

## Efecto del bloqueo de canales ionotrópicos voltaje dependiente de calcio sobre las descargas neuronales mecanorreceptivas

Carlos Quevedo<sup>1,2</sup> y Antonio Eblen-Zajjur<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Neurofisiología, Dpto. Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

<sup>2</sup> Dpto. de Biología, Facultad de Ciencias y Tecnología, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

**Correspondencia:** Antonio Eblen-Zajjur

**E-mail:** aeblen@uc.edu.ve

**Recibido:** Julio 2013      **Aprobado:** Noviembre 2013

### RESUMEN

El presente trabajo evaluó las modificaciones en los patrones de descarga neuronal mecanorreceptiva inducidas por la nifedipina (inhibidor de canales voltaje-dependientes de calcio tipo L) en el modelo de la pata de la cucaracha *P. americana*. Se disecaron las patas metatorácicas de adultos machos, sumergiéndolas en solución Ringer (RIN) o en Ringer más nifedipina ( $100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) por 5 minutos, luego se realizó el registro electrofisiológico durante actividad espontánea (10min) y estimulación mecánica con flexión tibio-femoral (desplazamiento=5mm; aplicación 10s; retiro 10s, por 10min). Los registros multiunitarios se amplificaron y digitalizaron a 11,8KHz. Se analizaron los registros convencionalmente y por procesos puntuales durante la actividad espontánea y con estimulación. Se usó pruebas no paramétricas con significancia en  $P<0,05$ . En 44 experimentos con 1000 a 5000 espigas multiunitarias cada uno, se observó que todas las distribuciones de intervalos interespiga (IIE) se ajustaron a funciones poissonianas, la desviación estándar fue mayor a la media de los IIE, característico de descargas en salvas. No se evidenciaron efectos de la nifedipina sobre los IIE en actividad espontánea ( $P=0,72$ ) o estimulada ( $P=0,47$ ), ni sobre los valores de descargas en salvas espontáneas ( $P=0,32$ ) o estimuladas ( $P=0,37$ ). Sin embargo, se evidenció

una disminución significativa en la frecuencia de descarga del mecanoreceptor durante la fase de inicial de la aplicación del estímulo y un retraso en la fase de adaptación mecanorreceptiva ( $P<0,001$ ), evidenciando el efecto de la nifedipina y su acción sobre los canales de calcio tipo L en los mecanorreceptores. Esto podría explicar los reportes de pacientes con efectos colaterales durante el uso de la nifedipina en relación a la propiocepción.

**Palabras Clave:** Mecanorreceptores, *Periplaneta americana*, nifedipina

### ABSTRACT

#### Effect of voltage dependent calcium channels block on mechanoreceptive neuronal discharges

Changes of neuronal mechanoreceptive discharge pattern induced by nifedipine (voltage activated L-type calcium channel inhibitor) were evaluated in the cockroach (*P. americana*) leg model. Methathoracic legs from male adult insects were dissected and submerged in Ringer solution (RIN) or Ringer with nifedipine ( $100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) for 5 minutes, thereafter, electrophysiological recordings were made in background activity (10min) and during mechanical tibio-femoral flexion (displacement=5mm; 10s:10s on:off for 10min). Multiunitary recordings were amplified and digitalized at 11.8KHz. Conventional and Point process techniques were used for analysis. Non parametrical test with significance at  $P<0.05$  were used. From 44 experiments with 1000 to 5000 multiunitary spikes recorded on each one, all interspike intervals (ISI) distributions fit to a poissonian function. ISI Standard deviation > ISI arithmetic mean which point out to burst discharges. No evidence of nifedipine effect were found on ISI during background activity ( $P=0.72$ ) nor mechanical stimulation ( $P=0.47$ ) not even on burst discharge values ( $P=0.32$  and  $P=0.37$  respectively). However, nifedipine induced a significant reduction on the mechanoreceptor discharge frequency during the early phase of the stimulus and a lengthening of the adaptation phase ( $P<0.001$ ) which evidences the effect of nifedipine and L-type calcium channel on mechanoreceptors. These could explain sensory and proprioceptive collateral effects reported by patient using nifedipine.

