



**UNIVERSIDAD MICHOCANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS "DR. IGNACIO CHÁVEZ"
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**"PARTICIPACIÓN DE LOS RECEPTORES SEROTONÉRGICOS 5-HT₃ EN EL
EFECTO DEL XILENO Y DEL BENCENO SOBRE LA NOCICEPCIÓN"**

presenta

QFB. DIEGO ALEJANDRO SIMÓN NIETO

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD**

DIRECTORA DE TESIS:

D. en C. Marcia Yvette Gauthereau Torres

CO-DIRECTOR DE TESIS:

D. en C. Luis Fernando Ortega Varela

Morelia, Michoacán, julio de 2025

Dedicatoria

A la mujer más extraordinaria y mi mayor ejemplo de vida, todo lo que soy y espero ser te lo debo a ti; atribuyo a ti cada éxito en esta vida. Sin tu apoyo y motivación nada de esto hubiera sido posible. Te amo mamá.

Agradecimientos

A mi padre José Jaime Simón, por darme su apoyo incondicional, por su esfuerzo y dedicación.

A mi hermano Daniel Simón, por darme apoyo emocional y brindarme su amor, el cual fue necesario para seguir esforzándome.

A Brandon Torres, por no dejar que me dé por vencido y por mostrarme que a pesar de que haya problemas debo de luchar por lo que quiero. Sin ti no hubiera podido presentar este trabajo en Chicago, te quiero.

A mis amigos Brandon Campos, Osvaldo Ruíz y Mariana González por su amistad incondicional, por haberme escuchado, aconsejado y motivado en estos años.

A la D. en C. Marcia Yvette Gauthereau Torres y al D en C. Luis Fernando Ortega Varela, por aceptarme como su estudiante, por brindarme su apoyo, los recursos necesarios para realizar mi trabajo y lo más importante, por su tiempo y conocimiento, el cual me fue de gran ayuda para poder realizar este proyecto. Sin ustedes no hubiera podido vivir la experiencia de hacer divulgación científica a nivel nacional e internacional, y gracias a ustedes mi tiempo en la maestría fue una experiencia increíble.

A mis sinodales D. en C. Daniel Godínez Hernández y a la D. en C. Claudia Cervantes Durán, por brindarme su conocimiento y sus comentarios que me sirvieron de guía a lo largo de la elaboración de este proyecto.

Lista de abreviaturas

5-HT	5-hidroxitriptamina (serotonina)
5-HTR	Receptores 5-HT
ABC	Área bajo la curva
ATP	Adenosín trifosfato
CYP	Citocromo P450
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GI	Tracto gastrointestinal
Gly	Glicina
m-CPBG	1-(3- clorofenil) biguanida
mN	Milnewton
NaCl	Cloruro de sodio
nmol	Nanomol
ppm	Partes por millón
SNC	Sistema nervioso central
TM	Dominio transmembranal

ÍNDICE

Resumen	9
Abstract	10
1. Introducción	11
2. Marco teórico	13
2.1 Inhalables	13
2.1.1 Clasificación	13
2.1.2 Epidemiología de los inhalables en México	14
2.1.3 Abuso de inhalables	15
2.1.4 Tipos de exposición a inhalables	15
2.2 Xileno	16
2.2.1 Propiedades fisicoquímicas	16
2.2.2 Usos	17
2.2.3 Tipos de exposición	17
2.2.4 Farmacocinética	18
2.3 Benceno	19
2.3.1 Propiedades fisicoquímicas	19
2.3.2 Usos	20
2.3.3 Tipos de exposición	20
2.3.4 Farmacocinética	21
2.4 Mecanismos de acción de los disolventes	22
2.5 Receptores serotoninérgicos	22
2.5.1 Receptores 5HT ₃	23
2.6 Efectos del xileno y del benceno sobre la nocicepción	24
2.7 Dolor	25
2.7.1 Definición del dolor	25
2.7.2 Clasificación del dolor	26
2.7.3 Nocicepción	27
2.7.4 Nociceptores	29
2.7.5 Sensibilización	30
2.7.6 Hiperalgesia y alodinia	31
2.7.7 Receptores 5HT ₃ y nocicepción	32
2.7.8 Modelos animales para el estudio del dolor	33
2.7.9 Modelos de nocicepción inflamatoria	35
3. Planteamiento del problema	36

