

Peripheral and central sensitization

Sensibilização periférica e central

Hazem Adel Ashmawi¹, George Miguel Góes Freire²

DOI 10.5935/1806-0013.20160044

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVES: Central sensitization is an important phenomenon for pain chronicity and is present in neuropathic pain. This study aimed at addressing some pathophysiological aspects of this phenomenon.

CONTENTS: Some extra and intracellular aspects responsible for central sensitization genesis, especially phenotypic changes in plasticity of neurons involved in the process are described.

CONCLUSION: Pain chronicity may result from changes in central nervous system neurons properties by the central sensitization phenomenon with constant changes in membrane excitability, inhibitory transmission reduction and increase in synaptic efficacy mediated by several convergent and divergent molecular mechanisms over a background of phenotypic and structural changes. Neuroplasticity deeply alters painful sensation, contributing for many clinical painful syndromes and may represent a major target for therapeutic intervention.

Keywords: Central sensitization, Ionophores, Neural plasticity, Neuropathic pain.

RESUMO

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: A sensibilização central é um fenômeno importante na cronificação da dor e presente na dor neuropática. O objetivo deste estudo foi abordar alguns aspectos fisiopatológicos deste fenômeno.

CONTEÚDO: São descritos alguns aspectos extra e intracelular responsável pela gênese da sensibilização central, principalmente aspectos de alterações fenotípicas que ocorrem na plasticidade dos neurônios envolvidos no processo.

CONCLUSÃO: A cronificação da dor pode surgir como resultado de alterações nas propriedades dos neurônios no sistema nervoso central pelo fenômeno da sensibilização central com constantes mudanças e alterações na excitabilidade da membrana, reduções na transmissão inibitória e aumento da eficácia sináptica, mediada por muitos convergentes e divergentes mecanismos moleculares sobre um fundo de modificações fenotípicas e alterações estruturais. A neuroplasticidade altera profundamente a sensação dolorosa, contribuindo para muitas síndromes clínicas da dor e pode representar um importante alvo para intervenção terapêutica.

Descritores: Dor neuropática, Ionóforos, Plasticidade neuronal, Sensibilização central.

INTRODUÇÃO

Antes do estabelecimento do conceito de sensibilização central, a visão prevalente sobre o processamento central da dor era que se tratava de um processo passivo, onde potenciais de ação trazendo informações sobre localização, intensidade, início e qualidade de estímulos gerados na periferia eram trazidos ao sistema nervoso central (SNC) até o córtex cerebral onde eram trazidos à consciência. A partir da Teoria do Portão de Melzack e Wall, propôs-se que o estímulo doloroso podia ser inibido na medula espinhal¹. A proposição da Teoria do Portão juntamente com a descoberta das encefalinas e endorfinas^{2,3} e controle inibitório difuso da dor aumentou o conhecimento de sistemas inibitórios da nociceção⁴. Entretanto, nenhum dos modelos previa que a dor poderia resultar de transformações nas

propriedades neuronais no SNC, caracterizando a sensibilização central. Neste artigo, são abordados alguns aspectos da sensibilização central.

A sensibilização central é um importante fenômeno, juntamente com a sensibilização periférica que auxilia o entendimento do fenômeno doloroso crônico ou amplificado. A sensibilização central ocorre após estímulo intenso ou repetitivo do nociceptor presente na periferia, levando a um aumento reversível na excitabilidade e na eficácia sináptica dos neurônios das vias nociceptivas centrais. A manifestação ocorre na forma de hipersensibilidade à dor denominada alodínea tátil e hiperálgia secundária à punção ou pressão. Estas alterações no SNC podem ser detectadas por técnicas eletrofisiológicas ou por técnicas de imagem.

O estado de sensibilização central pode ser temporário ou permanente, a depender das alterações fenotípicas que ocorrem nos neurônios. A sensibilização induzida no nociceptor do sistema somatossensitivo é adaptativa, tornando o sistema hiper-alerta em condições em que o risco de causar mais lesões é elevado, por exemplo, imediatamente após a exposição a um estímulo intenso ou prejudicial. A sensação dolorosa (alodínea ou não) é exagerada e prolongada em resposta aos estímulos geradores e pode se distribuir para além do local da lesão a partir da ampliação do campo receptivo. A sensibilização central explica as alterações observadas do limiar na sensibilidade, tempo e na região da dor em situações clínicas de dores agudas e crônicas, onde as sensações dolorosas existem mesmo na ausência de doença periférica ou estímulos nociceptivos.