**Key Words:** Mechanoreceptors, *periplaneta americana*, nifedipine.

## INTRODUCCIÓN

A pesar de la importancia de la mecanorecepción, los mecanismos iónicos, moleculares y de codificación sensorial en los que se fundamenta no son bien conocidos (1,2). Los mecanorreceptores (MR) son las neuronas sensitivas primordiales del sistema propioceptivo, su estimulación activa canales catiónicos despolarizantes de sus membranas (3), teniendo como característica resaltante la capacidad de adaptarse ante un estímulo constante (3). La adaptación se expresa clásicamente con un decaimiento, generalmente exponencial, en la frecuencia de descarga, a pesar de mantenerse estable la aplicación de un estímulo mecánico (4,5,6). Los MR de adaptación rápida son los más frecuentemente presentes en los tegumentos de mamíferos e insectos (6) y tienen como función la detección de pequeños y rápidos cambios mecánicos tegumentarios (6). En insectos, el MR más común consta de un pelo rígido asociada a cuatro células: a) epidérmica; b) tricógena; c) tormógena y d) nerviosa (7). Ésta última se une a un aferente primario el cual ingresa al sistema nervioso central, mostrando similitud con los mamíferos (6,7). La deformación del pelo produce la estimulación de la neurona (8). En la *P. americana* los MR son de fácil acceso y estudio electrofisiológico, con respuestas indistinguibles a los MR presentes en la piel de mamíferos como el humano (8).

Es bien conocido que las concentraciones intracelulares de calcio y sodio regulan la excitabilidad neuronal (9). Los canales de calcio voltaje dependiente del tipo L (CCVD-L) se expresan en densidad considerable en los MR y son importantes en el control de la frecuencia

de descarga permitiendo incrementar su excitabilidad eléctrica (1) y por lo tanto, su bloqueo puede reducir la sensibilidad mecánica (1,10). Estos hechos sugieren que los medicamentos que actúan sobre los CCVD-L podrían estar modificando la calidad y cantidad de información propioceptiva. Por ello, se postuló la asociación del calcio con las respuestas de la fase de adaptación en MR (11), hecho que no mostró ser significativo, por el contrario, el aumento del calcio intracelular redujo la tasa de descarga del MR (12).

Por otro lado, el uso de cationes divalentes inhibidores del influjo de calcio celular modificó significativamente los patrones de respuestas de los MR (13). Estos son contrastantes requiriéndose el uso de un modelo experimental validado para aclarar la participación de los CCVD tipo L en los MR.

El uso masivo de bloqueantes de CCVD en pacientes como tratamiento hipotensor, antianginoso, vasodilatador cerebral, antiarrítmico cardíaco y/o antiangodínico, entre otros usos (14), abre la posibilidad de que estos pacientes puedan estar padeciendo de alteraciones propioceptivas como efecto colateral a la medicación, de hecho se reportan efectos colaterales como mareos, parestesias, caídas e incoordinación neuromuscular (15).

La nifedipina es una dihidropiridina bloqueante de los CCVD-L y constituye uno de los medicamentos más usados en las patologías antes mencionadas (14).

En el presente estudio se evaluó las posibles modificaciones en los patrones de descarga del MR inducidas por la nifedipina usando el modelo experimental de la pata de la cucaracha.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Montaje y preparación de la muestra.

Insectos adultos masculinos de *P. americana*, anestesiados con frío (2min a 4°C) fueron decapitados, se disecó bilateralmente las patas metatorácicas desde la base de la coxa. Las patas fueron sumergidas aleatoriamente en solución Ringer(12) de composición: NaCl 124mM; KCl 10mM; CaCl<sub>2</sub> 5mM; MgCl<sub>2</sub> 1mM; Sacarosa 40mM; buffer MES 3mM, ó en Ringerconteniendo una concentración final de nifedipina(NIF) de 100µg.mL<sup>-1</sup>preparada a partir de la solución madre de 20mg.mL<sup>-1</sup> (Tensopin®, Laboratorios Leti®). Esta concentración es similar a las obtenidas por dosis agudas suministradas en humanos. Las soluciones en las que se sumergieron las patas se mantuvieron con aireación por microburbujeo a temperatura ambiente de 22°C y protegido de la luz debido a la fotosensibilidad del medicamento.

Luego de esto, la pata se fijó a una tabla de corcho usando 3 electrodos de acero inoxidable calibre 21 que atravesaban la pata transversalmente en montaje diferencial femoral y aterramiento proximal coxal. Este montaje dejó libre la tibia y el fémur para permitir el estudio de las respuestas de receptores pilosos periarticulares ante la estimulación mecánica.

