



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**EFFECTO DE LA ABLACION ESPECIFICA DE NEURONAS D1R DEL  
NUCLEO ACCUMBENS SOBRE EL DESARROLLO DE  
SENSIBILIZACIÓN PERIFERICA POSTERIOR A LA LESION  
NEUROPATICA TRIGEMINAL**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
CIRUJANO DENTISTA**

**PRESENTA:**

**VICTORIA RAMÍREZ FRANCISCO**

**ASESOR:**

**M. en C. Claudia Daniela Montes Ángeles**

**DICTAMINADORES:**

**Dr. Isaac Obed Pérez Martínez**

**Dra. Ana Lilia García Hernández**

**Dr. Saúl Ernesto Cifuentes Mendiola**

**M. en C. Rey David Andrade González**

**Los Reyes, Ixtacala, Tlalnepantla de Baz, Méx. 2023**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

A mis abuelos, padres y hermano:

Clara Cano Espitia

Calletano Ramirez Negrete

Martha Aguilar Castellanos

Francisco Victoria Bolaños

María Juana Ramirez Cano

Francisco Javier Victoria Aguilar

Ángel Yair Mata Victoria

## **AGRADECIMIENTOS**

A la M. en C. Claudia Daniela Montes Ángeles por su confianza en mí para poder realizar este proyecto, su ejemplo como investigadora y persona, por su apoyo en el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Isaac Obed Pérez Martínez por su dirección, atención y guía en la elaboración de esta investigación.

A mis compañeros del del Laboratorio de Neurobiología de las Sensaciones y Movimientos Orales.

Proyecto financiado por PAPIIT: IN219720 búsqueda de los sustratos neuronales que modulan la inhibición de la nocicepción térmica inducida por la ingesta de sustancias hedónicas y PAPIIT IN204023 contribución de la corteza premotora en las expresiones faciales y sus alteraciones por la parálisis facial.

# ÍNDICE

RESUMEN.....	6
INTRODUCCION.....	7
Marco Teórico .....	8
1. Dolor.....	8
1.1 Clasificación.....	9
1.2 Neuroanatomía del dolor .....	10
1.3 Neurofisiología del dolor.....	11
1.4 Mediadores inflamatorios y nociceptores.....	12
2. Anatomía nervio trigémino.....	14
3. Núcleo accumbens.....	15
Antecedentes.....	18
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	21
JUSTIFICACIÓN .....	21
HIPOTESIS .....	22
OBJETIVO GENERAL.....	22
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	22
METODOLOGIA.....	23
Animales.....	23
Evaluación de la sensibilidad mecánica.....	23
Cirugía de lesión trigeminal.....	24
Cirugía de inyección de caspasa.....	24
RESULTADOS .....	25
DISCUSIÓN.....	29
Cambio en el umbral de nocicepción.....	30
Restablecimiento de umbral posterior a la lesión.....	31
Diferencias entre comparaciones de grupos Ablación D1Rn vs WT.....	32
Clasificación de la población según su evolución.....	32
CONCLUSIONES.....	34
REFERENCIAS .....	34

## **ABREVIATURAS**

<b>ACC*</b>	Corteza cingulada anterior
<b>AC</b>	Adenil ciclasa
<b>AMPc</b>	Adenosín monofosfato cíclico
<b>AMY*</b>	Amígdala
<b>BG*</b>	Ganglios basales
<b>D1Rn</b>	Neuronas que expresan receptores D1
<b>D1-MSN</b>	Neuronas espinosas medianas que expresan receptor D1
<b>D2-MSN</b>	Neuronas espinosas medianas que expresan receptor D2
<b>fMRI*</b>	Imagen por resonancia magnética funcional
<b>GABA*</b>	Acido gamma-aminobutírico
<b>L Hyp*</b>	Hipotálamo izquierdo
<b>MSN</b>	Neuronas espinosas medianas
<b>NAc</b>	Núcleo accumbens
<b>PAG</b>	Sustancia gris periacueductal
<b>PFC*</b>	Corteza prefrontal
<b>PP1</b>	Proteína fosfatasa 1
<b>SN</b>	Sustancia negra
<b>VF</b>	Von Frey
<b>VP*</b>	Pálido ventral
<b>VTA*</b>	Área tegmental ventral

\* Por sus siglas en ingles

## **ABSTRACT**

Evidence suggests that nucleus accumbens has an important location that involves it in pain processing. Chronic pain states are associated with a hypodopaminergic state in the nucleus accumbens (NAc). We evaluated the effects of ablation of D1 receptor (D1Rn)-expressing neurons located in this structure in a model of neuropathic pain induced by mental nerve compression.

For characterizing the changes generated after mental nerve injury, the Von Frey filament (VF) assay was used. Weekly evaluations of nociception threshold following trigeminal injury were performed in the 3 groups showed significant differences between groups (D1Rn Ablation vs Control  $P < 0.0001$  and WT vs Control  $P < 0.0001$ ). These findings indicated us that injured mice presented a hypersensitivity response to the application of VF filaments from 3 days post-operatively until week 14. Having found no statistically significant differences when comparing the groups (D1Rn ablation vs WT) we concluded that D1Rn ablation in the NAc did not reverse hyperalgesia compared to the lesioned group without neuronal ablation (WT). The trigeminal lesion caused signs of chronic pain in our WT and D1Rn ablation groups. However, we found that within these groups there are individuals who undergo a period of post-operative hyperalgesia and subsequently recover their baseline stage. We also have individuals who, although did not achieve a total recovery, a partial recovery compared to their initial baseline is observed.

**Keywords:** Orofacial pain, Nucleus accumbens, modulation of pain, D1-receptor, ablation.

## **RESUMEN**

La evidencia sugiere que el núcleo accumbens se encuentra en una ubicación que lo involucra en el procesamiento del dolor. Como las condiciones de dolor crónico están asociadas con alteraciones en el núcleo accumbens (NAc), evaluamos los efectos de la ablación de neuronas que expresan receptores D1 (D1Rn) ubicadas en esta estructura, en un modelo de dolor neuropático inducido por compresión del nervio mentoniano.

Para caracterizar los cambios generados posteriores a la lesión del nervio mentoniano se utilizaron pruebas a estímulos mecánicos con filamentos de Von Frey (VF). Esta prueba se realizó en un periodo de tiempo de 14 semanas.

Las evaluaciones semanales del umbral de nocicepción posterior a la lesión trigeminal realizadas en los 3 grupos mostraron diferencias significativas entre grupos (Ablación D1Rn vs Control  $P < 0.0001$  y WT vs Control  $P < 0.0001$ ), estos hallazgos nos indican que los ratones lesionados presentaron una respuesta de hipersensibilidad al aplicar los filamentos VF a los 3 días post operación hasta la semana 14. Al no encontrar diferencias estadísticamente significativas al comparar los grupos (Ablación D1Rn vs WT) concluimos que, la ablación de D1Rn en el NAc no revirtió la hiperalgesia comparada con el grupo lesionado sin ablación neuronal (WT). La lesión trigeminal provocó signos de dolor crónico en nuestros grupos WT y ablación D1Rn, no obstante, se encontró que dentro de estos grupos existen individuos que cursan por un periodo de hiperalgesia post operación y posteriormente logran recuperar su estadio basal. También tenemos individuos que si bien no logran una recuperación total si se observa un restablecimiento parcial comparado con su basal inicial.

**Palabras clave:** Dolor orofacial, Núcleo accumbens, modulación de dolor, receptor D1, ablación.

## **INTRODUCCION**

El dolor es un signo de enfermedad y motivo frecuente de consulta, la función del sistema de percepción es proteger al cuerpo y conservar la homeostasis. Ante el estudio de dolor crónico se han planteado dudas con respecto a su diagnóstico y tratamiento como condición clínica. Sin embargo se han realizado avances para poder comprender los procesos periféricos y centrales involucrados en las condiciones de dolor crónico (Vasallo Comendeiro et al., 2013).

Se ha encontrado relación entre las estructuras involucradas en el procesamiento sensorial del dolor y regiones cerebrales que procesan emociones (Bushnell et al., 2013) . Dentro de estas estructuras se encuentra el núcleo accumbens (NAc) que es una estructura cerebral que participa en procesos de



placer y recompensa (Saiz Ruiz et al., 2010). Aproximadamente el 95% de las neuronas del núcleo accumbens son neuronas espinosas medianas GABAérgicas (MSN). Hay dos tipos de MSN en el núcleo accumbens: MSN que expresan el receptor D1 de dopamina (D1-MSN) y MSN que expresan el receptor D2 de dopamina (D2-MSN) (Sato, Hamada, et al., 2022).

El presente trabajo pretende profundizar más sobre los efectos que tiene la eliminación selectiva de las neuronas que expresan receptores D1 del núcleo accumbens en el desarrollo de dolor crónico por sensibilización periférica posterior a una lesión neuropática trigeminal. Para dicho proyecto se utilizó una técnica de ablación selectiva con caspasa 3 modificada genéticamente para activar el proceso de apoptosis. Se realizó la inyección en NAc de ratones transgénicos Cre recombinas que expresan receptores D1.

Para determinar si las neuronas que expresan receptores D1 del NAc tienen participación en la transición de dolor agudo a crónico posterior a una lesión en el nervio trigémino se realizaron evaluaciones semanales del umbral de nocicepción previas y posteriores a la lesión. Las evaluaciones posteriores a la lesión trigeminal mostraron que los ratones lesionados presentaron signos de hipersensibilidad al aplicar los filamentos VF. Sin embargo, la ablación de D1Rn en el NAc no revirtió estos signos comparada con el grupo lesionado sin ablación neuronal (WT).

La lesión trigeminal provocó signos de dolor crónico en nuestros grupos WT y ablación D1Rn. No obstante, dentro de estos grupos existen individuos que cursan por un periodo de hiperalgesia post operación y posteriormente logran recuperar su estado basal. También tenemos individuos que si bien no logran una recuperación total si se observa un restablecimiento parcial comparado con su basal inicial.

## **Marco Teórico**

### **1. Dolor**

La definición actual de dolor de la IASP como “Una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con un daño tisular real o potencial”. El dolor

siempre es subjetivo, es una sensación individual que se constituye de experiencias en la vida temprana (Raja et al., 2020).

