Con el dolor, esto no es diferente. El dolor procede de un estado fisiológico en el organismo que no puede corregir los sistemas homeostáticos automáticos (inconscientes), e incluye una sensación y un comportamiento con adaptaciones autónomas reflexivas. La mayoría de las veces, el impulso de actuación que llamamos dolor se corresponde con la intensidad del *input* sensorial, pero puede variar en diferentes circunstancias y volverse insoportable o desaparecer, al igual que el hambre o la sed.¹¹⁴ El dolor y la fatiga también pueden producirse para evitar daños. Además, el dolor puede considerarse proactivo, y no simplemente reactivo. Por otra parte, puede verse como un aspecto de la reproducción del estadio fisiológico del cuerpo (interocepción), para diferenciar de la percepción externa (exterocepción), y como una emoción homeostática (tanto una sensación como una motivación). Este sistema incluye una ruta interoceptiva espino-tálamo-cortical, solo visible en primates y solo bien desarrollada en el ser humano, que proporciona una imagen cortical directa del estado del organismo y conlleva una metarrepresentación subjetiva de las sensaciones del cuerpo que están ligadas con la emoción. Este sistema comprende componentes periféricos y espinales (médula dorsal), compuestos por fibras aferentes primarias Aδ y C y por neuronas de la lámina I del asta posterior dorsal (véase más abajo).¹¹⁵

5.3.5 Señalización del dolor

La señalización del dolor incluye una cascada de sucesos que se reproducen consecutivamente en la siguiente figura y que a continuación serán tratados uno por uno.

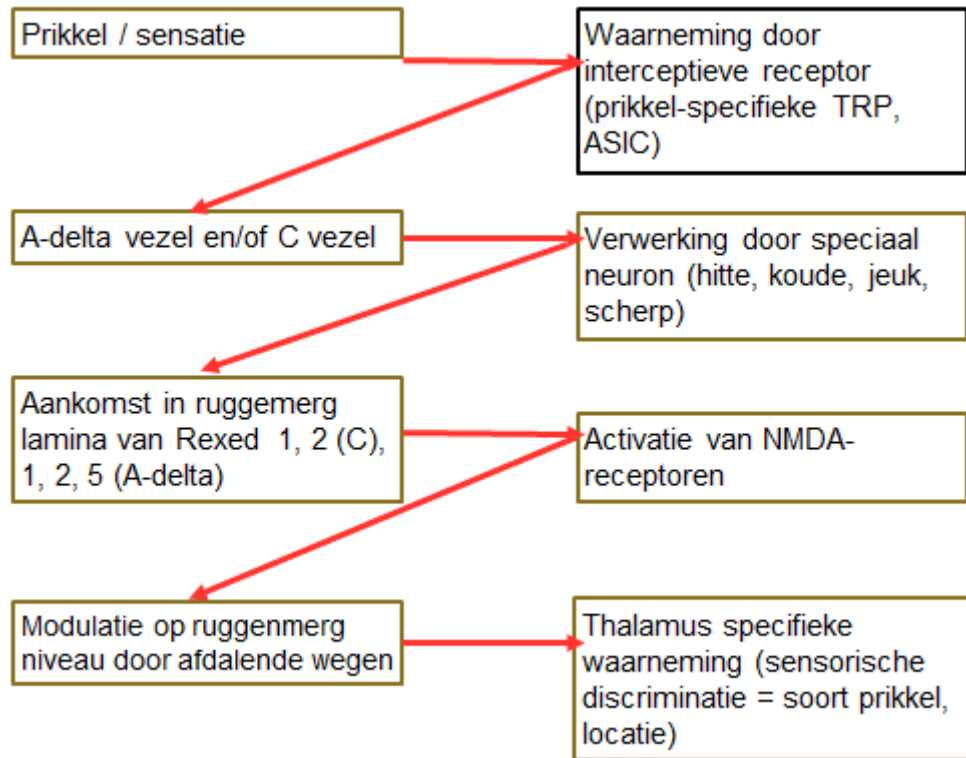


Figura 2
Representación esquemática de la señalización del dolor

5.3.5.1 Nociceptores y fibras nerviosas

La percepción del dolor se produce a través de nociceptores, las terminaciones nerviosas de las fibras nerviosas C y A-δ (aférentes nociceptivos). Estos nociceptores están equipados con una serie de receptores que los hacen sensibles a los estímulos térmicos, mecánicos y a veces químicos, de los cuales los más importantes son los TRP (receptores de potencial transitorio) y los ASIC (canales iónicos sensibles a la acidez). Los estímulos son convertidos en potencial de acción a través de estos canales iónicos específicos para cada estímulo.

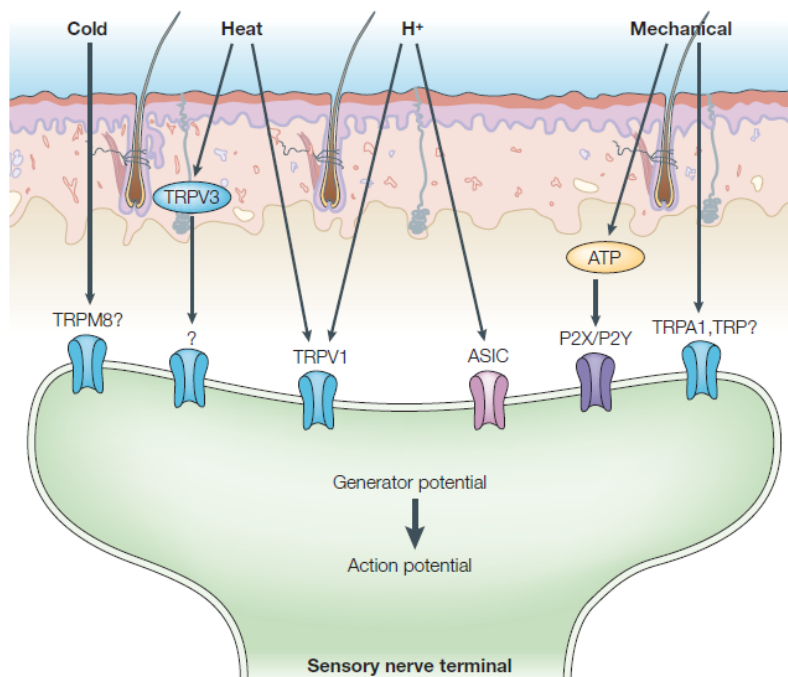


Figura 3¹¹⁶ Dolor fisiológico. Los nociceptores reaccionan a estímulos agudos dañinos para los tejidos (como el calentamiento de la piel), directa o indirectamente, mediante transducción de la energía del estímulo por parte de receptores (TRP) en las terminaciones nerviosas u otras células de la piel, o bien mediante liberación de moléculas intermediarias (como ATP) que señalizan a través de otros neurorreceptores sensoriales. ASIC = canales iónicos sensibles a la acidez; P2X = receptor purinérgico ionotrópico; P2Y = receptor piramidinérgico acoplado a proteína G; TRPA1, TRPM8, TRPV3 = canales TRP.

Las fibras nerviosas A-δ y C estimuladas transmiten el potencial de acción a sus neuronas. Las velocidades de conducción difieren mucho, lo cual se relaciona con el grado de mielinización de las fibras nerviosas. Los nervios periféricos resultan estar compuestos en más de la mitad por fibras C y solo en un 10-20% por fibras A-δ. El resto son las fibras A-α y A-β, de conducción superrápida (entre otros, para la motricidad, el tacto y la cinestesia). La relación precisa en un nervio depende de la estructura inervada. Un estímulo dañino (doloroso) natural que sea frecuente en la vida diaria activa todos los tipos de fibras según un patrón definido.

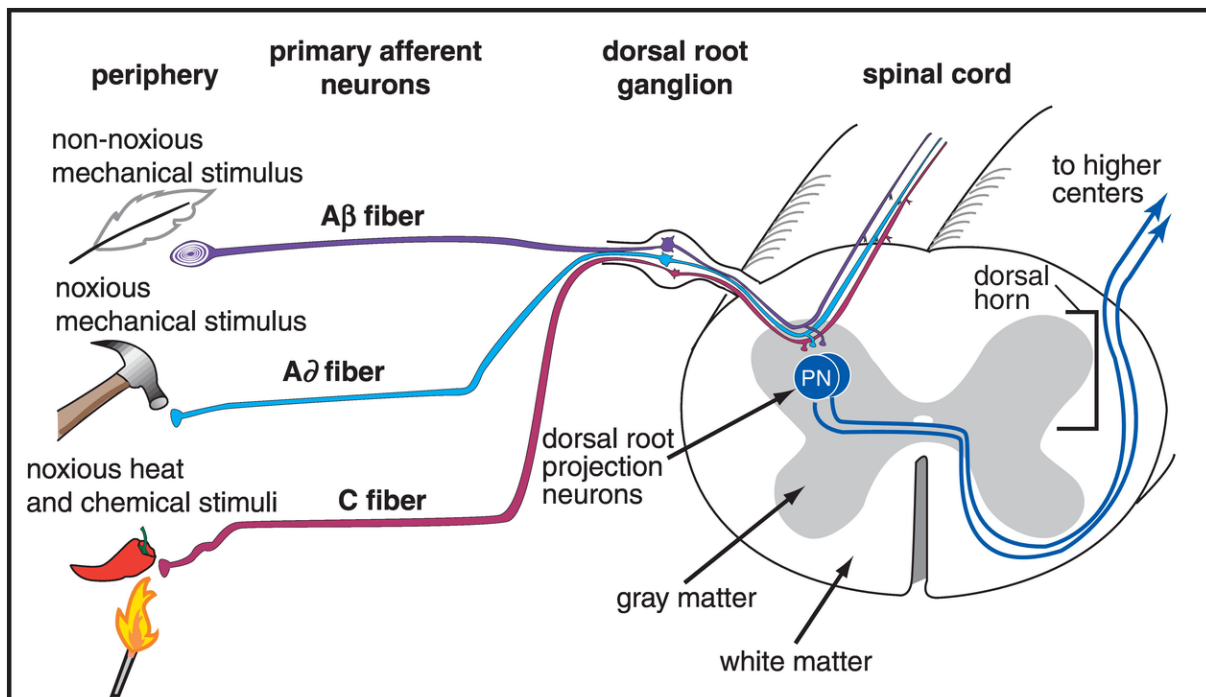


Figura 4¹¹⁷
Activación de fibras nerviosas nociceptivas. La detección de un estímulo dañino tiene lugar en las terminales periféricas de neuronas aferentes primarias, y trae consigo la generación de potenciales de acción que se reproducen a lo largo del axón hacia las terminales centrales. Las fibras Aβ solamente reaccionan a estímulos no dañinos y las Aδ, a estímulos mecánicos dañinos y térmicos subirritantes, mientras que las C reaccionan solo a estímulos dañinos mecánicos, térmicos y químicos.

5.3.5.2 Dolor primario y secundario

La percepción del dolor posee una dualidad típica, y puede distinguirse entre fases primaria y secundaria. El dolor primario es la primera punzada intensa que sentimos al hacernos una herida. A este dolor también se le denomina "el rápido" (*fast pain*, en inglés). El dolor es punzante, dura poco tiempo y está bien localizado: el dolor se siente exactamente donde ataca el estímulo. Este típico dolor primario se produce sobre todo en caso de daño de estructuras superficiales (piel) por parte de estímulos no nocivos externos (por ejemplo, un alfiler). En la sensación de dolor primaria tiene un papel importante el córtex somatosensorial (giro postcentral y zonas circundantes), y la conducción rápida se produce a través de las fibras A-δ.

El dolor secundario empieza después, es incómodo, molesto, ardiente, más prolongado y de localización difusa. También se le llama dolor "lento" (*slow pain*, en inglés). El dolor secundario tiene un fuerte componente emocional. En la aparición de este dolor secundario, más emocional, participan principalmente zonas más profundas del cerebro, como el sistema límbico. Las consecuentes reacciones motoras son de carácter tónico (mantenido), por ejemplo, inmovilización. El dolor secundario obliga a un cambio de conducta. Guarda relación con la actividad de las fibras C, las más finas (si bien más numerosas) y no mielinizadas, de baja velocidad de conducción. Estos impulsos

5.3.5.3 El asta posterior dorsal

Los aferentes que llegan al asta posterior transmiten sus señales a numerosas interneuronas, que forman una red muy compleja. Cada fibra aferente se ramifica en entre cientos y miles de ramificaciones terminales, que llegan a zonas muy dispares de la médula espinal. Los impulsos aferentes no se transmiten directamente, sino que son seleccionados y filtrados, y solo una parte se envía al tálamo, la siguiente estación de enlace. Este proceso se produce sobre la base de decisiones adecuadas y matizadas que pueden variar de un momento a otro. Para tomar esta decisión se utiliza información del presente (contexto) y el pasado (estímulo repetido) y las expectativas de futuro.

