



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**Estandarización de un método para medir
hiperalgesia orofacial después de la lesión
experimental del nervio mentoniano en un
modelo traslacional**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

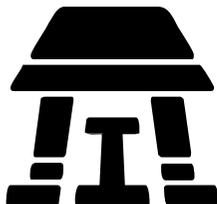
**C I R U J A N O
D E N T I S T A**

P R E S E N T A

Daniel Quiñonez Parra

Director: **Dr. Isaac Obed Pérez Martínez**

Dictaminadores: **Dra. Cynthia Georgina Trejo Iriarte
Dr. Eduardo Llamosas Hernández
Dr. Alejandro García Muñoz
Mtro. Manuel Javier Toríz Maldonado**



Los Reyes Iztacala, Edo de México, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

1. Resumen.....	6
2. Introducción.....	8
3. Marco teórico.....	9
3.1. Dolor.....	10
3.2. Clasificación del dolor.....	11
3.2.1. Dolor nociceptivo.....	11
3.2.2. Dolor neuropático.....	12
3.2.3. Dolor agudo.....	12
3.2.4. Dolor crónico.....	12
3.3. Anatomía del dolor.....	14
3.3.1. Sistema nervioso periférico.....	14
3.3.1.1. Nociceptores.....	14
3.3.1.1.1. Cutáneos.....	14
3.3.1.1.1.1. Nociceptores A-δ.....	14
3.3.1.1.1.2. Nociceptores C.....	15
3.3.1.1.2. Músculo-articulares.....	15
3.3.1.1.3. Viscerales.....	15
3.3.1.2. Axones.....	15
3.3.1.2.1. Tipos.....	16
3.3.1.2.1.1. Fibras A- δ.....	16
3.3.1.2.1.2. Fibras C.....	16

3.3.1.2.1.3.	Fibras A- β	16
3.3.2.	Sistema nervioso central.....	16
3.3.2.1.	Aferencias nociceptivas al SNC (neuronas de primer orden).....	16
3.3.2.2.	Neuronas nociceptivas (neuronas de segundo orden).....	16
3.3.2.3.	Mecanismos tálamo-corticales (neuronas de tercer orden).....	17
3.4.	Fisiología del dolor.....	17
3.4.1.	Principales mediadores periféricos.....	18
3.4.1.1.	Hidrogeniones y potasio.....	19
3.4.1.2.	Adenosina trifosfato (ATP).....	19
3.4.1.3.	Norepinefrina.....	19
3.4.1.4.	Serotonina.....	19
3.4.1.5.	Bradicinina.....	20
3.4.1.6.	Óxido nítrico.....	20
3.4.1.7.	Prostaglandinas y eicosanoides.....	20
3.4.1.8.	Citocinas.....	20
3.5.	Medición del dolor.....	21
3.5.1.	Principales métodos utilizados para la valoración del dolor neuropático en animales de experimentación.....	23
3.5.1.1.	Dolor evocado por estímulos mecánicos.....	23
3.5.1.1.1.	Valoración de la alodinia mecánica.....	23
3.5.1.1.1.1.	Filamentos de Von Frey (alodinia estática).....	23
3.5.1.1.1.2.	Pincel suave con algodón (alodinia dinámica).....	23

3.5.1.1.2.	Valoración de la hiperalgesia mecánica.....	23
3.5.1.1.2.1.	Presión de la pata (método de Randall-Sellito) o de la cola.....	23
3.5.1.1.2.2.	Pinchazo de la pata o del área facial.....	23
3.5.1.2.	Dolor evocado por estímulos térmicos calientes.....	23
3.5.1.2.1.	Valoración de la hiperalgesia a estímulos calientes.....	23
3.5.1.2.1.1.	Retirada de la pata (método de Hargreaves) o de la cola de un foco calorífico.....	23
3.5.1.2.1.2.	Inmersión de la cola en agua caliente (48-55°C).....	23
3.5.1.2.1.3.	Placa caliente (50-55°C).....	23
3.5.1.2.1.4.	Laser de CO ₂	23
3.5.1.2.2.	Valoración de la alodinia a estímulos calientes.....	23
3.5.1.2.2.1.	Inmersión de la cola en agua templada (38-42°C).....	23
3.5.1.2.2.2.	Placa caliente con incremento progresivo de la temperatura.....	23
3.5.1.3.	Dolor evocado por estímulos térmicos fríos.....	23
3.5.1.3.1.	Valoración de la alodinia a estímulos fríos.....	23
3.5.1.3.1.1.	Estimulación de la pata con acetona o con cloruro de etilo.....	23
3.5.1.3.1.2.	Inmersión de la cola en agua fría (5-10°C).....	24
3.5.1.3.2.	Valoración de la hiperalgesia a estímulos fríos.....	24
3.5.1.3.2.1.	Placa fría (-5-+5°C).....	24
3.5.1.4.	Dolor evocado por estímulos químicos.....	24
3.5.1.4.1.	Inyección intraplantar de formalina.....	24

3.5.1.5. Dolor espontáneo.....	24
3.5.1.5.1. Análisis de la postura y del comportamiento del animal.....	24
3.5.1.5.2. Cuantificación de la conducta de autonomía.....	24
4. Planteamiento del problema y justificación.....	27
5. Hipótesis.....	29
6. Objetivos.....	30
6.1. General.....	30
6.2. Específicos.....	30
7. Metodología.....	31
7.1. Consideraciones éticas.....	31
7.2. Sujetos.....	31
7.3. Cirugía.....	32
7.4. Pruebas conductuales.....	33
7.4.1. Registro en video y análisis de comportamientos nociceptivos espontáneos.....	33
7.4.2. Test de Von Frey.....	34
8. Resultados.....	36
9. Discusión.....	39
10. Conclusiones.....	40
11. Referencias.....	41

1. Resumen

Uno de los retos actuales de la medicina, es el control del dolor.

El dolor crónico no controlado es un problema de salud pública debido a las deficiencias en el tratamiento efectivo, detrás de este problema, está la ineficacia en estudios conductuales.

A pesar de la magnitud del problema y del interés médico, científico y social que supone la atención y el tratamiento de las personas con dolor crónico, este es un problema infravalorado o tratado inadecuadamente en muchos de los casos, y a pesar de haber muchas terapias actuales para este tipo de condiciones de dolor, para muchos pacientes están lejos de ser óptimas, esto debido a que la comprensión de la fisiopatología de los trastornos dolorosos que surgen de las estructuras inervadas por el trigémino es todavía limitada.

Con el fin de lograr una mejor comprensión del fenómeno del dolor, se han desarrollado diversos métodos para su medición. Uno de ellos consiste en reproducir el dolor en el laboratorio.

La mayoría de los experimentos de medición del dolor orofacial, se basan en la lesión por constricción crónica de la rama infraorbitaria del nervio trigémino. En el presente experimento, se provocó una lesión por constricción crónica del nervio mentoniano para lograr el estado deseado de hiperalgesia orofacial crónica. Las ratas del grupo con cirugía mostraron un incremento significativo en los patrones nociceptivos aislados de aseo facial después de la cirugía y con respecto a las ratas del grupo control e intacto, logrando desarrollar un estado de hiperalgesia mecánica, demostrando ser un método eficaz para provocar un estado de dolor neuropático orofacial.

1. Abstract

One of the current challenges of medicine, is pain control.

Uncontrolled chronic pain is a public health problem due to deficiencies in effective treatment. Behind this problem is ineffectiveness in behavioral studies.

Despite the magnitude of the problem and the medical, scientific and social interest involved in the care and treatment of people with chronic pain, this is a problem that is undervalued or inadequately treated in many cases, and despite many current therapies For this type of pain conditions, many patients are far from optimal because of the limited understanding of the pathophysiology of painful disorders arising from innervated structures by trigeminal.

In order to gain a better understanding of the phenomenon of pain, various methods have been developed for its measurement. One is to reproduce the pain in the laboratory.

Most of the orofacial pain measurement experiments are based on the chronic constriction injury of the infraorbital branch of the trigeminal nerve. In the present experiment, a lesion

was induced by chronic constriction of the mental nerve to achieve the desired state of chronic orofacial hyperalgesia. Rats in the surgery group showed a significant increase in the nociceptive patterns of facial cleansing after surgery and in relation to the intact and control rats, and managed to develop a state of mechanical hyperalgesia, proving to be an effective method to provoke a State of orofacial neuropathic pain.

2. Introducción

El dolor orofacial es responsable del 40% de todos los síndromes dolorosos que se presentan en la población, de los cuales alrededor del 7-11% de ellos son crónicos. La realidad es que para muchos pacientes los tratamientos que existen no son los óptimos.

Esto debido a que el entendimiento que hay sobre los trastornos dolorosos derivados de estructuras inervadas por el nervio trigémino todavía es limitado.

El presente estudio busca desarrollar un modelo traslacional en roedores para medir la hiperalgesia orofacial causada tras lesionar por constricción crónica unilateral el nervio mentoniano, usando este modelo se evaluaron tanto los comportamientos nociceptivos específicos de trastornos dolorosos en la región orofacial, como el periodo de tiempo en el que se vuelven más persistentes, así como para medir la hiperalgesia causada ante un estímulo mecánico, dada por los filamentos de Von Frey.