## **1.1 Clasificación**

### A). De acuerdo con su duración

1.1 Agudo: Es limitado en tiempo, regularmente se encuentra bien localizado, los factores psicológicos son limitados y hay una estrecha relación entre la intensidad y el estímulo que lo produce. Una de sus características principales es el componente protector, que consiste en retirar el sitio dañado (Fajardo-Chica, 2023).

2.2 Crónico: Tiene componentes psicológicos, ambientales y afectivos, este tipo de dolor se caracteriza por tener una variable en intensidad y evolución que persiste posterior a la curación o manejo exitoso de la lesión que lo desencadenó, esto lo convierte en una enfermedad en sí mismo y carece de la función de alerta aguda de la nocicepción fisiológica (Ibarra, 2006; Treede et al., 2019; Yong et al., 2022).

### B). De acuerdo con su patogenia

2.1 Neuropático: Se origina en consecuencia de una lesión o trastorno en el sistema somatosensorial, central o periférico. El dolor neuropático puede aparecer también en condiciones de etiología desconocida como es el caso de neuropatías idiopáticas. La percepción más común descrita por los pacientes es una sensación de descargas eléctricas (Bendaña, 2020; Scholz et al., 2019).

2.2 Nociceptivo: Es un dolor que tiene presencia en órganos con terminaciones nerviosas que pueden ser de tipo somático o visceral con una amplia relación entre su intensidad y la gravedad del estímulo. Se ve presente en conjunto con inflamación o infección (Jensen et al., 2011).

2.3 Psicógeno: Se caracteriza por ausencia de estímulos nociceptivos, también por el uso de analgésicos junto a un aumento de dosis sin éxito en

el tratamiento. El principal factor interventor es el ambiente psico social que rodea al individuo (Defrance et al., 2019).

### C). De acuerdo con su localización

3.1 Somático: Presencia bien localizada, desencadenado por estímulos sobre receptores de piel, vasculares o musculoesqueléticos (Kuhlmann et al., 2022).

3.2 Visceral: Dolor profundo difícil de localizar que es causado por alteraciones en órganos internos y en ocasiones puede irradiar dolor a regiones distantes de su origen (Kuhlmann et al., 2022).

### D). Según el curso

4.1 Continuo: Constante durante todo el transcurso del día y no desaparece (Orr et al., 2017).

4.2 Irruptivo: Aparece de forma transitoria e inesperada. Con periodos de exacerbación repentina durante todo el día (Orr et al., 2017).

### E). Según la intensidad

5.1 Leve: No genera dificultades para realizar actividades ordinarias(Orr et al., 2017; Puebla Díaz, 2005).

5.2 Moderado: Entorpece las actividades cotidianas(Orr et al., 2017; Puebla Díaz, 2005).

5.3 Severo: Interrumpe incluso actividades como el descanso (Orr et al., 2017; Puebla Díaz, 2005).

## **1.2 Neuroanatomía del dolor**

Cuando el cuerpo percibe estímulos nocivos de fuentes externas o internas se envía información a los tejidos alertando la presencia de un daño. Esta información se transduce a través de vías neuronales y se transmite a través del sistema nervioso periférico al sistema nervioso central y autónomo. Esta forma de procesamiento de

la información se conoce como nocicepción, la nocicepción inicia en la activación de receptores especializados conocidos como nociceptores (Garland, 2012).

### Nociceptores

Son neuronas especializadas para detectar estímulos nocivos y se encuentran en todo el cuerpo, pero están más extensamente localizados en: periostio, pared arterial, dientes, superficie articular, bóveda craneana. Morfológicamente son terminaciones nerviosas libres de fibras A $\delta$  (mielínicas) y C (amielínicas). Las fibras A $\delta$  responden a estímulos térmicos, mecánicos y transmiten con rapidez la señal, las fibras C son de conducción más lenta, responden a la presión, temperatura y otro tipo de estímulos (Moreno & Prada, 2019).

Los nociceptores pueden clasificarse funcionalmente como: mecanonociceptores, termo-nociceptores y polimodales.

- a) Mecano-nociceptores: Son nociceptores que se activan principalmente debido a un estímulo mecánico intenso, por estrés mecánico secundario o una presión directa o debido a una deformación tisular. Este tipo de nocicepción actúan con velocidades de conducción alta porque los receptores mecánicos transmiten aferencias a través de fibras A-  $\delta$  mielinizadas de conducción rápida (Sneddon, 2018).
- b) Termo-nociceptores: Corresponden a fibras A $\delta$  y son activados por temperaturas superiores a 45°C o inferiores a 5°C. La conducción desde los nociceptores térmicos también se transmite a través de fibras A $\delta$  por lo tanto se transmiten a una velocidad elevada (Dubin & Patapoutian, 2010).
- c) Polimodales: Pertenecen a fibras C y son activados por una gran variedad de sustancias químicas, estímulos mecánicos intensos y temperaturas extremas de frío o calor. Su velocidad de conducción es lenta (Croze et al., 1976).

### **1.3 Neurofisiología del dolor.**

La percepción del dolor ocurre cuando los nociceptores reciben un estímulo suficientemente intenso como para activar las fibras A $\delta$ , lo que da como resultado

una experiencia de dolor agudo y punzante. Si la fuerza del estímulo aumenta, intervienen las fibras C y el individuo experimenta un dolor intenso y quemante que continúa después de que cesa el estímulo. La nocicepción está mediada por la función de numerosos mensajeros moleculares intra y extracelulares involucrados en la transducción de señales (Garland, 2012).

### Proceso de nocicepción

**Transducción:** Es el proceso que ocurre cuando un estímulo es recibido por nociceptores. Estos nociceptores convierten el estímulo en una señal eléctrica generando un potencial de acción. Los nociceptores responden a diferentes noxas que pueden ser: térmicas, mecánicas o químicas (Rodríguez, 2015).

**Transmisión:** Es la propagación de los impulsos nerviosos en forma de potenciales de acción a través de los axones del sistema nervioso. La información recibida se transmite a la medula espinal, luego al tálamo y finalmente a la corteza cerebral. La información es transmitida, a través de neuronas nociceptivas aferentes primarias (Tracey, 2005).

**Percepción:** Cuando la información es percibida, los impulsos eléctricos causan liberación de neurotransmisores, disparando señales de retransmisión. En el proceso de percepción se interpretan las señales en sensaciones específicas (Piérola & Wilfredo, 2007).

**Modulación:** La información nociva ascendente puede ser modulada por el sistema de modulación del dolor descendente a través de varios mecanismos. Una vez alcanzadas las estructuras subcorticales, se activan neuronas ubicadas en el tálamo. Estas neuronas envían el estímulo hacia la corteza somatosensorial, desencadenando la percepción consciente del dolor, las actividades subconscientes y las respuestas neuromoduladoras efectoras, endocrinas y emocionales (Iwata et al., 2017)

### **1.4 Mediadores inflamatorios y nociceptores**

Las lesiones producen la liberación local de numerosos productos químicos que facilitan el proceso inflamatorio. Algunos de estos agentes pueden activar

directamente los nociceptores, mientras que otros actúan indirectamente a través de células inflamatorias. Otros mediadores producen una sensibilización de la respuesta de los nociceptores a estímulos naturales y, por tanto, desempeñan un papel en la hiperalgesia primaria (Meyer et al., 2007).

- Bradicinina. La bradicinina se libera en la lesión tisular, se ha observado que la bradicinina produce dolor. La sensibilización nociceptora inducida por la bradicinina puede deberse a la activación de la fosfolipasa C, proteína cinasa C, la producción de ácidos araquidónicos (Meyer et al., 2007).
- Serotonina. Al desgranularse, los mastocitos liberan factor activador de las plaquetas que, a su vez, produce la secreción plaquetaria de serotonina. Puede potenciar el dolor inducido por bradicinina y aumentar la respuesta de los nociceptores a la bradicinina (Dray, 1995).
- Histamina. La sustancia P liberada de los terminales nociceptores puede producir la liberación mastocitaria de histamina. La histamina puede producir diversas respuestas, como vasodilatación y edema. La histamina excita a los nociceptores viscerales polimodales, especialmente cuando se aplica en altas concentraciones (Dray, 1995).
- Sustancia P. Es un neurotransmisor que se libera por los axones de las neuronas sensitivas a nivel medular. Se liberará sustancia P en la piel, pulpa dentaria y en el ojo. Participa en el aumento de la respuesta inflamatoria y la sensibilización nociceptiva (Romera et al., 2000).
- Citocinas. Durante la inflamación, diversas células liberan citocinas y regulan la respuesta inflamatoria. Las citocinas pueden excitar los nociceptores por acción directa o indirecta, por estimulación de la liberación de otros mediadores, como las prostaglandinas (Meyer et al., 2007).
- Hidrogeniones y ATP. Los hidrogeniones aumentan la conductancia iónica al sodio y al calcio, y el ATP la aumenta al sodio, calcio y potasio, produciendo dolor agudo (Romera et al., 2000).
- Opioides endógenos. Activan los receptores (delta) y (kappa) presentes en las terminaciones de neuronas postganglionares simpáticas y bloquean la

síntesis de prostaglandinas E2, reduciendo la hiperalgesia en áreas inflamatorias y en tejidos lesionados (Romera et al., 2000).

## **2. Anatomía del nervio trigémino**

El nervio trigémino es el más grande de todos los nervios craneales. Es un nervio que proporciona inervación sensorial y motora a la cara. Con sus tres segmentos principales (oftálmico, maxilar y mandibular) da sensibilidad y con el segmento mandibular inerva los músculos de la masticación (Freddi et al., 2022).

Tiene su origen aparente en la región anterior y lateral de la protuberancia, cerca del pedúnculo cerebeloso medio y sus orígenes reales distribuidos en las neuronas pseudounipolares del ganglio trigeminal “De Gasser”, ubicado en la fosa craneal media y en los núcleos sensoriales y motor localizados en diferentes niveles del tallo cerebral o tronco del encéfalo (Bathla & Hegde, 2013).

La mayoría de las neuronas aferentes del nervio trigémino son pseudounipolares con cuerpos celulares que se encuentran en el ganglio trigeminal, excepto los aferentes propioceptivos cuyos cuerpos celulares se encuentran en el núcleo del trigémino mesencefálico. Las terminaciones nerviosas libres que detectan estímulos nocivos se distribuyen por el área orofacial e inervan la membrana mucosa oral, la lengua, la pulpa dental, la encía, el músculo masticatorio o la articulación temporomandibular en el sistema trigémino. Dado que los cuerpos celulares de las neuronas aferentes primarias del trigémino se encuentran en el ganglio trigeminal, están involucradas en diversas funciones sensoriales en la región orofacial, como la sensación mecánica, térmica o química inocua o nociva (Iwata et al., 2017).