4. Justificación	37
5. Hipótesis	38
6. Objetivos	38
6.1 Objetivo general	38
6.2 Objetivos particulares	38
7. Materiales y métodos	39
7.1 Animales de experimentación	39
7.2 Fármacos	40
7.3 Exposición a xileno y a benceno	40
7.4 Nocicepción inflamatoria aguda inducida por formalina	41
7.5 Hiperalgnesia sostenida y alodinia secundaria	42
8. Estrategia experimental	42
9. Análisis estadístico	44
10. Resultados	45
10.1. Efecto de la exposición aguda a xileno y a benceno sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas Wistar hembras.	45
10.2. Efecto de la exposición aguda a xileno y a benceno sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas Wistar machos.	50
10.3. Efecto del antagonista de los receptores serotoninérgicos 5-HT ₃ , alosetrón sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas expuestas a xileno y a benceno de manera aguda.	58
10.4. Efecto del agonista de los receptores serotoninérgicos 5-HT ₃ , m-CPBG sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas expuestas a xileno y a benceno de manera aguda.	68
10.5. Efecto de la administración periférica del antagonista de los receptores serotoninérgicos 5-HT ₃ , alosetrón sobre el efecto pronociceptivo del agonista de los receptores 5-HT ₃ , m-CPBG, en la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas Wistar expuestas a benceno de manera aguda	74
11. Discusión	77
11.1. La exposición aguda a xileno y a benceno aumenta los comportamientos nociceptivos en la prueba de la formalina.	77
11.2. El efecto pronociceptivo del benceno en la nocicepción inducida por formalina depende de los receptores 5-HT ₃	80
11.2.1. El efecto del antagonista altamente selectivo de los receptores serotoninérgicos 5-HT ₃ , alosetrón, sobre la nocicepción inducida por formalina en ratas expuestas a xileno y a benceno	80
11.2.2. El efecto del agonista altamente selectivo de los receptores serotoninérgicos 5-HT ₃ , m-CPBG, sobre la nocicepción inducida por formalina en ratas expuestas a xileno y a benceno	82
11.2.3. El efecto de la combinación del antagonista, alosetrón y del agonista altamente selectivo de los receptores serotoninérgicos 5-HT ₃ , m-CPBG, sobre la nocicepción inducida por formalina en ratas expuestas a xileno y a benceno	84
12. Conclusiones	86

13. Perspectivas	87
14. Referencias	88

Índice de tablas

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del xileno	17
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas del benceno	19

Índice de figuras

Figura 1. Tendencia en el consumo de drogas alguna vez en la vida	15
Figura 2. Estructura química del xileno y sus isómeros	16
Figura 3. Estructura química del benceno	19
Figura 4. Estructura de los receptores serotoninérgicos 5-HT ₃	23
Figura 5. Vía del dolor y los procesos que participan en la experiencia del dolor	28
Figura 6. Diagrama que ilustra los cambios en la sensación de dolor inducida por una lesión	32
Figura 7. Estrategia experimental	44
Figura 8. Curso temporal del promedio de sacudidas de la pata trasera derecha observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire.	45
Figura 9. Curso temporal del promedio de sacudidas de la pata trasera derecha observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas previamente expuestas (A) a xileno (6,000 ppm) o (B) a benceno (8,000 ppm).	46
Figura 10. Área bajo la curva (ABC) de retiros de pata observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire.	46
Figura 11. Curso temporal del número de respuestas ipsilaterales (IL) y contralaterales (CL) de retiros de pata después de 10 aplicaciones de los filamentos de von Frey con fuerza de flexión de 10 mN (alodinia) (panel A y B), después de la administración subcutánea de formalina al 1% (F) en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire (control)	48
Figura 12. Curso temporal del número de respuestas ipsilaterales (IL) y contralaterales (CL) de retiros de pata después de 10 aplicaciones de los filamentos de von Frey con fuerza de flexión de 250 mN (hiperalgesia) (panel A y B), después de la administración subcutánea de formalina al 1% (F) en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire (control).	49
Figura 13. Curso temporal del promedio de sacudidas de la pata trasera derecha observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas Wistar macho previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o aire.	50
Figura 14. Comparación del curso temporal del promedio de sacudidas de la pata trasera derecha observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas Wistar hembras y machos previamente expuestas (A) a xileno (6,000 ppm) o (B) a benceno (8,000 ppm).	51

Figura 15. Área bajo la curva (ABC) de retiros de pata observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire. 51

Figura 16. Comparación del área bajo la curva (ABC) de retiros de pata observados en el curso temporal después de la inyección de formalina al 1% en ratas Wistar hembras y machos previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire. 52

Figura 17. Curso temporal del número de respuestas ipsilaterales (IL) y contralaterales (CL) de retiros de pata después de 10 aplicaciones de los filamentos de von Frey con fuerza de flexión de 10 mN (alodinia) (panel A y B), después de la administración subcutánea de formalina al 1% (F) en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire (control). Las gráficas de barras (panel C y D) representan el área bajo la curva (ABC 0-12 días). 54

Figura 18. Curso temporal del número de respuestas ipsilaterales (IL) y contralaterales (CL) de retiros de pata después de 10 aplicaciones de los filamentos de von Frey con fuerza de flexión de 250 mN (hiperalgesia) (panel A y B), después de la administración subcutánea de formalina al 1% (F) en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire (control). Las gráficas de barras (panel C y D) representan el área bajo la curva (ABC 0-12 días). 55

Figura 19. Comparación del área bajo la curva (ABC 0-12 días) de alodinia IL hembras vs machos (Panel A) y de alodinia CL hembras vs machos (Panel B). 56

Figura 20. Comparación del área bajo la curva (ABC 0-12 días) de hiperalgesia IL hembras vs machos (Panel A) y de hiperalgesia CL hembras vs machos (Panel B). 57

Figura 21. Los efectos inducidos por la administración de solución salina (NaCl 0.9%) en la prueba de la formalina. 58

Figura 22. Área bajo la curva de sacudidas de pata observados en ambas fases después de la inyección de formalina al 1% en ratas a las que se le administró solución salina. 59

Figura 23. Efecto del antagonista del receptor 5-HT₃, alosetrón (10-100 nmol) en la nocicepción aguda inducida por formalina 1% en ratas previamente expuestas a aire o a xileno. 59

Figura 24. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire o a xileno y después de la administración de formalina 1%. 60

Figura 25. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (250 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire o a xileno y después de la administración de formalina 1%. 61