El estímulo mecánico se aplicó mediante un solenoide acoplado a una fuente de poder DC12V de bajo ruido, un estilete plástico se fijó al brazo móvil del solenoide de manera tal de ejercer siempre el mismo desplazamiento angular articular en flexión tibio-femoral de 5mm. La punta del estilete poseía una terminación plana de un radio de 5mm, posicionada perpendicularmente a éste, de manera tal que oprimía las espinas tibiales al

mismo tiempo que se aplicaba el desplazamiento.

Se procedió a grabar la actividad neuronal espontánea durante 10 minutos, luego de lo cual se grabó la actividad evocada por la aplicación del estímulo mecánico con series alternas de 10 segundos de flexión tibio-femoral (5 mm mantenidos constantes) y 10 segundos de reposo durante 10 minutos.

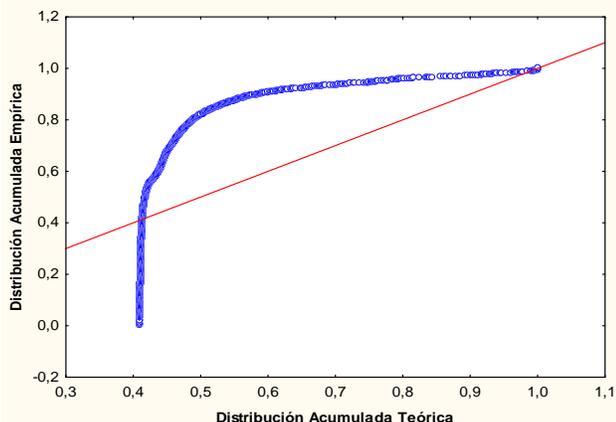
**Registro de actividad eléctrica.** Las descargas neuronales multiunitarias se amplificaron (x10.000) con un bioamplificador AC/DC Modelo 1800 (A&M Systems®) de alta impedancia de entrada con filtros abiertos y filtro 50-60Hz activo. La señal se digitalizó mediante la tarjeta de sonido de un computador convencional a 11,8KHz, la visualización a tiempo real, grabación, discriminación de espigas y análisis fuera de línea de las señales se realizó mediante el programa libre g-Prime(16). El algoritmo de discriminación de las espigas se basó en la técnica de multiumbrales de amplitud, obteniéndose los tiempos de descarga de cada tipo de potencial de acción (axón) los cuales fueron finalmente analizados mediante técnicas de procesos puntuales, para lo cual se usó el programa libre Neuropack(17).

**Análisis de la Actividad Neuronal Mecanorreceptiva.** Desde el punto de vista neuronal, las respuestas eléctricas se caracterizaron matemáticamente por su frecuencia de descarga (potenciales de acción por unidad de tiempo [Hz]), intervalo interespiga(IIE), distribución de los IIE, dispersión del valor de los IIE y adaptación ante un estímulo constante(17). El patrón de descarga neuronal en salva, es decir con agrupación de los potenciales de acción en el tiempo, se evaluó con los parámetros convencionales para ello, el coeficiente de variación ( $CV = \frac{\text{Desviación estándar de IIE}}{\text{IIE}}$  x

100] / media aritmética) y el coeficiente de dispersión (CD= Raíz cuadrada (Varianza / Media aritmética), siendo valores de CV>100 y/o CD>10 sugestivos de salvas (17). Las comparaciones de los grupos se realizaron mediante pruebas no paramétricas (Wilcoxon) y el nivel de significancia se fijó en P<0,05. Se utilizó el paquete estadístico libre PASTv.2.04 (18).

**RESULTADOS**

Se realizaron 44 experimentos, grabándose en cada uno de ellos entre 1000 y 5000 potenciales de acción. Todas las distribuciones de los IIE, en condiciones RIN y NIF, tanto en actividad espontánea como bajo estimulación mecánica, se ajustan a funciones poissonianas por lo que la DE fue superior a la media aritmética de los IIE (Fig.1 y Tabla 1), igualmente los altos CV (superiores al 100%) y de CD denotan la generación de descargas en salvas (Fig.1 y Tabla 1).



**Figura 1.** Distribución acumulada de intervalos interespiga (círculos azules) de un registro basal sin nifedipina, nótese la comparación con una distribución gaussiana teórica (línea roja) con la misma media aritmética.

En un registro basal RIN (Fig.1), se muestra la distribución acumulada de intervalos interespiga en comparación con una distribución gaussiana que posee la misma media aritmética, hecho similar observado en el grupo NIF. Esto concuerda con las

distribuciones poissonianas clásicamente descritas para descargas neuronales.