Se divide en tres subdivisiones: nervios oftálmicos (V1), maxilar (V2) y mandibular (V3).

- V1 es la división más pequeña y un nervio puramente sensorial que proporciona inervación sensorial al ojo, la nariz, el cuero cabelludo y la frente (Borges & Casselman, 2010).

- V2 también es un nervio sensorial y proporciona inervación al maxilar, el paladar, el labio superior y la mejilla (Nager, 1984).
- V3 es la rama más grande, siendo un nervio motor y sensorial. Suministra información sensorial del tercio inferior de la cara, lengua, suelo de la boca y mandíbula, y la raíz motora inerva los músculos masticatorios (temporal, masetero y pterigoideo), el músculo milohioideo y el vientre anterior del músculo digástrico. Sale de la base del cráneo a través del agujero oval, entra en el espacio masticador nasofaríngeo y se divide en cuatro ramas sensoriales (nervio bucal, auriculotemporal, lingual y alveolar inferior). El nervio alveolar inferior entra en el agujero mandibular en la superficie lingual de la rama mandibular, viaja dentro del canal alveolar inferior y sale en la región parasinfisaria a través del agujero mentoniano que da origen al nervio mentoniano (Freddi et al., 2022).

La lesión de los nervios periféricos o la inflamación orofacial a menudo provoca cambios en la excitabilidad de las neuronas TG, lo que resulta en alodinia: dolor debido a estímulos que normalmente no son dolorosos; e hiperalgesia: que es percepción intensificada de un estímulo doloroso (Freddi et al., 2022).

### **3. Núcleo accumbens**

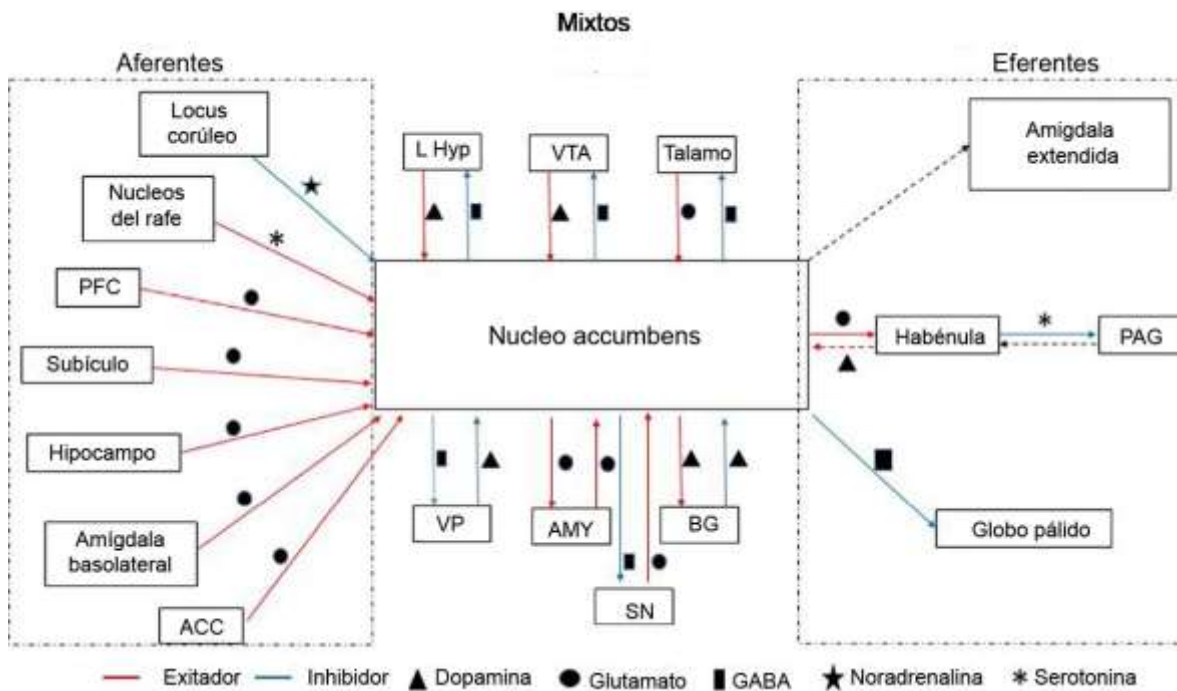
Múltiples regiones del cerebro involucradas en el procesamiento del dolor también son cruciales para la emoción y la atención. Cuando se presenta una situación que genera dolor puede estar profundamente influenciada por los estados emocionales y la atención que se tenga en el momento que se generó el estímulo. Es una sensación desagradable y por lo tanto una experiencia emocional. (Pignatelli & Bonci, 2015).

El núcleo accumbens (NAc) es una estructura cerebral que participa en procesos de placer y recompensa (Saiz Ruiz et al., 2010). Existe evidencia que sugiere que el NAc participa en la transición de dolor agudo a crónico (Sato, Narita, et al., 2022). La evidencia de esta participación radica en que NAc proyecta y recibe información de estructuras que participan en la integración de dolor, como la corteza



prefrontal, la corteza cingulada anterior, el tálamo, entre otras (figura 1) (Harris & Peng, 2020).

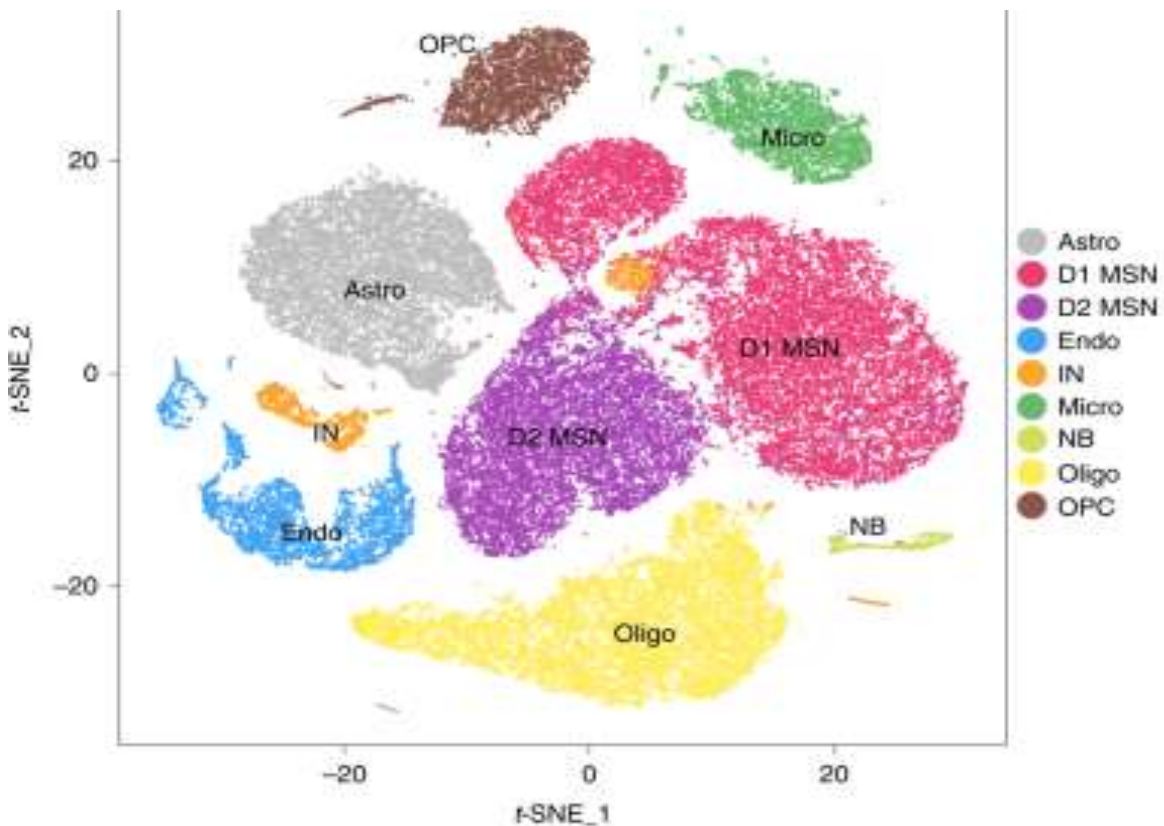
El NAc recibe información sobre el dolor a través de proyecciones de regiones subcorticales y corticales involucradas en el procesamiento del dolor que incluyen la amígdala, PFC y ACC. Los estados de dolor crónico se caracterizan por una reorganización anatómica y funcional del circuito corticolímbico, incluidos cambios en la densidad de la materia gris en la PFC, ACC y NAc y una mayor conectividad funcional entre la PFC y la NAc. En una investigación se encontró que el pellizco doloroso en la cola de ratas desencadena liberación de dopamina en el cuerpo estriado dorsal y el núcleo de NAc durante el estímulo, mientras que en la capa de NAc la dopamina se libera después del estímulo (Navratilova & Porreca, 2014).



**Esquema 1.** Conexiones aferentes y eferentes del núcleo accumbens. “Se destacan las conexiones aferentes, eferentes y recíprocas del núcleo accumbens y otras estructuras cerebrales relacionadas con el dolor, incluidas las conexiones excitadoras (rojas) e inhibitorias (azules) y los sistemas de neurotransmisores. ACC: Corteza cingulada anterior; AMY: amígdala; BG: ganglios basales; GABA: ácido γ-aminobutírico; L Hyp: hipotálamo izquierdo; PAG: sustancia gris periacueductal; PFC: corteza prefrontal; tálamo; SN:

sustancia negra; VP: pálido ventral; VTA: área tegmental ventral” Modificado de: (Harris & Peng, 2020).

NAc es una estructura cerebral subcortical, localizada en donde el núcleo caudado y la porción anterior del putamen se juntan con el septum pelúcido. Se divide en dos regiones: la zona central (parte motora) y la corteza (parte límbica). El (NAc) está constituido, en su mayoría, por neuronas espinosas medianas (MSNs), que pueden expresar los receptores a dopamina de tipo 1 (DR1). (Figura 2) (Harris & Peng, 2020).