66

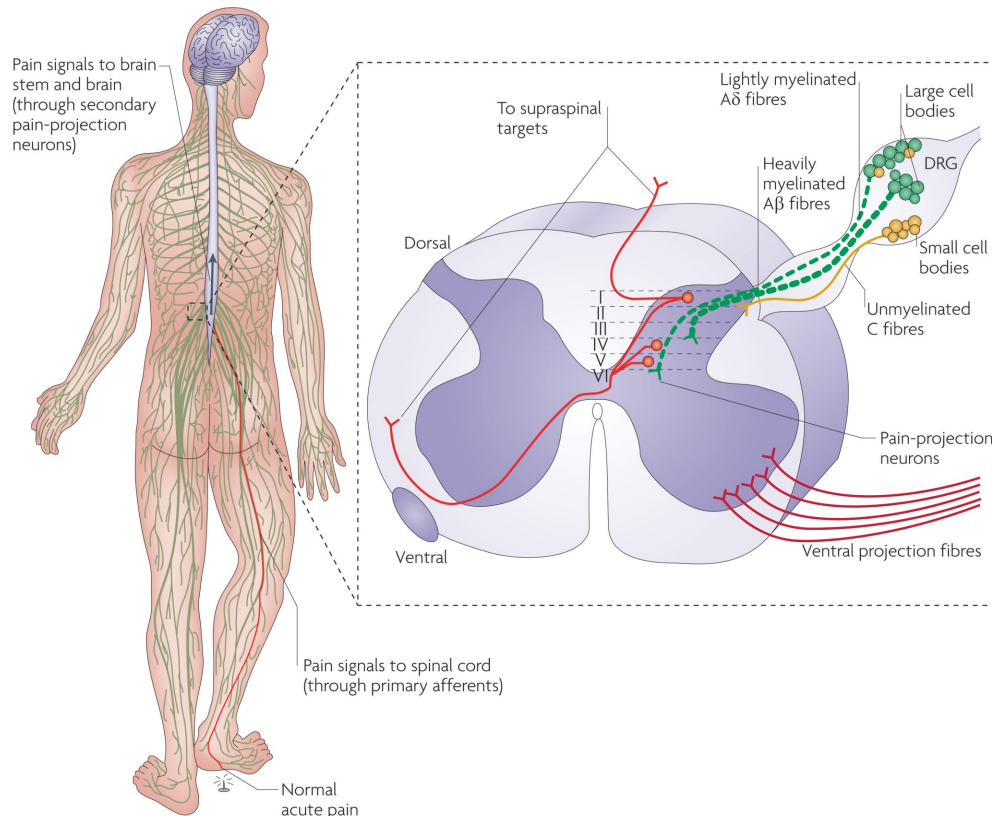


Figura 6¹¹⁹ Nocicepción

La señalización de dolor normal en el cuerpo es transmitida a través de nociceptores al asta dorsal de la médula espinal. El dolor nociceptivo, como un alfilerazo en el pie, hace que se liberen estímulos dolorosos desde terminales primarios aferentes que proyectan sobre neuronas de proyección del dolor en las láminas I, IV y V. Cuando después hay daño tisular e inflamación cutánea, las células circundantes emiten señales inflamatorias a las terminales nerviosas periféricas, acarreado la sensibilización de los nociceptores. Estos factores incluyen, entre otros, adenosina y los compuestos relacionados mono- o polifosforilados (AMP, ADP y ATP), bradiquinina, glutamato, histamina, interleucina 1, interleucina 6, factor de crecimiento neuronal, factor activador de plaquetas, prostaglandina E2, protones, serotonina, sustancia P y factor de necrosis tumoral alfa. A continuación, la señal nociceptiva es transmitida por la médula espinal al tronco del encéfalo y al cerebro, donde se produce la experiencia de dolor.

5.3.5.4 Tipos y características de las neuronas del asta posterior

En el asta posterior pueden distinguirse cuatro tipos de neuronas: neuronas mecanosensibles de bajo umbral (LTM, *low threshold mechanic*), de rango dinámico amplio (WDR, *wide dynamic range*), nociceptivamente específicas (varias modalidades) y mecanosensibles nociceptivamente específicas (HTM, *high threshold mechanic*). De ello se deduce que un *input* nociceptivo a través de las fibras C o A-δ activa varios tipos de neuronas del asta posterior. En cualquier caso, siempre se activan también neuronas WDR. Estas neuronas WDR no solo son sensibles a varios tipos de estímulo, sino que también tienen zonas receptivas relativamente grandes (superficies del cuerpo desde las que pueden ser activadas).

5.3.5.5 Trastorno del funcionamiento neuronal: habituación y sensibilización

Los conceptos de habituación y sensibilización ya se trataron en el capítulo 3 en el marco de la respuesta de estrés. También las neuronas del dolor pueden habituarse o sensibilizarse. Habituación quiere decir que una neurona se vuelve insensible a un *input*, por ejemplo, por ser este constante durante un tiempo prolongado. El mecanismo de habituación hace que el *input* irrelevante no conlleve una percepción consciente ni, por tanto, una adaptación. La adaptación y la habituación protegen al cerebro de una estimulación innecesaria. De hecho, de esta forma se detienen la mayoría de los estímulos periféricos. Solo se deja pasar lo que es relevante o puede serlo. A estos efectos, el asta posterior es el primer filtro de selección crítico de los estímulos periféricos.

La sensibilización es lo contrario de la habituación: la neurona se vuelve más sensible al *input*. La sensibilización de las neuronas del asta posterior explica que algunas zonas del cuerpo se vuelvan hipersensibles en caso de lesión o inflamación local (hiperalgesia secundaria). En la aparición de la sensibilización pueden participar diversos mecanismos:

- Efecto *wind-up*: cuando las fibras C son estimuladas repetidamente (no demasiado rápido, aproximadamente una vez cada 2-3 segundos), la respuesta de las neuronas del asta posterior resulta aumentar progresivamente y, con ello, la percepción del dolor. El efecto *wind-up* vuelve a desaparecer pasados algunos minutos. Por tanto, las neuronas del asta posterior no es que sean sensibles al máximo de por sí, sino que se vuelven más sensibles tras la repetición del estímulo. Este proceso está controlado, entre otros, por el receptor NMDA (véase más adelante).
- Sensibilización en función de la actividad: dependiendo de la actividad de la neurona, puede ponerse en marcha una cascada de procesos bioquímicos (dirigida en parte genéticamente), que en último término trae como consecuencia que ciertos receptores de la membrana neuronal se vuelvan más sensibles. Una forma de esto es la potenciación a largo plazo (PLP): la sensibilidad mayor de lo normal de una neurona que puede durar mucho tiempo (horas, días) tras un estímulo de alta frecuencia relativamente breve. La PLP es uno de los fenómenos que están en la base de la plasticidad sináptica, esto es, la capacidad de las sinapsis químicas de modificar su fuerza.
- Hipersensibilidad de deservación. Cabría esperar que una neurona que perdiese su *input* degeneraría y se atrofiaría. Puede ocurrir, pero en absoluto es así siempre. En caso de pérdida parcial de *input* se suele ver el efecto contrario: la neurona privada se vuelve hipersensible a todo el *input* restante. Se trata de un fenómeno generalizado en el sistema nervioso, y explica las fibrilaciones en caso de deservación muscular, espasticidad en lesiones centrales, restauración de conexiones tras lesión cerebral (*rerouting*) y dolor por la llamada desafereciación. Desafereciación quiere decir supresión del *input* aferente, por ejemplo, por una lesión, operación o inmovilización. Las neuronas influidas por este *input* se vuelven hipersensibles (sensibilización): intentan recoger información y transmitirla cueste lo que cueste. Se puede ver este fenómeno como la última tentativa de la naturaleza por mantener el procesamiento de información. Esta puede que sea patológica, por ejemplo, todo se siente como dolor (alodinia), pero es mejor que nada.

En principio, cada neurona tiene la posibilidad de sensibilizarse o habituarse. Varios mecanismos participan: hay formas superrápidas (segundos), rápidas (minutos) y lentas. Estos mecanismos probablemente sean puestos en marcha por la activación de ciertos genes en el núcleo de la neurona (ADN). A continuación, a través del ARN mensajero se inician procesos bioquímicos que hacen que finalmente se vuelvan más sensibles las zonas de los receptores en la membrana neuronal.

Los neurotransmisores que tienen un papel en la transmisión de señales en el asta posterior son, a nivel aferente, la sustancia P (dolor secundario), el glutamato y el aspartato (dolor primario), entre otros, y la serotonina y la adrenalina a nivel eferente. Las interneuronas excitatorias suelen ser glutaminérgicas, y las inhibitorias usan a menudo GABA y glicina. Una clase especial de interneuronas inhibitorias es activada por fibras descendentes, y produce encefalinas relacionadas con la atenuación del dolor.

5.3.5.6 El papel de las láminas I, V y de Rexed

Las fibras aferentes primarias (A-δ y C) que informan del estado fisiológico de diferentes tejidos del cuerpo (incluyendo nociceptores, termorreceptores, osmoreceptores y metaborreceptores) terminan de forma monosináptica en neuronas de proyección de la lámina I. Estas fibras están relacionadas con la información sobre el estado fisiológico de los tejidos, es decir, no solo sobre estrés mecánico, calor, daño y frío, sino también sobre temperatura inocua (calor, frío), metabolismo local (pH ácido, hipoxia, hipoglucemia, hipoosmolaridad, ácido láctico), rotura celular (potasio, ATP, glutamato), penetración de parásitos (histamina, proteinasas), activación de mastocitos (serotonina, bradiquinina, eicosanoides) y actividad inmune y hormonal (citocinas, somatostatina). Los nociceptores son sensibles selectivamente a los estímulos mecánicos dañinos y a los estímulos térmicos. Estas fibras aferentes pueden ser consideradas receptores homeostáticos que vigilan el estado de los tejidos.¹²⁰ El desarrollo de los aferentes primarios está coordinado genéticamente con el de las neuronas de la lámina I, lo que indica que forman un sistema interrelacionado para la actividad aferente homeostática. Las proyecciones espinales y cerebrales de las neuronas de la lámina I proporcionan la ruta aferente central para la homeostasis. En el tronco encefálico proyectan sobre grandes zonas de integración homeostáticas, como las médulas ventrolaterales caudal y rostral, los grupos celulares de catecolamina, el núcleo parabraquial y la sustancia gris periacueductal. Estas áreas reciben también *input* aferente parasimpático a través del núcleo solitario, y están muy conectadas con el hipotálamo y la amígdala. Toda la información selectiva en función de la modalidad procedente de las neuronas de la lámina I,

que se corresponden con diversas sensaciones del cuerpo (dolor, frío, calor, picor, contacto sensual, etc.) debe ser integrada en el prosencéfalo.¹²¹

La actividad en aumento de la lámina I va hacia la ínsula posterior dorsal a través de una vía directa aferente homeostática talamocortical. Allí, un campo separado ofrece una representación topográfica, selectiva en función de la modalidad, de toda la actividad interoceptiva aferente de la lámina I (es decir, la entrada aferente simpática) y del núcleo solitario (es decir, entrada aferente parasimpática). En el ser humano, este camino participa en el dolor, la temperatura, el picor, la sensación muscular, el contacto sensual, el hambre, la sed, la actividad cardiorrespiratoria, etc. En las personas, esta imagen cortical interoceptiva está originada por diferentes sensaciones. Mediante proyección hacia la ínsula (una parte de la corteza cerebral situada en la parte profunda del cerebro, que está implicada en la conciencia y que cumple un papel en diversas funciones relacionadas con las emociones y la homeostasis), se produce una metarrepresentación del estado del organismo que está asociada con la conciencia subjetiva del "ser material" como sentimiento de entidad (consciente), es decir, la conciencia emocional.¹²²

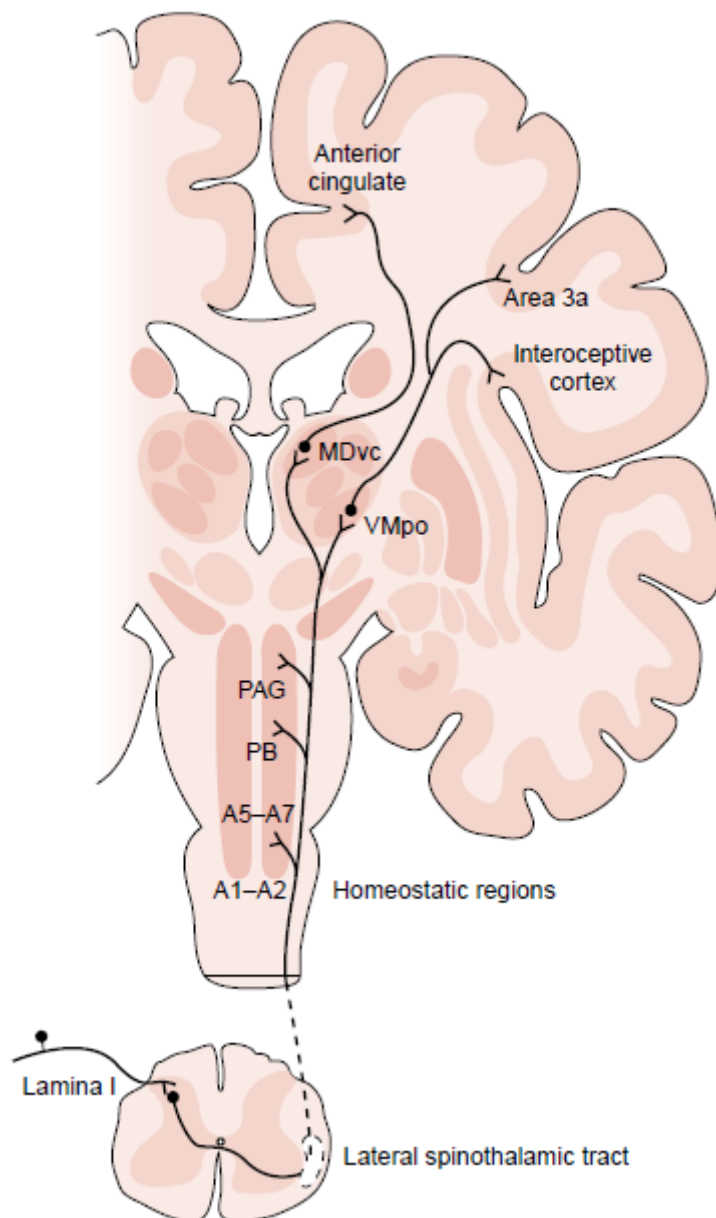


Figura 7¹²³ Resumen de las proyecciones del sistema de la lámina I en primates. Las neuronas de la lámina I específicas en función de la modalidad proyectan a lugares autónomos de la médula espinal (no se muestra) y a lugares homeostáticos del tronco del encéfalo (incluyendo los grupos celulares noradrenérgicos A1-A2 y A5-A7, el núcleo parabraquial (NPB) y la sustancia gris periacueductal (SGP)). En los primates, las neuronas de la lámina I también proyectan por medio de los laterales cruzados del tracto espinotalámico hacia dos lugares del tálamo: la parte

posterior del núcleo ventromedial (NVM) y la parte ventrocaudal del núcleo medial-dorsal (MDvc). El NVM tiene un sensor específico de la modalidad con una reproducción de alta resolución del estado fisiológico del cuerpo en la corteza interoceptiva en el borde dorsal de la ínsula, y envía una proyección lógica al área 3a del córtex sensoriomotor. La MDvc integra la entrada de la lámina I y la actividad homeostática del tronco del encéfalo (del NPB a la SGP), generando impulso de acción en la corteza motora límbica (cíngulo anterior). Estos producen, respectivamente, la sensación y la motivación que forman la emoción homeostática de dolor.