DEFINIÇÃO

A sensibilização central corresponde a uma modificação no estado funcional dos neurônios e das em vias nociceptivas por todo o neuroeixo, causada pelo aumento na excitabilidade da membrana, da eficácia sináptica ou pela redução da inibição sobre este sistema⁵.

Vários fenômenos ocorrem na sensibilização central: ativação dos neurônios de ampla faixa dinâmica *wide dynamic range neurons* (WDR) que passam a responder a estímulos nociceptivos e também previamente não nociceptivos; progressivo aumento nas respostas provocadas por uma série padrão de estímulos repetidos (*windup* temporal); uma expansão da extensão espacial do estímulo; e desencadeamento de mudanças que duram mais que o estímulo inicial⁶.

A sensibilização central está presente na dor neuropática⁷, na dor inflamatória⁸, na enxaqueca⁹ e na síndrome do cólon irritável¹⁰, entre outras síndromes dolorosas. Nesses pacientes, a sensibilização central está envolvida na produção de resposta anormal a estímulos nociceptivos e não dolorosos e há uma dispersão da sensibilidade além dos locais geradores da dor na periferia. A sensibilização central também pode desempenhar um papel fundamental na dor generalizada e anormal em pacientes com fibromialgia¹¹. Em função do seu importante papel na geração de hipersensibilidade clínica de dor, é essencial compreender os gatilhos e os mecanismos responsáveis pela indução e manutenção do sistema somatossensitivo no estado fisiológico, em que as experiências sensitivas evocadas por estímulos de baixa intensidade (sensações inócuas) e estímulos dolorosos são bastante distintos e separados, para um sistema de hipersensibilidade disfuncional em que esta discriminação é perdida.

HISTÓRICO

A primeira evidência de componente central de hipersensibilidade aguda dor foi fornecida em 1983⁵. Respostas eletrofisiológicas dos axônios de motoneurônios α do bíceps femoral de ratos foram usadas para mensurar a resposta ao sistema nociceptivo, neste caso a resposta reflexa flexora de retirada provocada por estímulos nociceptivos. Este experimento revelou, conforme esperado, que em condições normais não havia nenhuma atividade espontânea no neurônio motor e que sua ativação era necessária a um estímulo mecânico ou térmico nocivo à pele. Estes neurônios têm alto limiar nociceptivo e campos receptivos específicos aos pododáctilos da pata traseira. Estímulos térmicos na periferia geram leve inflamação na pata. No entanto, um aumento de excitabilidade dos neurônios motor foi detectado e durou várias horas e incluiu a redução no limiar e aumento dos campos

1. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Hospital das Clínicas, Supervisor da Equipe de Controle de Dor da Divisão de Anestesia. São Paulo, SP, Brasil.

2. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Hospital das Clínicas, Equipe de Controle de Dor da Divisão de Anestesia. Coordenador da Equipe de Controle de Dor do Hospital Israelita Albert Einstein. São Paulo, SP, Brasil.

Conflito de interesses: não há – Fontes de fomento: não há.

Endereço para correspondência:

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, 8º andar
05403-000 São Paulo, SP, Brasil.
E-mail: hazem.ashmawi@hc.fm.usp.br

receptivos cutâneos. Os neurônios motores não eram mais específicos a estímulos nociceptivos, mas poderiam ser ativados por estímulos não nociceptivos e de baixa intensidade como a luz e toque leve⁵. Outros experimentos mostraram que essas mudanças nas propriedades dos campos receptivos foram devido a alterações no SNC e não no sistema nervoso periférico (SNP).

Após a primeira demonstração de sensibilização central em neurônios motores flexores, essencialmente idênticas alterações logo foram descritas em muitos estudos na lâmina I e V os neurônios no corno dorsal da medula espinhal¹², bem como em núcleo espinhal, *pars caudalis*¹³, tálamo¹⁴, amígdala¹⁵ e a área cingulada anterior do córtex¹⁶.

Mais recentemente, imagens de ressonância nuclear magnética (RNM), tomografia por emissão de pósitrons e magnetoencefalografia revelaram em voluntários saudáveis que outras estruturas cerebrais também estão implicadas no processamento central da dor (núcleo parabraquial da substância cinzenta periaquedutal, região do colículo superior, córtex pré-frontal) também apresentam alterações compatíveis com aumento na excitabilidade correspondente a sensibilização central¹⁷.