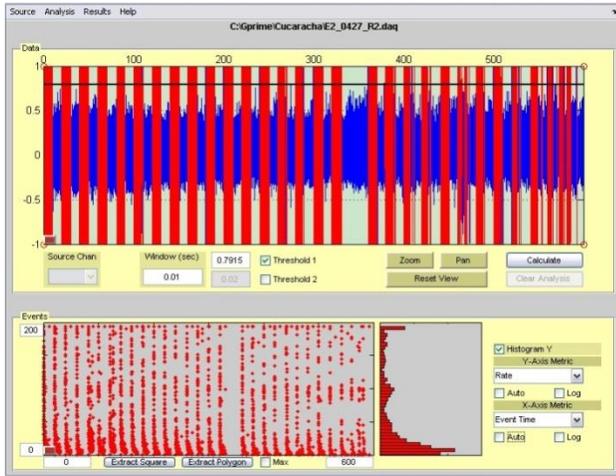
No se evidenció ningún efecto estadísticamente significativo de la NIF sobre los IIE tanto en actividad espontánea (Wilcoxon, T=29, z=0,35; P=0,72) como estimulada (Wilcoxon, T=25, z=0,71; P=0,47), lo cual indica la ausencia de efecto sobre la frecuencia media de descarga neuronal mecanorreceptiva durante los 10 minutos de registro de actividad espontánea y los 10 minutos de estimulación mecánica.

**Tabla I.** Análisis del efecto de la nifedipina sobre los intervalos interespiga de las descargas de mecanorreceptores de la pata de la cucaracha.

	N	Media	P-25	P-75	CV	CD
Basal Control	18.474	538,5	298,2	773,8	251,2	74,5
Basal Nifedipina	16.349	575,7	100,3	753,6	388,1	91,3
Estímulo Control	22.836	48,6	27,1	47,7	440,7	60,3
Estímulo Nifedipina	21.452	34,9	27,3	44,2	408,0	57,5

n=Total de espigas analizadas; P-25 y P-75=Percentiles 25 y 75, CV=Coeficiente de Variación; CD=Coeficiente de Dispersión. Ninguna de las diferencias control-nifedipina fue significativa.

En la Fig.2(panel superior) se observa el registro electrofisiológico de las descargas eléctricas multiunitarias de los MRs durante la estimulación mecánica repetitiva de 10 segundos, las barras rojas representan la secuencia de potenciales de acción evocados por la estimulación. En el panel inferior (izquierda) se observa las frecuencias instantáneas de descarga durante cada estimulación; nótese el típico decaimiento exponencial en cada descarga debido a la adaptación. El histograma de la derecha es la acumulación de los eventos con integración horizontal.

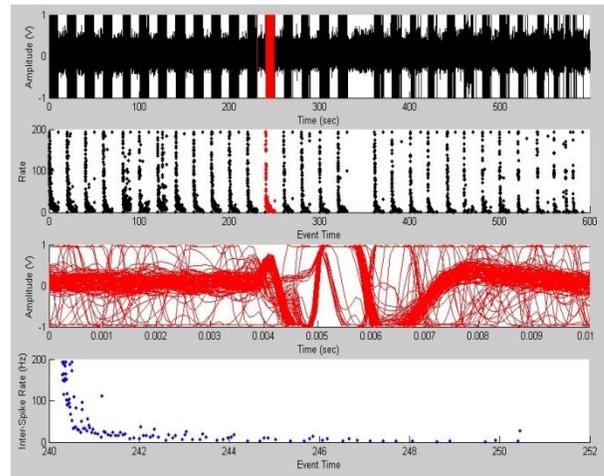


**Figura 2.** Registro multiunitario de MRs durante la estimulación mecánica intermitente (10s) visualizado mediante el programa G-Prime. Panel superior descargas multinunitarias mezcladas con ruido (azul), en rojo las espigas detectadas según su amplitud. Panel inferior izquierdo frecuencia instantánea (Rate Hz) versus tiempo (s). Panel inferior derecho histograma de eventos acumulados según frecuencia.

La Figura 3 muestra las descargas multiunitarias de un registro durante estimulación mecánica.

En el panel superior se aprecia las descargas multiunitarias de los MRs, cuyas frecuencias instantáneas aparecen en el segundo panel, el tercer panel muestra las diferencias morfológicas de los potenciales de acción registrados y el panel inferior muestra la respuesta adaptativa y su decaimiento ante el estímulo mecánico constante.