Para medir la hiperalgesia se utilizaron 24 ratas wistar divididas en 3 grupos (n=8 por grupo), con un peso entre los 150-300 g, con agua y comida *ad libitum*. Al grupo experimental se le realizó la exposición del nervio mentoniano y se ligó con sutura 6-0 hasta lograr el grado de constricción deseado, al grupo control solamente se le expuso el nervio mentoniano sin ligarlo. Los animales fueron video grabados y después analizados por un observador, a doble ciego, el cual cuantificó y registró el número de acicalamientos orofaciales y las respuestas ante los filamentos de Von Frey durante los días -1 (pre-quirúrgico), 3, 6, 10 y 15 después de la cirugía.

3. Marco teórico

Uno de los retos actuales de la medicina, es el control del dolor. La Asociación Mexicana para el Estudio y Tratamiento del Dolor (AMETD), motivaron la generación de las guías de práctica para el tratamiento del dolor en sus diferentes contextos: dolor agudo, peri operatorio, neuropático y por cáncer, en base a la preocupación por ayudar en el control del dolor. [69]. Diversos autores han considerado que el dolor es un problema de salud. [71]. Este problema de salud afecta del 25 al 29% de la población general a nivel internacional. Si consideramos que México cuenta con 105 millones de habitantes, entonces es posible que poco más de 28 millones de habitantes padezca dolor crónico. [70].

El dolor se define como la percepción de un estímulo potencialmente lesivo; el cual, conjunta a diversas experiencias no placenteras causadas por un daño tisular (sensoriales, emocionales y cognitivas), y que se manifiestan por ciertas reacciones fisiológicas, autonómicas y conductuales. [71].

El dolor crónico no controlado es un problema de salud pública debido a las deficiencias en el tratamiento efectivo, detrás de este problema está la ineficacia en estudios conductuales, pues la mayoría de modelos de estudio miden sólo los reflejos motores causados por la sensación dolorosa, lo cual no representa completamente el procesamiento de dolor en humanos. [72].

En este sentido, cualquier sensación somática debe ser vista desde tres perspectivas: sensorial, hedónica y motivacional. [73]. La dimensión sensorial describe la localización, intensidad y las cualidades físicas de un estímulo somatosensorial. El aspecto hedónico, nos refiere que tan placentero o aversivo es el estímulo, es decir, nos describe si una sensación es

dolorosa, irritante o favorable. El aspecto motivacional produce el deseo de terminar, reducir o escapar de la experiencia nociva, de la misma manera que una sensación placentera produce deseo de continuar o incrementar la sensación. [74].

La sensación de dolor también incluye el aspecto sensorial, hedónico y motivacional; estas dimensiones del dolor son representadas en el cerebro, el tálamo está involucrado en el procesamiento e integración de estas dimensiones del dolor. [73]. Lesiones en núcleos del tálamo producen alivio de dolor en humanos [75], por otro lado, la manipulación de regiones corticales que reciben la información nociceptiva procesada en el tálamo, produce cambios conductuales. [76,77].

Por lo tanto el entendimiento de estos procesos a nivel de sistema nervioso central, nos da pautas para la búsqueda de alternativas terapéuticas para controlar el dolor, también abre una puerta de posibilidades para mejorar y entender los mecanismos de acción de terapias analgésicas actuales.

3.1 DOLOR

Debido a que la experiencia del dolor tiene una naturaleza compleja, se ha hecho difícil definirla, sin embargo la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor por sus siglas en inglés (IASP), la definió como: “Experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a daño actual o potencial, descrita en términos de dicho daño”. [7].

El dolor también se puede entender por las respuestas de comportamiento que provoca, que incluyen la motivación para escapar, terminar o evitar procesos que dañan los tejidos [8]. Además de su papel protector de tejidos, el dolor proporciona una señal que permite a las

personas evitar daños futuros. Por lo tanto el dolor puede considerarse un castigador primario y su relieve da lugar al refuerzo negativo. [4].

El dolor se puede clasificar como dolor agudo, y crónico. El dolor agudo es la activación de las vías nociceptivas a través de un estímulo nocivo, el cual tiene como función proteger al organismo [7]. Mientras que en el dolor crónico, la relación entre el dolor y la lesión es difícil de precisar, pues permanece en el tiempo a pesar de que las causas de su origen hayan desaparecido. [9].

De igual manera el dolor puede diferenciarse en dos: en nociceptivo, como consecuencia de una lesión somática o visceral y en dolor neuropático como resultado de una lesión y alteración en la transmisión de la información nociceptiva a nivel del sistema nervioso central o periférico. [10].

3.2 CLASIFICACIÓN DEL DOLOR

3.2.1 Dolor nociceptivo

El dolor nociceptivo es el resultado de la activación directa de receptores específicos (nociceptores) en la piel o los tejidos blandos en respuesta a una lesión tisular, puede estar acompañado por inflamación y es el tipo de dolor más frecuente. La activación de estos receptores produce una disminución en el umbral nociceptivo, este fenómeno se conoce como hiperalgesia, que se refiere a una respuesta aumentada ante cualquier estímulo doloroso. El dolor puede ser somático (piel y estructuras superficiales), el cual es bien localizado y descrito como punzante y agudo. Puede ser visceral (estructuras profundas), que no es bien localizado y generalmente se describe en un área mayor, a menudo referido a estructuras cutáneas. [10].

3.2.2 Dolor neuropático

Dolor neuropático se genera por una lesión directa, enfermedad o disfunción del sistema nervioso, que involucra a los nervios periféricos, el ganglio de la raíz dorsal, el asta dorsal o el sistema nervioso central. En este tipo de dolor se presentan los fenómenos de hiperalgesia y alodinia. La alodinia es la respuesta dolorosa que se debe a un estímulo que normalmente no provoca dolor. [10].

3.2.3 Dolor agudo

Se manifiesta por alguna lesión o herida bien especificada, dentro de un periodo corto de tiempo y de forma predecible. El dolor agudo es bien localizado, produce molestia persistente, conjuntamente, hay una respuesta global del organismo en proporción a la magnitud del estímulo doloroso, se acompaña de ansiedad, rabia o rechazo y de signos físicos autonómicos.

Puede ser superficial como en la piel y mucosas, profundo en músculos, huesos, articulaciones, ligamentos y vísceras. El dolor agudo puede aparecer por una inflamación, daño en un tejido, lesión, enfermedad o cirugía reciente, por lo general, se describe de acuerdo síntomas como: dolor intenso, enrojecimiento, temperatura local elevada e hinchazón. Con frecuencia el dolor agudo desaparece cuando se da tratamiento o resuelve la causa que lo originó o con la recuperación de la enfermedad. [11].

3.2.4 Dolor crónico.

Su inicio se da de forma gradual y permanece en el tiempo a pesar de que las causas de su origen hayan desaparecido, al mantenerse el síntoma pierde su sentido de protección y se convierte en la enfermedad en sí [9]. Debido a su persistencia, el dolor crónico se asocia al componente de sufrimiento y a la producción de conductas de dolor, interfiriendo en las demás

dimensiones de la vida de la persona que lo padece: conlleva inactividad, pérdida de apetito, pérdida de peso, insomnio, e incapacidad física y laboral o escolar, con el desgaste correspondiente. [12].

El dolor crónico no responde al tratamiento de una causa específica, se asocia con cambios de la personalidad depresión y sentimientos de tipo negativo. Los factores de riesgo que contribuyen a generar un estado crónico incluyen la predisposición genética, la edad, el género, la experiencia de dolor previo y actitudes hacia dolor [4]. De acuerdo a Caudill et. al., el dolor crónico aparece cuando el propio mecanismo de dolor no funciona o cuando algunos padecimientos vinculados al dolor se convierten en crónicos, situación que conlleva complicaciones de múltiples consecuencias: biológicas (señales físicas que requieren atención inminente), psicológicas (emocionales: sensaciones de ansiedad, depresión y abandono, y cognitivas: producción de pensamientos catastróficos, y de pérdida de control) y sociales (conductas de retraimiento, escasa actividad y relación con otros). [13].

El dolor crónico se asocia con cambios funcionales y morfológicos en las áreas cerebrales subcorticales y corticales que llevan al deterioro cognitivo y hace énfasis en que enfoques multidisciplinarios de investigación han demostrado que el dolor crónico puede ser una consecuencia de cambios plásticos a largo plazo a lo largo de toda la matriz del dolor, es decir, a largo plazo las modificaciones plásticas en redes corticales pueden representar un posible mecanismo básico de dolor crónico, también sostienen que aparte de los cambios funcionales, en el dolor crónico se han reportado alteraciones morfológicas a nivel espinal y supraespinal, y que precisamente los estudios de imagen han permitido argumentar que no existe un simple enlace directo entre el grado de la nocicepción y la experiencia total del dolor [14,15].

3.3 ANATOMÍA DEL DOLOR

Podemos dividir las vías dolorosas de la siguiente manera:

- Sistema periférico: nociceptores y axones.
- Sistema central: neurona de primero, segundo y tercer orden.

3.3.1 SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO

3.3.1.1 NOCICEPTORES

Los nociceptores son receptores sensoriales capaces de diferenciar entre estímulos inocuos y nocivos, estos inervan la mayor parte de los órganos y sistemas del cuerpo humano. Los cuales se manifiestan en las terminaciones periféricas de las fibras aferentes sensoriales primarias; estas reciben y transforman los estímulos locales en potenciales de acción que son transmitidos a través de las fibras aferentes sensoriales primarias hacia el SNC. El umbral al dolor en cada fibra no es constante y va a depender del órgano inervado. Respecto a su función y a su localización se pueden distinguir tres grupos de nociceptores. [7,10, 16].