Las neuronas de la lámina V son grandes células con dendritas, que reciben un aferente primario con *input* de fuentes cutáneas y profundas, así como *input* directo del nociceptor A-δ y entrada polisináptica de la fibra C. En general, tienen grandes campos de receptividad (por ejemplo, la mayor parte de un miembro) y alta descarga continua. Casi todas las neuronas de la lámina V son células WDR, aunque algunas reaccionan mejor a la estimulación no dañina y otras, a la dañina. Presentan reacciones ordenadas ante la presión, el calor nocivo, el frío nocivo y la estimulación nociva profunda y visceral.¹²⁴

El *input* central transcurre por vías descendentes (véase más adelante) también por las láminas, y desde allí se sigue extendiendo a la periferia.

5.3.5.7 *El receptor NMDA*

El receptor NMDA se llama así porque la molécula agonista N-metil-D-aspartato (NMDA) enlaza selectivamente con él, y no con otros receptores de glutamato. Los aferentes periféricos llegan a receptores NMDA que son estimulados al recibir un estímulo continuo. El receptor NMDA pertenece al grupo de receptores en los que se enlaza el L-glutamato como el aminoácido más frecuente y, así, como neurotransmisor. En circunstancias fisiológicas, el receptor NMDA está cerrado por iones de magnesio. Solo ante un *input* nociceptivo fuerte o continuo, el magnesio abandona el receptor para que el calcio pueda penetrar en la célula. Hay una inversión de este bloqueo del receptor NMDA en función de la presión que solo se da cuando se cumplen dos condiciones: el receptor debe ser activado por los ligandos glutamato y glicina, y la neurona tiene que estar ya despolarizada por activación previa de receptores de AMPA o kainato. Cuando el receptor NMDA está lo bastante activado, el magnesio se va del canal iónico y los iones de calcio pueden entrar en la célula. El glutamato puede ejercer su acción activadora uniéndose al receptor NMDA, lo que acarrea un aumento de la sensación de dolor en el sistema de dolor. La presencia de neuropéptidos potencia el efecto estimulador glutamatérgico de varias formas. Por ejemplo, la presencia de sustancia P puede reforzar muchísimo el efecto.¹²⁵

Activated NMDAR

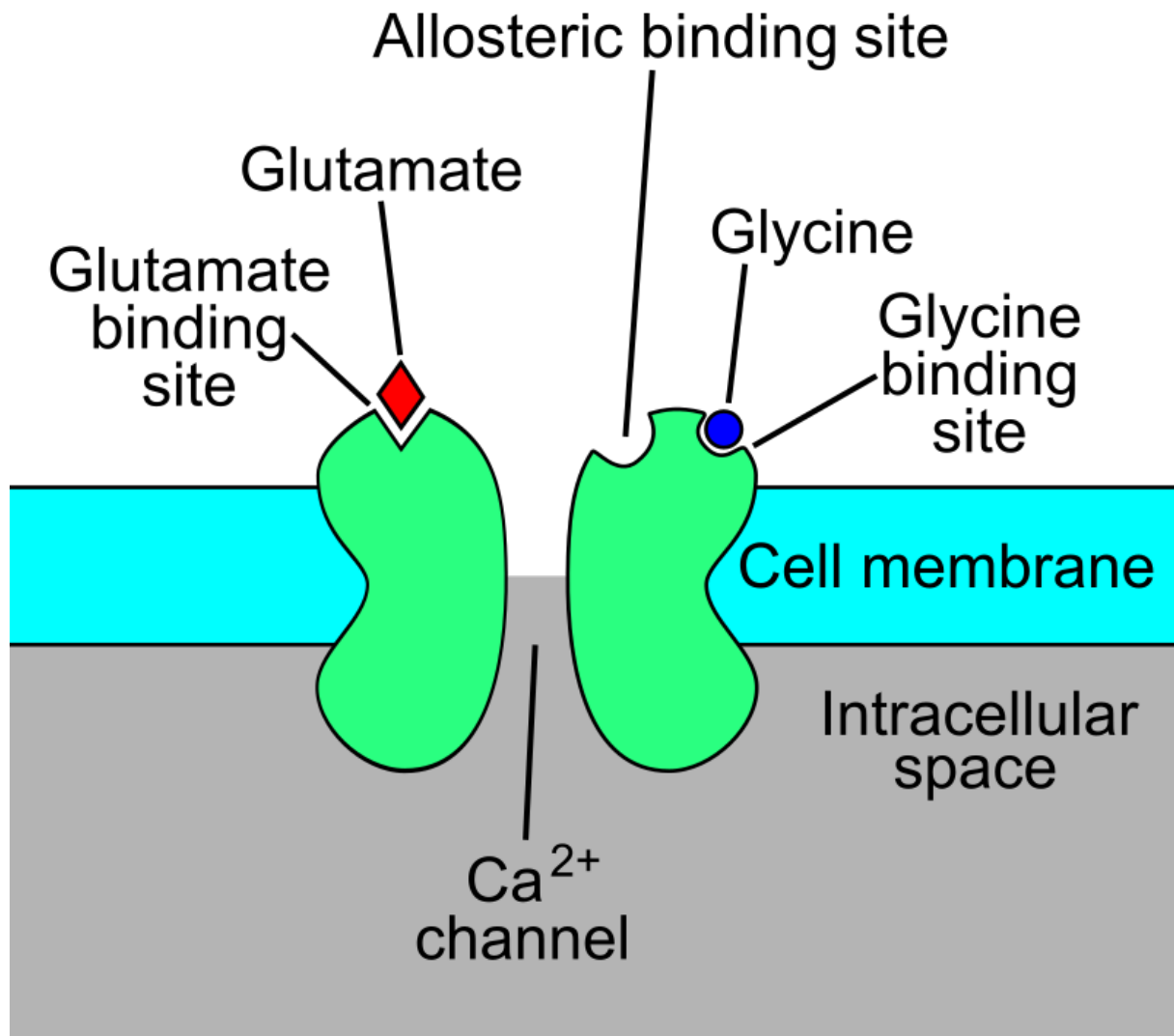


Figura 8¹²⁶

El receptor NMDA activado. En un receptor NMDA no activado, el magnesio bloquea el canal iónico.

El receptor NMDA interactúa con receptores y sustancias opioides (que influyen también en la modulación del dolor). En función del subtipo de receptor opioide sobre el que actúe la sustancia, el receptor NMDA reducirá o aumentará los procesos. A la inversa, las sustancias que actúan sobre el receptor NMDA también influyen en los efectos de los receptores opioides.

5.3.5.8 El sistema modulador descendente

El dolor es una experiencia compleja y subjetiva que no tiene una relación lineal con la entrada nociceptiva. El procesamiento de la información nociceptiva y la consiguiente percepción del dolor están sujetos a considerables modulaciones pro- y antinociceptivas. Estas modulaciones pueden iniciarse por reflejo, pero también ser contextuales y estar influidas por factores cognitivos o emocionales. La llamada red moduladora del dolor descendente, principalmente procedente de áreas corticales mediales y frontales, en combinación con núcleos subcorticales y del tronco del encéfalo, parece ser un sistema importante para la modulación endógena del dolor.¹²⁷

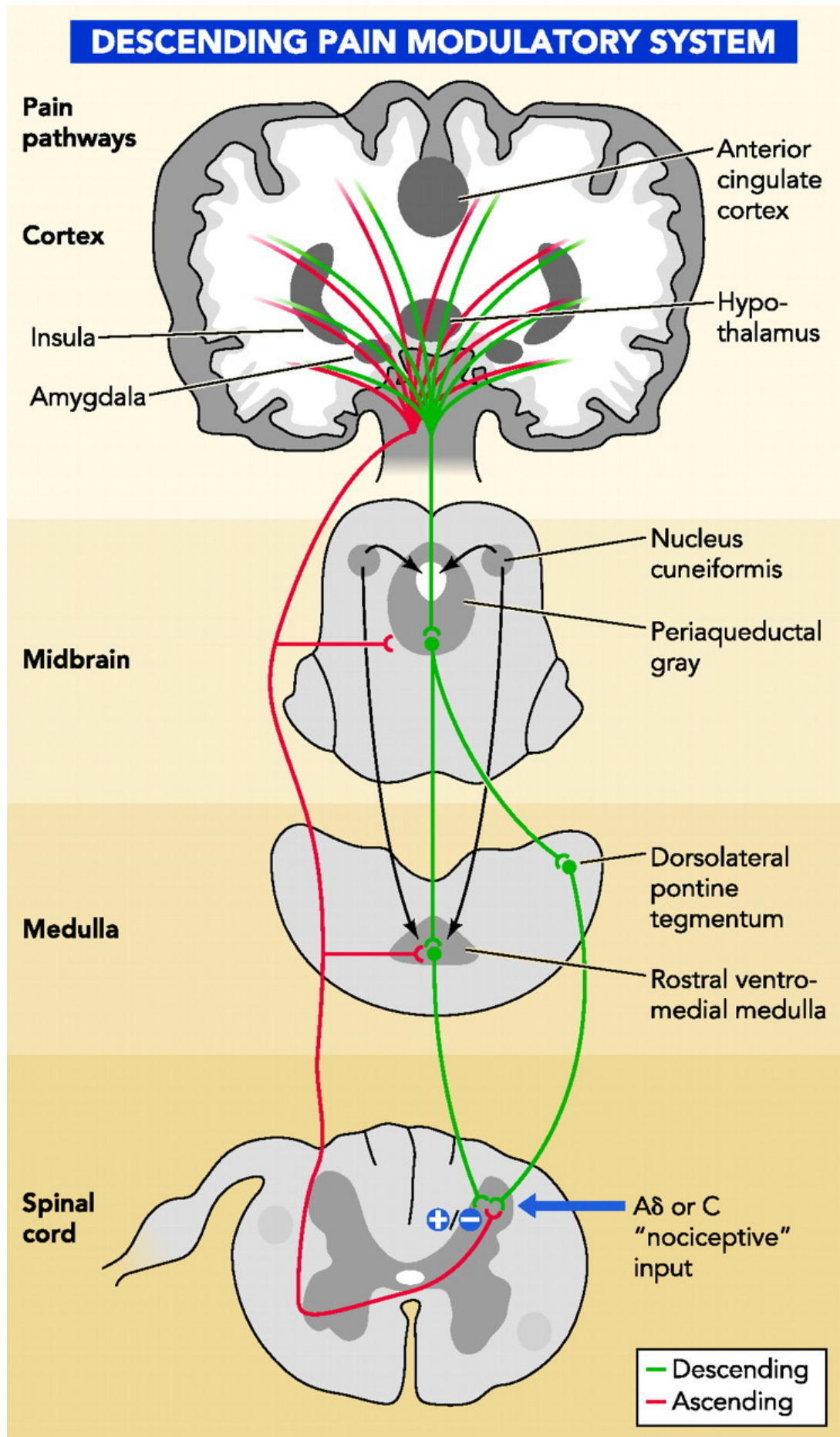


Figura 9¹²⁸ El sistema modulador descendente

+ = input pronociceptivo

- = input antinociceptivo

Existen sistemas endógenos inhibitorios del dolor (analgésicos), que incluyen varias regiones del cerebro, como córtex, tálamo, hipotálamo, sistema límbico, amígdala, mesencéfalo, puente troncoencefálico y bulbo raquídeo, así como sistemas estimulantes del dolor que, al ser excitados, consiguen que haya una mayor sensibilidad a él. Estos sistemas moduladores fueron denominados por Melzack en 1971 "el sistema de sesgo central": un sistema neuronal que puede influir a varios niveles en el dolor y en su sentido.

Las áreas clave que tienen un papel aquí son:

- La sustancia gris periacueductal (SGP), una región del mesencéfalo situada alrededor del acueducto. Esta zona funciona en estrecha relación con el hipotálamo. La SGP es un lugar muy potente a la hora de mitigar el dolor. Esta área presenta ordenación somatotópica, es decir, es posible la analgesia selectiva de partes del cuerpo determinadas. La SGP envía su *output* a multitud de otras áreas cerebrales, como la médula rostral ventromedial (MRV) (véase más abajo), el córtex prefrontal, la amígdala, el tálamo y el hipotálamo. Por tanto, además de influir en la médula espinal (descendiente, por la MRV), también es probable que haya influencia ascendente sobre estructuras centrales de procesamiento del dolor.
- La médula rostral ventromedial (MRV) y, entre otros, el núcleo del raquídeo *magnus* y zonas adyacentes del bulbo raquídeo. La mayoría de las influencias moduladoras descendentes (si bien no todas), se producen en esta área. Por eso a la MRV también se le llama "vía común final" de la modulación del dolor. Por la médula espinal transcurren las vías descendentes dorsolateralmente por el cordón lateral. La SGP y la MRV se influyen mutuamente. El efecto mitigador del dolor del estímulo de la SGP se produce a través de la MRV.