Es de hacer notar la intensidad del decaimiento o adaptación con cerca de 200 espigas por segundo al inicio de la estimulación a menos de 10 Hz a los 8 a 10 segundos de aplicación del estímulo (Fig.3 panel inferior).



**Figura 3.** Pantalla de análisis de datos mostrando los resultados de un experimento con Nifedipina y estimulación.

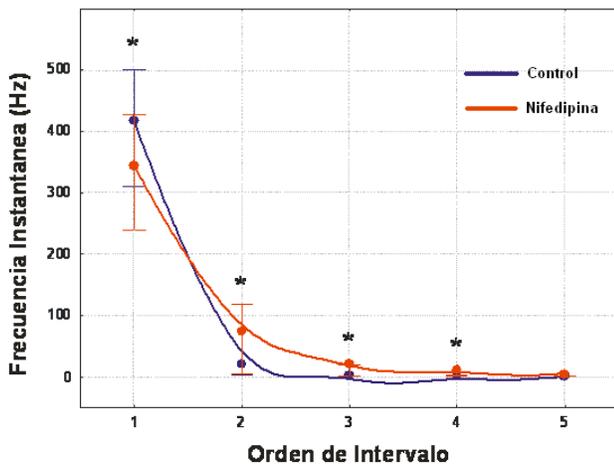
No se evidenció ningún efecto estadísticamente significativo de la NIF sobre los valores indicadores de descargas en salvas de intervalos interespiga, tanto en actividad espontánea (Wilcoxon,  $T=23$ ,  $z=0,51$ ;  $P=0,32$ ) como estimulada (Wilcoxon,  $T=28$ ,  $z=0,61$ ;  $P=0,37$ ), indicando que la nifedipina no modificó el patrón de descarga neuronal en salvas (Tabla 2).

**Tabla 2.** Análisis del efecto de la nifedipina sobre las descargas en salvas de MRs de la pata de la cucaracha evaluado mediante el Coeficiente de Variación y el Coeficiente de Dispersión.

CV	Media	P-25	P-75	DE
<b>Basal RIN</b>	251,21	136,40	369,20	139,76
<b>Basal NIF</b>	325,00	144,70	388,13	468,91
<b>Estímulo RIN</b>	440,67	361,40	528,50	133,19
<b>Estímulo NIF</b>	408,02	327,10	476,50	106,31
CD	Media	P-25	P-75	DE
<b>Basal RIN</b>	74,45	40,90	92,30	39,12
<b>Basal NIF</b>	91,27	53,60	95,60	61,71
<b>Estímulo RIN</b>	60,32	51,90	65,60	11,84
<b>Estímulo NIF</b>	57,48	47,90	67,40	14,66

P-25 y P-75 = Percentiles 25 y 75, DE = Desviación Estándar; CV = Coeficiente de Variación; CD = Coeficiente de Dispersión. Ninguna de las diferencias RIN-NIF fue significativa.

Al analizar la frecuencia instantánea de descarga del MR durante los 5 primeros potenciales de acción generados (quinto orden) se observó que la NFP disminuyó la frecuencia de descarga del MR durante la fase inicial de aplicación del estímulo mecánico y redujo la velocidad de adaptación mecanorreceptiva (Fig.4). El análisis de correlación entre la frecuencia de descarga del MR y el ordinal del intervalo interespiga durante la aplicación del estímulo mecánico, resultaron ser altamente significativas, tanto para el grupo RIN como para el NFP ( $r= -0,99$ ;  $P<0,0001$ ) siendo sus ecuaciones de regresión estadísticamente diferentes (Tabla 3).



**Figura 4.** Frecuencia instantánea de descarga y orden del intervalo interespiga de los MRs de la pata de la cucaracha en la fase inicial de la aplicación del estímulo mecánico sostenido. Los valores corresponden a la media±desviación estándar; los asteriscos indican diferencias significativas con  $P<0,001$  (Wilcoxon). Control=RIN; Nifedipina=NIF.

**Tabla 3.** Ecuaciones de regresión de las frecuencias de descarga instantánea y el orden de la descarga en MR de la pata de la cucaracha.