- **Cutáneos:** Poseen un alto umbral de estimulación, se activan ante estímulos intensos y carecen de actividad en ausencia de un estímulo nocivo. Existen 2 tipos:
 - **Nociceptores A- δ :** Son fibras mielínicas, con alta velocidad de conducción, localizadas en la dermis y la epidermis. Responden principalmente a estímulos mecánicos, aunque también responden a estímulos de otro tipo. Transmiten el 20% de los estímulos, produciendo un dolor agudo, concreto e inmediato. Estas fibras A- δ son capaces de modular la intensidad y el carácter del impulso nervioso.

- ***Nociceptores C:*** Son fibras amielínicas, con una velocidad de conducción lenta, localizadas en la dermis. Responden a estímulos que pueden ser mecánicos, térmicos y químicos así como a las sustancias liberadas de daño tisular (bradicinina, histamina, acetilcolina e iones de potasio). El 80% de los impulsos es vehiculizado por estas fibras. Son responsables de la sensación de dolor difuso y desagradable.

- ***Músculo-articulares:*** En el músculo los nociceptores A- δ responden a contracciones mantenidas del músculo, iones de potasio, bradicinina y serotonina. Los del tipo C responden a la presión, calor e isquemia muscular. Las articulaciones están inervadas por nociceptores las cuales generan respuestas a movimientos articulares nocivos y son las terminaciones de fibras aferentes amielínicas. Se activan por daño tisular o en presencia de una inflamación.

- ***Viscerales:*** La mayoría de estas fibras son amielínicas, están presentes en el corazón, pulmones, tracto respiratorio, testículos, sistema biliar, uréter y uretero. Existiendo los de alto umbral, los cuales solo van a responder a estímulos nocivos e intensos; y los inespecíficos, que pueden responder a estímulos inocuos o nocivos.

3.3.1.2 AXONES

Los impulsos dolorosos, después de ser activados por nociceptores, viajan a través de los axones de las fibras aferentes primarias. Específicamente el dolor se transmite a través de las fibras A- δ y C. [7,16].

TIPOS:

- **Fibras A- δ :** mielínicas, de bajo umbral y conducción rápida. Entran por la porción lateral hasta las láminas I, II Y V. Perciben dolores agudos bien localizados y cuando se estimulan producen una respuesta adecuada.
- **Fibras C:** fibras amielínicas, son de umbral alto. El 70% de las fibras entran por el lado lateral del asta posterior. El 30% restante una vez en el ganglio dorsal, se regresan y entran a la medula por el asta anterior hasta que llegan al asta superior a nivel de la lámina II. Estas fibras son activadas con estímulos intensos o repetitivos generando dolor continuo, insoportable y mal localizado.
- **Fibras A- β :** son fibras de bajo umbral. Entran en la porción media del asta posterior sin hacer sinapsis y dan colaterales a diferentes laminas.

3.3.2 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL**3.3.2.1 *Aferencias nociceptivas al SNC (neurona de primer orden)***

Las fibras aferentes primarias que inervan los nociceptores periféricos tienen sus cuerpos celulares en los ganglios raquídeos, la primera neurona de las vías del dolor, tiene su extremo distal en la periferia, el cuerpo en el ganglio raquídeo y el extremo proximal en el asta posterior de la médula espinal, la distribución de las fibras sensoriales aferentes depende en gran medida de las propiedades funcionales de los receptores sensoriales a los que inervan. [10, 16].

3.3.2.2 *Neuronas nociceptivas (neurona de segundo orden)*

Una proporción importante de estas neuronas envían sus axones a centros supraespinales, bulbares y talámicos. La mayor parte de la información nociceptiva se transmite por vías

cruzadas ascendentes, usualmente los fascículos espino-talámico, espino-reticular y espino-mesencefálico [10]; aunque la mayor parte de vías espinales ascendentes contienen axones de neuronas nociceptivas. El trigémino está constituido por neuronas de segundo orden nociceptivas en el subnúcleo caudal. Además el núcleo caudal contiene mecanorreceptores de bajo umbral, que se activan por la luz de estímulos táctiles [17].

3.3.2.3 Mecanismos tálamo-corticales (neurona de tercer orden)

Los axones que participan en la sinapsis del tracto trigémino-talámico, son neuronas de tercer orden. Toda la información sensorial de la medula espinal y el tronco cerebral pasa a través del tálamo por lo que es una de las estaciones de relevo principal entre el tronco cerebral y las diferentes partes de la corteza somatosensorial. La información sensorial alcanza el tálamo donde es transmitida a varios núcleos [17].

3.4 FISILOGIA DEL DOLOR

El proceso de nocicepción puede dividirse en cuatro procesos individuales: transducción, transmisión, modulación y percepción [18].

La Transducción es el proceso en el que un estímulo nocivo periférico se transforma en un estímulo eléctrico, los estímulos nocivos se convierten en un potencial de acción a nivel de receptores [19].

La Transmisión es la propagación del impulso nervioso que ocurre desde la periferia a la médula y de ahí hasta los niveles sensoriales del sistema nervioso central en forma una centrípeta y ascendente a través de las vías del Sistema Nervioso Periférico y el Sistema Nervioso Central [20].

La Modulación se puede definir como la capacidad que tienen los sistemas analgésicos endógenos de modificar la transmisión del impulso nervioso, mediante la inhibición en las astas dorsales de la médula, y también a nivel periférico u otros niveles) proceso por el que la transmisión es disminuida a diferentes niveles [7].

La Percepción es una experiencia subjetiva y emocional en la que interactúan los tres procesos mencionados con anterioridad.

Existen sustancias que están involucradas en la nocicepción, como iones H^+ y K^+ , los cuales son liberados cuando ocurre un daño tisular, neurotransmisores como serotonina y norepinefrina, mediadores, y péptidos. Algunas de estas sustancias estimulan directamente al receptor nociceptivo y otras modifican su sensibilidad a otros agentes. La activación y desactivación de los nociceptores se produce como consecuencia de cambios en la membrana neuronal, la mayoría de ellos calcio-dependientes [7]. En relación a la estimulación del receptor presináptico hay que distinguir 2 situaciones:

La estimulación simple de un nociceptor que no haya sido sensibilizado previamente. La estimulación nociceptiva en presencia de una lesión inflamatoria que induce la liberación de mediadores químicos y que por consiguiente genera procesos ofensivos más duraderos.

3.4.1 Principales mediadores periféricos

Los principales que activan simultáneamente mecanismos excitadores e inhibidores determinando las características de la señal dolorosa cuando alcanza el asta dorsal medular son:

3.4.1.1 Hidrogeniones y potasio

Los exudados inflamatorios poseen un pH ácido y soluciones ácidas aplicadas a tejidos expuestos producen dolor. Originan una despolarización rápida y mantenida de la fibra álgida, consecuencia del aumento de la conductancia al Na⁺ y Ca²⁺ a través de canales iónicos asociados al receptor para capsaicina, esta sustancia tiene efecto sobre un receptor acoplado a un canal de calcio denominado TRPV1 [16].

3.4.1.2 Adenosina trifosfato (ATP)

Se encuentra en concentraciones escasas en todas las células, pudiendo a estas concentraciones excitar determinadas subpoblaciones neuronales por un aumento de la permeabilidad catiónica. Su administración intradérmica produce un dolor agudo, aunque transitorio [10, 16].

3.4.1.3 Norepinefrina

En aquellas situaciones en que la norepinefrina entra en contacto con nervios seccionados o nociceptores lesionados, las terminaciones sensoriales expresan receptores α -adrenérgicos y esta sustancia induce una excitación y sensibilización de la fibra periférica. Sobre la médula y otros centros superiores, la norepinefrina participa en la modulación inhibitoria del dolor. [21, 22].

3.4.1.4 Serotonina

Interviene en distintos niveles y por mecanismos diferentes; ya que puede activar directamente y producir dolor o sensibilizar a los nociceptores. La serotonina a nivel periférico activa las fibras nociceptivas mientras que a nivel central, participa más en la modulación inhibitoria del dolor. [10, 16].

3.4.1.5 *Bradicinina*

Es uno de los más potentes inductores de dolor presentes en exudados inflamatorios y tejidos lesionados. Estimula los nociceptores por un mecanismo calcio-dependiente, en el que se activan la fosfolipasa A y se sintetizan prostaglandinas. También tiene actividad mitogénica, estimula la secreción, contrae la fibra muscular lisa, estimula las células endoteliales y activa la síntesis de prostanoides a partir del ácido araquidónico [7].

3.4.1.6 *Óxido nítrico*

Es un radical libre que actúa como mensajeros. Parece estar implicado en la nocicepción tanto a nivel periférico como central. A este último nivel, modula la liberación de diversos neurotransmisores (GABA, serotonina, glutamato) y podría participar en procesos de plasticidad y sensibilización central. [7].

3.4.1.7 *Prostaglandinas y eicosanoides*

No activan directamente los nociceptores, sino que intervienen en la sensibilización de los mismos u otros mediadores químicos y en el desarrollo de hiperalgesia. Estas sustancias son producidas cuando se altera la integridad de la membrana celular de tejidos conectivos, debido a la entrada de calcio al espacio intracelular y posteriormente la activación de la fosfolipasa A2. Los fosfolípidos de la membrana son metabolizados por esta enzima convirtiéndolos a ácido a ácido araquidónico, posteriormente este compuesto es metabolizado por la ciclooxigenasa (COX) produciendo prostaglandinas. [7].