A sensibilização central refere-se a modificações na atividade neuronal, também conhecida como plasticidade neuronal, que podem ser temporárias ou permanentes. Estas mudanças neuronais, no caso da sensibilização central são desencadeadas pela atividade nos neurônios do corno dorsal em resposta a estímulos nos nociceptores presentes nas fibras-C, como estímulos térmicos acima de 49°C e repetidos⁵, a estimulação elétrica de fibras-C (1 Hz por 10 a 20 segundos)¹⁸ e químico, pela ativação dos nociceptores por compostos irritantes como alil-isotiocianato (óleo de mostarda) e formalina, que agem por meio da ativação dos canais TRPA1, e pela capsaicina, que ativa os canais TRPV1^{19,20}. A indução da sensibilização central ocorre após estímulo nociceptivo intenso, repetido e sustentado. A entrada de muitas fibras é exigida ao longo de dezenas de segundos; um único estímulo, como uma picada, é insuficiente. A lesão tecidual periférica não é necessária, embora o grau de estímulo nociceptivo que produz a lesão tecidual quase sempre induz a sensibilização central.

O fenômeno é muito proeminente após lesão traumática ou cirúrgica. E de maneira interessante, os nociceptores aferentes que responsáveis pela inervação de músculos e articulações geram sensibilização central mais duradoura do que aqueles que inervam a pele¹⁸.

Os fenômenos geradores da sensibilização central são moleculares. A forma mais comum em ciência de obtenção de conhecimento novo é por meio da utilização da abordagem mecanicista, da procura dos mecanismos responsáveis pelos fenômenos. Ao usar esta abordagem há que se ter o cuidado para que o entendimento de mecanismos não atrapalhe a visão mais geral do fenômeno doloroso.

NEUROTRANSMISSORES E RECEPTORES

O glutamato, neurotransmissor dos neurônios aferentes primários, liga-se a vários receptores pós-sinápticos nos neurônios no corno dorsal da medula espinhal, incluindo ionóforos como o propionato de amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol (AMPA), N-metil-D-aspartato (NMDAR), cainato (KA), receptores metabotrópicos (acoplados à proteína-G) e outros subtipos de receptores de glutamato (mGluR). Nas lâminas superficiais do corno dorsal, AMPAR e NMDAR estão presentes em virtualmente cada sinapse e estão dispostos em forma de mosaico, enquanto que os mGluRs estão situados nas extremidades da zona de densidade pós-sináptica (ZDS). O NMDAR é um tetrâmero que contém duas subunidades NR1 de ligação glicina de baixa afinidade e duas subunidades dos 6 diferentes tipos de NR2A-D ou NR3A/B²¹. Os complexos formados mais comuns de NMDAR no corno dorsal são compostos de subunidades NR1-NR2A/B²².

O receptor AMPA é também um tetrâmero e suas subunidades são mais abundantes no corno dorsal da medula espinhal são as subunidades GluR1 e GluR3, permeáveis ao cálcio (Ca²⁺) e a subunidade GluR2, não permeável Ca²⁺ em condições fisiológicas²³. Os interneurônios inibitórios expressam, preferencialmente, GluR1, visto que que os neurônios excitatórios parecem expressar principalmente GluR2²⁴.

O complexo AMPAR também pode ser um heterômero de GluR1/GluR2, nesse caso o receptor exibe principalmente as propriedades do GluR2²⁵. A família mGluR é composta de 8 receptores que formam 3 grupos, com base em suas similaridades de sequência e seu acoplamento com específico proteínas G.

O grupo I composto de mGluR1/mGluR5 é acoplado à proteínas G-αq, cuja ativação causa um aumento de influxo Ca²⁺, enquanto que o grupo II (mGluR 2 e 3) e grupo III (mGluR4, 6, 7 e 8) são acoplados com proteínas G-αi/o. Todos os mGluRs exceto mGluR6 e 8 são expressos na medula espinhal, sendo o mGluR6 o único a não ser expresso nos neurônios aferentes primários²⁶. Além disso, um padrão de lâmina específica de expressão tem sido caracterizada por mGluR1a

(lâmina V), mGluR5 (lâmina II), e mGluR2/3 (lâmina II), sugerindo precisas e distintas funções fisiológicas para os subtipos diferentes.