Figura 26. Efecto del antagonista del receptor 5-HT₃, alosetrón (10-100 nmol) en la nocicepción aguda inducida por formalina 1% en ratas previamente expuestas a aire o a benceno (8000 ppm). 62

Figura 27. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas traseras de ratas previamente expuestas a aire o a benceno y después de la administración de formalina 1%. 63

Figura 28. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey

- (250 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire o a benceno y después de la administración de formalina 1%. 64
- Figura 29. Efecto del antagonista del receptor 5-HT₃ alosetrón (10-100 nmol) en la nocicepción aguda inducida por formalina 1% en ratas previamente expuestas a aire. 65
- Figura 30. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas traseras de ratas previamente expuestas a aire y después de la administración de formalina 1%. 66
- Figura 31. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (250 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire y después de la administración de formalina 1%. 67
- Figura 32. Efecto del agonista del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol) en la nocicepción aguda inducida por formalina 1% en ratas previamente expuestas a aire o a xileno (6000 ppm). 68
- Figura 33. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire o a xileno y después de la administración de formalina 0.5%. 69
- Figura 34. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (250 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire o a xileno y después de la administración de formalina 0.5%. 70
- Figura 35. Efecto del agonista del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol) en la nocicepción aguda inducida por formalina 0.5% en ratas previamente expuestas a aire o a benceno (8000 ppm). 71
- Figura 36. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas traseras de ratas previamente expuestas a aire o a benceno y después de la administración de formalina 0.5%. 72
- Figura 37. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (250 mN) en la superficie plantar de las patas traseras de ratas previamente expuestas a aire o a benceno y después de la administración de formalina 0.5%. 73
- Figura 38. Efecto del antagonista del receptor 5-HT₃, alosetrón (Alo, 10 nmol) y del agonista del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol) en el efecto pronociceptivo del benceno sobre la nocicepción aguda inducida por formalina al 0.5%, en ratas expuestas previamente a benceno. 74
- Figura 39. Efecto del pretratamiento periférico con el antagonista selectivo de los receptores 5-HT₃, alosetrón sobre los efectos pronociceptivos del agonista de los receptores 5-HT₃, m-CPBG en la alodinia a secundaria de larga duración inducida por formalina al 0.5% en ratas. 75
- Figura 40. Efecto del pretratamiento periférico con el antagonista selectivo de los receptores 5-HT₃, alosetrón sobre los efectos pronociceptivos del agonista de los receptores 5-HT₃, m-CPBG en la hiperalgesia secundaria de larga duración inducida por formalina al 0.5% en ratas. 76

Resumen

El xileno y el benceno son disolventes inhalables, que son sustancias volátiles a temperatura ambiente, que se administran por la vía de la inhalación con el fin de alterar el estado de conciencia, se encuentran en productos comerciales como removedores de pintura, “thinner”, gasolina y pegamentos, entre otros. Estudios han indicado que los disolventes de abuso comparten varias acciones con depresores del SNC, como el etanol. Se ha demostrado que los inhalables actúan sobre canales iónicos, como los receptores NMDA, GABA_A, serotoninérgicos, etc. La serotonina está ligada a diversas funciones, entre las que destaca su vinculación al dolor. Se ha reportado que el tolueno (un disolvente de abuso con estructura química similar al xileno y al benceno), tiene efectos pronociceptivos, actuando sobre los receptores serotoninérgicos 5-HT₃. Sin embargo, se desconoce la participación de otros disolventes de abuso en la nocicepción o si otros disolventes comparten los efectos del tolueno. **Objetivo general:** Estudiar el efecto de la exposición a xileno y a benceno sobre la nocicepción, la hiperalgesia y la alodinia, así como la participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃. **Materiales y métodos:** Se utilizaron ratas hembra de la cepa Wistar, cuyos pesos oscilaron entre 180 y 230 g. Los animales se adaptaron 30 min en la cámara de exposición (1 día antes de la exposición). Se les administró por vía subcutánea m-CPBG (agonista serotoninérgico 5-HT₃), alosetrón (antagonista serotoninérgico 5-HT₃) o solución salina (vehículo), 10 min antes de la exposición a xileno o a benceno o a aire. La exposición aguda a xileno/benceno o a aire fue durante 30 min. Posteriormente se les administró por vía subcutánea 50 µl de formalina al 1% o al 0.5%. Se evaluó la nocicepción aguda durante 1 min cada 5 min por 1 hora. La hiperalgesia y la alodinia secundarias se evaluaron 12 días después en los mismos animales utilizando los filamentos de von Frey. Los datos se expresaron como el promedio ± S.E.M. de 6 animales por grupo. **Resultados:** Nuestros resultados mostraron que la exposición aguda a xileno y a benceno incrementa la nocicepción aguda inducida por formalina, y produce un aumento en la hiperalgesia y en la alodinia. El pretratamiento periférico local con alosetrón (10-100 nmol) redujo el efecto pronociceptivo del benceno, pero no del xileno, en la nocicepción aguda y en la alodinia y en la hiperalgesia secundarias de larga duración. Además, la administración periférica local de m-CPBG (300 nmol) aumentó la nocicepción aguda y duradera inducida por formalina al 0.5% en ratas expuestas a aire y a benceno, pero no a xileno. Nuestros hallazgos sugieren que el xileno y el benceno tienen un efecto pronociceptivo, como el tolueno, y que los receptores 5-HT₃ participan en el efecto del benceno.