**Esquema 2.** Principales tipos de células en NAc (Chen et al., 2021).

Se ha comprobado que NAc en ratones tiene similitudes consistentes con las de NAc en humanos, esto lo convierte en una estructura confiable para realizar estudios de forma traslacional. En estudios que utilizaron un método imagen por resonancia magnética funcional (fMRI) para encontrar similitudes y diferencias en la

organización estriatal-cortical. Estructuralmente se encontró que NAc de ratón está localizado dentro de los límites de la NAc humano según lo definido por el atlas subcortical de Harvard-Oxford. Funcionalmente se ha demostrado que las lesiones en el NAc de ratas alteran el rendimiento en los paradigmas de toma de decisiones (Balsters et al., 2020; Cardinal et al., 2001), de manera similar ocurrió en estudios de imágenes no invasivos en humanos que han relacionado la variabilidad individual en la actividad de NAc con la variabilidad individual en las preferencias de toma de decisiones retrasado, lo que refleja lo que se ha demostrado en ratas (Balsters et al., 2020; Hariri et al., 2006).

Dado que el uso de modelos de ratón para estudiar la función y la enfermedad aumenta rápidamente en la neurociencia, es crucial desarrollar métodos que puedan armonizar los resultados entre especies (Balsters et al., 2020).

## **Antecedentes**

La IASP nos dice que "El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a una lesión real o potencial". El dolor tiene gran cantidad de variables que lo modulan e influyen sobre sus mecanismos fisiopatológicos. Ante esto se considera que el dolor es una experiencia personal que está influenciada por factores biológicos, psicológicos y sociales (Raja et al., 2020).

Se denomina dolor crónico orofacial por su presencia permanente en el área de la boca, cara, cabeza y cuello. Se desconoce en gran medida los mecanismos presentes en su cronificación. Es por lo que actualmente se busca conocer los factores de riesgo que pueden predisponerlo para evitarlo o prevenirlo (Ossipov et al., 2014).

Se ha encontrado relación entre las estructuras que están involucradas en el procesamiento sensorial del dolor y en las regiones cerebrales que procesan emociones. En este sentido, cuando el dolor se vuelve crónico se observan cambios en estas regiones cerebrales. Es así como se inducen alteraciones cognitivas y emocionales junto con el desarrollo de dolor crónico (Bushnell et al., 2013).

Dentro de estas regiones que procesan emociones se encuentra el sistema de recompensa o sistema mesolímbico. Este tiene proyecciones desde el área tegmental ventral a ciertas áreas límbicas como el núcleo accumbens (NAc). Este circuito es importante para la regulación de las respuestas emocionales, la motivación, el placer y la recompensa. Se ha determinado que el NAc participa también en el procesamiento del dolor (Saiz Ruiz et al., 2010).

El núcleo accumbens (NAc) es una estructura cerebral que se encarga del procesamiento del placer y la recompensa; entre otras, se ha involucrado en la percepción del dolor para su señalización y modulación a través de los circuitos corticales y la neurotransmisión química. La evidencia de esta participación radica en que NAc proyecta y recibe información de estructuras de dolor, como la corteza prefrontal, la corteza cingulada anterior, el tálamo, etc. (figura 1) (Harris & Peng, 2020).

Las neuronas espinosas medianas (MSNs) constituyen el 95% de la población neuronal en NAc, y a su vez, los dos tipos de (MSNs) identificadas son las encargadas de expresar a los receptores de dopamina (D1R) o (D2R). Existen estudios en los que se ha evaluado cual es el efecto causado por el aumento de actividad en las neuronas que expresan receptores de dopamina en NAc, en un modelo de dolor neuropático en el nervio ciático. Se encontró que ante la estimulación optogenética de las neuronas que expresan el receptor D1, hay una mejora de los signos de hipersensibilidad (Sato, Narita, et al., 2022).

El NAc es importante en el comportamiento motivacional y la motivación para evitar el dolor. El NAc responde en gran medida a los estímulos dolorosos, debido a su alta densidad de receptores opioides  $\mu$  y la activación de varios sistemas de neurotransmisores diferentes en la NAc, como la dopamina. Los cuales se ha demostrado que provocan efectos en la modulación del dolor (Harris & Peng, 2020).

Recientemente se observó que el NAc se involucra en la transición al dolor crónico, pero los mecanismos subyacentes de esta participación siguen siendo desconocidos. Hasta hace poco, se pensaba que este núcleo estaba principalmente

involucrado en la evaluación de las señales de recompensa. El dolor y el alivio del dolor influyen en la actividad de los circuitos de recompensa (Navratilova & Porreca, 2014).

El receptor D1 es el receptor dopaminérgico más abundante en el sistema nervioso central (SNC). Se ha encontrado que aproximadamente el 95% de las neuronas del núcleo accumbens son neuronas espinosas medianas GABAérgicas (MSN). Hay dos tipos de MSN en el núcleo accumbens: MSN que expresan el receptor D1 de dopamina (D1-MSN) y MSN que expresan el receptor D2 de dopamina (D2-MSN). (Sato, Hamada, et al., 2022).

Los receptores para dopamina son GPCR's (receptores acoplados a proteínas G heterotriméricas). estos receptores se encuentran agrupados en dos familias: la familia del tipo D1 y la familia del tipo D2. Su clasificación depende de su capacidad para activar o inhibir a la adenil ciclasa (AC), respectivamente (Avalos Fuentes, 2013).

La dopamina es uno de los neurotransmisores más conocidos y su transmisión controla varias funciones fisiológicas, como la modulación del movimiento y la recompensa. La dopamina puede activar los receptores de dopamina D1 y D2 en las neuronas NAc. Debido a las múltiples funciones fisiológicas de la dopamina, se considera que la disfunción dopaminérgica está involucrada en una variedad de enfermedades (Sato, Hamada, et al., 2022).

Los receptores D1 activan el adenilato ciclasa a través de proteínas Gs. Con el aumento en los niveles de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) permite la activación de la proteína dependiente de AMPC PKA. La activación de PKA y la inhibición de proteína fosfatasa 1 (PP1) produce un incremento en la fosforilación y activación de los canales de Ca<sup>2+</sup>.

Se realizó una evaluación sobre el efecto del aumento de señalización en las neuronas que expresan receptores de dopamina D1 en NAc. Esto se aplicó en un modelo de dolor neuropático por ligadura en el nervio ciático. Ante la estimulación optogenética de las neuronas que expresan el receptor D1 se encontró una mejora

de los signos de hipersensibilidad térmica en presencia de una lesión nerviosa (Sato, Narita, et al., 2022).

A través de una lesión neuropática realizada en un grupo de ratas, se encontró que un grupo de la población lesionada no desarrollo signos de dolor crónico. Con base en la respuesta que presentaron ante una estimulación mecánica, las ratas fueron divididas en grupos susceptibles o resistentes. El grupo de las ratas con fenotipo de susceptibilidad a dolor crónico presento anhedonia, contrario al grupo con fenotipo resistente que presento un comportamiento hedónico (Guimarães et al., 2021).

Con base en estos antecedentes, el presente proyecto aborda el efecto de la ablación de las neuronas que expresan receptores de dopamina D1 ubicadas en NAc sobre el desarrollo de sensibilización periférica, posterior a una lesión neuropática trigeminal.

En este proyecto se pretende estudiar la ablación de las neuronas que expresan receptores de dopamina D1 ubicadas en NAc previene el desarrollo de sensibilización periférica posterior a la lesión neuropática trigeminal. La sensibilización periférica sucede ante procesos de dolor inflamatorio o dolor neuropático que se mantienen de forma alargada, en estos casos se envía una información constante desde la periferia hacia la asta dorsal de la médula espinal.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Actualmente no se conoce por completo cuáles son los mecanismos y los factores de riesgo potenciales que pueden predisponer a un individuo a presentar un estado de dolor crónico. Tampoco se sabe si tiene una participación ante la transición de dolor agudo a crónico, así mismo si la participación de las neuronas que expresan receptores D1 influye en la sensibilización periférica posterior a la lesión neuropática trigeminal.

## **JUSTIFICACIÓN**

El dolor crónico orofacial es un importante problema de salud pública que tiene un gran impacto en la calidad de vida de las personas. Este genera alteraciones

emocionales, afectivas y cognitivas. Es por esto por lo que es importante entender cuáles son los procesos que generan la transición del dolor de agudo a crónico.

Los mecanismos presentes en el desarrollo del dolor crónico son desconocidos. Si conseguimos entender la transición en este proceso podemos obtener un mejor manejo clínico. Los métodos actuales de tratamiento del dolor no son adecuados para su mantenimiento a largo plazo, y muchos analgésicos tienen efectos secundarios adversos extremos incluso en el uso a corto plazo, como adicción y sobredosis.

Por lo tanto, los resultados de este proyecto servirán para estudiar la participación de las neuronas que expresan receptores D1 pertenecientes al NAc sobre el restablecimiento de umbral de nocicepción posterior a una lesión neuropática trigeminal.

## **HIPOTESIS**

La eliminación de neuronas que expresan los receptores D1 en el Núcleo Accumbens genera un restablecimiento de umbral de nocicepción ante la estimulación mecánica, posterior a una lesión trigeminal.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto de la eliminación selectiva de las neuronas que expresan receptores D1 del núcleo accumbens en el restablecimiento del umbral de nocicepción posterior a una lesión neuropática trigeminal.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Determinar el umbral de nocicepción en ratones C57BL/6 ante la estimulación mecánica.
- Evaluar si existen cambios restablecimiento del umbral de nocicepción en los ratones a los que se les realizó la eliminación selectiva de neuronas que expresan el receptor D1 del núcleo accumbens.

## **METODOLOGIA**

Todos los procedimientos se llevaron a cabo bajo los lineamientos del comité de ética de la FES Iztacala UNAM (CE/FESI/092020/1369).

### **Animales.**

Se utilizaron 15 ratones C57BL/6 (WT), también 12 ratones Cre-recombinasa para el receptor D1 a dopamina (D1Rn). Todos los ratones se alojaron en cajas de acrílico en grupos de hasta seis ratones y se mantuvieron en una habitación con temperatura y humedad controladas, bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 h. La comida y el agua se mantuvo a libre demanda y se realizaron experimentos de comportamiento en la fase de luz.