PAPEL DO MAGNÉSIO, SUBSTÂNCIA P, PEPTÍDEO DO GENE RELACIONADO A CALCITONINA, E BRADICININA NA SENSIBILIZAÇÃO CENTRAL

Em condições normais, o ionóforo NMDAR é bloqueado de forma voltagem-dependente por um íon de magnésio (Mg²⁺) localizado no poro do receptor. A liberação sustentada por nociceptores de glutamato e neuropeptídeos substância P (SP) e ao peptídeo do gene relacionado a calcitonina (CGRP) levam à despolarização suficiente da membrana plasmática, forçando o íon Mg²⁺ a deixar o poro do receptor de NMDA, quando então a ligação do glutamato ao receptor gera uma corrente interna, e influxo de Ca²⁺. Este influxo em grande quantidade de íons cálcio ativa numerosas vias intracelulares que contribuem para a manutenção da sensibilização central²⁷. Além do papel crítico do NMDAR em aumentar a excitabilidade dos neurônios nociceptivos, a ativação do grupo I mGluRs pelo glutamato também parece ser importante para o desenvolvimento de sensibilização central⁶. A substância P (SP), que é co-liberada com o glutamato por nociceptores peptidérgicos amielínicos (fibras C), também está envolvida na geração de sensibilização central^{28,29}. A SP liga-se a neurocinina-1 (NK1), receptor acoplado à proteína-G causando despolarização da membrana de longa duração. A ablação de neurônios que expressam o receptor NK1 na medula espinhal leva à redução na sensibilização central induzida por capsaicina, confirmando a importância da SP nesse fenômeno. O peptídeo do gene relacionado a calcitonina (CGRP), também sintetizado pelos neurônios sensitivos de pequeno diâmetro, potencializa os efeitos da SP e participa na sensibilização central por meio de receptores pós-sinápticos de CGRP1, que ativam a proteína cinase A e C (PKA e PKC)³⁰.

O CGRP também aumenta a liberação de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) de nociceptores trigeminal, que possam contribuir para a sua participação na enxaqueca e outras cefaleias primárias³¹.

A bradicinina, substância pró-inflamatória, que ativa e sensibiliza o aferente primário, também é produzida na medula espinhal em resposta a estímulos dolorosos periféricos intensos e age por meio de seu receptor B2, que é expresso pelos neurônios do corno dorsal, aumenta a eficácia sináptica ativando as proteino cinase A (PKA), proteino cinase C (PKC) e cinases reguladas por estímulo extracelular (ERK). ERK também pode ser ativada por via descendente serotoninérgica (5-HT) envolvendo o receptor 5-HT3 e, possivelmente, o receptor 5-HT7.

PAPEL DO ÍON CÁLCIO E A PLASTICIDADE NEURONAL

O aumento do Ca²⁺ intracelular a partir de certa concentração parece ser o principal gatilho para desencadear a sensibilização central. O influxo de cálcio por meio de NMDAR parece ser particularmente importante na fase de indução. O influxo também ocorre por meio de AMPAR permeáveis ao cálcio, e a partir da liberação intracelular por microsomas armazenados em resposta à ativação de receptores metabotrópicos³². O aumento do cálcio intracelular faz com que os receptores AMPAR e NMDAR sejam fosforilados por PKA/PKC que modificam suas atividades e o tráfego de receptores para a membrana plasmática³³.

A fosforilação de receptores AMPAR e NMDAR durante a sensibilização central aumenta a densidade e atividade desses receptores, levando à hiperexcitabilidade pós-sináptica. A primeira fase de sensibilização central é um rápido aumento das sinapses excitatórias e glutamatérgicas no corno dorsal, fortalecendo a transmissão nociceptiva e recrutando o estímulo não nociceptivo para esta via. Isto é conseguido pela fosforilação de numerosos receptores e canais iônicos que levam a alterações no limiar e cinética dos canais bem como modificação na transmissão dos receptores na sinapse^{34,35}.

A estimulação de AMPAR e NMDAR participa da ativação de vias intracelulares que sustentam a sensibilização central e incluem a via da fosfolipase C (PLC) e PKC, da via da fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K) e da via do sistema proteínocinase ativada por mitógeno/cinase regulada por sinal extracelular (MAPK/ERK)³⁶⁻³⁸. A ativação de ERK por sua fosforilação ocorre após estimulação nociceptiva intensa vinda da periferia, semelhante àquela presente na sensibilização central. A fosforilação de ERK é considerada um marcador da neuroplasticidade neuronal que ocorre na sensibilização central^{39,40}.