Palabras clave: Inhalables, xileno, benceno, receptores 5-HT₃, alodinia, hiperalgesia, alosetrón, nocicepción y m-CPBG.

Abstract

Xylene and benzene are inhalable solvents, they are volatile substances at room temperature. These solvents are administered through inhalation to alter awareness. They are found in commercial products such as paint removers, paint thinner, gasoline, and glue, among others. Studies have shown that abused solvents share several actions with CNS depressants such as ethanol. Inhalants have been shown to interact on ion channels, such as NMDA, GABA, and serotonergic receptors. Serotonin is linked to various functions, most notably its association with pain. Toluene (a solvent of abuse with a chemical structure similar to xylene and benzene) has been reported to have pronociceptive effects, acting on 5-HT₃ serotonergic receptors. However, the role of other abused solvents in nociception or whether other solvents share the effects of toluene is unknown. **General objective:** To study the effect of xylene and benzene exposure on nociception, hyperalgesia and allodynia, as well as the involvement of serotonergic 5-HT₃ receptors. **Materials and methods:** Female Wistar rats, weighing between 180 and 230 g, were used. The animals were adapted for 30 min in the exposure chamber (1 day before exposure). They were administered subcutaneously with m-CPBG (serotonergic 5-HT₃ agonist), alosetron (serotonergic 5-HT₃ antagonist) or saline (vehicle), 10 min before exposure to xylene or benzene or air. Acute exposure to xylene/benzene or air was for 30 min. Subsequently, they were administered subcutaneously with 50 µl of 1% or 0.5% formalin. Acute nociception was assessed for 1 min every 5 min for 1 h. Secondary hyperalgesia and allodynia were assessed 12 days later in the same animals using von Frey filaments. Data are expressed as the mean ± S.E.M. of 6 animals per group. **Results:** Our results showed that acute exposure to xylene and benzene enhances formalin-induced acute nociception, producing an increase in hyperalgesia and allodynia. Local peripheral pretreatment with alosetron (10–100 nmol) reduced the pronociceptive effect of benzene, but not of xylene, on acute nociception and on long-lasting secondary allodynia and hyperalgesia. Furthermore, local peripheral administration of m-CPBG (300 nmol) increased acute and long-lasting nociception induced by 0.5% formalin in rats exposed to air and benzene, but not to xylene. Our findings suggest that xylene and benzene have a pronociceptive effect, like toluene, and that 5-HT₃ receptors are involved in the benzene effect.

Keywords: Inhalants, xylene, benzene, 5-HT₃ receptors, allodynia, hyperalgesia, alosetron, nociception and m-CPBG.

1. Introducción

El xileno y el benceno son disolventes inhalables, que son sustancias volátiles a temperatura ambiente que cuando son inhaladas producen un estado alterado de la conciencia, ocasionando inicialmente excitación del sistema nervioso central (SNC), seguido de un estado depresor del mismo (NIDA, 2022).

Según el Informe Mundial sobre las Drogas 2023, más de 296 millones de personas consumieron drogas en 2021, un aumento del 23 por ciento con respecto a la década anterior. También se destaca que las poblaciones jóvenes siguen siendo las más vulnerables al consumo de drogas y se ven más gravemente afectadas por el trastorno por consumo de sustancias en varias regiones (UNODC, 2023).

En México, en la Encuesta Nacional de Adicciones de 2011 (ENA, 2011) los inhalables mostraron una tendencia al alza en el consumo (con 0.9%), tomando el tercer lugar de preferencia entre las drogas ilegales más consumidas en el país (después de la marihuana y la cocaína) y en la última Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (ENCODAT, 2017) los inhalables continúan en la tercera posición de preferencia (después de la marihuana y la cocaína), pero con 1.1%.

En lo que respecta a la prevalencia de consumo de drogas en el estado de Michoacán, tanto en hombres como en mujeres desde el nivel de secundaria y bachillerato ha estado en aumento el consumo de drogas médicas e ilegales, pero el porcentaje es mayor para la marihuana, los inhalables y los tranquilizantes (ENCODE, 2014).

La prevalencia del consumo de inhalables en Morelia, Michoacán ha oscilado de inicios de 2005 al primer semestre de 2011, donde se observó un incremento del 34.7% al 45.1% y a partir de ahí comenzó a descender hasta llegar a 28.2% a finales de 2016 (EBCO, 2018).

Los inhalables, como el xileno y el benceno, se encuentran en productos como diluyentes para pinturas, gasolina, “thinner”, líquidos correctores, marcadores “permanentes”, esmaltes, removedores de esmaltes y pegamentos (ATSDR, 2016).

La inhalación de disolventes, como el xileno y el benceno, por periodos prolongados de tiempo y a concentraciones elevadas pueden producir asfixia, convulsiones, coma y muerte súbita (ATSDR, 2016).

Los resultados de investigaciones previas sugieren que el tolueno (un compuesto con estructura química similar al xileno y al benceno) aumenta la nocicepción a través de sistemas de neurotransmisores, como el serotoninérgico (Cervantes-Durán et al., 2017). Sin embargo, no se sabe si otros sistemas de neurotransmisores están participando en estos efectos pronociceptivos o si otros disolventes comparten estos efectos.

Por otro lado, estudios han demostrado que los inhalables afectan el funcionamiento del receptor de serotonina-3A (5-HT_{3A}-R), un miembro de la superfamilia de receptores de canales iónicos controlados por ligandos, como los receptores colinérgicos nicotínicos, receptores a ácido γ -aminobutírico tipo A (GABA_A) y receptores a glicina (Gly-R) (Lopreato et al., 2003). Con base en lo anterior, en el presente proyecto se pretende estudiar la participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ en los efectos del xileno y del benceno sobre la nocicepción.