Pero la función del sistema SGP-MRV abarca mucho más. Es un sistema modulador del dolor que, en función de la necesidad biológica, puede aumentar o reducir la sensibilidad al dolor, es decir, que tiene una parte estimuladora del dolor y una inhibidora. Esto significa que también está regulada por influencias descendentes procedentes de estas regiones la reacción aumentada de las neuronas del asta posterior ante el daño tisular (hiperalgesia, sensibilización). El funcionamiento de este sistema modulador debe interpretarse como parte de un sistema mayor que pone en marcha estrategias conductuales coordinadas para afrontar situaciones de estrés. A él pertenece también, por ejemplo, la llamada reacción de parálisis: un entumecimiento provocado por el miedo que puede aparecer en situaciones de peligro de muerte, y el llamado reflejo de Totstell, una reacción consistente en que el animal se hace el muerto. Estos comportamientos pueden ser adaptativos y tener objetivos definidos, porque aumentan las posibilidades de huida y supervivencia. Que aparezca o no analgesia de estrés, es decir, la influencia sobre la sensación de dolor consciente, es tan solo una parte de un comportamiento adaptativo que abarca muchas más cosas.

El *input* para las regiones clave mencionadas se compone de estimulación periférica (estímulos procedentes de la piel, el aparato locomotor o las vísceras) e influencias venidas de muchas otras áreas cerebrales: hipotálamo (estrés), sistema límbico (emociones), amígdala (miedo), corteza (cognición). El *output* va dorsolateralmente por el cordón lateral de la médula espinal a través del sistema descendente, es decir, de arriba a abajo. A través de estas vías descendentes se puede modular el procesamiento de la actividad nociceptiva a un nivel relativamente bajo (en el asta posterior). El *output* de la SGP es también ascendente hacia zonas situadas mucho más arriba que están implicadas en la percepción del dolor.

En la SGP y la MRV también hay neuronas que segregan endorfinas. Una parte de estas endorfinas llega al líquido cefalorraquídeo, y así puede alcanzar estructuras que limitan con los ventrículos y que participan en la percepción del dolor.

La organización neuronal anteriormente descrita posibilita que los estímulos de transmisión relativamente rápida (por ejemplo, a través de fibras A-δ) puedan llegar a la zona de la SGP y la MRV a través de un bucle de retroalimentación positiva y puedan activar después sistemas descendentes antes de que la actividad de las fibras C haya llegado a la médula espinal. Esto está ligado al hecho de que la primera fase aguda tras una lesión sea a veces indolora. Normalmente, hay una influencia inhibitoria tónica sobre la médula espinal procedente de la MRV que hace que siempre se inhiban un poco los reflejos. Las neuronas que proporcionan esta inhibición tónica se llaman neuronas OFF: en caso de estimulación nócica se detienen un momento, provocando una pausa en la actividad tónica. Esto hace que se permitan reflejos enérgicos en la médula espinal. Si se estimulan las neuronas OFF, la transmisión de la actividad nociceptiva en el asta posterior es bloqueada, disminuyendo el dolor. Sin embargo, la MRV también contiene neuronas ON. Estas neuronas normalmente están en silencio, pero muestran una

explosión de actividad en caso de estimulación nócica. La estimulación de las neuronas ON (por ejemplo, mediante colecistoquinina (CCK)) produce hipernocicepción: aumentan la sensibilidad al dolor y las reacciones nociceptivas. Las neuronas ON y OFF se influyen mutuamente mediante inhibición recíproca: cuando un sistema está activo, el otro es inhibido, y viceversa.

Modulación del dolor por endorfinas

En el sistema nervioso central, pero también en otros lugares del organismo, hay puntos de unión para la morfina: los receptores de morfina y opiáceos. Son lugares sensibles de la membrana neuronal. Las endorfinas, sustancias endógenas similares a la morfina o morfina endógenas, reaccionan con estos receptores. Las más importantes son la betaendorfina (un neuropéptido de alto peso molecular), la dinorfina (un neuropéptido algo más pequeño), la encefalina (una molécula más pequeña todavía: un pentapéptido) y nanocantidades de morfina. Todas estas endorfinas, excepto la morfina, están derivadas de betalipoproteína, una sustancia que se sintetiza en la hipófisis y a partir de la cual se forma también la ACTH. Los receptores opioides, así como concentraciones relativamente altas de endorfinas, se encuentran especialmente en partes del cerebro que tienen que ver con el dolor secundario, con fuertes connotaciones emocionales: partes de la formación reticular (entre ellas, SGP, MRV), hipotálamo, tálamo, amígdala, partes del sistema límbico y núcleos basales. Así pues, la morfina frena sobre todo el dolor secundario: si se siente dolor, pero deja de sentirse como desagradable. También en la médula espinal hay receptores opioides, sobre todo en las terminales aferentes de fibras C. La morfina administrada exógenamente actúa a través de varios frentes: por un lado, se activan sistemas analgésicos descendentes (las mencionadas neuronas OFF); por otro, hay un efecto directo sobre el asta posterior; y, finalmente, la morfina actúa sobre estructuras cerebrales que están relacionadas con la percepción del dolor subjetiva. Análogamente a los receptores opioides, se ha demostrado que también hay receptores cannabinoides. El cannabis (marihuana) lleva siglos usándose para aliviar el dolor. Se ha demostrado que los efectos analgésicos del cannabis se producen a través del sistema descrito de SPG-MRV. La sustancia analgésica endógena PEA (palmitoiletanolamida) también tiene afinidad con varios receptores cannabinoides.

5.3.6 Influencia de emociones, personalidad y entorno

El dolor en sí es en realidad una emoción desagradable, pero también puede causar otras emociones: miedo, preocupación, malestar, tristeza o ira. El dolor crónico influye negativamente en el estado de ánimo y genera preocupación por el futuro. Las emociones, el estado de ánimo y el estrés están asociados a toda clase de cambios fisiológicos. Algunos de ellos pueden provocar dolor, como la tensión muscular, la vasoconstricción o la hiperventilación. En lo que respecta al tipo de emociones, hay gran diversidad. Las emociones negativas suelen incrementar el dolor, mientras que las positivas a menudo tienen un efecto favorable. Importa mucho si el miedo tiene un objeto concreto (miedo) o si es más impreciso (ansiedad). En la ansiedad, el dolor suele aumentar, mientras que el miedo concreto suele reducirlo. También en caso de enfado puede haber diferencias sutiles en la sensación dolorosa. Las emociones y el dolor tienen en el sistema límbico un importante sustrato biológico común. Algunas emociones negativas como la depresión, el miedo o el enfado pueden agravar el dolor: podría decirse que el sistema límbico se vuelve más vulnerable al dolor. La alteración del estado del cerebro aumenta las probabilidades de que el dolor vaya aparejado a otras emociones.

La personalidad de un individuo está determinada, entre otros factores, por características particulares en cuanto a excitación, emoción y cognición, es decir, unos están muy alerta, son observadores, reactivos y de reacción rápida, mientras que otros son más flemáticos y reaccionan después y con más lentitud. También hay grandes diferencias en lo que respecta al estado de ánimo y las emociones: hay personas optimistas y pesimistas, pacientes e irritables, introvertidas y extrovertidas, etc. Así, se ve que importa mucho si uno reprime la ira o si le da rienda suelta/se desahoga. La tendencia a reprimir o soltar puede considerarse una característica de personalidad. Algunas personas tienen tendencia a las emociones negativas: al mínimo revés se vienen abajo (actitud catastrofista). Otros ven cada problema de su vida como un reto, y están dispuestos a todo con tal de retomar el control (actitud de afrontamiento). Las cogniciones varían de una persona a otra: por ejemplo, cada uno tiene una opinión diferente sobre su propio cuerpo. Los pacientes con dolor que tienen un buen contacto con su cuerpo (*mindfulness*) resultan ser más funcionales a pesar de su dolor. Estas características de personalidad diferentes de un individuo a otro influyen sobre todo en la dimensión afectiva del dolor y en la conducta de dolor.

También la cognición puede influir mucho sobre el dolor, y los pensamientos a su vez pueden despertar miedo. El pensamiento también es un factor importante: las distracciones pueden reducir el dolor, y centrarse en él puede aumentarlo. Los efectos placebo y nocebo (respectivamente, reducción y aumento) sobre el dolor se basan en su mayor parte en expectativas e ideas enraizadas en el paciente. Todos estos aspectos cognitivos se ven influenciados por la información que da el profesional sanitario: en esto el aprendizaje profundo puede tener un gran papel.

Por último, las influencias del entorno afectan. Las reacciones psíquicas dependen mucho de factores situacionales: oficina, escuela, cancha deportiva, hogar. A menudo influyen factores operativos o comunicativos, en el sentido de las reacciones de otros ante el comportamiento de dolor.

5.3.7 Relación entre los sistemas del cuerpo

En los capítulos anteriores se trataron el sistema neuroendocrino, el sistema (para) simpático y el sistema inmune. En la percepción del dolor, estos sistemas están interrelacionados e interactúan. El sistema neuroendocrino (hipotálamo-hipófisis-órgano diana) influye a través de la noradrenalina, la adrenalina, el cortisol y la hormona tiroidea; el sistema neuroinmune, a través del cortisol y la ACTH; el sistema nervioso simpático, a través de la adrenalina y la noradrenalina y su consecuente tono simpático elevado; el sistema nervioso parasimpático puede reducir mucho la actividad cardíaca y el riego sanguíneo (provocando, por ejemplo, desmayo); y, por último, el sistema nervioso somático lo hace a través del sistema locomotor y el tono, la modulación del dolor y la respiración.

5.3.8

Patofisiología

La base de la cronificación del dolor, como sucede con la de otros cuadros clínicos, es la activación del sistema simpático y el eje HHA, es decir, de la respuesta de estrés. El mecanismo es el mismo: cuando el dolor no se resuelve por falta de biorretroalimentación positiva o presencia de biorretroalimentación negativa ante un estímulo doloroso (al igual que ocurre con la inflamación), se activan el simpático y el eje HHA, con el resultado final de cronificación del dolor según los principios que ya se trataron en el capítulo 3. Las causas de la cronificación pueden ser numerosas, desde una mala alimentación hasta el uso de analgésicos, pasando por aspectos culturales. Un factor importante en la cronificación del dolor es el principio de Hebb: "las neuronas que se activan juntas, se interconectan". La teoría hebbiana afirma que el aumento en la actividad sináptica procede de la estimulación continua y repetida ("activación") de una célula postsináptica por parte de la célula presináptica. Esta tiene que participar en la "activación" de los estímulos hacia la célula postsináptica, que reacciona a ellos y, en consecuencia, se activa también ("interconexión"). Por consiguiente, se trata de una activación (prácticamente) simultánea de células que produce el mencionado aumento de fuerza sináptica entre ellas. Dos células o sistemas de células que se activan repetidamente en el mismo momento tienden a interconectarse para que la actividad de una facilite la de la otra. Si lo aplicamos al dolor, esto implica que las neuronas de dolor que bombardean continuamente con estímulos a otras neuronas (de dolor) implican a estas en el estímulo doloroso, de modo que el dolor se refuerza, se extiende o se mantiene.

En el dolor neuropatológico, las neuroglías desempeñan un papel. Las células gliales o neuroglías son células no neuronales de los sistemas nerviosos central (cerebro y médula espinal) y periférico que mantienen la homeostasis, forman la mielina y refuerzan y protegen las neuronas. En la figura 9 aparece una representación esquemática del dolor y su modulación. La figura 9A muestra la señalización del dolor clásica tal como se ha descrito anteriormente. Un estímulo doloroso hace que nervios periféricos sensibles al dolor (fibras A-δ y C) envíen potenciales de acción a sus terminales presinápticas en el asta dorsal de la médula espinal. Esto libera neurotransmisores que se unen a receptores postsinápticos y los activan en neuronas de transmisión del dolor (NTD, PTN en inglés). Los axones de NTD ascienden en dirección al cerebro y llevan el mensaje de dolor a centros superiores. La figura 9B muestra que, en circunstancias cotidianas y normales en las que se siente dolor, hay células gliales, pero están en reposo. Las señales de dolor que llegan de la periferia a través de fibras A-δ y Cs originan la secreción de sustancia P y aminoácidos excitatorios (AEE, EAA en inglés), que inician la intensidad y la duración del estímulo doloroso. La sustancia P activa receptores de NK1 (neuroquinina 1) y los AEE activan receptores AMPA, lo cual hace que las NTD generen potenciales de acción que son transmitidos a regiones superiores del cerebro. El receptor NMDA no se ve activado. La figura 9C muestra el cuadro clásico del dolor patológico. Como reacción a señales de dolor que llegan de forma intensa o prolongada, las NTD se sensibilizan y reaccionan excesivamente a las señales dolorosas subsiguientes. Esta activación de los estímulos intensa o prolongada activa el receptor NMDA. El influjo de calcio resultante activa la óxido nítrico sintasa (cNOS), que hace que la L-arginina se convierta en monóxido de nitrógeno (NO). Como es un gas, el NO se sale rápidamente de las NTD y produce una liberación excesiva de sustancia P y AEE, lo cual vuelve a las NTD hiperexcitables. En este modelo las células gliales no tienen asignado ningún papel. La figura 9D muestra una visión más reciente del dolor patológico, según la cual la activación glial se conceptualiza como fuerza impulsora de la creación y mantenimiento de los estados de dolor patológicos. El papel de las células gliales está por encima de los cambios neuronales impulsados por NMDA-NO que se describen en la figura 9C. Las neuroglías son activadas por bacterias y virus, sustancia P, AEE y ATP liberados por conexiones presinápticas de fibra A-δ o C, por rutas proalgésicas cerebro-médula espinal y por NO, prostaglandinas (PG) y fractalcinas liberadas (quimiocinas que marcan neuronas apoptóticas) por NTD. Tras su activación, las microglías y astrocitos producen hiperexcitabilidad en las NTD y una liberación excesiva de sustancia P y AEE. Estos cambios están provocados por la secreción glial de NO, AEE, especies reactivas de oxígeno (ERO), PG, citocinas proinflamatorias (interleucina 1 (IL-1), IL-6, factor de necrosis tumoral (TNF)) y factor de crecimiento neuronal. Microglías y astrocitos son atractivos

candidatos a ser mediadores de hiperalgesia (figura 9A, D). Las células gliales activadas segregan sustancias que activan neuronas sensibles al dolor. Dichas sustancias producen una liberación desmedida de estímulos dolorosos hacia neuronas sensoriales del asta posterior dorsal. Microglías y astrocitos, células inmunes del cerebro, generan la liberación persistente de mediadores de dolor, apareciendo así dolor crónico.