A ativação da PKC também contribui e é um importante fenômeno para a hiperexcitabilidade dos neurônios de segunda ordem por diversas maneiras. Primeiro, a PKC reduz o bloqueio de Mg²⁺ do NMDAR e aumentando a probabilidade da abertura canal, facilitando o estado ativado do NMDAR⁴¹. A PKC ativada diminui a transmissão inibitória, reduzindo os níveis de ácido gama amino butírico

(GABA) da inibição tônica da glicina⁴², da inibição descendente conduzida pela substância cinzenta periaquedutal PAG. A desinibição é outro mecanismo que torna as fibras mais suscetíveis a estímulos excitatórios, sendo um mecanismo de desencadeamento e manutenção da sensibilização central⁴³.

De modo resumido, pode-se dizer que a sensibilização central seja um fenômeno geral, que produz mudanças distintas no processo somatossensitivo, gerada e mediada por diversos mecanismos diferentes que, em resposta ao estímulo do nociceptor, podem: (1) aumentar a excitabilidade da membrana, (2) facilitar a transmissão sináptica ou (3) diminuir influências inibitórias em neurônios do corno dorsal.

A sensibilização central pode tornar-se patológica em situações em que ela torna-se autônoma e mantida mesmo na ausência de evento periférico ativo. A sensibilização central representa não só um estado em que a dor pode ser desencadeada por estímulos menos intensos, mas também quando pode ser mantida por um tipo diferente de estímulo.

A sensibilização central pode ocorrer em diversos tipos de dor. A seguir será abordada a sua ocorrência na DN, objeto, objeto deste número da revista.

Após a lesão de nervo periférico, as fibras C e A lesionadas passam a gerar potenciais de ação espontâneos e podem iniciar e manter a sensibilização central^{44,45}.

Fibras sensitivas não lesadas também podem participar das aferências que induzem a sensibilização central nos neurônios do corno dorsal⁴⁶. Após a lesão no sistema nervoso periférico pode ocorrer degeneração das terminações de fibras C no corno dorsal, com, consequente, perda deste estímulo pré-sináptico e início do fenômeno de brotamento de outros axônios como os das fibras A β , que passam a ter sinapses em diferentes lâminas^{47,48}.

As alterações na plasticidade neuronal após lesão de nervo periférico são de maior monta do que as induzidas por dor inflamatória. Ocorrem alterações de transcrição de canais iônicos, receptores, neurotransmissores e proteínas de ação intracelular^{49,50,52}. Na DN há importante desinibição nas lâminas mais superficiais do corno dorsal da medula com diminuição de correntes gabaérgicas e glicinérgicas, em parte, pelo fenômeno de apoptose⁵³. A morte neuronal parece ser resultado de citotoxicidade induzida pelo aumento da expressão de receptores de NMDA e de sua ativação⁵⁴. Após lesão neuronal periférica também ocorre aumento na atividade de controles descendentes excitatórios vindos do tronco encefálico e diminuição da ação de controles inibitórios^{55,56}.

A ativação glial é bastante intensa após lesão de nervo periférico assim como a infiltração de células imunes. A ativação de micróglia e astrócitos, tanto em quantidade como temporalmente, é maior após lesão neuronal do que em resposta à inflamação^{57,58}. Micróglia e astrócitos ativados produzem e liberam fatores tróficos, neurotransmissores, citocinas, quimiocinas, liberam substâncias como óxido nítrico e BDNF e também podem levar à apoptose neuronal^{59,60}. Normalmente, a ativação microglial é mais precoce e participa do início do processo de sensibilização central e a ativação de astrócitos é mais lenta, mas permanece por tempo mais prolongado, com papel mais importante na manutenção da hiper-sensibilidade neuronal em relação às micróglia⁶¹.

CONCLUSÃO

A cronificação da dor pode surgir como resultado de alterações nas propriedades dos neurônios no SNC pelo fenômeno da sensibilização central. As vias nociceptivas estão sujeitas à modulações excitatórias e inibitórias. Mudanças no equilíbrio destas modulações podem alterar as propriedades funcionais dos neurônios e reduzir o limiar de dor, aumentar a magnitude e duração das respostas às aferências nociceptivas e permitindo que aferências normalmente não dolorosas passem a gerar sensações dolorosas. A dor não é simplesmente reflexo das aferências vindas da periferia, mas um reflexo dinâmico de plasticidade neuronal central. A neuroplasticidade altera profundamente a sensação dolorosa, contribuindo para muitas síndromes clínicas da dor e pode representar um importante alvo para intervenção terapêutica.