2. Marco teórico

2.1. Inhalables

Los inhalables son sustancias volátiles a temperatura ambiente, que se administran por la vía de la inhalación con el fin de alterar el estado de conciencia y el estado de ánimo y así alcanzar estados placenteros (Cruz et al., 2003).

2.1.1. Clasificación

Uno de los sistemas de clasificación establece cuatro categorías generales de inhalables, basándose en las formas más comunes en que estos se encuentran en los productos domésticos, industriales y médicos. Estas cuatro categorías son: disolventes volátiles, aerosoles, gases y nitritos (NIDA, 2022).

1. Aerosoles: Son rociadores que contienen propulsores y disolventes. Estos incluyen a las pinturas pulverizadas, atomizadores para desodorantes y fijadores de pelo, rociadores de aceite vegetal para cocinar y rociadores para proteger telas o tejidos.
2. Gases: incluyen a los anestésicos de uso médico como el éter, el cloroformo, el halotano y el óxido nitroso, siendo este último gas el que más se consume en situación de abuso. También dentro de esta categoría se incluyen a los gases que se utilizan en productos domésticos o comerciales, como los encendedores de butano, los tanques de gas propano y los refrigerantes.
3. Nitritos: Se consideran una clase especial de inhalables. A diferencia de la mayoría de los demás inhalables que actúan directamente sobre el sistema nervioso central (SNC), los nitritos principalmente dilatan los vasos sanguíneos y relajan los músculos. Asimismo, mientras que los demás inhalables se utilizan para alterar el estado de ánimo, los nitritos se usan principalmente para intensificar el placer sexual.
4. Disolventes volátiles: Son líquidos con presiones de vapor altas y altamente lipofílicos (Cruz et al., 2009). Son más pesados que el aire y la mayoría son altamente inflamables (Cruz y Bowen, 2021). Los disolventes volátiles se presentan en una variedad de productos económicos que se pueden obtener fácilmente y que son de uso común. Esta categoría incluye a los removedores de pinturas, líquidos para lavado en seco, desengrasantes, gasolinas, pegamentos, líquidos correctores y marcadores con punta de fieltro. Su posesión es legal, son baratos y la inhalación de sus vapores no se

considera una conducta de alto riesgo en comparación con otras drogas, lo que los convierte en drogas de abuso de fácil acceso (Cruz et al., 2003).

2.1.2 Epidemiología de los inhalables en México

En la Encuesta Nacional de Adicciones de 2008 (ENA, 2008), los inhalables mostraban una tendencia al alza en el consumo, ocupando la tercera posición entre las drogas ilegales más consumidas en nuestro país (0.7%), después de la marihuana y la cocaína. Posteriormente, en la ENA 2011 se mostró una tendencia al incremento (con 0.9%), manteniendo el tercer lugar de preferencia entre las drogas de abuso (después de la marihuana y la cocaína) y en la más reciente Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (ENCODAT, 2017) los inhalables continúan en la tercera posición de preferencia (también después de la marihuana y la cocaína), pero con 1.1% (figura 1).

Si bien la ENCODAT 2016-2017 mostró que el 1.3% de la población adolescente de 12 a 17 años había consumido inhalables alguna vez en su vida, por su parte la Encuesta Nacional de Consumo de Drogas en Estudiantes de 2014 (ENCODE, 2014) reveló que estudiantes de secundaria y bachillerato presentaron una prevalencia del abuso de inhalables fue de 5.8% (5.9% hombres y 5.8% mujeres), siendo los inhalables el segundo grupo de drogas de mayor preferencia después de la marihuana (10.6%); y en estudiantes de 5° y 6° año de educación primaria la prevalencia fue de 1.8% (2.7% hombres y 0.9% mujeres), también como segunda droga de preferencia después de la marihuana (2.3%).