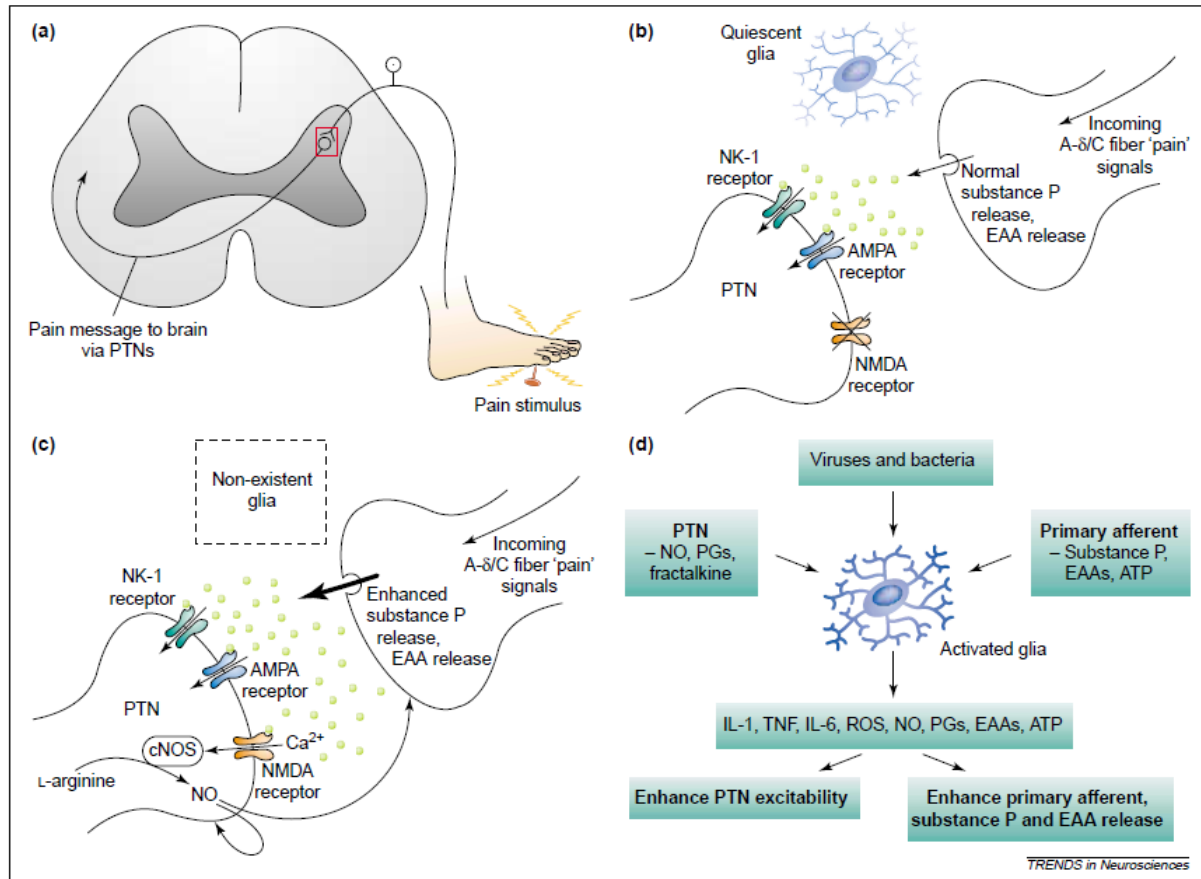


Figura 10¹²⁹ Representación esquemática del dolor y su modulación

De todo ello se desprende que las células gliales pueden desempeñar un papel en la cronificación del dolor (como el dolor continuo que sigue a una infección vírica o bacteriana y tras sufrir un daño o inflamación periférico) y en su propagación a otras zonas del cuerpo, y que esta puede ser la causa del dolor reflejo (véase más abajo).

En la cronificación del dolor influyen sistemas "incrustados" como la disposición genética, la programación epigenética, la disposición biológica y la organización del sistema neuronal. Todos ellos están influenciados por factores que vienen de fuera, como la enfermedad, el estrés y las heridas. Especialmente los sucesos a edad temprana pueden influir en la cronificación del dolor, al modificar el sistema modulador descendente, (DPMS, *descending pain modulatory system*) y, en consecuencia, el funcionamiento de sus neurotransmisores más importantes, noradrenalina y serotonina. También influyen polimorfismos de este sistema, así como factores hormonales (por ejemplo, en el cerebro adolescente).

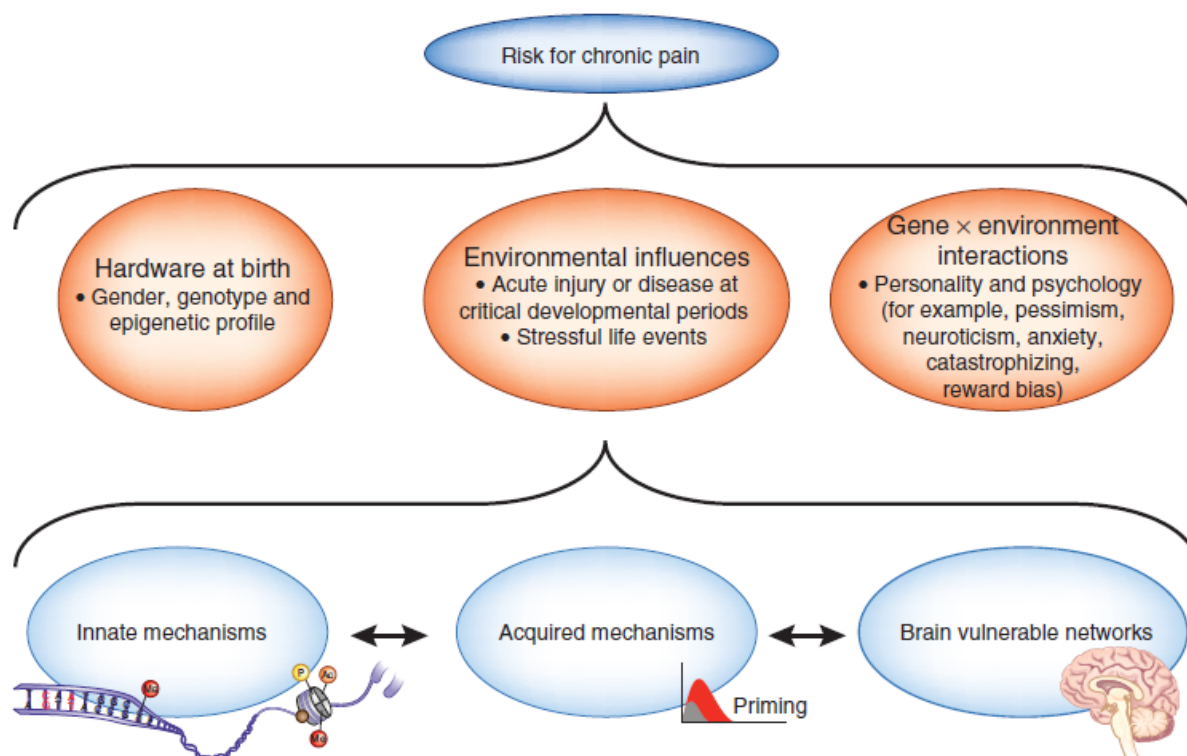


Figura 11¹³⁰ Se han identificado diferentes factores de riesgo para el dolor crónico, tales como genéticos, ambientales y de personalidad. Hay indicios de posibles mecanismos subyacentes a estos factores de riesgo a nivel molecular, celular y reticular.

El dolor crónico parece desarrollarse, salvo activación glial, a través de diversas rutas que influyen en la médula espinal y el cerebro, como la reorganización neuroanatómica y los cambios neurofisiológicos. Aunque todas estas rutas parecen ofrecer una explicación (parcial) plausible para el dolor crónico, ocurre con mucha frecuencia que los tratamientos dirigidos a influir en estas rutas fracasan a la hora de aliviar el dolor crónico. Una causa podría ser que este se desarrolle a través de las tres rutas: por tanto, el tratamiento de uno solo de estos mecanismos puede tener éxito solo en parte. Otros factores que parecen contribuir al desarrollo de dolor crónico son los psicosociales. La ansiedad, la atención y la preocupación pueden ser tanto causa como consecuencia del síndrome de dolor crónico. Las citadas rutas y factores psicoemocionales constituyen la base psiconeuroinmunológica de los síndromes de dolor crónicos que parece estar detrás del dolor fantasma y de la invalidez funcional tras ictus ("síndromes por desuso"). Esta similitud hace que el dolor crónico pueda ser considerado de hecho un "síndrome por desuso". Parece muy prometedora la terapia de dolor paradójica, que combina la terapia de movimiento con estrategias para disociar el dolor de los factores condicionantes como la ansiedad, la preocupación y la atención, con el objetivo de generar un comportamiento opuesto a la conducta de dolor patológica.¹³¹

5.3.9 Repensar algunos síndromes de dolor

5.3.9.1 Dolor neurogénico (neuropático)

La causa del dolor neuropático no es nunca que los estímulos externos o el daño tisular no consigan activar los nociceptores, sino una desarreglo del procesamiento de información en el sistema de dolor. El dolor neuropático puede ser consecuencia de causas periféricas o centrales. En este último caso, la causa se encuentra en el sistema nervioso central, y se habla de dolor central. El cerebro, la médula espinal y los propios nervios/raíces no tienen nociceptores, de ahí que la aparición del dolor neuropático sea esencialmente diferente a la del dolor nociceptivo. La categoría de dolor neurogénico incluye una enorme diversidad de cuadros clínicos, como el síndrome de túnel carpiano, la ciática, la neuropatía diabética y el síndrome de dolor regional complejo. Aunque las ideas sobre las causas del dolor han cambiado radicalmente en los últimos veinte años, sigue faltando una teoría concluyente para la aparición del dolor neuropático, y la eficacia de las terapias no ha mejorado mucho. Una posibilidad es que a menudo se trate de una combinación de dolor neurogénico y dolor nociceptivo. En una hernia discal, las estructuras del canal vertebral (como ligamentos y duramadre) pueden ser estimuladas (componente nociceptivo), pero al mismo tiempo puede verse perturbada la conducción de impulsos por la raíz dorsal por compresión o tracción (componente neurogénico). Por eso, un dolor puede ser más o menos neurogénico. Una diferencia importante con

el dolor nociceptivo es el hecho de que el dolor se sienta en un lugar distinto a donde se produjo la lesión. La actividad neuronal despertada en el cerebro se interpreta y proyecta como dolor en el sitio del que normalmente vienen los impulsos. En consecuencia, el significado de la señalización del dolor neurogénico es solamente relativo.

El dolor neuropático procede de un desajuste entre la información sensorial y la motora. El *input* alterado de los sistemas sensoriales de los miembros, en combinación con una señal motora que vuelve perturbada a los mismos, generan un desajuste entre el mapa integrado en el cerebro del cuerpo físico y lo que realmente se percibe. El resultado es dolor. Las rutas del dolor han evolucionado para activarse cuando haya incoherencia entre las entradas motoras y propioceptivas en el mapa del cuerpo. Estas entradas deben formar un marco de referencia coherente y de una pieza. Cuando los nervios están dañados, este marco se desintegra. La activación de las rutas de dolor cuando hay un desajuste entre el mapa integrado del cerebro del cuerpo físico y lo que se percibe realmente podría ser una respuesta adaptativa al hecho de que algo está yendo mal. Visto evolutivamente, esto tenía una funcionalidad, porque una incoherencia así entre las entradas sensoriales podría ser un buen indicador de neurotoxicidad en el entorno ancestral y por eso puede aportar una ventaja selectiva, razón por la cual se ha conservado el sistema.¹³² Sería interesante averiguar qué ha causado el desajuste en cada caso concreto: ahí podría estar situada la solución al dolor.

En el dolor neurogénico, en principio no hay daño tisular (no nociceptivo), pero puede derivarse de él.

Lo característico de los síndromes de dolor neurogénicos es la relación entre dolor y trastornos sensoriales. Hiperestesia, hiperalgesia y alodinia son formas de hipersensibilización. La analgesia es una forma de sensibilidad reducida. Todo dolor neurogénico es proyectado: el lugar que duele no coincide con donde se halla la fuente de dolor. El dolor neurogénico es extraño y de carácter extremadamente desagradable. El tipo de sensaciones puede variar (abrasador, taladrante, punzante), pero no está relacionado con ningún sitio. Suelen ser diferentes dolores al mismo tiempo, por ejemplo, un dolor sordo, profundo, ardiente que de vez en cuando se alterna con punzadas eléctricas. Los estímulos ligeros en la zona de la piel correspondiente pueden hacer que el dolor aumente explosivamente (alodinia). A veces el dolor es desencadenado por otros estímulos, por ejemplo, sonidos. Las emociones y la tensión suelen influir mucho: cada estímulo se integra en una única misma sensación de "dolor". Es característico del dolor neurogénico tener un perfil temporal: puede ser en ataques breves, o continuo y ondulante o cualquier cosa entremedias. El dolor neurogénico puede sentirse al principio en una zona determinada de la piel (por ejemplo, en la zona de inervación del nervio), pero al cabo del tiempo extenderse hacia afuera de su área original, generalmente por el miembro entero o esa mitad del cuerpo (por extensión longitudinal de la activación/sensibilización en la médula espinal), o reflejarse al otro lado. En el caso de la alodinia, un estímulo en un punto de la piel puede sentirse en un área mucho mayor. A menudo se da *wind-up* (suma): los estímulos repetidos acarrear un aumento gradual del dolor. En el dolor neurogénico, la mayoría de las veces la causa del dolor es proximal al lugar del dolor. Este es el motivo por el que suelen fracasar las medidas dirigidas al (supuesto) daño tisular o a los mecanismos periféricos. Algunos dolores neurogénicos son mantenidos en parte por un *input* periférico alterado/reforzado: entonces las medidas locales sí pueden tener buenos efectos.