3.4.1.8 *Citosinas*

Los nociceptores son estimulados de forma indirecta por las interleucinas, el factor de necrosis tumoral o los interferones, al activar la síntesis y liberación de prostaglandinas. [7].

3.5 MEDICIÓN DEL DOLOR

De un 15%-25% de los adultos sufren dolor crónico en un momento dado, una cifra que aumenta al 50% en los mayores de 65 años. A pesar de la magnitud del problema y del interés médico, científico y social que supone la atención y el tratamiento de las personas con dolor crónico, éste es un problema infravalorado o tratado inadecuadamente en muchos de los casos. [63]. Esto debido a que la comprensión de la fisiopatología de los trastornos dolorosos que surgen de las estructuras inervadas por el trigémino es todavía limitada. Por lo que no es de extrañarse que el diagnóstico y tratamiento del dolor orofacial agudo y crónico, se haya convertido en un tema importante para la odontología y la investigación.

Con el fin de lograr una mayor comprensión del fenómeno del dolor, se han desarrollado diversos métodos para su medición. A pesar de las dificultades metodológicas y conceptuales, se ha tratado de evaluar el dolor de muchas formas, y una de ellas consiste en reproducir el dolor en el laboratorio, para ver cuál es la relación entre el estímulo y la percepción del individuo sobre este. Así, se han podido medir su umbral, cualidad e intensidad de una forma más objetiva. [64].

El dolor experimental se produce en el laboratorio, y se diferencia del dolor clínico en que es menos prolongado, menos intenso, y la duración es determinada. Es importante que el método empleado sea sensible y confiable; por esta razón, se señalan ciertas condiciones que permiten medir tanto el umbral como la tolerancia: a) El estímulo utilizado debe inducir una sensación reconocible de dolor; b) El estímulo debe ser definido claramente en términos físicos; c) Hay que tener cuidado de que el estímulo no vaya a producir daños en los tejidos, aunque sea mínimo; d) Se debe limitar con precisión la zona estimulada; e) El estímulo aplicado no debe modificarse debido a variables extrañas antes de que llegue a los receptores;

f) Se busca lograr la menor incomodidad posible a los sujetos, cuidando siempre de su bienestar; g) La técnica debe de ser sencilla.[64].

Los modelos animales son utilizados para examinar la eficacia de fármacos ya existentes, desarrollo de nuevos y/o para identificar los mecanismos fisiopatológicos que intervienen en el desarrollo y mantenimiento del dolor neuropático.

La mayoría de los modelos de comportamiento (90%; [65]), se centran en el dolor provocado, en el que nosotros hacemos uso de un estímulo externo, para obtener una reacción por parte del roedor, donde lo que se mide es la hipersensibilidad: mecánica (un pinchazo/presión) y térmica (frio/calor). [66]

El otro tipo de modelo que se estudia es con la medición de comportamientos nociceptivos espontáneos (lesión por constricción crónica de algún nervio). [66].

El dolor a pesar de ser una percepción, tiene representaciones visuales muy claras y muy generales en todas partes del mundo, de hecho la cara de dolor, la cara álgica, se comparte en todas las culturas, en toda la historia de la humanidad.

Es una característica que se ha mantenido de forma filogenética a lo largo del tiempo.

Darwin argumentó que los animales no humanos, también pueden expresar emociones con su cara y cuerpo, muchos de los métodos que se mencionan a continuación, se basan en estas expresiones para saber si hay o no presencia de dolor.

3.5.1 **PRINCIPALES MÉTODOS UTILIZADOS PARA LA VALORACIÓN DEL DOLOR NEUROPÁTICO EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

- ***Dolor evocado por estímulos mecánicos:***

Valoración de la alodinia mecánica.

- Filamentos de Von frey (alodinia estática).*
- Pincel suave con algodón (alodinia dinámica).

Valoración de la hiperalgesia mecánica.

- Presión de la pata (método de Randall-Sellito) o de la cola.
- Pinchazo de la pata o del área facial.

- ***Dolor evocado por estímulos térmicos calientes:***

Valoración de la hiperalgesia a estímulos calientes.

- Retirada de la pata (método de Hargreaves) o de la cola de un foco calorífico.
- Inmersión de la cola en agua caliente (48-55°C).
- Placa caliente (50-55°C).
- Laser de CO₂.

Valoración de la alodinia a estímulos calientes.

- Inmersión de la cola en agua templada (38-42°C).
- Placa caliente con incremento progresivo de la temperatura.

- ***Dolor evocado por estímulos térmicos fríos:***

Valoración de la alodinia a estímulos fríos.

- Estimulación de la pata con acetona o con cloruro de etilo.

- Inmersión de la cola en agua fría (5-10°C).

Valoración de la hiperalgesia a estímulos fríos.

- Placa fría (de -5 a +5°C).
- ***Dolor evocado por estímulos químicos:***
 - Inyección intraplantar de formalina.
- ***Dolor espontáneo:***
 - Análisis de la postura y del comportamiento del animal.*
 - Cuantificación de la conducta de autonomía.

[67].

FILAMENTOS DE VON FREY

Son una serie de filamentos de distintos grosores (que permiten aplicar distinta presión según el grosor del filamento). En este modelo el animal se introduce en un compartimento cuyo suelo es una malla metálica. Tras un periodo de exploración del habitáculo, el animal se queda quieto y comienza el experimento. Se puede realizar de dos formas distintas. Frecuentemente se utiliza el método “arriba abajo”, descrito por Chaplan et Al (1994). Para realizarlo se utiliza un filamento de grosor intermedio (capaz de aplicar 2 g de presión en una rata, o 0,4 g en un ratón) a través de uno de los agujeros de la malla y se presiona la planta de la pata hasta que el filamento se dobla, registrando si el animal retira la pata o no. La estimulación se repite 3 veces o más con el mismo filamento (con intervalos de 1-5 segundos entre estímulos) para asegurarse de si hay respuesta o no. Si se produce la respuesta de retirada, se repite la estimulación de la planta, se repite el experimento, pero utilizando un filamento más fino (con el que se ejercerá menor presión) y si no se produce ninguna respuesta de retirada, se repite la estimulación de la planta, pero con un filamento más grueso. El proceso experimental continua

hasta que se determina el filamento de menor grosor con el que se produce al menos una respuesta de retirada de la pata en las tres veces que se estimula o bien hasta llega a estimular sin respuesta de retirada con el filamento de mayor grosor de los estudiados (Chaplan et al. 1994). La otra forma de realizar el experimento solo se diferencia de la anterior en que la planta de la pata del animal comienza a estimularse con el filamento más fino y se aplican sucesivamente filamentos más gruesos, registrándose el porcentaje de estímulos en los que los animales retiran la pata con cada filamento (La Buda et al. 2000). En este caso, generalmente se aplica un mayor número de estímulos (hasta 10) para poder calcular el porcentaje de respuesta con una cierta fiabilidad. [78].

Recientemente se han comercializado aparatos que permiten controlar electrónicamente la presión aplicada con un solo filamento que no se dobla. Con estos aparatos la fuerza aplicada va aumentando progresivamente hasta que el animal la retira, y el aparato es capaz tanto de detectar automáticamente la retirada, como de registrar automáticamente la presión aplicada cuando se retira (Wallace et al. 2007; Nieto et al. 2008). [78].

Una característica común de los modelos anteriores es que se aplica un estímulo puntiforme estático (que no se mueve a lo largo de la piel). Sin embargo, en humanos con neuropatías es muy relevante para la afectación de la calidad de vida la alodinia a estímulos dinámicos (que se mueven por la piel), por lo que también se han desarrollado modelos de alodinia dinámica en roedores. En estos modelos se mueve un pincel o cepillos suaves o una punta de algodón a lo largo de la planta de una pata trasera y se registra la frecuencia y/o la duración de la respuesta de retirada de la pata (Field et al. 1999; Sasaki et al. 2008). Estos modelos ponen de manifiesto que los mecanismos implicados en ambos tipos de alodinia en roedores y su sensibilidad farmacológica son diferentes (Field et al. 1996; Yamamoto et al. 2008). [78].

Sólo un número muy limitado de los estudios han intentado medir el dolor crónico espontáneo. Esto está en contraste con el hecho de que la queja principal de los pacientes con dolores el dolor continuo, no hiperalgesia o alodinia [66]. Además, basado en la evidencia existente, la fisiopatología de la hipersensibilidad puede ser diferente de la de dolor crónico espontáneo. [65-68].

Hasta la fecha los patrones aislados de aseo facial seguidos de la ligadura de algún nervio, es el mejor indicador posible del dolor neuropático en ratas. [81].

4 Planteamiento del problema y justificación

El dolor orofacial es responsable del 40% de todos los síndromes dolorosos que se presentan en la población. El diagnóstico y tratamiento del dolor orofacial, agudo y crónico, se ha convertido en un tema importante para la odontología. Además, el dolor orofacial es muy frecuente en la población mundial: alrededor del 17-26% de los cuales del 7-11% son crónicos.

A pesar de haber muchas terapias actuales para este tipo de condiciones de dolor, para muchos pacientes están lejos de ser óptimas.