A complexidade é assustadora, pois a essência da sensibilização central é um mosaico de constantes mudanças e de alterações na excitabilidade da membrana, reduções na transmissão inibitória e aumento da eficácia sináptica, mediada por muitos convergentes e divergentes mecanismos moleculares sobre um fundo de mudanças fenotípicas e alterações estruturais.

REFERÊNCIAS

- Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science*. 1965;150(3699):971-9.
- Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA, Morris HR. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature*. 1975;258(5536):577-80.
- Kosterlitz HW, Waterfield AA. In vitro models in the study of structure-activity relationships of narcotic analgesics. *Annu Rev Pharmacol*. 1975;15:29-47.

- Le Bars D, Chitour D, Kraus E, Clot AM, Dickenson AH, Besson JM. The effect of systemic morphine upon diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) in the rat: evidence for a lifting of certain descending inhibitory controls of dorsal horn convergent neurons. *Brain Res*. 1981;215(1-2):257-74.
- Woolf CJ. Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity. *Nature*. 1983;306(5944):686-8.
- Latremoliere A, Woolf CJ. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain*. 2009;10(9):895-926.
- Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron*. 2006;52(1):77-92.
- Bliddal H, Danneskiold-Samsøe B. Chronic widespread pain in the spectrum of rheumatological diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2007;21(3):391-402.
- Burstein R, Jakubowski M. Analgesic triptan action in an animal model of intracranial pain: A race against the development of central sensitization. *Ann Neurol*. 2004;55(1):27-36.
- Price DD, Zhou Q, Moshiree B, Robinson ME, Verne GN. Peripheral and central contributions to hyperalgesia in irritable bowel syndrome. *J Pain*. 2006;7(8):529-35.
- Ablin J, Neumann L, Buskila D. Pathogenesis of fibromyalgia - a review. *Joint Bone Spine*. 2008;75(3):273-9.
- Cook AJ, Woolf CJ, Wall PD. Prolonged C-fibre mediated facilitation of the flexion reflex in the rat is not due to changes in afferent terminal or motoneuron excitability. *Neurosci Lett*. 1986;70(1):91-6.
- Burstein R, Yamamura H, Malick A, Strassman AM. Chemical stimulation of the intracranial dura induces enhanced responses to facial stimulation in brain stem trigeminal neurons. *J Neurophysiol*. 1998;79(2):964-82.
- Dostrovsky JO, Guilbaud G. Nociceptive responses in medial thalamus of the normal and arthritic rat. *Pain*. 1990;40(1):93-104.
- Neugebauer V, Li W. Differential sensitization of amygdala neurons to afferent inputs in a model of arthritic pain. *J Neurophysiol*. 2003;89(2):716-27.
- Wei F, Zhuo M. Potentiation of sensory responses in the anterior cingulate cortex following digit amputation in the anaesthetized rat. *J Physiol*. 2001;532(Pt 3):823-33.
- Maihofner C, Jesberger F, Seifert F, Kaltenhauser M. Cortical processing of mechanical hyperalgesia: a MEG study. *Eur J Pain*. 2009;4(1):64-70.
- Wall PD, Woolf CJ. Muscle but not cutaneous C-afferent input produces prolonged increases in the excitability of the flexion reflex in the rat. *J Physiol*. 1984;356:443-58.
- Jordt SE, Bautista DM, Chuang HH, McKemy DD, Zygmunt PM, Högestätt ED, et al. Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibers through the TRP channel ANKTM1. *Nature*. 2004;427(6971):260-5.
- McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista DM, Siemens J, Deranian KL, Zhao M, et al. TRPA1 mediates formalin-induced pain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(33):13525-30.
- Stephenson FA, Cousins SL, Kenny AV. Assembly and forward trafficking of NMDA receptors (Review). *Mol Membr Biol*. 2008;25(4):311-20.
- Mi R, Sia GM, Rosen K, Tang X, Moghekar A, Black JL, et al. AMPA receptor-dependent clustering of synaptic NMDA receptors is mediated by Stargazin and NR2A/B in spinal neurons and hippocampal interneurons. *Neuron*. 2004;44(2):335-49.
- Polgár E, Watanabe M, Hartmann B, Grant SG, Todd AJ. Expression of AMPA receptor subunits at synapses in laminae I-III of the rodent spinal dorsal horn. *Mol Pain*. 2008;4:5.
