ENFOQUE MULTIDISCIPLINAR PARA LA MODULACIÓN DE LA DIAFONÍA NEUROINMUNOLÓGICA ASOCIADA AL DOLOR PATOLÓGICO TRAS LESIÓN CRÓNICA DE LA MÉDULA ESPINAL

Dr. Pere Boadas Vaello
Facultat de Medicina - Universitat de Girona
Dr. Petr Dubový
Faculty of Medicine - Masaryk University. Txèquia

1. Resumen

El dolor neuropático central (DNC) después de una lesión medular (LME) se desarrolla en más de la mitad de los pacientes, y alrededor de un tercio de ellos define el dolor como intenso. El DNC después de una LME se ha asociado a deficiencias en diversas áreas, como el funcionamiento físico y la movilidad, la actividad mental y cognitiva, la interacción social y la reintegración en la comunidad, el sueño, la ocupación laboral y la calidad de vida. Además, las personas que experimentan dolor después de una LME muestran peor salud, menor satisfacción con la vida y mayor riesgo de sufrir depresión. Para hacer frente a este problema de salud, se han utilizado varios tratamientos farmacológicos para aliviar el DNC. Sin embargo, los tratamientos actuales suelen ser ineficaces, porque solo se dirigen a uno o dos de los distintos mecanismos que componen el DNC. Actualmente, con el objetivo de diseñar un enfoque terapéutico personalizado, el tratamiento consiste en un ensayo y error de diferentes estrategias, que incluyen antidepresivos, antiepilépticos, agonistas GABA, anestésicos locales, antagonistas NMDA, cannabinoides y opioides. Sin embargo, solo un tercio de los pacientes responde en comparación con el placebo y la mejor estrategia farmacológica solo reduce la intensidad del dolor en un 20-30%, acompañada a menudo de efectos no deseados.

En este contexto de carencia de tratamientos eficaces, es necesario desarrollar nuevas estrategias farmacológicas no solo para el alivio del dolor neuropático, sino también para la prevención de su cronificación. Entre las estrategias farmacológicas potenciales dirigidas a modular el dolor patológico cabe destacar el uso de polifenoles, puesto que en la literatura científica se encuentran evidencias preclínicas de sus efectos antinociceptivos. Entre las propiedades que pueden atribuirse a los polifenoles y que pueden explicar la modulación del dolor patológico destacan las actividades antioxidantes o de eliminación de radicales libres, inmunomoduladoras, neuroprotectoras, antiapoptóticas y reguladoras de la autofagia. Sin embargo, aunque varios estudios se han dirigido específicamente a dilucidar los efectos de los tratamientos polifenólicos en el desarrollo del dolor neuropático, la mayoría se han realizado en modelos preclínicos no relacionados con la LME, como el dolor neuropático periférico, el dolor neuropático diabético o la neuropatía alcohólica. Además, aunque se dispone de estudios sobre el tratamiento con polifenoles después de una LME, la mayoría se han centrado en la recuperación motora o en la regeneración de la médula

espinal, lo que comporta una carencia de información a pesar de los resultados prometedores sobre sus efectos en la modulación de procesos fisiopatológicos que también pueden estar relacionados con el desarrollo del dolor neuropático. Por este motivo, el principal objetivo de este proyecto fue estudiar los efectos preventivos y analgésicos de dos extractos vegetales polifenólicos (GSE y CE) en el desarrollo de DNC inducido por lesión medular en ratones y compararlos con los efectos de la epigalocatequina-3-galato (EGCG), uno de los polifenoles más estudiados en el campo del dolor neuropático. Los extractos se obtuvieron a partir de fuentes vegetales utilizando suero como vehículo para que su administración fuese compatible fisiológicamente.

Tras la lesión medular, se evaluaron los efectos del tratamiento repetido con EGCG, GSE y CE sobre los comportamientos de dolor neuropático (hiperalgesia y alodinia) durante las fases aguda, intermedia y crónica de la lesión medular. Posteriormente, se analizó la gliosis y la expresión de biomarcadores relacionados con la sensibilización central tanto en la médula espinal como en las estructuras supraespinales implicadas en el procesamiento del dolor. En todos los experimentos, también se evaluó la seguridad farmacológica para asegurar la no presencia de toxicidad de los tratamientos.

Por otra parte, además de la problemática de falta de tratamientos adecuados, en el campo del dolor tampoco existen biomarcadores específicos de dolor neuropático, que facilitarían su diagnóstico. Hoy en día, el diagnóstico se basa principalmente en criterios clínicos que a menudo se alargan en el tiempo. En consecuencia, el dolor sigue cronificándose y se desencadena la aparición de enfermedades psicológicas comórbidas como ansiedad y depresión, que afectan drásticamente a la calidad de vida de los pacientes. En este contexto, en este proyecto nos planteamos también el desarrollo de nuevas estrategias con uso diagnóstico potencial para el dolor neuropático. Ante el hecho de que el dolor patológico es una enfermedad compleja, el uso de técnicas clásicas de laboratorio como las pruebas de inmunohistoquímica o de biología molecular no eran la mejor opción, así que utilizamos técnicas de química analítica, combinadas con la quimiometría y la inteligencia artificial, para estudiar perfiles moleculares completos como posibles biomarcadores. Con este fin, se indujo dolor neuropático central, agudo y crónico mediante lesión medular en ratones, el suero de estos se analizó mediante espectrometría de masas y posteriormente los datos

resultantes se procesaron con redes neuronales artificiales. Esta metodología se utilizó también para analizar muestras de tejido nervioso, en este caso no tanto para su uso diagnóstico, sino para sentar las bases de caracterización de dianas terapéuticas potenciales presentes en ese tejido.