Para determinar si las neuronas que expresan receptores D1 del NAc tienen una participación en la transición de dolor agudo a crónico posterior a una lesión en el nervio trigémino se realizaron los siguientes experimentos.

- a. Se evaluó el umbral de nocicepción ante la aplicación de un estímulo mecánico en condiciones previas a la lesión.
- b. Se utilizó caspasa 3 modificada genéticamente para inducir apoptosis de D1Rn mediante la inyección de un vector adenoviral con la construcción AAV-flex-taCasp3-TEV.
- c. Se repitió la evaluación del umbral de nocicepción para confirmar que no hay cambios provocados por la inyección de caspasa.
- d. Se realizó una lesión del nervio mentoniano, a través de una compresión directamente aplicada al nervio expuesto.
- e. Se realizó una evaluación semanal del umbral de nocicepción posterior a la lesión en la que se busca cambios en el umbral de nocicepción.

### **Evaluación de la sensibilidad mecánica.**

Se realizó con un conjunto de 8 filamentos de Von Frey A diferentes gramos fuerza (0.008 g, 0.02 g, 0.07 g, 0.16g, 0.4 g, 1 g, 2 g, y 6 g) con los cuales se aplicó una carga de forma directa sobre la región mentoniana, cada filamento fue aplicado en cinco ocasiones, se tomó en cuenta como respuesta positiva si el ratón tenía una respuesta de retirada brusca, si atacaba al filamento, o si se acicalaba después de



la aplicación del filamento. El umbral de nocicepción se definió cuando el ratón dio 3 respuestas positivas en la misma fuerza (g). Esta prueba se realizó el día 3 y de las semanas 1 a la 14 posteriores a la realización de la lesión del nervio mentoniano figura 3.



**Esquema 3.** línea temporal de la evaluación de la sensibilidad mecánica

### **Cirugía de lesión trigéminal.**

Los ratones D1Rn y WT fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de Ketamina/xilacina (en una solución de 1.18 mL Ketamina + 0.59 mL xilacina en 10 mL de solución salina) en una dosis de 0.1 mL/10 g de peso. Se realizó una incisión sobre la piel en la región mandibular para exponer el nervio mentoniano. Una vez localizado, se realizaron dos compresiones con pinzas ultrafinas y la incisión fue suturada. Este procedimiento se realizó bilateralmente.

### **Cirugía de inyección del vector viral**

Los ratones transgénicos Cre-recombinasa para el receptor D1 a dopamina (D1Rn) se colocaron en un aparato estereotáxico. Se expuso el cráneo y se hizo una trepanación con una fresa dental en las coordenadas correspondientes a NAc (con respecto a bregma AP: +1.7 mm, ML:  $\pm$ 0.6 mm, DV: -4.9 mm) para inyectar el vector adenoviral AAV-flex-taCasp3-TEVp bilateralmente, se infiltraron 500 nL a cada lado usando una jeringa Hamilton. Se dejaron en recuperación por 4 semanas.

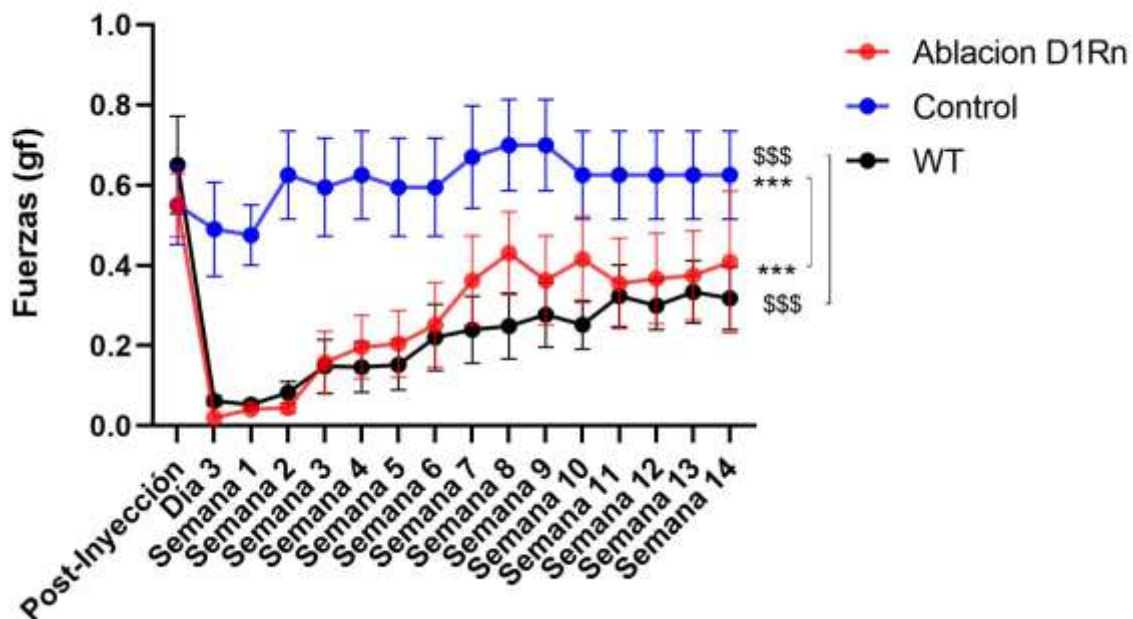
## RESULTADOS

- a) La lesión por compresión del nervio mentoniano provoca hiperalgesia mecánica a partir del día 3 en los grupos con lesión sin importar la ablación neuronal.

Se realizaron evaluaciones una semana previa y al día 3 y durante 14 semanas posteriores **figura 1**. En los ratones controles se observó que el umbral se mantuvo constante durante todas las semanas de evaluación; sin embargo en el grupo D1 y WT la lesión del nervio provocó una disminución en el umbral que se mantuvo sin importar la semana de evaluación (ANOVA de dos vías tratamiento x tiempo, Tratamiento  $F(30, 512) = 0.7946$   $p=0.001$ , Tiempo  $(15, 512) = 4.037$   $p=0.001$ , Interacción  $(2, 512) = 65.65$   $p=0.0001$ ; Posthoc Tukey grupo **D1Rn vs Control**  $P<0.0001$ ; **D1Rn vs WT**  $P=0.2731$ ; **Control vs WT**  $P<0.0001$ .

- b) Los efectos de hiperalgesia generados por la lesión de compresión del nervio mentoniano no se revirtieron en el grupo con la ablación de neuronas que expresan el receptor D1. Esto comparando los resultados de las pruebas mecánicas con filamentos VF con el grupo lesionado sin ablación neuronal.

La ablación de neuronas que expresan el receptor D1 no presentó diferencias significativas en el aumento o disminución del umbral de nocicepción. Se hizo una comparación entre grupos de ratones con lesión trigeminal sin ablación neuronal y ratones con lesión trigeminal y ablación neuronal con una prueba ANOVA de 2 vías (**Ablación D1Rn vs WT**  $P 0.2731$ , ns).

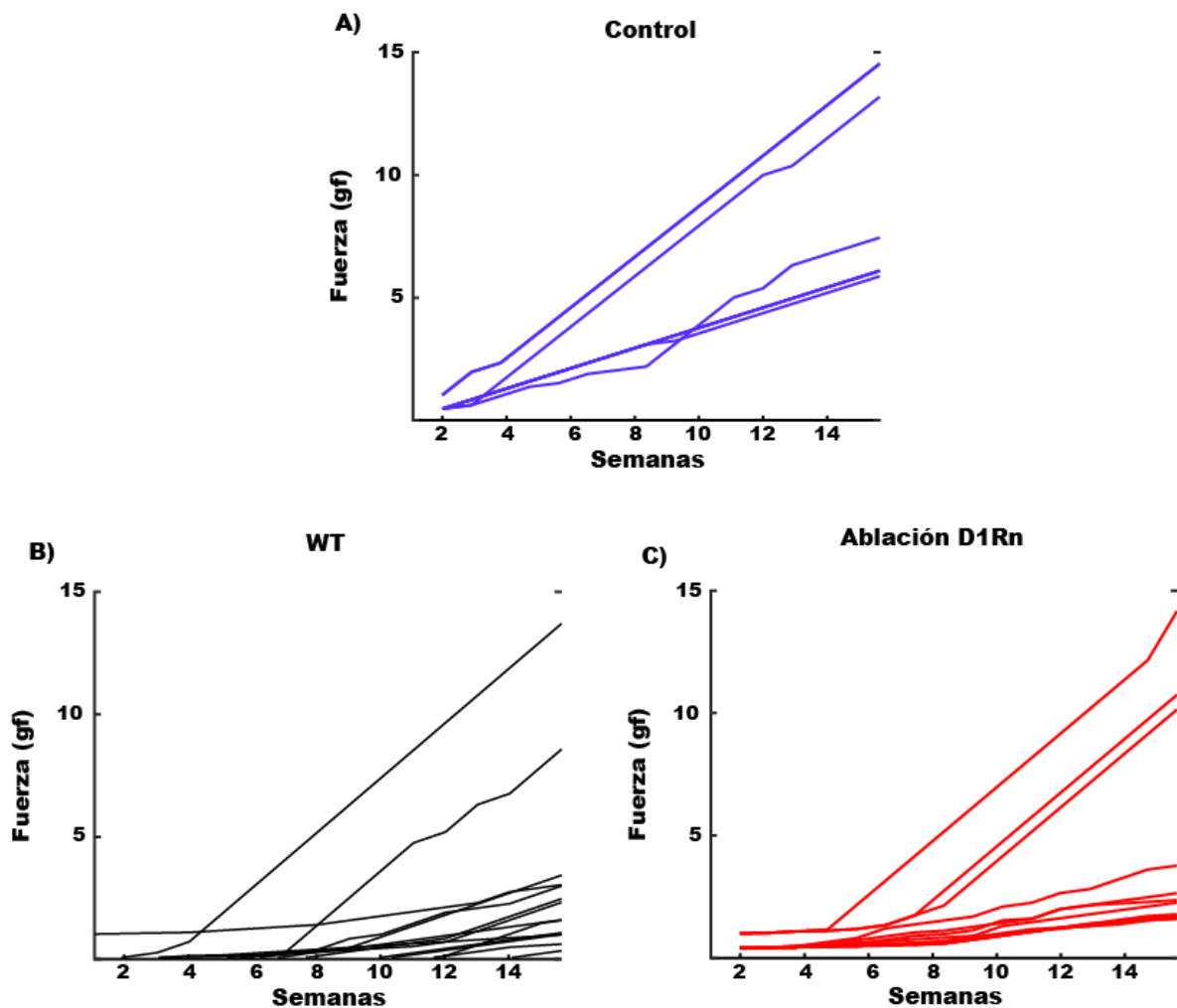


**Figura 1. Evaluación de umbral de nocicepción medido en fuerzas (gf) por periodos semanales. (Ablación D1Rn)** Grupo con ablación específica de neuronas receptoras D1 en núcleo accumbens con lesión neuropática trigeminal, **Control)** grupo sin ablación neuronal y sin lesión neuropática trigeminal, **WT.)** grupo de ratones sin ablación neuronal con lesión neuropática trigeminal. En las evaluaciones semanales del umbral de nocicepción posterior a la lesión trigeminal en los 3 grupos se encontró diferencia significativa entre los grupos (**Ablación D1Rn vs Control**  $P < 0.0001$ ) y (**WT vs Control**  $P < 0.0001$ ).