Diversos artículos indican que el tratamiento del dolor está mal llevado a cabo hasta en un 80% de los casos. Esto debido a que la comprensión de la fisiopatología de los trastornos dolorosos que surgen de las estructuras inervadas por el nervio trigémino, es todavía limitada.

El desarrollo de un modelo traslacional en roedores para el estudio y medición del dolor neuropático orofacial, donde se estandarice un método que nos ayude a conocer cuáles son los días en los que se vuelven más persistentes los patrones nociceptivos y cuáles son las variables necesarias para provocar un estado de hiperalgesia, nos podría orientar para realizar estudios más precisos y sencillos para medir, estudiar y tener un mejor entendimiento de la compleja neurobiología que conlleva el dolor trigeminal.

La mayoría de los experimentos de medición orofacial, se basan en la lesión por constricción crónica de la rama infraorbitaria del nervio trigémino. En este experimento, también está la propuesta de utilizar con mayor frecuencia la lesión por constricción crónica de la rama mentoniana del nervio trigémino como método para la medición de hiperalgesia orofacial, ya que es más sencillo el procedimiento quirúrgico, además de ser menos traumático

para el sujeto experimental, más rápido su tiempo de recuperación, y son menos las variables que podrían afectar la correcta realización de la cirugía.

El desarrollo de este modelo servirá para conocer cuáles son las variables necesarias para obtener un verdadero estado de hiperalgesia orofacial crónica en futuros experimentos y saber con precisión cuáles son los días en los que es mejor tomar registro de los sujetos experimentales, obteniendo mejores resultados de forma más sencilla y menos traumática para los animales.

5 Hipótesis

La frecuencia de los patrones de aseo facial, será mayor en el grupo con constricción crónica del nervio mentoniano, indicando el desarrollo de dolor neuropático crónico orofacial.

La respuesta de hiperalgesia mecánica dada por los Filamentos de Von Frey será mayor en el grupo con constricción crónica del nervio mentoniano.

6 Objetivos

6.1 Objetivo general

Desarrollar un modelo traslacional en roedores para el estudio y medición del dolor neuropático orofacial; establecer comportamientos nociceptivos específicos que nos permitan correlacionar otras variables con un estado de dolor neuropático experimental de la región orofacial.

6.2 Objetivos específicos

1. Evaluar si la lesión por constricción crónica del nervio mentoniano, el registro en vídeo, el análisis de las respuestas orofaciales, y la evaluación de la alodinia e hiperalgesia mecánica dada por los filamentos de Von Frey, son variables suficientes para determinar un estado hiperalgesico después de la constricción experimental de la rama mentoniana del nervio trigémino en ratas.
2. Determinar en qué días después de realizada la lesión nerviosa se vuelven más frecuentes los comportamientos nociceptivos.
3. Comparar la frecuencia de los patrones de aseo facial y el grado de hiperalgesia mecánica en un diseño experimental de casos y controles.

7 Metodología

7.1 Consideraciones éticas

Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo a las normas del comité de ética de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México (Oficio: CE/FESI/042015/1043). Todos los experimentos se realizaron de conformidad con las Pautas Éticas de la Comisión de Investigación y Cuestiones Éticas de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (Zimmermann, 1983) y siguiendo estrictamente las directrices institucionales, que están en cumplimiento de las leyes nacionales, internacionales y políticas para el uso de animales en la investigación en neurociencias.

7.2 Sujetos

Para el experimento se utilizaron 24 ratas wistar con un peso inicial de 150-300 gramos cada una. Fueron colocadas en cajas individuales de acrílico, sometidas a un ciclo invertido de 12:12 horas de luz oscuridad, con acceso *ad libitum* a alimento y agua. Se les dio una semana para que se aclimataran a las condiciones de la habitación. Fueron divididas en 3 grupos de 8 ratas cada uno:

A las ratas del grupo experimental (1) se les realizó una lesión unilateral por constricción crónica del nervio mentoniano.

A las ratas del grupo control (2) solamente se les expuso el nervio mentoniano (sin ligarlo).

A las ratas del grupo intacto (3) no se les realizó ningún procedimiento.

El diseño experimental se dividió en 2 fases:

-Fase 1: Cirugía.

-Fase 2: - Registro de la respuesta a la aplicación de los filamentos de Von Frey.

- Registro en video de comportamientos nociceptivos.

Ambos procedimientos fueron realizados a los días -1, 3, 6, 10 y 15 de realizada la cirugía.

7.3 Cirugía

-Las ratas fueron anestesiadas con Ketamina (100 mg/kg) y Xylazina (8 mg/kg) administrado por vía intraperitoneal.

-Se afeitó la zona en donde se realizó la incisión.

-Para la lesión bilateral por constricción crónica del nervio mentoniano (grupo (1)), se expuso quirúrgicamente el nervio mentoniano cerca de su salida por el foramen mentoniano de la mandíbula. Después se ligaron los nervios con sutura quirúrgica 6-0, hasta obtener el grado deseado de constricción, cuidando no hacer la constricción a tal grado de cortar la circulación epineural y provocar una necrosis.

-Para la exposición del nervio mentoniano (grupo (2)), se expuso quirúrgicamente cada nervio cerca de su salida del foramen mentoniano de la mandíbula, solo que esta vez no se ligaron los nervios.

-Para cerrar la incisión, se utilizó sutura quirúrgica de seda 3-0. Se mantiene aislado en una jaula individual con un ambiente cálido y se le da seguimiento a cada roedor hasta que comience a recuperar la consciencia y pueda mantenerse estable por sí mismo. No se le regresa con los demás roedores hasta que haya recuperado la consciencia por completo.

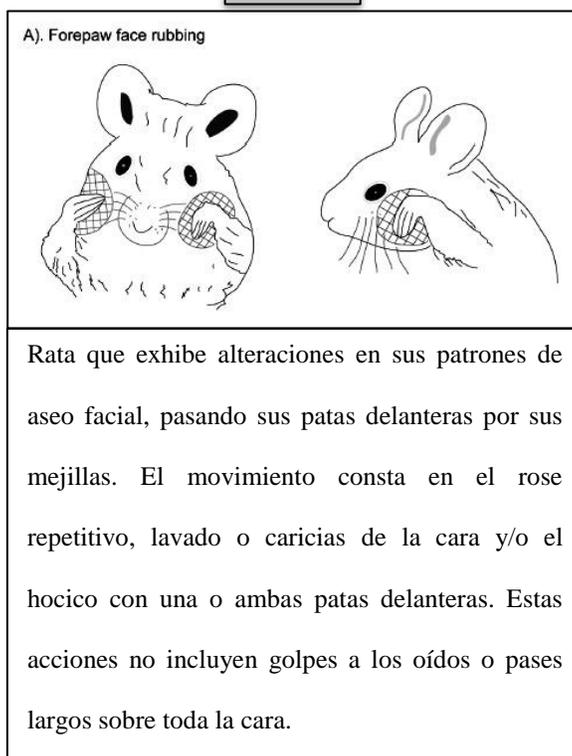
7.4 Pruebas conductuales

Las ratas fueron evaluadas el día previo a la cirugía y a los 3,6, 10 y 15 días posteriores. Cada sesión consistió en 2 pruebas conductuales: (1) Registro en video y análisis de comportamientos nociceptivos espontáneos. (2) Evaluación de la respuesta del animal ante la estimulación mecánica con filamentos de Von Frey.

7.4.1 Registro en video y análisis de comportamientos nociceptivos espontáneos

Cada rata de los tres grupos fue transportada por separado a una habitación libre de ruido y colocada en una caja individual de acrílico transparente, colocando un espejo en la parte trasera de la caja. Una video cámara fue colocada en frente de la caja, a una distancia desde la cual se pudiera observar la totalidad del interior de la caja. Cada rata fue video grabada durante 10 minutos, sin que el observador esté presente en la habitación. Al término de los 10 minutos, se limpió la caja para pasar al siguiente animal, y al anterior se le aplica el test de Von Frey. Los registros en video fueron analizados por el observador, el cual cuantificó los patrones nociceptivos de aseo facial (patrones en los cuales ambas patas delanteras entran en contacto con la región facial afectada por la constricción del nervio mentoniano) (figura 1). Se hizo distinción entre los patrones nociceptivos aislados de aseo facial y los patrones normales de aseo, para que el movimiento fuese contabilizado, no debía estar precedido ni continuado por movimientos de aseo corporal, ni hacia otras regiones faciales. Para la medición de los movimientos, fue utilizado un cronómetro el cual empezaba al inicio de cada movimiento y se detenía al final de este, al final se sumaron todos los tiempos, sacando el total en segundos que cada rata presentó y después haciendo un promedio por grupo y para cada día.

Figura 1



6.4.2. *Test de Von Frey*

Después de ser video grabadas, cada rata de los tres grupos, fue transportada a una caja de acrílico transparente, en donde se le realizó el test de Von frey. El test consistió en utilizar una serie de cinco filamentos con diferentes fuerzas de presión (10 g, 15 g, 26 g, 60 g y 100 g). Durante 1 minuto, se dejó que las ratas se adaptaran a la presencia de la mano del observador y a la de los filamentos. Una vez que el animal se quedó lo suficientemente quieto, se comenzaron a aplicar en orden ascendente los filamentos, esto se realizó de ambos lados de la cara. Para cuantificar las respuestas ante el estímulo se utilizó la siguiente escala. [79].