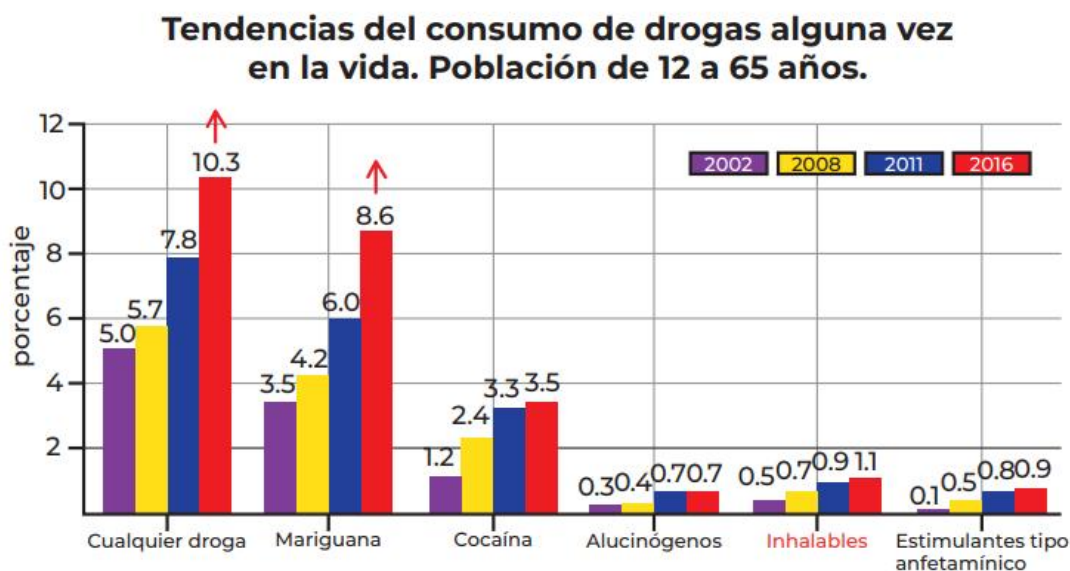


Figura 1. Tendencia en el consumo de drogas alguna vez en la vida. Tomado de Encuestas Nacionales de Adicciones 2002, 2008, 2011, Encuesta Nacional de Drogas, Alcohol y Tabaco 2017.

2.1.3. Abuso de inhalables

El abuso de inhalables es un problema importante de salud en México y hasta ahora sigue siendo el grupo de drogas menos estudiado en los últimos años.

Entre el 2008 y el 2012 se reportó un aumento en el uso de inhalables de un 4.2% a un 7.5% en el estado de Michoacán. Hasta hace pocos años en México, el abuso de inhalables se limitaba a un grupo minoritario, es decir, los jóvenes de un nivel socioeconómico bajo, pero se ha extendido y ahora se observa en todos los sectores, convirtiéndose así en una droga de elección sobre todo en la comunidad estudiantil (Villatoro, 2011).

2.1.4. Tipos de exposición a inhalables:

Los inhalables pueden ser aspirados por la nariz o por la boca de varias maneras, tales como:

- Aspirando ("sniffing") o inhalando ("snorting") los vapores de los envases.
- Rociando los aerosoles directamente en la nariz o en la boca.
- Aspirando o inhalando los vapores de sustancias que han sido rociadas o depositadas dentro de una bolsa de plástico o de papel ("bagging").
- Colocando en la boca un trapo que ha sido impregnado con un inhalable ("huffing" o "mona").
- Inhalando de globos llenos de óxido nitroso.

Las sustancias químicas inhaladas se absorben con rapidez a través de los pulmones y llegan a la sangre, donde son distribuidas rápidamente al cerebro y a otros órganos. Pocos segundos

después de la inhalación, el usuario experimenta la intoxicación y otros efectos parecidos a los del alcohol. Estos efectos incluyen dificultad para hablar, incapacidad para coordinar movimientos, euforia y mareo. Además, los usuarios pueden padecer de aturdimiento, alucinaciones y delirios (NIDA, 2022).

Los niveles de exposición durante los episodios de abuso son mucho más altos que las concentraciones presentadas durante las exposiciones ocasionales u ocupacionales. Los adictos a inhalables pueden exponerse por unos minutos a 2,000-30,000 ppm de disolventes volátiles (Marjot y McLeod, 1989). El abuso típico implica de 15 a 20 inhalaciones de concentraciones muy altas de disolventes volátiles, lo cual ocurre en periodos muy cortos de tiempo (10-15 minutos) (Villatoro et al, 2011; Bowen et al., 2007).

2.2. Xileno

El xileno o dimetilbenceno es un disolvente aromático de uso común, con tres isómeros en los que la posición de los grupos metilos en el anillo de benceno varía: orto, meta y para-xileno (ATSDR, 2016) (figura 2). La mezcla de los tres isómeros se denomina xilol (Mirkin, 2007).

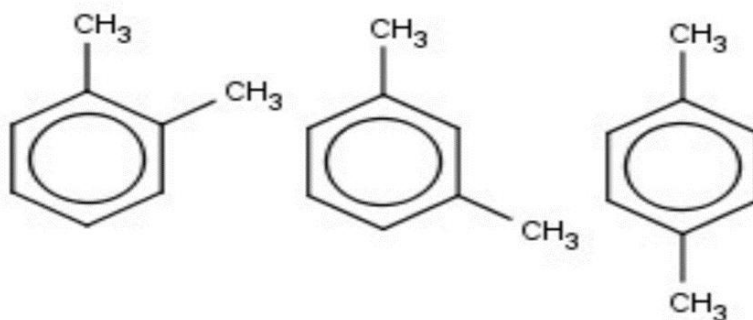


Figura 2. Estructura química del xileno y sus isómeros, que consisten en un anillo aromático con dos grupos metilo.

2.2.1 Propiedades fisicoquímicas

El xileno es un hidrocarburo inflamable y con un olor aromático característico. Se puede utilizar como precursor químico y como disolvente. Todos sus isómeros son líquidos inflamables incoloros y están compuestos de un anillo central de benceno con dos grupos de metilo unidos en los sustituyentes (tabla 1) (ATSDR, 2016).

La mayoría de los xilenos mixtos contienen etilbenceno (Ransley, 1984). El xileno de calidad comercial (mezclado) normalmente se compone de aproximadamente un 20% de orto-xileno, un 40% de meta-xileno y un 20% de para-xileno, con aproximadamente un 15% de

etilbenceno y cantidades más pequeñas de tolueno, trimetilbenceno, fenol, tiofeno, piridina e hidrocarburos no aromáticos (NIOSH, 2019).

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del xileno (tomado y modificado de IARC, 1989).