Para evaluar la dinámica del umbral de nocicepción se realizó una suma acumulativa del umbral por cada evaluación. En el grupo control, al mantenerse constante durante todas las evaluaciones, la suma acumulativa mostró una tendencia en diagonal. Mientras que, en los grupos con lesión, al disminuir su umbral, la suma acumulativa se mantuvo de forma horizontal. Sin embargo, dentro de los grupos con lesión se encontraron individuos que tuvieron una tendencia a recuperar su umbral, lo que causaba que la línea de su suma acumulativa regresara a una tendencia en diagonal, por lo que se podían distinguir del resto del grupo que consideramos con tendencia a la recuperación.

c) Existen proporciones de ratones que muestran una tendencia a recuperar su umbral nociceptivo en los grupos lesionados.

Para evaluar la dinámica del umbral de nocicepción se realizó una suma acumulativa del umbral por cada evaluación **figura 2**. En el grupo **control**, al mantenerse constante durante todas las evaluaciones, la suma acumulativa mostró una tendencia en diagonal. Mientras que, en los grupos con lesión **WT** y **Ablación D1Rn**, al disminuir su umbral, la suma acumulativa se mantuvo de forma horizontal. Sin embargo, dentro de los grupos con lesión se encontraron individuos que tuvieron una tendencia a recuperar su umbral, lo que causaba que la línea de su suma acumulativa regresara a una tendencia en diagonal, por lo que se podían distinguir del resto del grupo que consideramos con tendencia a la recuperación.



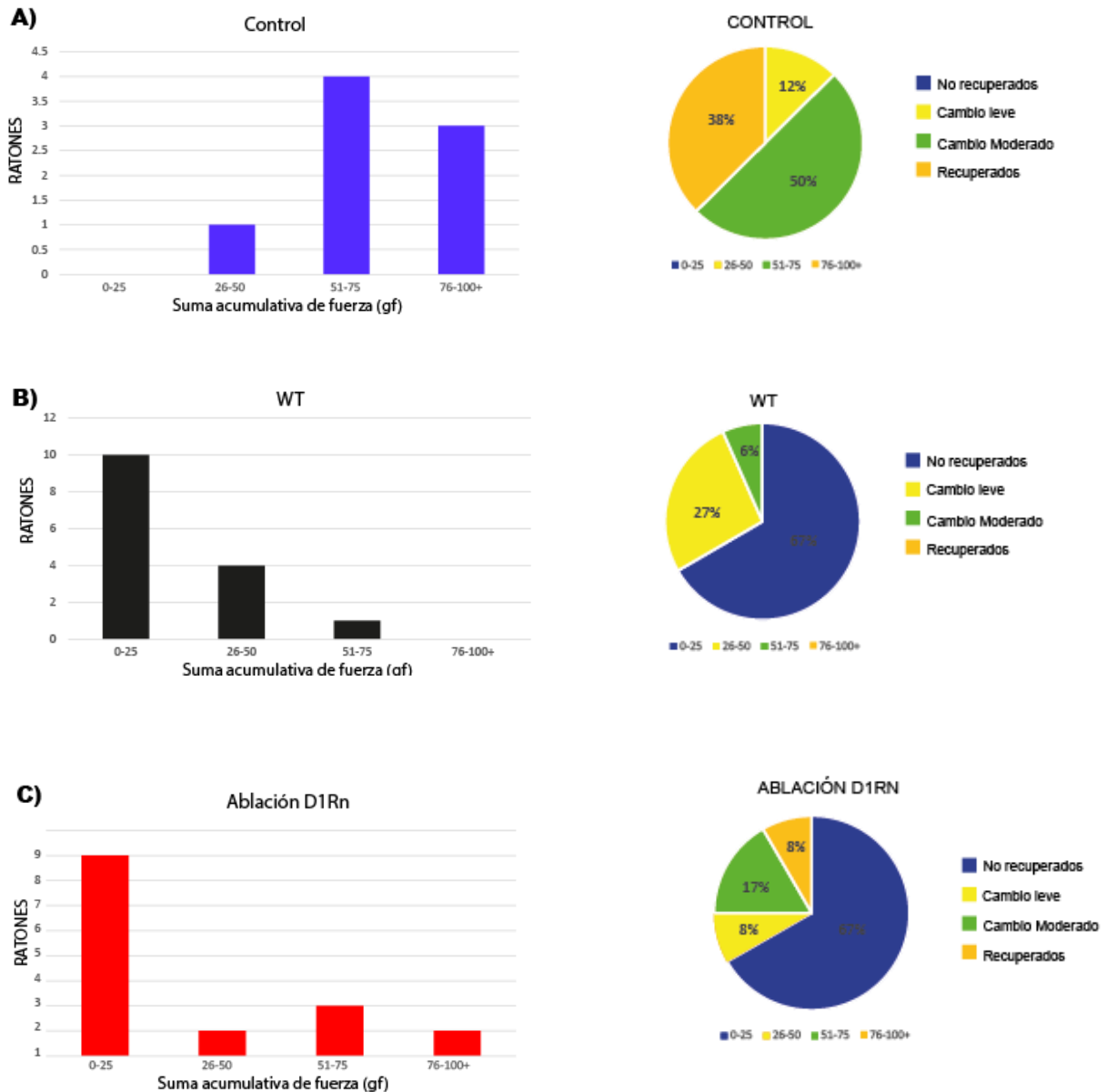
**Figura 2. Distribución acumulada de comportamiento individual umbral de nocicepción medido en fuerzas (gf).** Grupos **Control** (A), **WT** (B) y **Ablación D1Rn** (C).

A pesar de que los grupos **WT** y **Ablación D1Rn** parecían tener nulo cambio en las evaluaciones semanales del umbral de nocicepción. Al analizarlos individualmente en distribución acumulada tenemos ratones que siguen una tendencia acumulativa ascendente separándolos del resto del grupo.

**d)** Los ratones con lesión se pueden clasificar conforme a su perfil de respuesta durante las evaluaciones según su rango de resistencia a un estímulo mecánico en (gf).

Como observamos que existían ratones con tendencia a recuperar su umbral, decidimos clasificarlos según 4 grupos según su rango de resistencia a un estímulo mecánico en fuerza (gf); no recuperados (0-25 gf), cambio leve (26-50 gf), cambio moderado (51-75 gf) y recuperados (76-100 gf). Obtuvimos los porcentajes de cada grupo y no se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos al realizar una prueba de chi-cuadrado **WT vs Ablación D1Rn**, pero si entre los grupos **Ablación D1Rn vs Control** ( $P < 0.0263$ ) y **WT vs Control** ( $P < 0.0012$ ).

Después de evaluar individualmente la dinámica de recuperación de los ratones se obtuvo un análisis de área bajo la curva respecto a la suma acumulada de las figuras **3A**, **3B** y **3C**. Encontramos que los porcentajes de ratones dentro de cada clasificación comparando los grupos **WT** y **Ablación D1Rn** no tenían diferencias significativas, por otra parte, haciendo una prueba de chi cuadrada encontramos diferencias significativas haciendo la comparación entre los grupos **Ablación D1Rn vs Control** ( $P < 0.0263$ ) y **WT vs Control** ( $P < 0.0012$ ).



**Figura 3. Clasificación según su rango de resistencia a un estímulo mecánico en fuerza (gf).** Rangos: 0-25, 26-50, 51-75 y 76-100. Comparación de grupos, haciendo una prueba de chi cuadrada **WT (B) vs Ablación D1Rn (C)** no tiene diferencia significativa. **Ablación D1Rn (C) vs Control (A)** ( $P < 0.0263$ ) y **WT (B) vs Control (A)** ( $P < 0.0012$ ).

## DISCUSIÓN

El dolor crónico es un problema de salud pública a nivel mundial. Se han planteado dudas respecto a su diagnóstico y tratamiento. Sin embargo se han realizado

avances para poder comprender los procesos periféricos y centrales involucrados en las condiciones de dolor crónico (Vasallo Comendeiro et al., 2013).

Se ha observado relación entre estructuras involucradas en el procesamiento sensorial del dolor y estructuras que procesan emociones como lo es el núcleo accumbens que su ubicación le permite participar en la modulación del dolor. El 95% de neuronas del núcleo accumbens son neuronas espinosas medianas GABAérgicas (MSN). Hay dos tipos de MSN en el núcleo accumbens: MSN que expresan el receptor D1 de dopamina (D1-MSN) y MSN que expresan el receptor D2 de dopamina (D2-MSN) (Sato, Hamada, et al., 2022).

Evaluamos los efectos de la ablación de neuronas que expresan receptores D1 (D1Rn) ubicadas en NAc, en un modelo de dolor neuropático inducido por compresión del nervio mentoniano. Con evaluaciones a estímulos mecánicos con filamentos VF se observó que en la evaluación a los 3 días post operación los ratones presentaron una respuesta de hipersensibilidad. La ablación de D1Rn en el NAc no revirtió la hiperalgesia comparada con el grupo lesionado sin ablación neuronal (WT).