Grupo	Curva de ajuste	Mínimos cuadrados	P
RIN	$y=(14,62*x^{**0,62})/\ln(x)$	174,23	<0,001
NIF	$Y=(2,17*x^{**0,49})*\ln(x)$	506,46	<0,001

y = Intervalo interespiga; x= Ordinal del intervalo interespiga

## DISCUSIÓN

En el presente estudio se registraron las descargas eléctricas de mecanorreceptores de la pata de la cucaracha con y sin nifedipina. Bajo las condiciones experimentales, se evidenció que la nifedipina es capaz de reducir la frecuencia de descarga del mecanorreceptor durante la fase inicial de aplicación del estímulo mecánico persistente y prolongar la fase de adaptación al mismo (12). Este hallazgo original confirma el efecto de la nifedipina sobre la propiocepción y en especial sobre los MRs, primer eslabón de la vía sensitiva propioceptiva (19).

El proceso de adaptación en una neurona sensorial depende de 2 componentes biofísicos, uno visco-elástico referido a las propiedades mecánicas del propio receptor (5), y otro iónico-molecular consecuencia del comportamiento de canales ionotrópicos y segundos mensajeros intracelulares (3). La adaptación expande el rango operativo de repuestas del MR permitiendo una máxima ganancia y corta latencia de respuesta ante un amplio espectro de intensidades del estímulo con una excelente relación señal-ruido (6). En este sentido, los resultados del presente estudio sugieren que la nifedipina posee un efecto sobre el mecanismo iónico-molecular, reduciendo el rango operativo del MR, reduciendo su ganancia máxima y prolongando su latencia de respuesta.

La evaluación de las respuestas adaptativas sensoriales reviste especial interés dada su trascendencia para la vida del sujeto (20). La adaptación ante un estímulo constante se expresa inicialmente con la reducción de la frecuencia de descarga del receptor y luego con una dinámica de respuesta neuronal a pequeñas señales fuertemente depende de un alto nivel de ruido de fondo (20) como es el

caso específico de los MRs de la pata de la cucaracha.

La disminución en la frecuencia de descarga durante la fase inicial descrita en el presente estudio es atribuible al hecho que la nifedipina inhibe selectivamente los CCVD tipo L (larga duración), es decir, canales que poseen una cinética particular de largos tiempos de apertura(21,22), efectos similares ya han sido reportados en otros sistemas neuronales, como es el caso de la reducción en las descargas en salvas de neuronas del locus niger(23).

Sin embargo, la prolongación de la fase de adaptación ante el estímulo difiere de los resultados esperados, esto es, la selectividad del bloqueo de los CCVD tipo L por parte de la nifedipina, permite que los otros CCVD tipo P, Q y T y ligando-dependientes como el NMDA puedan ser los responsables de mantener las descargas (24). Eso sugiere el papel importante que estos otros tipos de canales de calcio pudieran estar desempeñando en el buen funcionamiento de la respuesta mecanorreceptiva. Por otro lado, el reporte del bloqueo inespecífico de los canales de  $Ca^{++}$  mediante níquel en MR de adaptación lenta de la araña, en el que se redujo solo un 25% la frecuencia inicial de descarga ante la estimulación mecánica, manteniendo la misma constante de tiempo en el decaimiento adaptativo (10) es evidencia de la participación de otros canales excitatorios en los MRs.

Los canales tipo L y N que permiten el influjo de calcio, pueden estar asociados con los receptores de rianodina, un tipo especial de canales de calcio intracelular, modificando la capacidad de descargas en salvas (22). Sin embargo, esta relación funcional no ha sido demostrada en las membranas de mecanorreceptores.

La nifedipina redujo la respuesta inicial y la pendiente de adaptación de los MRs ante un estímulo mecánico constante, lo cual evidencia la participación de los CCVD tipo L en la excitabilidad inicial del mecanoreceptor(11). El reporte de que el aumento del gradiente de calcio transmembrana redujo la respuesta adaptativa del MR(12) sugiere un escenario donde los potenciales transmembrana estarían modulando la actividad de los canales de calcio (25). A este respecto, en el presente estudio se usó una estrategia diferente, por cuanto se bloqueó al CCVD tipo L reduciendo su influjo obteniéndose una reducción de la adaptación por disminución de la respuesta inicial ante la aplicación del estímulo.

Algunos reportes (26) demuestran que la nifedipina redujo aproximadamente un 25% el influjo y la concentración intracelular de calcio en células hipocampales, pero no fue capaz de evitar las descargas epileptogénicas; esta observación, tomando en cuenta los resultados del presente estudio, concordaría con la capacidad de la nifedipina para reducir la excitabilidad inicial ante la aplicación del estímulo mecánico, no así la respuesta sostenida.