- (0) Ausencia total de respuesta.
- (1) Detección del estímulo, es decir, que las ratas giran la cabeza hacia el objeto, y este es explorado (oler o lamer).

- (2) Reacción de abstinencia, es decir, la rata gira lentamente la cabeza o tira rápidamente de ella cuando el estímulo es aplicado, en ocasiones se presenta un solo acicalamiento del lado del área estimulada (nota que una reacción de abstinencia incluye un movimiento de detección que precede la retirada de la cabeza, por lo que esta respuesta se compone de dos elementos).
- (3) Escape / ataque, es decir, que además de que las ratas evitan el contacto con el objeto del estímulo, ya sea pasivamente moviendo su cuerpo lejos del estímulo tomando una posición en cuclillas contra la pared de la jaula, o activamente, atacando el objeto del estímulo (mordiéndolo o agarrándolo).
- (4) Patrones asimétricos de aseo facial, es decir, que la rata realiza una serie ininterrumpida de acicalamientos (al menos 3) dirigidos hacia la zona estimulada.

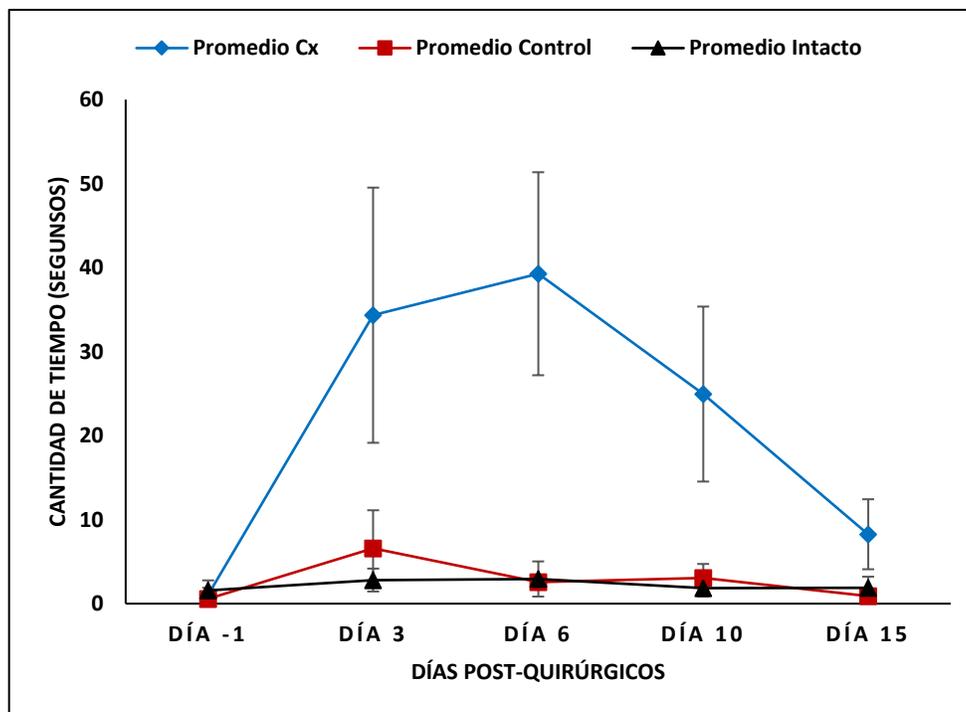
Figura 2



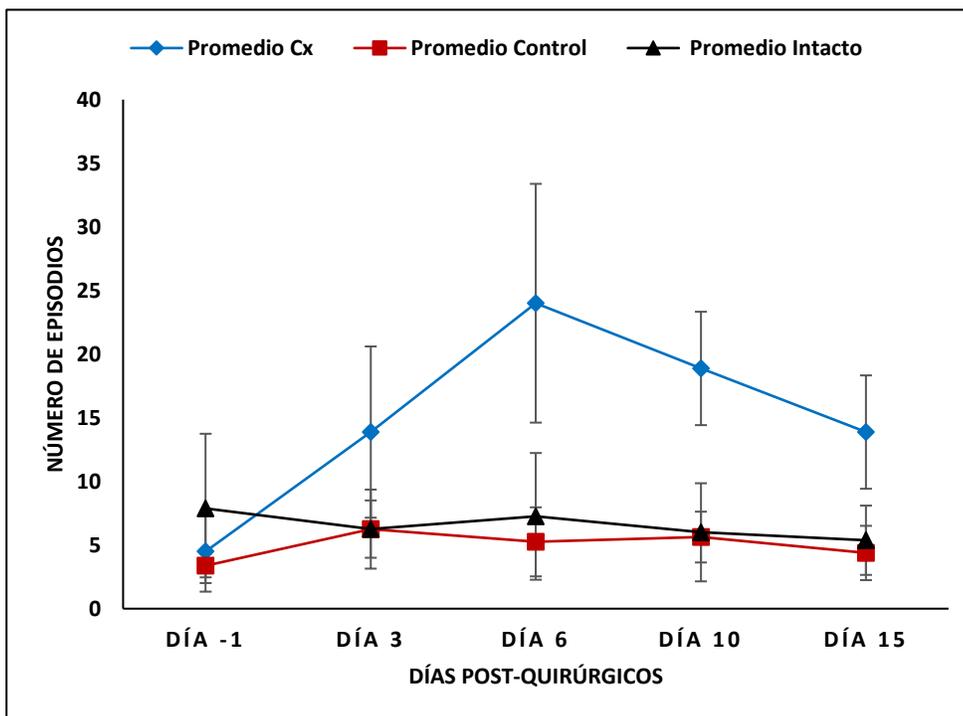
7. Resultados

Las ratas del grupo con cirugía mostraron un incremento significativo en los patrones nociceptivos aislados de aseo facial después de la cirugía y con respecto a las ratas de los grupos control e intacto. Siendo el día 6 el día en el que existe mayor presencia de patrones nociceptivos aislados de aseo facial, y disminuyendo progresivamente hacia el día 15.

A

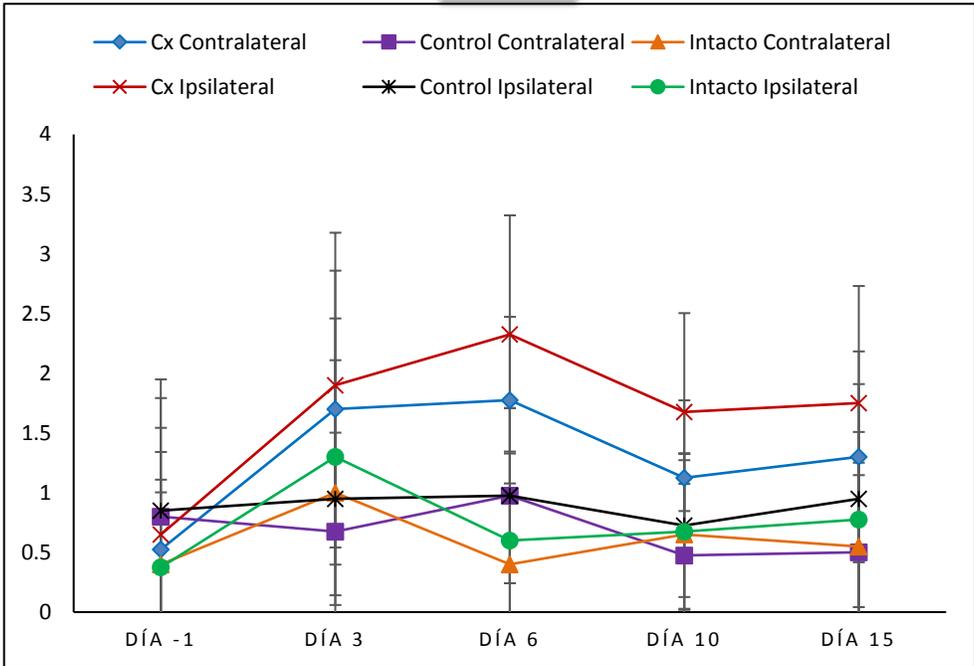


B

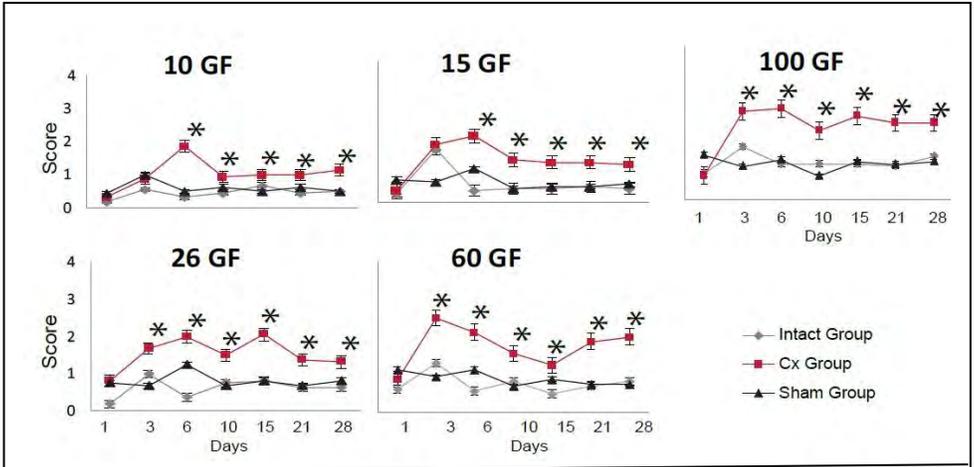


Cambios en los patrones nociceptivos aislados de aseo facial, antes y después de la lesión por constricción crónica del nervio mentoniano. La figura A), representa el promedio ($n=8$ por grupo) de la cantidad de tiempo transcurrido de los patrones aislados de aseo facial. La figura B), representa el promedio ($n=8$ por grupo) del número de episodios de patrones aislados de aseo facial. El día previo a la cirugía (-1) y del día 3-15 posteriores a la cirugía. En el día 3, 6 y 10 hay diferencias significativas entre los grupos, ANOVA ($p<0.05$).