### **Cambio en el umbral de nocicepción.**

En este trabajo se encontró que el umbral de nocicepción cambia al realizar una lesión neuropática trigeminal sobre el nervio mentoniano. Grelik y cols. (2005) propusieron el modelo de dolor después de una lesión por constricción del nervio mentoniano en ratas. También se evaluó el mismo modelo de lesión en ratones, tomando en cuenta que no sólo se modifica la dimensión sensorial, sino también la afectiva y la cognitiva (Montes Angeles y cols., 2017).

Para caracterizar los cambios conductuales generados posterior a la lesión trigeminal se utilizaron pruebas a estímulos mecánicos con filamentos de von Frey (VF). Esta prueba se realizó en diferentes estadios de la lesión que comenzaron con una línea base previa a la lesión, a los 3 días post operación y posteriormente evaluaciones semanales por 14 semanas. Se observó que a los 3 días post operatorio los ratones presentaron una respuesta de hipersensibilidad al aplicar los filamentos VF que se mantuvo hasta el final de las pruebas.

### **Restablecimiento de umbral posterior a la lesión.**

Se encontró que los grupos **Ablación D1Rn** vs **WT** fueron diferentes respecto al grupo **control**. Los resultados son consistentes con lo ya reportado por distintos autores al lesionar alguna de las ramas del nervio trigémino. Grelik y cols (2005) por medio de un análisis conductual evaluó las alteraciones sensoriales en el sistema trigeminal posteriores a una lesión por constricción del nervio mentoniano. Seino y cols (2009) introdujo un modelo de constricción del nervio mentoniano, pero ahora aplicado en ratones y demostró una disminución del umbral mecánico. Nuestros resultados confirman que la lesión del nervio mentoniano induce signos de hiperalgesia, ciertos individuos de los grupos **Ablación D1Rn** vs **WT** tuvieron valores restablecidos posteriores a la lesión por constricción del nervio mentoniano, esto puede provenir del restablecimiento de ciertas condiciones observadas en diferentes estudios de lesión trigeminal, Kiyomoto (2018) mencionó que cinco días después de realizar la constricción del nervio alveolar inferior, aumenta el conteo de células de la microglía y la astrogliía en el ganglio trigeminal, pero a los 42 días posteriores a la lesión vuelve a sus niveles basales y a su vez se observa un restablecimiento en el umbral de retirada a la aplicación de estímulos mecánicos.

La temporalidad del efecto producido por una lesión del nervio trigémino no es causada por variaciones en la técnica o materiales empleados en la compresión del nervio, para comprobar esto se realizaron estudios en el laboratorio de neurobiología de las sensaciones y movimientos orales con un sensor piezoeléctrico para medir la fuerza aplicada en cada compresión y arrojo que todas las medidas se mantenían en una fuerza continua sin presentar cambios significativos entre cada aplicación (resultados no publicados). Se ha reportado que los efectos postoperatorios de una lesión dependen de la fuerza aplicada, si la lesión no se realiza con la presión suficiente no se observa signos de dolor, o si se ejerce demasiada tensión existe un efecto de parestesia manifestando una disminución en la respuesta a la estimulación como lo reporto Krzyzanowska & Avendaño (2012). Por lo pronto este análisis nos permitió observar que dentro de un grupo que



presenta signos de dolor post operatorios, existen individuos que logran un restablecimiento total o parcial de su basal de retirada ante un estímulo mecánico.

### **Diferencias entre comparaciones de grupos Ablación D1Rn vs WT.**

Se hizo una comparación entre grupos de ratones **Ablación D1Rn vs WT** y no se obtuvieron diferencias a lo largo del tiempo del umbral nociceptivo. En un trabajo de Sato (2022) se encontró que con una microinyección de un agonista selectivo del receptor D1 (Chloro-APB) revirtió de forma transitoria pero significativa el umbral de dolor en ratones con ligadura parcial del nervio ciático. En este mismo trabajo la microinyección del antagonista de receptor D1 (SCH23390) no tuvo efectos sobre este umbral de dolor reducido, en contraste, nuestros resultados indican que la ablacion neuronal especifica de D1Rn no causo cambios en el umbral de nocicepción, por esto proponemos utilizar diferentes técnicas que permitan activar D1Rn como puede ser quimiogenetica u optogenetica y observar si existen cambios en el umbral de nocicepción.

Necesitamos considerar que la manipulación independiente de las neuronas que expresan el receptor D1 produjo un nulo efecto en cambios nociceptivos contra la hiperalgesia. Nuestros datos son consistentes con lo reportado previamente, donde se observó que la microinyección de un antagonista selectivo del receptor D1 no tuvo efectos a lo largo del tiempo del umbral nociceptivo (Sato, Narita, et al., 2022).

### **Clasificación de la población según su evolución.**

El efecto producido por una lesión del nervio mentoniano puede dividirse en rangos para interpretar de forma más específica la recuperación comparada con el tiempo de evolución de la lesión. Realizamos una clasificación de los ratones de acuerdo con el puntaje obtenido al final de las evaluaciones semanales con filamentos VF por 14 semanas. Nuestros resultados muestran que un porcentaje pequeño de la población recupera su umbral basal a lo largo de las semanas, pero también tenemos ratones que obtienen puntajes altos con una tendencia a la recuperación, pero sin llegar a una recuperación total. En un estudio reciente con ratas se hizo

una clasificación entre susceptibles y resistentes al desarrollo de dolor crónico, esto con base a la respuesta obtenida de un estímulo mecánico, se encontró que los fenotipos de susceptibilidad o resistencia tienen relación con perfiles proteómicos de NAc y esto se relaciona con un se asocia con comportamiento anhedónico (Guimarães et al., 2021).

Esta clasificación a nivel experimental apoyará en futuros proyectos sobre el estudio de dolor orofacial, si bien no tenemos clara cuál es la causa de que un sector de la población tienda a la recuperación mientras el resto se mantiene en un estado de hipersensibilidad. Ahora sabemos que existen diferentes grados de evolución aun cuando a todos se les realizo la misma lesión. A nivel clínico podemos destacar que no todos los pacientes van a cursar por el mismo periodo de dolor aun cuando el procedimiento realizado sea el mismo, esto lleva al odontólogo a profundizar más en el diagnostico para poder prevenir o predecir cuándo un paciente presentara signos más graves de dolor post operatorio.

Sin embargo, aunque se tengan datos de los cambios en perfiles proteómicos de NAc que participan en el desarrollo de dolor crónico, obtuvimos como resultado que la ablación de neuronas que expresan D1R en NAc no tienen participación crítica en el desarrollo de los signos sensoriales del dolor crónico orofacial, que distinga a los sujetos con fenotipo susceptible de los de fenotipo resistente.

Aun falta evaluar de manera más precisa el cambio que puede presentarse en la dimensión afectiva o cognitiva y no solamente en la dimensión sensorial, también utilizar diferentes técnicas de eliminación o activación de neuronas D1Rn. Se ha explorado el impacto de la ablación específica de neuronas D1R del NAc tras una lesión trigeminal abriendo el camino para futuras investigaciones y posibles enfoques terapéuticos dirigidos a esta población específica de neuronas. Estos hallazgos aportarían una comprensión mas profunda sobre la participación de D1Rn en cambios del umbral de nocicepción posterior a una lesión trigeminal, ofreciendo en un futuro perspectivas prometedoras para la mejora de enfoques clínicos en odontología, abriendo nuevas oportunidades para el manejo y tratamiento de condiciones neuropáticas en pacientes.

## CONCLUSIONES

- La lesión por constricción del nervio mentoniano disminuye el umbral de nocicepción.
- Los signos de hiperalgesia se presentaron de la misma forma en los grupos D1Rn y WT posterior a la lesión trigeminal.
- La ablación neuronal específica de D1R en el NAc no produjo cambios en la cantidad de individuo que recuperaron su estadio basal posterior a la lesión trigeminal
- Las neuronas que expresan el receptor D1 ubicadas en NAc no tienen participación en el desarrollo de signos de hiperalgesia posterior a la lesión trigeminal, tampoco interacción en la capacidad de recuperarse.

## REFERENCIAS

- Avalos Fuentes, J. A. (2013). Interacción de los receptores dopaminérgicos D1-D3 en el control de la liberación de GABA y la formación de AMPc en la sustancia negra reticulada de ratas normales y ratas con parkinson experimental [DoctoralThesis, Tesis (D.C.)--Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. Departamento de Farmacología.].  
<https://repositorio.cinvestav.mx/handle/cinvestav/1269>
- Balsters, J. H., Zerbi, V., Sallet, J., Wenderoth, N., & Mars, R. B. (2020). Primate homologs of mouse cortico-striatal circuits. *eLife*, 9, e53680.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.53680>
- Bathla, G., & Hegde, A. N. (2013). The trigeminal nerve: An illustrated review of its imaging anatomy and pathology. *Clinical Radiology*, 68(2), 203-213.  
<https://doi.org/10.1016/j.crad.2012.05.019>

- Bendaña, J. E. (2020). Dolor neuropático: Actualización en definiciones y su tratamiento farmacológico. *Revista Médica Hondureña*, 88(1), Article 1. <https://doi.org/10.5377/rmh.v88i1.11591>
- Borges, A., & Casselman, J. (2010). Imaging the trigeminal nerve. *European Journal of Radiology*, 74(2), 323-340. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2010.02.006>
- Bushnell, M. C., Čeko, M., & Low, L. A. (2013). Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(7), Article 7. <https://doi.org/10.1038/nrn3516>
- Cardinal, R. N., Pennicott, D. R., Sugathapala, C. L., Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (2001). Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science (New York, N.Y.)*, 292(5526), 2499-2501. <https://doi.org/10.1126/science.1060818>
- Chen, R., Blosser, T. R., Djekidel, M. N., Hao, J., Bhattacharjee, A., Chen, W., Tuesta, L. M., Zhuang, X., & Zhang, Y. (2021). Decoding molecular and cellular heterogeneity of mouse nucleus accumbens. *Nature Neuroscience*, 24(12), Article 12. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00938-x>
- Croze, S., Duclaux, R., & Kenshalo, D. R. (1976). The thermal sensitivity of the polymodal nociceptors in the monkey. *The Journal of Physiology*, 263(3), 539-562. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1976.sp011644>
- Defrance, J., Foucher, S., Ramdani, E., Guilloton, L., & Lefort, H. (2019). [Post-traumatic stress disorder and psychogenic pain]. *Soins; La Revue De Reference Infirmiere*, 64(841), 9-11. <https://doi.org/10.1016/j.soin.2019.10.015>