Propiedad	<i>orto</i> -xileno	<i>meta</i> -xileno	<i>para</i> -xileno
Peso molecular	106.16 g/mol		
Color	Incoloro		
Estado físico	Líquido		
Punto de fusión	-25.2°C	-47.9°C	13.3°C
Punto de ebullición	144.4°C	139.1°C	138.3°C
Densidad	0.8802 g/cm ³	0.8642 g/cm ³	0.8611 g/cm ³

2.2.2 Usos

El xileno se usa como disolvente en la imprenta y en las industrias de caucho y cuero. También se usa como agente de limpieza, diluyente de pintura y está presente en pinturas y barnices (ATSDR, 2016).

Los xilenos aislados también se mezclan con la gasolina para mejorar el octanaje. La gasolina premium sin plomo contiene entre 10 y 22% de xilenos (IARC, 1989).

Los xilenos mixtos también se utilizan como intermediarios químicos en la síntesis de colorantes, productos farmacéuticos, insecticidas y en la fabricación de perfumes (ATSDR, 2016). El meta-xileno se utiliza en la fabricación de ácido isoftálico para resinas de poliéster (IARC, 1989).

2.2.3 Tipos de exposición a xileno

1. Exposición ocasional: El xileno es liberado principalmente desde fuentes industriales, en el escape de automóviles y durante su uso como disolvente. Los sitios de desechos peligrosos y los derrames de xileno al ambiente también son fuentes de exposición. Los niveles de xileno que se miden al aire libre varían entre 0.001 y 0.030 ppm (ATSDR, 2016). Las mezclas de xileno también se pierden durante el uso, como en el procesamiento de productos químicos y disolventes, la evaporación durante el transporte, la distribución, el almacenamiento y el uso de gasolina y en la fumigación agrícola (Fishbein, 1985).

2. Exposición ocupacional: Se presenta en aquellas personas que se dedican a la elaboración o manejo de productos como gasolina, pintura, barniz, laca, productos para prevenir la corrosión y humo de cigarrillo. La inhalación de vapores de estos tipos de productos puede exponer a las personas al xileno, así como también el contacto de la piel con productos que contienen xileno (ATSDR, 2016). Sin embargo, la NORMA Oficial Mexicana NOM-010-STPS-2014 “Agentes químicos contaminantes del ambiente laboral-Reconocimiento, evaluación y control” sugiere una exposición máxima de 100-150 ppm en una jornada laboral de 8 horas.
3. Exposición de abuso: Las sustancias que se utilizan con más frecuencia en situación de abuso son pegamentos, cemento, removedor de pinturas (“thinner”) y gasolina, entre otros. Estos compuestos pueden contener más de una sustancia tóxica, generalmente incluyen tolueno, xileno, benceno, entre otros hidrocarburos y son inhalados directamente en trapos impregnados con disolvente o desde bolsas que se utilizan como contenedor. La intoxicación con estas sustancias se asocia a diversas alteraciones, tales como debilidad muscular, acidosis metabólica grave, alteraciones neurológicas, renales, gastrointestinales y electrolíticas, entre otras (Streicher et al., 1981).

2.2.4 Farmacocinética

La absorción del xileno se da por la inhalación de vapores o por absorción del líquido a través de la piel (IARC, 1989).

El xileno líquido es irritante para la piel y los ojos, provocando vasodilatación local mediante la liberación de histamina y 5-hidroxitriptamina (Mirkin, 2007).

La toxicocinética y la toxicidad aguda del tolueno, los xilenos y otros disolventes aromáticos son bastante similares. Los xilenos se absorben bien en los pulmones y el tracto gastrointestinal, se distribuyen a los tejidos de acuerdo con el flujo sanguíneo tisular y el contenido de lípidos, se metabolizan por los citocromos P-450 hepáticos y se excretan en gran medida como metabolitos urinarios (Mirkin, 2007).

El xileno se oxida en el organismo para formar ácidos toluicos (ácidos o-, m- y p-metilbenzoico), que a su vez reaccionan con la glicina y el ácido glucurónico. Casi el 95% del xileno que es absorbido es biotransformado en ácidos metilhipúricos, que son excretados en la

orina, menos de un 2% de lo que es absorbido se excreta en forma de xilenoles y el porcentaje restante se excreta inalterado en el aire espirado (IARC, 1989).

2.3 Benceno

El benceno o benzol es un hidrocarburo no sustituido, cíclico, aromático y de olor característico, es líquido y volátil a temperatura ambiente (Figura 3). El benceno proviene tanto de fuentes industriales como naturales (ATSDR, 2016).

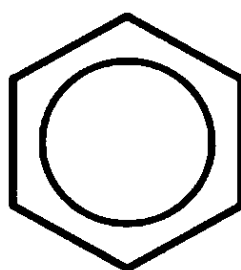


Figura 3. Estructura química del benceno.

2.3.1 Propiedades fisicoquímicas

El benceno es un líquido transparente e incoloro con olor a petróleo (tabla 2). Es altamente inflamable, menos denso que el agua e insoluble en agua (NCBI, 2023).

Los vapores que emite el benceno son más densos que el aire y pueden extenderse al ras del suelo, pudiendo generar cargas electrostáticas con alto riesgo de incendio y explosión. Su fórmula química es C_6H_6 (SRT, 2019).

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas del benceno (tomado y modificado de ATSDR, 2016).