Figura 4



Cambios en la respuesta a la estimulación mecánica dada por los Filamentos de Von Frey antes y después de la lesión por constricción crónica del nervio mentoniano. La figura representa el promedio (n=8 por grupo) de las respuestas a los filamentos de Von Frey en la zona inervada por el nervio mentoniano ya ligado. El día previo a la cirugía (-1) y de los días 3-15 posteriores. No se muestran diferencias significativas entre los grupos.



Cambios en la respuesta asociada a estimulación mecánica en una función dependiente de los gramos fuerza aplicados a la zona mentoniana. Se muestran diferencias significativas entre los grupos ANOVA (p<0.05).

8. DISCUSIÓN

La cirugía utilizada para causar la lesión por constricción crónica del nervio mentoniano, es menos traumática para los sujetos y más sencilla de realizar para el investigador, que la cirugía del nervio infraorbitario, ofreciendo resultados similares [80].

Se encontró que no existen diferencias significativas entre el grupo control y el grupo intacto, descartando así que posibles variables pudieran ocasionar comportamientos nociceptivos en el grupo control; por lo que en futuros estudios no será necesario incluir a un grupo intacto.

En contraste con los resultados que presentan Deseure y Hans, la utilización de la constricción del nervio mentoniano es suficiente para evaluar el desarrollo de hiperalgesia mecánica, como puede apreciarse en la última grafica de resultados, en función de los días es muy claro el desarrollo de hiperalgesia mecánica; por lo tanto, también nos ha sido posible estandarizar el efecto de dicha manipulación quirúrgica, proponiendo así por primera vez un modelo sencillo para la evaluación de la lesión nerviosa trigeminal.

Novedosos sistemas de medición de dolor orofacial como el OPAD, podría ser una alternativa para futuros experimentos, también el uso de la optogenética como método alternativo al tratamiento farmacológico. Las aplicaciones principales de este modelo de medición orofacial, son pruebas del efecto analgésico de nuevos fármacos, comparaciones con los ya existentes, el desarrollo de métodos terapéuticos novedosos; para estudiar la fisiopatología de los trastornos que involucren dolor neuropático trigeminal.

9. CONCLUSIONES

La cirugía para causar la lesión por constricción crónica del nervio mentoniano, es un método eficaz para provocar hiperalgesia y para evaluar la lesión trigeminal.

Utilizar la videograbación de comportamientos nociceptivos espontáneos y la utilización de los filamentos de Von Frey para de la alodinia e hiperalgesia mecánica, son variables suficientes para determinar un estado hiperalgesico después de la constricción experimental de la rama mentoniana del nervio trigémino en ratas.

El sexto día post-operatorio, es el día en el cual hay mayor presencia de patrones nociceptivos, por lo mismo, el más adecuado para hacer cualquier tipo de medición o comparación en cuestión de patrones nociceptivos; por otro lado, la evaluación de hiperalgesia mecánica se puede realizar desde el día 3 al día 28 posterior a la realización de la lesión trigeminal.

10. REFERENCIAS

1. Rolls Et. (2005). *Emotion explained*. Oxford University Press. New York.
2. Bushnell, M.C., Ceko, M. & Low, L.A. (2013). *Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain*. Nat. Rev. Neurosci. 14, 502–511.
3. Schwartz, Temkin, Jurado, Kook Lim, Heifets, Polepalli, Malenka (2014). *Decreased motivation during chronic pain requires long-term depression in the nucleus accumbens*. Journal of Science, 345, 535-542.
4. Apkarian, A.V., Baliki, M.N. & Geha, P.Y. (2009). *Towards a theory of chronic pain*. Prog. Neurobiol.87, 81–97.
5. Gold, M.S. & Gebhart, G.F. Nociceptor. (2010). *Sensitization in pain pathogenesis*. Nat. Med. 16, 1248–1257.
6. Wiech, K. & Tracey, I. (2013). *Pain, decisions, and actions: a motivational perspective*. Front. Neurosci. 7, 46.
7. Masson, S. (1997). *Anatomía y fisiología del dolor*. , in Medicina del dolor. , T.L. (eds), Editor. 53-65.
8. Fields Hl. (2006). *A motivation-decision model of pain: the role of opioids*; Proceedings of the 11th world congress on pain; Seattle: IASP press.449–459.
9. Vanderh, T.W. (2007). *Pathophysiology of Pain*. The Medical Clinics of North America, 91, 1-12.
10. Allan I. Basbaum, T.M.J. (2000). *The Perception of Pain*, in Kandel: Principles of Neurosciences. 473-476.

11. Muriel C, Berro MJ, Camba MA, Contreras D, De Andrés J, González-Escalada JR et al. (2001). *Conceptos, tipos de dolor y Fisiopatología*. Plan Nacional para la Enseñanza y Formación en Técnicas y Tratamiento del Dolor. Sociedad Española del Dolor.
12. Cerdá-Olmedo G, De Andrés J.A. (2002). *Tratamiento del dolor en el paciente terminal*.
13. Caudill, M. A. (2002). *Managing Pain Before It Manages You*. The Guilford Press: New York, 111-120.
14. Apkarian AV, Bushnell MC, Treede RD, Zubieta JK. (2005). *Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease*. *European Journal of Pain*. 9:463–484.
15. Price DD. (2000). *Psychological and neural mechanisms of the affective dimension of pain*. *Science*. 288, 1769–1772.
16. Dubin, A. E. and A. Patapoutian. (2010). *Nociceptors: the sensors of the pain pathway*. *J Clin Invest*, 120(11), 3760-72.
17. Álvares D, Fitzgerald M. (1999). *Building blocks of pain: the regulation of key molecules in spinal sensory neurons during development and following peripheral axotomy*. *Pain* 6, 71-85.
18. Keith P. Kittelberg y David Borsook. (1999). *Bases neurológicas del dolor Tratamiento del dolor*. Massachusetts General Hospital. 8-25.
19. Merskey H. Bungduk N. (1994). *Classification of chronic Pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms*, Seattle, WA: IASP Press Seattle, 209-214.

20. Fitzgerald M, Lynn B. (1977). *The sensibilization of high thres holds mechanoreceptors with my elinated axons by repeting heating.* J.Physiol ogy, 365, 549-51.
21. Maeda, M., et al. (2009). *Descending pathways from activated locus coeruleus/subcoeruleus following unilateral hindpaw inflammation in the rat's brain.* Res Bull. 78 170.
22. Pertovaara, A. (2006). *Noradrenergic pain modulation.* Prog Neurobiology, 80, 53-83.
23. Alheid GF (2003). *Extended amygdala and basal forebrain.* Ann N Y Acad Science, 85: 185-205.
24. Meredith GE. (1999). *The synaptic framework for chemical signalling in nucleus accumbens.* Ann N Y Acad Science, 877, 140-156.
25. Záborszky L, Alheid GF, Beinfeld MC, Eiden LE, Heimer L, Palkovits M. (1985). *Cholecystokinin innervation of the ventral striatum: a morphological and radioimmunological study.* Neuroscience, 14, 427-453.
26. Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ, Emson PC. (1995). *Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization.* Trends Neuroscience, 18, 527-535.
27. Taverna S, Van Dongen YC, Groenewegen HJ, Pennartz CMA. (2004). *Direct Physiologica evidence for synaptic connectivity between medium-sized spiny neurons in rat nucleus accumbens in situ.* J Neurophysiology, 91, 1111-1121.
28. Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ, Emson PC. (1995). *Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization.* Trends Neuroscience, 18, 527-535.