- Dray, A. (1995). Inflammatory mediators of pain. *British Journal of Anaesthesia*, 75(2), 125-131. <https://doi.org/10.1093/bja/75.2.125>
- Dubin, A. E., & Patapoutian, A. (2010). Nociceptors: The sensors of the pain pathway. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3760-3772. <https://doi.org/10.1172/JCI42843>
- Fajardo-Chica, D. (2023). Sobre el concepto de dolor total. *Revista de Salud Pública*, 22, 368-372. <https://doi.org/10.15446/rsap.v22n3.84833>
- Freddi, T. de A. L., Ottaiano, A. C., Lucio, L. L., Corrêa, D. G., & Hygino da Cruz, L. C. (2022). The Trigeminal Nerve: Anatomy and Pathology. *Seminars in Ultrasound, CT and MRI*, 43(5), 403-413. <https://doi.org/10.1053/j.sult.2022.04.002>
- Garland, E. L. (2012). Pain Processing in the Human Nervous System: A Selective Review of Nociceptive and Biobehavioral Pathways. *Primary care*, 39(3), 561-571. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2012.06.013>
- Grelik, C., Allard, S., & Ribeiro-da-Silva, A. (2005). Changes in nociceptive sensory innervation in the epidermis of the rat lower lip skin in a model of neuropathic pain. *Neuroscience Letters*, 389(3), 140-145. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.07.056>
- Guimarães, M. R., Anjo, S. I., Cunha, A. M., Esteves, M., Sousa, N., Almeida, A., Manadas, B., & Leite-Almeida, H. (2021). Chronic pain susceptibility is associated with anhedonic behavior and alterations in the accumbal ubiquitin-proteasome system. *PAIN*, 162(6), 1722. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002192>

- Hariri, A. R., Brown, S. M., Williamson, D. E., Flory, J. D., de Wit, H., & Manuck, S. B. (2006). Preference for immediate over delayed rewards is associated with magnitude of ventral striatal activity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(51), 13213-13217. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3446-06.2006>
- Harris, H. N., & Peng, Y. B. (2020). Evidence and explanation for the involvement of the nucleus accumbens in pain processing. *Neural Regeneration Research*, 15(4), 597. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.266909>
- Ibarra, E. (2006). Una Nueva Definición de «Dolor»: Un Imperativo de Nuestros Días. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 13(2), 65-72.
- Iwata, K., Takeda, M., Oh, S. B., & Shinoda, M. (2017). Neurophysiology of Orofacial Pain. En C. S. Farah, R. Balasubramaniam, & M. J. McCullough (Eds.), *Contemporary Oral Medicine* (pp. 1-23). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28100-1\\_8-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28100-1_8-1)
- Jensen, T. S., Baron, R., Haanpää, M., Kalso, E., Loeser, J. D., Rice, A. S. C., & Treede, R.-D. (2011). A new definition of neuropathic pain. *PAIN®*, 152(10), 2204-2205. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.06.017>
- Kiyomoto, M., Shiota, T., Moriya, T., Sato, H., Nakamura, S., & Inoue, T. (2018). Experimental Study on Involvement of the Central Nervous System in Inferior Alveolar Nerve Damage-Associated Hyperalgesia of the Mental Region. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 76(10), 2089.e1-2089.e8. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2018.06.021>

- Krzyzanowska, A., & Avendaño, C. (2012). Behavioral testing in rodent models of orofacial neuropathic and inflammatory pain. *Brain and Behavior*, 2(5), 678-697. <https://doi.org/10.1002/brb3.85>
- Kuhlmann, L., Olesen, S. S., & Drewes, A. M. (2022). Assessment of visceral pain with special reference to chronic pancreatitis. *Frontiers in Pain Research*, 3. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpain.2022.1067103>
- Meyer, R. A., Ringkamp, M., Campbell, J. N., & Raja, S. N. (2007). Capítulo 1— Mecanismos periféricos de la nocicepción cutánea. En S. B. McMahon & M. Koltzenburg (Eds.), Wall y Melzack. *Tratado del Dolor (Quinta Edición)* (pp. 3-34). Elsevier España. <https://doi.org/10.1016/B978-84-8174-949-6.50001-0>
- Montes-Angeles, C. D., Gutierrez, N., Sosa, C., Jiménez, J., Miranda, F., & Pérez-Martinez, I. O. (2017). Multidimensional study of orofacial chronic neuropathic pain: An experimental study in rats. *Journal of Oral Research*, 6(10), Article 10. <https://doi.org/10.17126/joralres.2017.076>
- Moreno, C., & Prada, D. M. (s. f.). 2 Fisiopatología del dolor clínico.
- Nager, G. T. (1984). Neurinomas of the trigeminal nerve. *American Journal of Otolaryngology*, 5(5), 301-333. [https://doi.org/10.1016/S0196-0709\(84\)80002-2](https://doi.org/10.1016/S0196-0709(84)80002-2)
- Navratilova, E., & Porreca, F. (2014). Reward and motivation in pain and pain relief. *Nature Neuroscience*, 17(10), Article 10. <https://doi.org/10.1038/nn.3811>

- Orr, P. M., Shank, B. C., & Black, A. C. (2017). The Role of Pain Classification Systems in Pain Management. *Critical Care Nursing Clinics*, 29(4), 407-418.  
<https://doi.org/10.1016/j.cnc.2017.08.002>
- Ossipov, M. H., Morimura, K., & Porreca, F. (2014). Descending pain modulation and chronification of pain. *Current Opinion in Supportive and Palliative Care*, 8(2), 143. <https://doi.org/10.1097/SPC.0000000000000055>
- Piérola, Z., & Wilfredo, J. (2007). Bases fisiopatológicas del dolor. *Acta Médica Peruana*, 24(2), 35-38.
- Pignatelli, M., & Bonci, A. (2015). Role of Dopamine Neurons in Reward and Aversion: A Synaptic Plasticity Perspective. *Neuron*, 86(5), 1145-1157.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.04.015>
- Puebla Díaz, F. (2005). Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S.: Dolor iatrogénico. *Oncología (Barcelona)*, 28(3), 33-37.
- Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F. J., Mogil, J. S., Ringkamp, M., Sluka, K. A., Song, X.-J., Stevens, B., Sullivan, M. D., Tutelman, P. R., Ushida, T., & Vader, K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: Concepts, challenges, and compromises. *PAIN*, 161(9), 1976.  
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>
- Rodriguez, L. (2015). Pathophysiology of Pain: Implications for Perioperative Nursing. *AORN Journal*, 101(3), 338-344.  
<https://doi.org/10.1016/j.aorn.2014.12.008>
- Romera, E., Perena, M. J., & Rodrigo, M. D. (2000). Neurofisiología del dolor - *Rev. Soc. Esp. Dolor* 7: Supl. II, 11-17, 2000 Neurofisiología del - Studocu.



<https://www.studocu.com/es-mx/document/benemerita-universidad-autonoma-de-puebla/fisioterapia/neurofisiologia-del-dolor/10074045>

Saiz Ruiz, J., Vega Sánchez, D. C. de la, & Sánchez Páez, P. (2010). Bases Neurobiológicas de la Esquizofrenia. *Clínica y Salud*, 21(3), 235-254.

Sato, D., Hamada, Y., Narita, M., Mori, T., Tezuka, H., Suda, Y., Tanaka, K., Yoshida, S., Tamura, H., Yamanaka, A., Senba, E., Kuzumaki, N., & Narita, M. (2022). Tumor suppression and improvement in immune systems by specific activation of dopamine D1-receptor-expressing neurons in the nucleus accumbens. *Molecular Brain*, 15, 17.

<https://doi.org/10.1186/s13041-022-00902-1>

Sato, D., Narita, M., Hamada, Y., Mori, T., Tanaka, K., Tamura, H., Yamanaka, A., Matsui, R., Watanabe, D., Suda, Y., Senba, E., Watanabe, M., Navratilova, E., Porreca, F., Kuzumaki, N., & Narita, M. (2022). Relief of neuropathic pain by cell-specific manipulation of nucleus accumbens dopamine D1- and D2-receptor-expressing neurons. *Molecular Brain*, 15(1), 10.

<https://doi.org/10.1186/s13041-021-00896-2>

Scholz, J., Finnerup, N. B., Attal, N., Aziz, Q., Baron, R., Bennett, M. I., Benoliel, R., Cohen, M., Cruccu, G., Davis, K. D., Evers, S., First, M., Giamberardino, M. A., Hansson, P., Kaasa, S., Korwisi, B., Kosek, E., Lavand'homme, P., Nicholas, M., ... Classification Committee of the Neuropathic Pain Special Interest Group (NeuPSIG). (2019). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: Chronic neuropathic pain. *Pain*, 160(1), 53-59.

<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001365>

- Seino, H., Seo, K., Maeda, T., & Someya, G. (2009). Behavioural and histological observations of sensory impairment caused by tight ligation of the trigeminal nerve in mice. *Journal of Neuroscience Methods*, 181(1), 67-72.  
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.04.020>
- Sneddon, L. U. (2018). Comparative Physiology of Nociception and Pain. *Physiology*, 33(1), 63-73. <https://doi.org/10.1152/physiol.00022.2017>
- Tracey, I. (2005). Nociceptive processing in the human brain. *Current Opinion in Neurobiology*, 15(4), 478-487. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2005.06.010>
- Treede, R.-D., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Bennett, M. I., Benoliel, R., Cohen, M., Evers, S., Finnerup, N. B., First, M. B., Giamberardino, M. A., Kaasa, S., Korwisi, B., Kosek, E., Lavand'homme, P., Nicholas, M., Perrot, S., Scholz, J., Schug, S., ... Wang, S.-J. (2019). Chronic pain as a symptom or a disease: The IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). *PAIN*, 160(1), 19.  
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001384>
- Vasallo Comendeiro, V. J., Arjona Fonseca, S., Fernández Romaguera, Y., Rondón Acosta, J., & Quevedo Álvarez, L. (2013). Dolor crónico o persistente. *Revista Cubana de Anestesiología y Reanimación*, 12(1), 4-11.
- Yong, R. J., Mullins, P. M., & Bhattacharyya, N. (2022). Prevalence of chronic pain among adults in the United States. *PAIN*, 163(2), e328.  
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002291>