- Kerr RC, Maxwell DJ, Todd AJ. GluR1 and GluR2/3 subunits of the AMPA-type glutamate receptor are associated with particular types of neurone in laminae I-III of the spinal dorsal horn of the rat. *Eur J Neurosci*. 1998;10(1):324-33.
- Oh MC, Derkach VA. Dominant role of the GluR2 subunit in regulation of AMPA receptors by CaMKII. *Nat Neurosci*. 2005;8(7):853-4.
- Carlton SM, Hargett GL. Colocalization of metabotropic glutamate receptors in rat dorsal root ganglion cells. *J Comp Neurol*. 2007;501(5):780-9.
- Mayer ML, Westbrook GL, Guthrie PB. Voltage-dependent block by Mg²⁺ of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature*. 1984;309(5965):261-3.
- Afrah AW, Fiska A, Gjerstad J, Gustafsson H, Tjolsen A, Olgart L, et al. Spinal substance P release in vivo during the induction of long-term potentiation in dorsal horn neurons. *Pain*. 2002;96(1-2):49-55.
- Khasabov SG, Rogers SD, Ghilardi JR, Peters CM, Mantyh PW, Simone DA. Spinal neurons that possess the substance P receptor are required for the development of central sensitization. *J Neurosci*. 2002;22(20):9086-98.
- Sun RQ, Lawand NB, Willis WD. The role of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the generation and maintenance of mechanical allodynia and hyperalgesia in rats after intradermal injection of capsaicin. *Pain*. 2003;104(1-2):201-8.
- Edvinsson L. CGRP-receptor antagonism in migraine treatment. *Lancet*. 2008;372(9656):2089-90.
- Guo W, Wei F, Zou S, Robbins MT, Sugiyo S, Ikeda T, et al. Group I metabotropic glutamate receptor NMDA receptor coupling and signaling cascade mediate spinal dorsal horn NMDA receptor 2B tyrosine phosphorylation associated with inflammatory hyperalgesia. *J Neurosci*. 2004;24(41):9161-73.
- Lau CG, Zukin RS. NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2007;8(6):413-26.
- Fang L, Wu J, Lin Q, Willis WD. Protein kinases regulate the phosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors of spinal cord in rats following noxious stimulation. *Brain Res Mol Brain Res*. 2003;118(1-2):160-5.
- Fang L, Wu J, Zhang X, Lin Q, Willis WD. Increased phosphorylation of the GluR1 subunit of spinal cord alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate receptor in rats following intradermal injection of capsaicin. *Neuroscience*. 2003;122(1):237-45.
- Fagni L, Chavis P, Ango F, Bockaert J. Complex interactions between mGluRs, intracellular Ca21 stores and ion channels in neurons. *Trends Neurosci*. 2000;23(1):80-8.
- Kawasaki Y, Kohno T, Zhuang ZY, Brenner GJ, Wang H, Van Der Meer C, et al. Ionotropic and metabotropic receptors, protein kinase A, protein kinase C, and Src contribute to C-fiber-induced ERK activation and cAMP response element-binding protein phosphorylation in dorsal horn neurons, leading to central sensitization. *J Neurosci*. 2004;24(38):8310-21.
- Pezet S, Marchand F, D'Mello R, Grist J, Clark AK, Malcangio M, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase is a key mediator of central sensitization in painful inflammatory conditions. *J Neurosci*. 2008;28(16):4261-70.
- Ji RR, Baba H, Brenner GJ, Woolf CJ. Nociceptive-specific activation of ERK in spinal neurons contributes to pain hypersensitivity. *Nat Neurosci*. 1999;2(12):1114-9.
- Wei F, Vadakkan KI, Toyoda H, Wu LJ, Zhao MG, Xu H, et al. Calcium calmodulin-stimulated adenylyl cyclases contribute to activation of extracellular signal-regulated kinase in spinal dorsal horn neurons in adult rats and mice. *J Neurosci*. 2006;26(3):851-61.
- Chen L, Huang LY. Protein kinase C reduces Mg²⁺ block of NMDA-receptor channels as a mechanism of modulation. *Nature*. 1992;356(6369):521-3.
- Lin Q, Peng YB, Willis WD. Inhibition of primate spinothalamic tract neurons by spinal glycine and GABA is reduced during central sensitization. *J Neurophysiol*. 1996;76(2):1005-14.
- Baba H, Ji RR, Kohno T, Moore KA, Arata T, Wakai A, et al. Removal of GABAergic inhibition facilitates polysynaptic A fiber-mediated excitatory transmission to the superficial spinal dorsal horn. *Mol Cell Neurosci*. 2003;24(3):818-30.