Acerca de las causas del dolor neurogénico existe aún mucha confusión. Un problema es que hay muchos niveles cuyas causas estudiar y describir. Lo que está claro es que el dolor puede tener como causa tanto factores periféricos como centrales. Se ha visto que en el dolor neurogénico y en el dolor nociceptivo se activan regiones del cerebro diferentes. También puede haber desaferenciación: al desaparecer el *input* hay una hipersensibilidad de desenergación en las neuronas, lo que hace que reaccionen a cualquier *input* que pase por allí, o incluso que se activen espontáneamente. Además, se pueden generar círculos viciosos: circuitos neuronales dentro del sistema nervioso central (asta posterior, tálamo, etc.) o entre el periférico y el central, en los que la actividad espontánea puede retroalimentarse. Casi siempre también están implicadas las células gliales en el dolor neuropático.

5.3.9.1 Dolor inflamatorio¹³³

El daño tisular (véase también el punto 5.2) trae por consecuencia la liberación de mediadores de inflamación procedentes de células dañadas, entre ellos, iones (K^+ , H^+), bradiquinina, histamina, 5-hidroxitriptamina (5-HT), ATEP y óxido de nitrógeno. La activación de la ruta del ácido araquidónico hace que se produzcan prostanoïdes y leucotrienos. Las células inmunes reclutadas segregan varios mediadores, como citocinas y factores de crecimiento. Algunos de estos mediadores activan directamente nociceptores periféricos y provocan dolor espontáneo, mientras que otros actúan indirectamente a través de células inflamatorias para estimular la liberación de sustancias proalgésicas complementarias. Es importante el hecho de que los mediadores inflamatorios también actúan para cambiar las características de reacción de las neuronas aferentes primarias a los siguientes estímulos (sensibilización periférica). Esto puede ocurrir como consecuencia de modificaciones en la sensibilidad de las propias moléculas receptoras, o por modulación de canales iónicos con compuertas que dependan de la tensión, como el receptor NMDA. Hay una serie de sustancias que tienen un papel dentro del dolor inflamatorio.

Bradiquinina

La bradiquinina se segrega en caso de daño tisular, y tiene una contribución temprana importante en la cascada inflamatoria. Produce dolor, inflamación e hiperalgesia. La bradiquinina y la calidina, junto con sus productos de degradación des-Arg9-bradiquinina y des-Arg9-calidina, tienen complejos efectos sobre neuronas aferentes primarias, incluyendo tanto activación como sensibilización por rutas directas e indirectas. Probablemente estén basados en una mayor expresión o sensibilización del receptor B1.

Citocinas

Las citocinas tienen un papel importante en el inicio y mantenimiento de las enfermedades inflamatorias como mediadoras de las interacciones intercelulares. Además de sus efectos estimulantes e inhibitorios sobre las células inmunes e inflamatorias, las citocinas ejercen una considerable influencia sobre las neuronas sensoriales. Al igual que otros mediadores, las citocinas pueden actuar directamente sobre nociceptores o, más en general, estimular indirectamente la secreción de sustancias como las prostaglandinas. Durante las fases agudas, se ha visto que las citocinas inducen sensibilización vía quinasas asociadas a receptores y fosforilación de canales iónicos, mientras que en la inflamación crónica se vuelven más importantes la regulación al alza de los receptores y la señalización secundaria.

Hasta ahora, la mayoría de los estudios se centraban en citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina 1 (IL-1), la IL-6 y la quimiocina IL-8. Las inyecciones intradermales de estas sustancias suelen producir hiperalgesia tanto mecánica como térmica. Los anticuerpos contra TNF- α reducen la hiperalgesia en modelos inflamatorios, y el uso de nuevas terapias anti TNF con la artritis reumatoide está asociado a una disminución sustancial de las puntuaciones de dolor. Con la terapia anti IL-1 se han registrado disminuciones más discretas. Ratones *knockout* IL-6 presentaban menor hiperalgesia mecánica y térmica en reacción a estímulos inflamatorios o tras estrechamiento nervioso crónico.

Prostaglandinas

Las prostaglandinas son importantes mediadores de inflamación, fiebre y dolor. Son sintetizadas por la enzima constitutiva ciclooxigenasa 1 (COX-1) y la isoforma COX-2, que es inducida en tejidos periféricos por citocinas, factores de crecimiento y otros estímulos inflamatorios. Aunque en algunas situaciones las prostaglandinas pueden contribuir al dolor directamente activando nociceptores, en general se les considera medios sensibilizadores. Las prostaglandinas aumentan los niveles del AMP cíclico y pueden acrecentar la sensibilización de los nociceptores al reducir el umbral de activación de los canales de sodio TTX-R vía una ruta de la proteína quinasa A. Sensibilizan las neuronas aferentes primarias, entre otros, a la bradiquinina, y probablemente tengan un papel en varios lugares a lo largo de la ruta nociceptiva.

Al parecer, COX-1 y COX-2 se expresan de forma constitutiva en el cerebro y la médula espinal. Estudios recientes con ratones *knockout* COX selectivos sugieren que estas enzimas pueden utilizar diferentes rutas mecánicas que quizá sean sexoespecíficas. Si bien los ratones con deficiencia de COX-1 muestran una menor actividad nociceptiva para una serie de estímulos dañinos diferentes, en los ratones con deficiencia de COX-2 se detectan cambios menos claros. Inesperadamente, la actividad nociceptiva solo se reduce en modelos de dolor difuso de desarrollo lento con ratones con deficiencia de COX2 de sexo femenino, pero no masculino. Además, se detecta regulación al alza de COX-1 en tejidos espinales de ratones con deficiencia de COX-2, pero no regulación al alza compensatoria de COX-2 en los animales con deficiencia de COX-1.

Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento neurotróficos contribuyen de forma significativa y duradera a los cambios en la sensibilidad neuronal detectada durante una inflamación. Se ha identificado ARNm y/o proteína de factor de crecimiento nervioso (NGF, *nerve growth factor*) en diferentes tipos de células como fibroblastos, queratinocitos, células de Schwann y varias células inmunes. Un gran número de mediadores inflamatorios aumentan la producción de NGF, especialmente IL-1 β y TNF α . Conforme a esto, se registran altos niveles de NGF en modelos inflamatorios con animales y en enfermedades humanas como la artritis, la cistitis y el asma.

La importancia del NGF en la mediación de la hiperalgesia inducida por inflamación ha sido recalcada por varios estudios que presentan reducciones muy significativas en respuestas reforzadas con ayuda de una variedad de estrategias anti NGF, entre ellas, el uso de nuevos anticuerpos secuestrantes. En los seres humanos, el NGF produce hiperalgesia cutánea en el punto de inyección y provoca un dolor profundo y extendido que dura varios días. Es probable que estos efectos sensibilizadores estén mediados al menos en parte por los efectos directos sobre los propios nociceptores y en parte vía mediadores liberados por mastocitos y otras células inflamatorias activadas por

NGF. También se ha constatado que las neuronas simpáticas tienen un papel. A largo plazo, el NGF ejerce una influencia más global a través de la expresión de neuropéptidos, sustancia P y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), así como receptores como el receptor vaniloide 1 (que participa en la señalización del dolor) y el receptor de bradiquinina B2, y canales iónicos como el canal de sodio sensorial neuroespecífico (CSSN).

Además de sus acciones tróficas clásicas, las neurotrofinas pueden ser sintetizadas por neuronas e influir en la transmisión sináptica. El FNDC está sintetizado especialmente por pequeñas neuronas de la raíz dorsal. Tiene potentes efectos sobre las neuronas de la médula espinal, y está implicado en la sensibilización central asociada a la inflamación. La producción de FNDC se ve aumentada, por ejemplo, por la inflamación, y el aumento de FNDC asociado a la inflamación puede ser reducido mediante tratamiento con anticuerpos contra el NGF.

Factores neurogénicos

El sistema nervioso trabaja junto con el inmune y el endocrino para formar una red interactiva y comunicativa. En ella tienen un papel preponderante neuropéptidos como la sustancia P y el CGRP. Ejercen un gran abanico de efectos sobre tejidos periféricos y hacen una contribución fundamental a la llamada "reacción de roncha y eritema" que sigue a una lesión cutánea. Se ha detectado una interacción sinérgica entre estos péptidos. Es probable que los neuropéptidos liberados en terminales periféricas contribuyan indirectamente en gran parte a la actividad de los nociceptores durante la inflamación. La sustancia P tiene aquí un papel clave. Degranula mastocitos para producir liberación de histamina, induce la segregación de PGE2 y colagenasa procedente de sinoviocitos y puede estimular la secreción de citocinas por parte de macrófagos. También se ha demostrado que la sustancia P posee propiedades quimiotácticas en relación con linfocitos T, monocitos, neutrófilos y eosinófilos. A través de todos estos mecanismos, la sustancia P influye en la inflamación y, en consecuencia, en el dolor inflamatorio.

5.3.10 Diagnóstico y tratamiento
Factores que guardan relación con la cronicidad y los resultados son la aflicción (conciencia de los síntomas y preocupación, reacciones depresivas e indefensión), las creencias sobre el dolor y la discapacidad (significado y capacidad de control, miedos e ideas erróneas sobre el dolor) y los factores conductuales (moverse con cuidado y patrones de evitación, estilo y estrategias de afrontamiento). Una buena herramienta de diagnóstico de identificación de factores de riesgo para el dolor crónico son las llamadas "banderas". Hay establecidos cuatro grupos de factores de riesgo o "banderas" para la cronicidad que pueden ser preguntados en un cuestionario, haciéndose hincapié en los principales factores psicológicos que estimulan la cronicidad (véase también la figura 12):

- La creencia de que el dolor es achacable a una patología progresiva.
- La creencia de que el dolor es dañino o que discapacita gravemente.
- La creencia de que evitar la actividad ayudará al restablecimiento.
- Una tendencia al malhumor y a rehuir la interacción social.
- La expectativa de que lo que ayudará son los tratamientos pasivos en vez de la autogestión activa.

Los pacientes con "banderas rojas", que indican patología fundamental y problemas médicos adicionales, deben ser derivados a un médico (indicios físicos) o a un psiquiatra (indicios mentales como tendencias suicidas). Pero, para la inmensa mayoría de los pacientes, la identificación de los factores psicológicos y sociales que influyen debe ser considerada una investigación sobre el alcance normal de las reacciones al dolor en lugar de la búsqueda de una psicopatología. Entran dentro del sistema de "bandera amarilla". Factores que pueden influir aquí son factores iatrogénicos (creencias sobre el dolor formadas a partir de tratamientos médicos), creencias del paciente, estrategias de afrontamiento, aflicción, comportamiento de enfermedad, la disposición de cambio y el apoyo de la familia. También se pueden identificar "banderas azules" que indican factores relacionados con la profesión y "banderas negras" que indican factores sociales/laborales, como la satisfacción en el trabajo, las circunstancias laborales, la política social en el trabajo, las condiciones de higiene y los seguros en el trabajo. Investigaciones han demostrado que las influencias más importantes a la hora de desarrollar cronicidad son más psicológicas que biomecánicas. Factores psicológicos son altos niveles de ansiedad, ideas erróneas sobre el dolor y sus implicaciones y la evitación de actividades asociadas con el miedo a agravar el dolor. El enfoque terapéutico más utilizado con pacientes con banderas amarillas, rojas y azules es una perspectiva cognitivo-conductual que haga hincapié en la autogestión. Los enfoques de tratamiento basados en principios cognitivo-conductuales han demostrado ser más efectivos que las intervenciones tradicionales biomédicas o biomecánicas.¹³⁴ Aquí son muy útiles los metamodelos PNlc, y el reencuadre, el aprendizaje profundo y la aplicación de TBCS son parte de la solución.

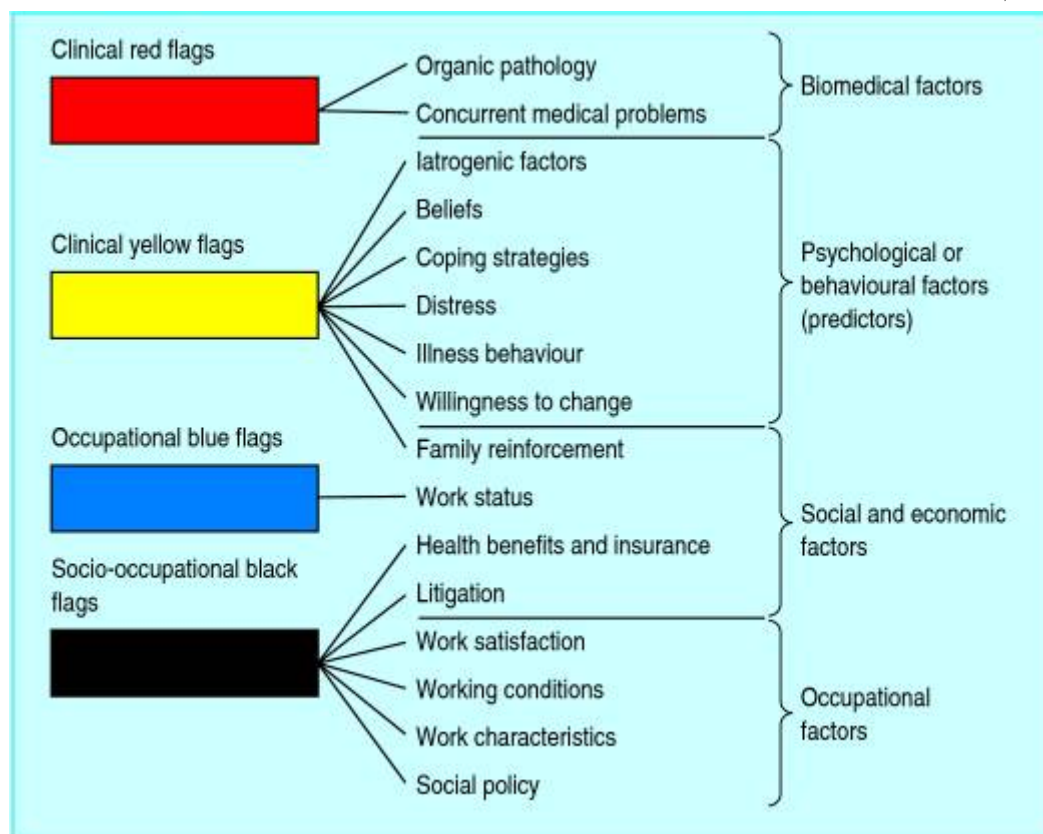


Figura 12¹³⁵ El dolor se puede clasificar según diferentes "banderas".