2. Resultados

Tanto la administración preventiva de GSE como de CE durante la primera semana posterior a la LME dio lugar a la atenuación del desarrollo de la alodinia mecánica y de la hiperalgesia térmica durante la fase aguda sin pérdida de peso ni presencia de biomarcadores séricos de hepatotoxicidad o nefrotoxicidad, a diferencia de la EGCG, que sí presentaba indicios de toxicidad potencial. Los efectos antinociceptivos de los dos extractos polifenólicos se asociaron a la prevención tanto de la gliosis como de la regulación al alza de los algógenos relacionados con la sensibilización central y de diafonía neurona-glía en la médula espinal. Además, los tratamientos con GSE y CE también modularon estos procesos fisiopatológicos en estructuras supraespinales como la corteza cingulada anterior (CCA) y la sustancia gris periacueductal (SGPA), relacionadas con la modulación del dolor. Por otra parte, mientras que la administración repetida de EGCG durante la tercera semana después de la LME no moduló ni la alodinia mecánica ni la hiperalgesia térmica durante la fase intermedia de la lesión, la misma pauta de administración con GSE o CE moduló estas respuestas reflejas del dolor sin efectos asociados de toxicidad sistémica. Además, la administración de CE moduló el comportamiento de tipo depresivo detectado en los ratones lesionados de la médula espinal en la fase intermedia de la lesión. Por último, la administración repetida de GSE y CE durante la primera, tercera y sexta semana después de la LME previno el desarrollo de hiperalgesia térmica y de alodinia mecánica hasta la fase crónica de la lesión, sin efectos asociados de toxicidad sistémica, hepatotóxica o nefrotóxica. Los tratamientos con GSE y CE también modularon las alteraciones afectivomotivacionales (anhedonia, depresión y ansiedad) y la disminución de la interacción social desarrolladas en los animales con LME crónica. Los efectos antinociceptivos de GSE y CE se asociaron no solo con la modulación de la microgliosis en la médula espinal, sino también con la modulación de la astrogliosis y la diafonía neurona-glia en estructuras supraespinales como la CCA, la amígdala, la SGPA dorsal y ventral y el bulbo rostral ventromedial, así como con la microgliosis en la SGPA ventral.

En conjunto, los resultados de este proyecto sugieren que una mezcla de polifenoles presentes en extractos naturales puede ser una estrategia farmacológica adecuada para prevenir o atenuar el desarrollo del dolor neuropático inducido por la LME, modulando no solo las respuestas reflejas del dolor (más relacionadas con la dimensión sensorialdiscriminativa del dolor), sino también las respuestas no reflejas del dolor (incluidas en la dimensión afectivomotivacional del dolor). Estos compuestos no solo ejercen sus efectos en el lugar de la lesión modulando la gliosis y la expresión de biomarcadores relacionados con la sensibilización central, sino también en estructuras supraespinales estrechamente relacionadas con la expresión y modulación del dolor neuropático central.

En cuanto a la combinación de técnicas de química analítica con redes neuronales artificiales, permitió el desarrollo de metodologías que discriminaban de forma rápida y efectiva los sueros procedentes de ratones con dolor neuropático central de sus respectivos controles sin dolor, tanto en la fase aguda como en la crónica de la lesión medular. Además, se observaron diferencias también en el patrón metabólico del tejido de médula espinal, tanto en comparación con los controles en fase aguda y crónica como en comparación entre ambas fases. Este último resultado, si bien no es de aplicación para el diagnóstico, sí que lo es para determinar dianas terapéuticas específicas no solo de dolor relacionado con lesión medular, sino también específicas de la fase de la lesión.

3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

Por lo que se refiere al tratamiento con los extractos obtenidos, los resultados del proyecto sugieren que la mezcla de polifenoles presentes en los extractos naturales puede ser una estrategia farmacológica adecuada para prevenir o atenuar el desarrollo del dolor neuropático inducido por lesiones medulares. No solo las respuestas de dolor reflejas evocadas, sino también las respuestas no reflejas en forma de alteraciones emocionales y de relación social. Es así porque estos compuestos no solo ejercen sus efectos en el lugar de la lesión de la médula espinal modulando la gliosis y la expresión de marcadores relacionados con la sensibilización central, sino que también actúan sobre estructuras supraespinales estrechamente relacionadas con la expresión y la modulación del dolor neuropático central. Es relevante tener en cuenta que estos

extractos se han desarrollado utilizando una solución salina fisiológica compatible con los organismos vivos y demostrando en su conjunto la ausencia de toxicidad sistémica. En cuanto a los resultados de perfiles moleculares, tal y como se comentaba más arriba, los resultados proporcionan una herramienta prometedora no solo para el diagnóstico y seguimiento del dolor neuropático derivado de la lesión medular tanto en la fase aguda como en la crónica, sino también para determinar biomarcadores específicos y posibles dianas terapéuticas útiles para diseñar nuevas estrategias farmacológicas en un futuro cercano.

4. Bibliografía científica generada

Este proyecto ha permitido la realización de dos tesis doctorales:

Dra. Meritxell Deulofeu Figueras. Tesis doctoral en la Universitat de Girona, *cum laude* y con mención internacional (diciembre de 2019)

Dra. Anna Bagó Mas. Tesis doctoral en la Universitat de Girona, *cum laude* y con mención internacional (abril de 2022).

Por lo que se refiere a publicaciones científicas, un manuscrito está en evaluación y tres más en redacción. Próximamente se informará de estas publicaciones.