44. Koltzenburg M, Wahren LK, Torebjork HE. Dynamic changes of mechanical hyperalgesia in neuropathic pain states and healthy subjects depend on the ongoing activity of unmyelinated nociceptive afferents. *Pflügers Archiv*. 1992;420:R452.
45. Djouhri L, Kousikou S, Fang X, McMullan S, Lawson SN. Spontaneous pain, both neuropathic and inflammatory, is related to frequency of spontaneous firing in intact C-fiber nociceptors. *J Neurosci*. 2006;26(4):1281-92.
46. Devor M. Ectopic discharge in Abeta afferents as a source of neuropathic pain. *Exp Brain Res*. 2009;196(1):115-28.
47. Woolf CJ, Shortland P, Reynolds M, Ridings J, Doubell T, Coggeshall RE. Reorganization of central terminals of myelinated primary afferents in the rat dorsal horn following peripheral axotomy. *J Comp Neurol*. 1995;360(1):121-34.
48. Mannion RJ, Doubell TP, Coggeshall RE, Woolf CJ. Collateral sprouting of uninjured primary afferent A-fibers into the superficial dorsal horn of the adult rat spinal cord after topical capsaicin treatment to the sciatic nerve. *J Neurosci*. 1996;16(16):5189-95.
49. Fukuoka T, Kondo E, Dai Y, Hashimoto N, Noguchi K. Brain-derived neurotrophic factor increases in the uninjured dorsal root ganglion neurons in selective spinal nerve ligation model. *J Neurosci*. 2001;21(13):4891-900.
50. Xiao HS, Huang QH, Zhang FX, Bao L, Lu YJ, Guo C, et al. Identification of gene expression profile of dorsal root ganglion in the rat peripheral axotomy model of neuropathic pain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(12):8360-5.
51. Obata K, Yamanaka H, Dai Y, Tachibana T, Fukuoka T, Tokunaga A, et al. Differential activation of extracellular signal-regulated protein kinase in primary afferent neurons regulates brain-derived neurotrophic factor expression after peripheral inflammation and nerve injury. *J Neurosci*. 2003;23(10):4117-26.
52. Obata K, Noguchi K. BDNF in sensory neurons and chronic pain. *Neurosci Res*. 2006;55(1):1-10.
53. Moore KA, Kohno T, Karchewski LA, Scholz J, Baba H, Woolf CJ. Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord. *J Neurosci*. 2002;22(15):6724-31.
54. Scholz J, Broom DC, Youn DH, Mills CD, Kohno T, Suter MR, et al. Blocking caspase activity prevents transsynaptic neuronal apoptosis and the loss of inhibition in lamina II of the dorsal horn after peripheral nerve injury. *J Neurosci*. 2005;25(32):7317-23.
55. Vera-Portocarrero LP, Zhang ET, Ossipov MH, Xie JY, King T, Lai J, et al. Descending facilitation from the rostral ventromedial medulla maintains nerve injury-induced central sensitization. *Neuroscience*. 2006;140(4):1311-20.
56. D'Mello R, Dickenson AH. Spinal cord mechanisms of pain. *Br J Anaesth*. 2008;101(1):8-16.
57. Ji RR, Suter MR. p38 MAPK, microglial signaling, and neuropathic pain. *Mol Pain*. 2007;3:33.
58. Latremoliere A, Mauborgne A, Masson J, Bourgoin S, Kayser V, Hamon M et al. Differential implication of proinflammatory cytokine interleukin-6 in the development of cephalic versus extracephalic neuropathic pain in rats. *J Neurosci*. 2008;28(34):8489-501.
59. Raghavendra V, Tanga F, DeLeo JA. Inhibition of microglial activation attenuates the development but not existing hypersensitivity in a rat model of neuropathy. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;306(2):624-30.
60. Milligan ED, Zapata V, Chacur M, Schoeniger D, Biedenkapp J, O'Connor KA, et al. Evidence that exogenous and endogenous fractalkine can induce spinal nociceptive facilitation in rats. *Eur J Neurosci*. 2004;20(9):2294-302.
61. Zhuang ZY, Gerner P, Woolf CJ, Ji RR. ERK is sequentially activated in neurons, microglia, and astrocytes by spinal nerve ligation and contributes to mechanical allodynia in this neuropathic pain model. *Pain*. 2005;114(1):149-59.