La reducción de la frecuencia inicial y la prolongación de la fase de adaptación son efectos importantes, por cuanto estas dos características definen electrofisiológica y funcionalmente al mecanorreceptor en su condición de sensor fásico (27), en la medida en que persista y se intensifique esta acción de la nifedipina, el MR se aproxima funcionalmente a los receptores de respuesta tónica(28), cuyas funciones son totalmente distintas. Ello pudiera explicar las manifestaciones parestésicas, mareos y pérdida del equilibrio reportados como efectos secundarios del uso de nifedipina(15).

La nifedipina posee un efecto atenuador de la descarga inicial en neuronas hipocámpales cultivadas seguido con el mantenimiento de la frecuencia de descarga por arriba del nivel basal(26); sin embargo, la explicación de este efecto se basa en la presencia, en estas neuronas, no sólo de los canales de calcio tipo L, sino de canales ionotrópicos de glutamato del tipo NMDA (N-metil-D-aspartato). La presencia de este tipo de canales en insectos y específicamente en la cucaracha ya ha sido reportado (29). Si bien los resultados del presente estudio evidencian la participación de los CCVD tipo L, dada la especificidad de acción de la nifedipina, la participación de otros tipos de canales permeables a calcio como los NMDA o la viametabotrópica calcio-calmodulina-proteincinasa II (30) requerirán ser evaluados.

Desde el punto de vista clínico, extrapolando al hombre los resultados de los efectos de la nifedipina sobre los mecanorreceptores, es probable que la intensidad y calidad de la propiocepción se encuentre alterada, en primer lugar, por el hecho de que la frecuencia de descarga inicial del mecanorreceptor constituye el factor primordial de detección del movimiento en la codificación sensorial (15), se incluye en este aspecto la sensación articular, dérmica y muscular; en segundo lugar, la frecuencia de descarga ulterior y el fenómeno de adaptación son igualmente importantes en el control y la corrección del movimiento, de manera que es probable que los efectos colaterales reportados por los pacientes que reciben tratamientos con nifedipina, especialmente mareos, confusión, incoordinación neuromuscular y similares, puedan ser debidos a las alteraciones de los patrones de descarga de los mecanorreceptores inducidas por el medicamento en cuestión.

La prolongación de la respuesta adaptativa sugiere que las dosis de nifedipina que fue utilizada en el presente estudio no bloquearon una población suficiente de mecanorreceptores como para reducir a la mínima expresión la actividad adaptativa de los mecanorreceptores, estudios adicionales de la curva dosis-respuesta pueden aclarar el efecto de un bloqueo masivo de canales de calcio así como la precisa determinación de la codificación de la intensidad del estímulo mecánico (31) y la consecuente cascada de señalización intracelular (32).

**Agradecimiento.** Los autores expresan su agradecimiento al Deutscher Akademischer Austauschdienst (DAAD) de la República Federal de Alemania, por el financiamiento del Amplificador utilizado.

## REFERENCIAS

1. Shin JB, Martínez-Salgado C, Heppenstall PA, Lewin GR. A T-type calcium channel required for normal function of a mammalian mechanoreceptor. *Nature Neurosci.* 2003; 6:724-730.
2. Gillespie PG y Walker RG. Molecular basis of mechanosensory transduction. *Nature* 2001, 413:194-202.
3. Walker RG, Willingham AT, Zuker CS. A *Drosophila* mechanosensory transduction channel. *Science*, 2000, 287: 2229-2234.
4. French AS, Torkkeli PH. The Power Law of Sensory Adaptation: Simulation by a Model of Excitability in Spider Mechanoreceptor Neurons. *Ann Biomed Eng*, 2008; 36:153-161
5. French AS. The systems analysis approach to mechanosensory coding. *Biological Cybernetics* 2009; 100:417-426.
6. Juusola M, French AS, Transduction and Adaptation in Spider Slit Sense Organ Mechanoreceptors, *J Neurophysiol*, 1995; 74:2513-2523.
7. Gillott C. *Entomology*. Springer, 3<sup>rd</sup> Edition. 2005, New York. 383-411