El protectómetro

Otra herramienta de diagnóstico es el "protectómetro"¹³⁶ (figura 13).



Figura 13
El protectómetro como herramienta de diagnóstico del dolor

El protectómetro utiliza los conceptos DIM y SIM, siendo DIM las iniciales de *danger in me* (peligros) y SIM de *safety in me* (seguridad). Todos los DIM o SIM están compuestos por circuitos neuroinmunes distribuidos en función del contexto en el cerebro, y se pueden organizar en 7 componentes; véase la figura 13. Algunos aspectos pueden ser tanto DIM como SIM en función del contexto. A medida que para un paciente aumenta la credibilidad de la existencia de un peligro, es decir, se le refuerzan los DIM, el indicador de dolor sube figura 14¹³⁷). Al contrario, si aumenta una creencia en la seguridad, el indicador de dolor baja.

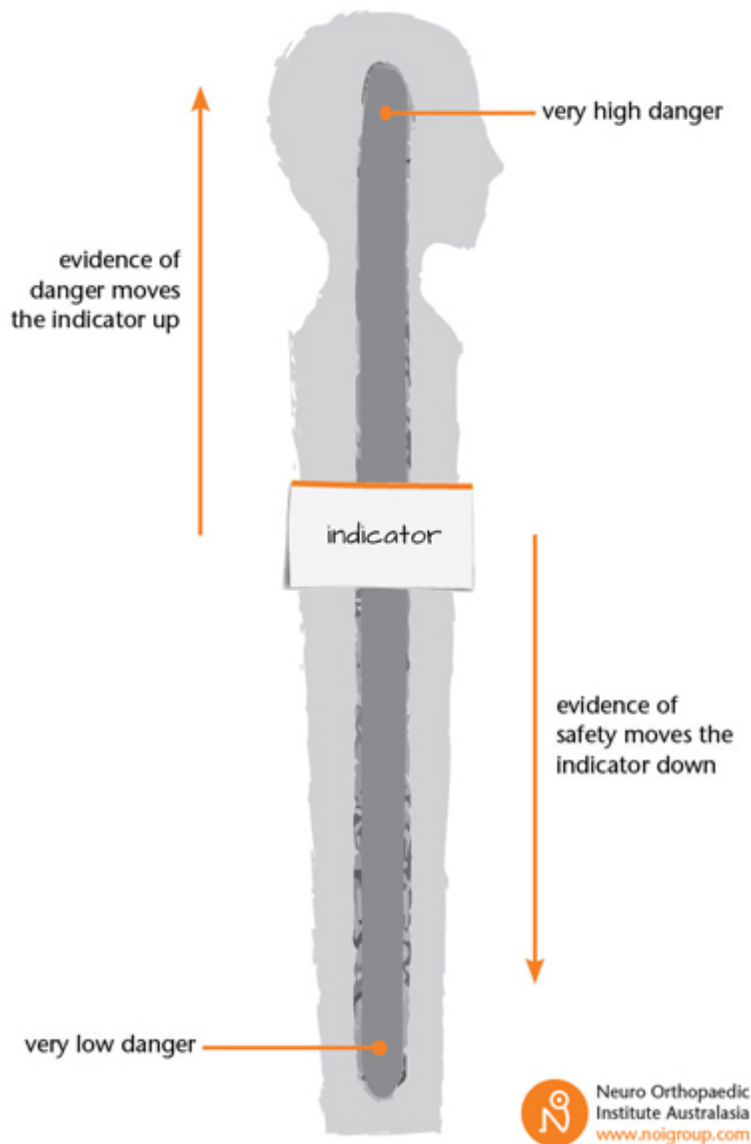


Figura 14¹³⁸
Indicador de dolor

Utilizando el protectómetro (explicado más detenidamente en *The Explain Pain Handbook: Protectometer*; Noigroup Publications (2015), 48 páginas, ilustraciones y diagramas, tapa blanda, ISBN: 978-0-9750910-9-8, autores: G. Lorimer Moseley y David S. Butler), se pueden conocer todos los DIM y SIM que influyen en la experiencia del dolor. La terapia que se deriva de ello está orientada a reducir los DIM y aumentar los SIM con ayuda de las estrategias terapéuticas ya mencionadas.

La

neuromatriz

Además, el tratamiento de la neuromatriz también es una estrategia de tratamiento (véase el punto 5.3.2). En él hay tres aspectos importantes: reducción del *input* amenazante para reducir así la actividad de la neuromatriz del dolor y, en consecuencia, su efectividad; activación selectiva de componentes específicos de la neuromatriz del dolor sin activarla entera; y mejora de la tolerancia física y funcional mediante exposición a *inputs* amenazadores en ámbitos sensoriales y no sensoriales. El primer aspecto se divide en dos componentes: reducción de estímulos dolorosos sensoriales (mecanismos nociceptivos) y reducción de estímulos no nociceptivos. En esto último el aprendizaje profundo es la estrategia indicada. El objetivo principal es reducir el valor amenazador asociado con el dolor aumentando la comprensión del paciente sobre la fisiología humana. Al contrario de la creencia popular de los profesionales sanitarios, los pacientes son capaces de entender fisiología compleja si la información les es presentada de la manera correcta. Después de practicar aprendizaje profundo, los pacientes parecen comprender mejor la fisiología del dolor que la mayoría de trabajadores de la salud. El aprendizaje profundo es más fácil cuando

el alumno está motivado y cuando se consigue que la información presentada sea relevante a nivel personal. Es de crucial importancia que los pacientes entiendan el material que se presenta, para lo cual es esencial utilizar diferentes recursos visuales (incluyendo pizarras blancas, dibujos hechos a mano, guías personales) y metáforas accesibles.¹³⁹

La activación selectiva de componentes específicos de la matriz del dolor y la mejora de la tolerancia física y funcional consisten en buscar los límites del dolor del paciente: ¿con qué grado de dolor no hay dolor y cuándo aparece pero aún no es amenazante? ¿Y cuándo llega el dolor a un límite amenazador? Es importante quedarse junto al límite amenazador, porque es precisamente esa amenaza la que activa la neuromatriz. La carga no dolorosa sirve como punto de partida, y con acompañamiento se puede ir expandiendo lentamente su límite, haciendo que el paciente confíe en que puede realizar esta acción sin dolor. Aquí no influye solo el componente físico, sino también el reencuadre.

Dieta, suplementación y contacto
Además de solucionar la causa del dolor con las mencionadas opciones de tratamiento, existen intervenciones probadas para combatir el dolor consistentes en el uso de:

- DHA/EPA, *Populus nigra*, *Curcuma longa* y *Salix alba* (resoleómica)
- L-triptófano, hipérico, griffonia (inhibición de sustancia P)
- Magnesio¹⁴⁰ en combinación con taurina¹⁴¹ y zinc¹⁴²
- PEA¹⁴³
- Cúrcuma^{144, 145, 146}
- Canela, menta y capsaicina¹⁴⁷
- Masaje, calor y contacto corporal¹⁴⁸

Resumen

El dolor es una sensación homeostática con una clara función señalizadora y de advertencia, que no solo se produce de forma reactiva, sino también proactiva. Existen diferentes tipos de dolor que pueden aparecer de forma aguda y que pueden cronificarse a través de diversos mecanismos. La cronificación del dolor puede dar lugar a síndromes de dolor patológicos. En el centro de la señalización del dolor está la neuromatriz del dolor, por lo que la solución al dolor crónico pasa por aplicar un tratamiento al nivel de la neuromatriz. Para ello hay diferentes herramientas, entre las que son importantes el aprendizaje profundo y el reencuadre. La dieta y la suplementación han demostrado influir a la hora de combatir el dolor.

Con el tratamiento del tejido conjuntivo, la resoleómica y el dolor se ofrece una primera aplicación y posterior integración de la materia básica de los cuatro primeros capítulos de este libro. El siguiente capítulo tratará la aplicación de la materia básica al hígado, el páncreas y los huesos, e integrará el funcionamiento de estos órganos en la ciencia de la PNlc.

- ¹ Collagen in Health and Disease Journal of Orofacial Research, July-September 2012;2(3):153-159
- ² Enigmatic insight into collagen: Shrutal Narendra Deshmukh, Alka M Dive, Rohit Moharil, Prashant Munde Journal of Oral and Maxillofacial Pathology 2016 20(2):276-283
- ³ <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Collagen-synthesis.jpg#filelinks>
- ⁴ Knupp en Squire, TheScientificWorldJOURNAL (2003) 3, 558-577
- ⁵ <https://testmyprep.com/subject/economy/cross-elasticity-elasticity-of-supply>
- ⁶ <http://www.assignmentpoint.com/science/biology/proteoglycan.html>
- ⁷ Maruyama et al, J Biol Chem. 2015 Mar 6; 290(10): 6281–6292.
- ⁸ Cechowska-Pasko M, Pałka J., Exp Toxicol Pathol. 2000 May;52(2):127-31.
- ⁹ <https://www.khanacademy.org/science/biology/structure-of-a-cell/cytoskeleton-junctions-and-extracellular-structures/a/the-extracellular-matrix-and-cell-wall>
- ¹⁰ Paraskevi Gkogkolou and Markus Böhm Dermatoendocrinol. 2012 Jul 1; 4(3): 259–270.
- ¹¹ Paraskevi Gkogkolou and Markus Böhm Dermatoendocrinol. 2012 Jul 1; 4(3): 259–270.
- ¹² Paraskevi Gkogkolou and Markus Böhm Dermatoendocrinol. 2012 Jul 1; 4(3): 259–270.
- ¹³ Paraskevi Gkogkolou and Markus Böhm Dermatoendocrinol. 2012 Jul 1; 4(3): 259–270.
- ¹⁴ Stamati K. et al, Journal of Tissue Engineering 2(1) 2041731411432365
- ¹⁵ Adapted from the following image:Title: 1022_Muscle_Fibers_(small).jpg; Author: OpenStax College; Site: <http://cnx.org/contents/6df8aab3-1741-4016-b5a9-ac51b52fade0@3/Skeletal-Muscle>;
- ¹⁶ Publiek domein, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1197565>
- ¹⁷ Jennifer Baum and Heather S. Duffy J Cardiovasc Pharmacol. 2011 Apr; 57(4): 376–379.
- ¹⁸ Ciciliot, S., and Schiaffino, S. (2009). Regeneration of Mammalian Skeletal Muscle. Basic Mechanisms and Clinical Implications. Curr Pharm Des
- ¹⁹ Ciciliot, S., and Schiaffino, S. (2009). Regeneration of Mammalian Skeletal Muscle. Basic Mechanisms and Clinical Implications. Curr Pharm Des
- ²⁰ Zagorska(2004)HIF-1 The known and unknown of hypoxia sensing
- ²¹ Losso & Bawadi, J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 3751 3768
- ²² Zagorska(2004)HIF-1 The known and unknown of hypoxia sensing
- ²³ Zagorska(2004)HIF-1 The known and unknown of hypoxia sensing
- ²⁴ Knowles HJ, Raval RR, Harris AL, Ratcliffe PJ. Cancer Res. 2003 Apr 15;63(8):1764-8. Effect of ascorbate on the activity of hypoxia-inducible factor in cancer cells.
- ²⁵ Zagorska(2004)HIF-1 The known and unknown of hypoxia sensing
- ²⁶ Zagorska(2004)HIF-1 The known and unknown of hypoxia sensing
- ²⁷ Zagorska(2004)HIF-1 The known and unknown of hypoxia sensing
- ²⁸ Zagorska(2004)HIF-1 The known and unknown of hypoxia sensing
- ²⁹ Svenson, [Adv Exp Med Biol](#). 2016;903:301-23
- ³⁰ Hulter & Krapf, [Semin Nephrol](#). 2006 Nov;26(6):454-65
- ³¹ D'Ignazio et al (2013)NF-κB and HIF crosstalk in immune responses
- ³² D'Ignazio et al (2013)NF-κB and HIF crosstalk in immune responses
- ³³ D'Ignazio et al (2013)NF-κB and HIF crosstalk in immune responses
- ³⁴ D'Ignazio et al (2013)NF-κB and HIF crosstalk in immune responses
- ³⁵ D'Ignazio et al (2013)NF-κB and HIF crosstalk in immune responses
- ³⁶ Zhu C1 et al.(2016), Hostile takeover: Manipulation of HIF-1 signaling in pathogen-associated cancers (Review
- ³⁷ Huang & Ogawa Wound Repair Regen. 2014 Jul-Aug;22(4):462-6
- ³⁸ Ogawa (2017)Keloid and Hypertrophic Scars Are the Result of Chronic Inflammation in the Reticular Dermis
- ³⁹ Sun, K., Tordjman, J., Clément, K., and Scherer, P.E. (2013). Fibrosis and adipose tissue dysfunction. Cell Metab 18, 470-77.
- ⁴⁰ Sun, K., Tordjman, J., Clément, K., and Scherer, P.E. (2013). Fibrosis and adipose tissue dysfunction. Cell Metab 18, 470-77.
- ⁴¹ Losso & Bawadi, J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 3751 3768
- ⁴² Doetsch M, Gluch A, Poznanović G, Bode J, Vidaković M (2012). ["YY1-binding sites provide central switch functions in the PARP-1 gene expression network"](#). PLOS ONE. 7 (8): e44125.
- ⁴³ Pacher & Szabo Am J Pathol. 2008 Jul; 173(1): 2–13
- ⁴⁴ Pacher & Szabo Am J Pathol. 2008 Jul; 173(1): 2–13