29. Van Dongen YC, Deniau JM, Pennartz CMA, Galis-de Graf Y, Voorn P, Thierry AM, Groenewegen HJ. (2005). *Anatomical evidence for direct connections between the shell and core subregions of the rat nucleus accumbens*. *Neuroscience*, 136, 1049-1071.
30. Christie MJ. (2006). *Opioid and cannabinoid receptors: friends with Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW benefits or just close friends?*. *Br J Pharmacol* 148, 385–386.
31. French SJ, Totterdell S. (2003). *Individual nucleus accumbens-projection neurons receive both basolateral amygdala and ventral subicular afferents in rats*. *Neuroscience*, 119, 19-31.
32. Sombers L, Beyene M, Carelli RM, Wightman RM. (2009). *Synaptic overflow of dopamine in the nucleus accumbens arises from neuronal activity in the ventral tegmental area*. *J Neuroscience*, 29: 1735-1742.
33. O'Donnell P, Grace AA. (1995). *Synaptic interactions among excitatory afferents to nucleus accumbens neurons: hippocampal gating of prefrontal cortical input*. *J Neuroscience*, 15, 3622-3639.
34. Goto Y, Grace AA. (2005). *Dopaminergic modulation of limbic and cortical drive of nucleus accumbens in goal-directed behavior*. *Natural Neuroscience*, 8, 805-812.
35. Floresco SB, Blaha CD, Yang CR, Phillips AG. (2001). *Modulation of hippocampal and amygdalar-evoked activity of nucleus accumbens neurons by dopamine: Cellular mechanisms of input selection*. *Journal Neuroscience*, 21, 2851-2860.
36. Mulder AB, Hodenpijl MG, López da Silva FH. (1998). *Electrophysiology of the hippocampal and amigdaloid projections to the nucleus accumbens of the rat:*

- Convergence segregation, and interaction of inputs.* Journal of Neuroscience, 18, 5095- 5102.
37. Olds J, Milner P. (1954). *Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain.* J Comp Physiology Psychology, 47, 419-427.
38. Cheer JF, Heien MLAV, Garris PA, Carelli RM, Wightman, RM. (2006). *Simultaneous dopamine and single-unit recordings reveal accumbens GABAergic responses: implications for intracranial self-stimulation.* Pro. Natl. Acad Science. 102, 19150-19155.
39. Gallistel CR. (1986). *The role of the dopaminergic projections in MFB self-stimulation.* Behav Brain Res, 20, 313-321.
40. Bednarek MA, Bibb JA, Maratos-Flier E, Nestler EJ, DiLeone RJ. (2005). *The hypothalamic neuropeptide melanin-concentrating hormone acts in the nucleus accumbens to modulate feeding behavior and forced-swim performance.* J Neuroscience, 25, 2933-2940.
41. Tsai HW, Shui HA, Liu HS, Tai MY, Tsai YF. (2006). *Monoamine levels in the nucleus accumbens correlate with male sexual behavior in middle-aged rats.* Pharmacology Biochem Behavior, 83, 265-270.
42. Carelli RM, Ijames SG, Crumling AJ. (2000). *Evidence that separate neural circuits in the nucleus accumbens encode cocaine versus “natural” (water and food) reward.* J Neuroscience, 20, 4255-4266.
43. Marsden CA. (2006). *Dopamine: the rewarding years.* British Journal of Pharmacology, 147,136-144.

44. Wise RA. (2008). *Dopamine and reward: the anhedonia hypothesis 30 years on*. *Neurotox Res*, 14, 169-183.
45. Ventura R, Morrone C, Puglisi-Allegra S. (2007). *Prefrontal/accumbal catecholamine system determines motivational salience attribution to both reward-and aversion-related stimuli*. *Proc Natl Acad Science* 104, 5181-5186.
46. Faure A, Reynolds SM, Richard JM, Berridge KC. (2008). *Mesolimbic dopamine in desire and dread: enabling motivation to be generated by localized glutamate disruptions in nucleus accumbens*. *Journal of Neuroscience*, 28, 7184-7192.
47. Berridge KC. (2006). *The debate over dopamine's role in reward: the case for incentive salience*. *Psychopharmacology*, 191, 391-431.
48. Barbano MF, Cador M. (2005). *Differential regulation of the consummatory, motivational and anticipatory aspects of feeding behavior by dopaminergic and opioidergic drugs*. *Neuropsychopharmacology*, 31, 1371-1381.
49. Hanlon EC, Baldo BA, Sadeghian K, Kelley AE. (2004). *Increases in food intake or food seeking behavior induced by GABAergic, opioid, or dopaminergic stimulation of the nucleus accumbens: is it hunger?* *Psychopharmacology*, 172, 241-247.
50. Cheer JF, Aragona BJ, Heien MLAV, Seipel AT, Carelli RM, Wightman MR. (2007). *Coordinated accumbal dopamine release and neural activity drive goal-directed behavior*. *Neuron*, 54, 237-244.
51. Taha SA, Fields, HL (2005). *Encoding of palatability and appetitive behaviors by distinct neuronal populations in the nucleus accumbens*. *Journal of Neuroscience*, 25, 1193-1202.

52. German PW, Fields HL (2007). *Rat nucleus accumbens neurons persistently encode locations associated with morphine reward*. Journal of Neurophysiology, 97, 2094-2106.
53. Redgrave, P., Gurney, K. & Reynolds, J. (2008). *What is reinforced by phasic dopamine signals?* Brain Res. Rev. 58, 322–339.
54. Wiech, K. & Tracey, I. (2013). *Pain, decisions, and actions: a motivational perspective*. Front. Neuroscience. 7, 46.
55. Fields, H.L. (2006). *In 11th World Congress on Pain*. IASP Press, Seattle, 449–459.
56. Sprenger, C. (2012). *Attention modulates spinal cord responses to pain*. Curr. Biol. 22, 1019–1022.
57. Porreca, F., Ossipov, M.H. & Gebhart, G.F. (2002). *Chronic pain and medullary descending facilitation*. Trends Neuroscience. 25, 319–325.
58. Simons, L.E., Elman, I. & Borsook, D. (2014). *Psychological processing in chronic pain: a neural systems approach*. Neurosci. Biobehav. Rev. 39, 61–78.
59. Levenson, R.W. (2011). *Basic emotion questions*. Emot. Rev. 3, 379–386.
60. Navratilova, E. (2012). *Pain relief produces negative reinforcement through activation of mesolimbic reward-valuation circuitry*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109, 20709–20713.
61. King, T. (2009). *Unmasking the tonic-aversive state in neuropathic pain*. Nat. Neurosci. 12, 1364–1366.
62. Navratilova E., Porreca F. (2014). *Reward and motivation in pain and pain relief*. *Natural Neuroscience*, 17, 1304–1312.

63. Palanca Sánchez I (Dir.), Puig Riera de Conías MM (Coord. Cient.), Elola Somoza J (Dir.), Bernal Sobrino JL (Comit. Redac.), Paniagua Caparrós JL (Comit. Redac.), Grupo de Expertos. (2011). *Unidad de tratamiento de dolor: estándares y recomendaciones*. Madrid: Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad.
64. Jhon Jairo Hernández, Carlos Moreno Benavides. (2005). *Medicina del dolor*. Primera edición. Bogotá: Centro Editorial Universidad del Rosario.
65. Mogil JS, Crager SE. (2004). *What should we be measuring in behavioral studies of chronic pain in animals?* Pain Nov; 112:12–5.
66. Backonja MM, Stacey B. (2004). *Neuropathic pain symptoms relative to overall pain rating*. J Pain Nov; 5:491–7.
67. Rafael Gálvez Mateos. (2010). *Manual práctico de dolor neuropático*. Elsevier España.
68. Gottrup H, Bach FW, Juhl G, Jensen TS. (2006). *Differential effect of ketamine and lidocaine on spontaneous and mechanical evoked pain in patients with nerve injury pain*. Anesthesiology. Mar; 104:527–36.
69. Guevara-López U, Covarrubias-Gómez A. (2008). *Cronología de eventos hacia una reforma legislativa en materia de dolor y cuidados paliativos*. Rev Mex Anest. 31:328-333.
70. Covarrubias-Gómez A. (2008). *Papel del anestesiólogo en el manejo del dolor crónico*. Rev Mex Anest. 31 (Suppl. 1):S235-S237.
71. Jensen ts, Gottrup H, Kasch H, Nikolajsen L, Terkelsen AJ, Witting N. (2001). *Has basic research contributed to chronic pain treatment?* Acta Anesthesiol Scand. 45: 1128-1135.

72. Anderson, E. M., R. Mills, T. A. Nolan, A. C. Jenkins, G. Mustafa, C. Lloyd, R. M. Caudle and J. K. Neubert. (2013). *Use of the Operant Orofacial Pain Assessment Device (OPAD) to Measure Changes in Nociceptive Behavior*. (76): e50336.
73. Sowards, T. V. and M. A. Sowards. (2002). *The medial pain system: neural representations of the motivational aspect of pain*. Brain Res Bull 59(3): 163-180.
74. Price, D. D. (2000). *Psychological and neural mechanisms of the affective dimension of pain*. Science 288(5472): 1769-1772.
75. Ohye, C. (1998). *Stereotactic treatment of central pain*. Stereotact Funct Neurosurg. 70(2-4): 71-76.
76. Ballantine, H. T., Jr., W. L. Cassidy, N. B. Flanagan and R. Marino, Jr. (1967). *Stereotaxic anterior cingulotomy for neuropsychiatric illness and intractable pain*. J Neurosurg 26(5): 488-495.
77. Vogt, B. A. and R. W. Sikes. (2000). *The medial pain system, cingulate cortex, and parallel processing of nociceptive information*. Prog Brain Res 122: 223-235.
78. Rafael Gálvez Mateos. (2010). *Manual práctico de dolor neuropático*. Barcelona, España, Elsevier. 383pp..
79. Bart P. Vos, Andrew M. Strassman, and Raymond J. Maciewicz. Behavioral evidence of trigeminal neuropathic pain following chronic constriction injury to the rats infraorbital nerve. J Neurosci. 14, 2708-2723 (1994).
80. Deseure, K., Hans, G.H. (2015). *Chronic Constriction Injury of the Rat's Infraorbital Nerve (IoN-CCI) to Study Trigeminal Neuropathic Pain*. J. Vis. Exp. (103), e53167, doi: 10.3791/53167.

81. J. E. Baños, G. Ruíz-Barría. (2006). *La evaluación del dolor experimental en el laboratorio: los modelos de dolor neuropático en animales*. Rev. Soc. Esp. Dolor 13; 8:504-552.