8. Oakley B, Schafer R. Mechanoreception: Tactile Receptors on the Insect Leg. En *Experimental Neurobiology*, Michigan University Press, 1978; 174-179.
9. Perret D, Luo ZD. Targeting voltage-gated calcium channels for neuropathic pain management. *Neurotherapeutics*. 2009; 6:679-692.
10. Höger U, French AS. Slow adaptation in spider mechanoreceptor neurons. *J Comp Physiol A*. 2005; 191: 403-411.
11. French AS. The receptor potential and adaptation in the cockroach tactile spine. *J Neurosci*, 1984; 4:2063-2068.
12. French AS. The role of calcium in the rapid adaptation of an insect mechanoreceptor. *J Neurosci*. 1986; 6:2322-2326.
13. French AS. After-hyperpolarization and receptor potential attenuation following bursts of action potentials in an insect mechanoreceptor. *Can J Physiol Pharmacol*. 1985; 63:18-22.
14. Hirasawa M, Pittman Q. Nifedipine facilitates neurotransmitter release independently of calcium channels. *PNAS* 2003; 100:5589-5590
15. Robertson RM, Robertson D. Drugs use for the treatment of myocardial ischemia. En *The pharmacological basis of therapeutics*, MacGraw-Hill, International Edi. NY, 1996. pp. 759-779.
16. Lott G, Johnson B, Bonow R, Land B, Hoy R. g-PRIME: A Free, Windows Based Data Acquisition and Event Analysis Software Package for Physiology in Classrooms and Research Labs, *JUNE*, 2009; 8:50-54
17. Eblen-Zajjur A. Analysis of single and multiple neuronal discharges as point processes: a computer program set. *Acta Cient Venez*. 1995; 46:34-40.
18. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 2001; 4(1):9.
19. Hamill G, McBride DW. Molecular Mechanisms of Mechanoreceptor Adaptation, *Physiol Sci*. 1994; 9: 53-59
20. Rieke F, Warland D, van Steveninck RR, Bialek W. Spikes, exploring the neural code. *MIT Press*, Cambridge, 1999, p.275.
21. Chi XX, Schmutzler BS, Brittain JM, Wang Y, Hingtgen CM, Nicol GD, Khanna R. Regulation of N-type voltage-gated calcium channels (Cav2.2) and transmitter release by collapsin response mediator protein-2 (CRMP-2) in sensory neurons. *J Cell Sci*. 2009; 122:4351-4362.
22. Cordoba-Rodriguez R, Moore KA, Kao JPY, Weinreich D. Calcium regulation of a slow post-spike hyperpolarization in vagal afferent neurons. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 1999; 96:7650-7657.
23. Shepard PD, Stump D. Nifedipine blocks apamin-induced bursting activity in nigral dopamine-containing neurons. *Brain Res*. 1999; 817:104-109.
24. Beurrier C, Congar P, Bioulac B, Hammond C. Subthalamic Nucleus Neurons Switch from Single-Spike Activity to Burst-Firing Mode. *J Neurosci* 1999; 19:599-609
25. French AS. Transduction mechanisms of mechanosensilla. *Annu Rev Entomol*. 1988; 33:39-58.
26. DeLorenzo RJ, Pal S, Sombati S. Prolonged activation of the N-methyl-D-aspartate receptor-Ca21 transduction pathway causes spontaneous recurrent epileptiform discharges in hippocampal neurons in culture. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 1998; 95:14482-14487
27. Willis WD Jr, Coggeshall R. 2004. Sensory mechanisms of the spinal cord: primary afferent neurons and the spinal dorsal horn. Third ed. Vol.1. Plenum Press. New York, USA.
28. French AS. Dynamic properties of the action potential encoder in an insect mechanosensory neuron. *Biophys J*. 1984; 46:285-290
29. Chiang A-S, Lin W-Y, Liu H-P, Pszczolkowski MA, Fu T-F, Chiu S-L, Holbrook GL. Insect NMDA receptors mediate juvenile hormone biosynthesis. *PNAS* 2002; 99:37-42
30. Torkkeli PH, Panek I, Meisner S. Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase II mediates the octopamine-induced increase in sensitivity in spider VS-3 mechanosensory neurons. *Eur J Neurosci*. 2011; 33:1186 - 1196
31. Zill SN, Büschges A, Schmitz J. Encoding of force increases and decreases by tibial campaniform sensilla in the stick insect, *Carausius Morosus*. *J Comp Physiol A*. 2011; 197:851-867.
32. Schmitz J, Höger U, Torkkeli PH, French AS. Calcium buffering and clearance in spider mechanosensory neurons. *J Comp Physiol A*. 2012; 198:477-483