- ⁴⁵ Pacher en Szabo, The American Journal of Pathology, Vol. 173, No. 1, July 2008
- ⁴⁶ [Junko Maeda Oncol Rep](#). 2014 Feb; 31(2): 551–556
- ⁴⁷ Allende-Castro. Neurotox Res (2012) 22:79–90
- ⁴⁸ Banasik. Mol Neurobiol (2012) 46:55–63
- ⁴⁹ Hong, ADVANCES IN WOUND CARE, VOLUME 3, NUMBER 5 2014
- ⁵⁰ Hong, ADVANCES IN WOUND CARE, VOLUME 3, NUMBER 5 2014
- ⁵¹ Kawada H, Kaneko M, Sawanobori M, Uno T, Matsuzawa H, et al. (2013) High Concentrations of L-Ascorbic Acid Specifically Inhibit the Growth of Human Leukemic Cells via Downregulation of HIF-1a Transcription. PLoS ONE 8(4): e62717.
- ⁵² Ohno et al: High-dose Vitamin C Therapy in Cancer Treatment (Review) 2009
- ⁵³ Hong, ADVANCES IN WOUND CARE, VOLUME 3, NUMBER 5 2014
- ⁵⁴ Specialized proresolving mediator targets for RvE1 and RvD1 in peripheral blood and mechanisms of resolution Gabrielle Fredman, Charles N. Serhan Biochemical Journal Jun 28, 2011, 437 (2) 185-197;
- ⁵⁵ Specialized proresolving mediator targets for RvE1 and RvD1 in peripheral blood and mechanisms of resolution Gabrielle Fredman, Charles N. Serhan Biochemical Journal Jun 28, 2011, 437 (2) 185-197;
- ⁵⁶ Anderson en Delgado, J. Cell. Mol. Med. Vol 12, No 5B, 2008 pp. 1830-1847
- ⁵⁷ Anderson en Delgado, J. Cell. Mol. Med. Vol 12, No 5B, 2008 pp. 1830-1847
- ⁵⁸ Specialized proresolving mediator targets for RvE1 and RvD1 in peripheral blood and mechanisms of resolution Gabrielle Fredman, Charles N. Serhan Biochemical Journal Jun 28, 2011, 437 (2) 185-197;
- ⁵⁹ Specialized proresolving mediator targets for RvE1 and RvD1 in peripheral blood and mechanisms of resolution Gabrielle Fredman, Charles N. Serhan Biochemical Journal Jun 28, 2011, 437 (2) 185-197;
- ⁶⁰ Bosma-den Boer et al. Nutrition & Metabolism 2012, 9:32
- ⁶¹ Bosma-den Boer et al. Nutrition & Metabolism 2012, 9:32
- ⁶² Bosma-den Boer et al. Nutrition & Metabolism 2012, 9:32
- ⁶³ Bosma-den Boer et al. Nutrition & Metabolism 2012, 9:32
- ⁶⁴ Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2011. 27:441–64
- ⁶⁵ Experimental & Molecular Medicine (2013) 45, e45; doi:10.1038/emm.2013.85
- ⁶⁶ Garrote. Frontiers in Microbiology 1 June 2015 | Volume 6 | Article 629 Weichhart. Nature Reviews | Immunology Volume 15 | October 2015
- ⁶⁷ Antonioli L. et al, [Drug Discov Today](#). 2014 Aug;19(8):1051-68.
- ⁶⁸ Antonioli L. et al, [Drug Discov Today](#). 2014 Aug;19(8):1051-68.
- ⁶⁹ Antonioli L. et al, [Drug Discov Today](#). 2014 Aug;19(8):1051-68.
- ⁷⁰ L. Suleiman et al. / Critical Reviews in Oncology/Hematology 88 (2013) 637–654
- ⁷¹ L. Suleiman et al. / Critical Reviews in Oncology/Hematology 88 (2013) 637–654
- ⁷² Yee. J Biol Chem. 2017 Dec 15; 292(50): 20683–20693.
- ⁷³ Yee. J Biol Chem. 2017 Dec 15; 292(50): 20683–20693.
- ⁷⁴ Waung et al, Trends in Endocrinology and Metabolism, April 2012, Vol. 23, No. 4
- ⁷⁵ Waung et al, Trends in Endocrinology and Metabolism, April 2012, Vol. 23, No. 4
- ⁷⁶ Tracey nature immunology volume 11 number 7 july 2010
- ⁷⁷ Tracey nature immunology volume 11 number 7 july 2010
- ⁷⁸ Tracey NATURE | VOL 420 | 19/26 DECEMBER 2002 |
- ⁷⁹ Tracey NATURE | VOL 420 | 19/26 DECEMBER 2002 |
- ⁸⁰ Tracey NATURE | VOL 420 | 19/26 DECEMBER 2002 |
- ⁸¹ Tracey NATURE | VOL 420 | 19/26 DECEMBER 2002 |
- ⁸² Tracey NATURE | VOL 420 | 19/26 DECEMBER 2002 |
- ⁸³ Tracey NATURE | VOL 420 | 19/26 DECEMBER 2002 |
- ⁸⁴ Tracey Nat Rev Immunol. 2009 Jun; 9(6): 418–428.
- ⁸⁵ Tracey Nat Rev Immunol. 2009 Jun; 9(6): 418–428.
- ⁸⁶ <https://socratic.org/questions/what-is-the-role-of-acetylcholinesterase-at-a-synapse-1>
- ⁸⁷ <https://socratic.org/questions/what-is-the-role-of-acetylcholinesterase-at-a-synapse-1>
- ⁸⁸ <http://dgg.de/gesundheit/mikronaehrstoffebiosubstanzen/lexikon/weitere-biosubstanzen/cholin-und-phosphatidylcholin-lecithin.html>
- ⁸⁹ FABAD J. Pharm. Sci., 28, 51-58, 2003
- ⁹⁰ Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 2005, 5, 915-926
- ⁹¹ Pure Appl. Chem., Vol. 71, No. 6, pp. 1059±1064, 1999.

- ⁹²https://en.wikipedia.org/wiki/File:Figure_1._Overall_reaction_for_the_formation_of_superoxide_from_NADPH.png#filelinks
- ⁹³ Pacher, P., and Haskó, G. (2008). Endocannabinoids and cannabinoid receptors in ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *Br J Pharmacol* 153, 252-262
- ⁹⁴ Pacher, P., and Haskó, G. (2008). Endocannabinoids and cannabinoid receptors in ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *Br J Pharmacol* 153, 252-262
- ⁹⁵ Paladini. *Pain Physician*: February 2016: 19:11-24
- ⁹⁶ The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology Volume 120, Issues 2-3, 31 May 2010, Pages 76-85
- ⁹⁷ The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology Volume 120, Issues 2-3, 31 May 2010, Pages 76-85
- ⁹⁸ The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology Volume 120, Issues 2-3, 31 May 2010, Pages 76-85
- ⁹⁹ Selye H, *Journal: Perspectives in biology and medicine* [1973]
- ¹⁰⁰ Panossian & Wikman, *Pharmaceuticals* 2010, 3, 188-224
- ¹⁰¹ Panossian & Wikman, *Pharmaceuticals* 2010, 3, 188-224
- ¹⁰² Panossian & Wikman, *Pharmaceuticals* 2010, 3, 188-224
- ¹⁰³ Panossian & Wikman, *Pharmaceuticals* 2010, 3, 188-224
- ¹⁰⁴ Panossian & Wikman, *Pharmaceuticals* 2010, 3, 188-224
- ¹⁰⁵ Mattson *Ageing Res Rev.* 2008 January ; 7(1): 1–7
- ¹⁰⁶ Pruimboom & Muskiet, *Medical Hypotheses* 120 (2018) 28–42
- ¹⁰⁷ Ben van Cranenburgh , *Pijn vanuit een neurowetenschappelijk perspectief*, Bohn Stafleu van Loghum 2016
- ¹⁰⁸ Williams. *BEHAVIORAL AND BRAIN SCIENCES* (2002) 25, 439–488
- ¹⁰⁹ E.M. Nagasako et al. / *Pain* 101 (2003) 213–219
- ¹¹⁰ Meijler WJ. Nociceptie en sensitisatie, *Ned Tijdschr Tandheelkd* 2006; 113: 433-436
- ¹¹¹ Meijler WJ. Nociceptie en sensitisatie *Ned Tijdschr Tandheelkd* 2006; 113: 433-436
- ¹¹² Melzack R. Phantom limbs and the concept of a neuromatrix. *Trends Neurosci* 1990; 13(3): 88-92
- ¹¹³ Pruimboom L. Neuromatrix of pain, *Van Nature* 2011
- ¹¹⁴ Craig, A.D. (2003). A new view of pain as a homeostatic emotion. *Trends Neurosci* 26, 303-07.
- ¹¹⁵ Craig, A.D. (2003). Pain mechanisms: labeled lines versus convergence in central processing. *Annu Rev Neurosci* 26, 1-30.
- ¹¹⁶ Marchand, F. , Perretti, M., and McMahon, S.B. (2005). Role of the immune system in chronic pain. *Nat Rev Neurosci* 6, 521-532
- ¹¹⁷ *Stahl's Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications* S. M. Stahl, Stephen M. Stahl Cambridge University Press, 11 apr. 2013 - 608 pagina's
- ¹¹⁸ Milligan, E.D., and Watkins, L.R. (2009). Pathological and protective roles of glia in chronic pain. *Nat Rev Neurosci* 10, 23-36.
- ¹¹⁹ Milligan, E.D., and Watkins, L.R. (2009). Pathological and protective roles of glia in chronic pain. *Nat Rev Neurosci* 10, 23-36.
- ¹²⁰ Craig, A.D. (2003). Pain mechanisms: labeled lines versus convergence in central processing. *Annu Rev Neurosci* 26, 1-30.
- ¹²¹ Craig, A.D. (2003). A new view of pain as a homeostatic emotion. *Trends Neurosci* 26, 303-07.
- ¹²² Craig, A.D. (2003). A new view of pain as a homeostatic emotion. *Trends Neurosci* 26, 303-07.
- ¹²³ Craig, A.D. (2003). A new view of pain as a homeostatic emotion. *Trends Neurosci* 26, 303-07.
- ¹²⁴ Craig, A.D. (2003). Pain mechanisms: labeled lines versus convergence in central processing. *Annu Rev Neurosci* 26, 1-30.
- ¹²⁵ Dissertation von Katja Wiech: Phantomschmerz und kortikale Reorganisation: Präventive und therapeutische Effekte eines NMDA-Antagonisten, 2000
- ¹²⁶ By RicHard-59 - Own work, based on File:Activated NMDAR.PNG, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=21286587>
- ¹²⁷ Bingel & Tracey *PHYSIOLOGY* 23: 371–380, 2008; doi:10.1152/physiol.00024.2008
- ¹²⁸ Bingel & Tracey *PHYSIOLOGY* 23: 371–380, 2008; doi:10.1152/physiol.00024.2008
- ¹²⁹ Watkins, *TRENDS in Neurosciences* Vol.24 No.8 August 2001
- ¹³⁰ Denk, *VOLUME 17 | NUMBER 2 | February 2014 nature neuroscience*
- ¹³¹ Chronic pain: A non-use disease, L.Pruimboom, A.C.van Dam, *Medical Hypotheses* Volume 68, Issue 3, 2007, Pages 506-511
- ¹³² Ashton. Neuropathic pain: An evolutionary hypothesis. *Medical Hypotheses* 78 (2012) 641–643
- ¹³³ Kidd & Urban, *Br J Anaesth* 2001; 87: 3–11
- ¹³⁴ Main & Williams, *BMJ*. 2002 Sep 7; 325(7363): 534–537.
- ¹³⁵ Main & Williams, *BMJ*. 2002 Sep 7; 325(7363): 534–537.

-
- ¹³⁶ Butler & Cocks, <https://noijam.com/2015/03/12/dim-sims/>
- ¹³⁷ Butler & Cocks, <https://noijam.com/2015/03/12/dim-sims/>
- ¹³⁸ Butler & Cocks, <https://noijam.com/2015/03/12/dim-sims/>
- ¹³⁹ Moseley, Manual Therapy (2003) 8(3), 130–140
- ¹⁴⁰ Anesth Pain Med. 2013;4(1):e12750
- ¹⁴¹ Koh. International Journal of Endocrinology Volume 2014
- ¹⁴² Sowa. Journal of Affective Disorder s151(2013)924–931
- ¹⁴³ Palladini, Pain Physician 2016; 19:11-24 • ISSN 1533-3159
- ¹⁴⁴ Kuptniratsaikul et al. J. Altern Complement med. 2009 aug; 15(8):891-7
- ¹⁴⁵ Ross SM. Holist. Nurs. Pract. 2016 May-Jun;30(3);183-6
- ¹⁴⁶ Brain Research 1122 (2006) 56-64
- ¹⁴⁷ Fernandez-Carvajal. Pharmaceuticals 2012, 5, 16-48
- ¹⁴⁸ Pharmacology & Therapeutics xxx (2012) xxx–xxx