Propiedades	Información
Peso molecular	78.11 g/mol
Color	Incoloro
Estado físico	Líquido
Punto de fusión	6°C
Punto de ebullición	80°C
Densidad	0.88 g/ml

2.3.2 Usos

El benceno se emplea en la fabricación de plásticos, explosivos, colorantes y como materia prima de numerosas síntesis orgánicas (SRT, 2019). Se utiliza principalmente como disolvente en la industria química, en la industria farmacéutica y en la producción de gasolina. Es un componente natural del petróleo crudo, que es la principal fuente de benceno producido en la actualidad (ATSDR, 2016).

El benceno también se puede encontrar en adhesivos, productos de limpieza y productos para quitar pintura (NIH, 2015).

2.3.3 Tipos de exposición a benceno

La exposición al benceno puede ser por inhalación o exposición dérmica durante el trabajo, por la exposición no ocupacional u ocasional (inhalación del aire urbano) (IARC, 2012) y por exposición con fines de abuso de este disolvente (ATSDR, 2016).

1. La exposición ocupacional al benceno ocurre a través de inhalación o absorción dérmica de disolventes presentes en el caucho, la pintura y durante la manufactura química del petróleo crudo. Del mismo modo, la exposición puede ocurrir en los trabajadores involucrados en el transporte del petróleo crudo y gasolina (Nordlinder y Ramnäs, 1987). Sin embargo, la NORMA Oficial Mexicana NOM-010-STPS-2014 “Agentes químicos contaminantes del ambiente laboral-Reconocimiento, evaluación y control” sugiere una exposición máxima de 0.5 a 2.5 ppm en una jornada laboral de 8 horas.
2. La exposición ocasional ocurre a través de las fuentes de benceno en la atmósfera, las cuales son antropogénicas e incluyen fuentes industriales. El benceno se ha medido en el aire exterior en concentraciones que van desde 0.02 ppb ($0.06 \mu\text{g}/\text{m}^3$) en una zona rural, a 112 ppb ($356 \mu\text{g}/\text{m}^3$) en una zona urbana. La exposición al benceno es más alta en áreas de mucho tráfico de vehículos motorizados y alrededor de las estaciones de servicio de gasolina (NTP, 2005).
3. La exposición por abuso: La principal fuente de exposición al benceno es el humo de tabaco. Aproximadamente la mitad de la exposición al benceno es el resultado de fumar cigarrillos o de la exposición al humo de tabaco. Un fumador típico (32 cigarrillos al día) recibe aproximadamente 1.8 mg de benceno al día (ATSDR, 2016). El abuso con disolventes inhalados es común, frecuentemente son las

primeras drogas a las que se exponen niños y adolescentes debido a que son baratos (ENCODAT, 2017).

2.3.4 Farmacocinética

El benceno se absorbe por vía respiratoria y por vía cutánea. Una vez absorbido se metaboliza en el hígado y en la médula ósea, por oxidación a fenol, quinol y catecol. Se excreta por la orina en forma de sulfatos y glucoronatos. Entre otros metabolitos, se mencionan el ácido S-fenilmercaptúrico y el ácido transmucónico (SRT, 2019).

El paso metabólico inicial involucra al citocromo P450 (CYP), donde la oxidación de benceno a óxido de benceno depende de CYP. El óxido de benceno existe en equilibrio con su tautómero oxepina. La mayoría del óxido de benceno se reorganiza espontáneamente en fenol, que se excreta o metaboliza a hidroquinona y 1,4-benzoquinona. El óxido de benceno restante se hidroliza para producir benceno 1,2-dihidrodiol (catecol), que es además oxidado a 1,2-benzoquinona, o reacciona con glutatión para producir ácido S-fenilmercaptúrico. Se cree que el metabolismo de la oxepina abre el anillo aromático, para producir muconaldehídos y el ácido E,E-mucónico. La exposición humana al benceno en concentraciones en el aire entre 0.1 y 10 ppm, da como resultado perfiles de metabolitos urinarios con 70-85% de fenol, 5-10% de hidroquinona, ácido E,E-mucónico y catecol, y menos de 1% de ácido S-fenilmercaptúrico (Kim et al., 2006).

Se ha demostrado que es más probable que el benceno se metabolice inicialmente a fenol y ácido E,E-mucónico a través de dos enzimas, en lugar de sólo una enzima CYP y que la enzima de alta afinidad está activa principalmente en concentraciones de benceno inferiores a 1 ppm (Rappaport et al., 2009). CYP2E1 es la enzima primaria responsable del metabolismo de benceno en los mamíferos a niveles más altos de exposición (Valentine et al., 1996; Nedelcheva et al., 1999). CYP2F1 y CYP2A13 son enzimas candidatas razonables que están activas a niveles ambientales de exposición por debajo de 1 ppm (Powley & Carlson, 2000; Sheets et al., 2004; Rappaport et al., 2009). Estas CYP se expresan altamente en el pulmón humano (Kim et al., 2006).

El metabolismo y la eliminación del benceno son rápidos. La excreción de los metabolitos se completa generalmente dentro de las 24-48 horas después de una exposición única, lo que representa una vida media biológica inferior a las 12 horas. Sin embargo, los tejidos adiposos pueden retener una pequeña cantidad de benceno durante varios días después del final de la exposición (SRT, 2019).

2.4 Mecanismos de acción de los disolventes

Muchos estudios conductuales indican que los disolventes de abuso comparten varias acciones con depresores del sistema nervioso central (SNC), como el etanol, las benzodiazepinas y los barbitúricos (Evans et al., 1991).

Con base en esto, algunos grupos de investigación comenzaron a estudiar los inhalables a nivel celular encontrando que, en general, tienen los mismos blancos moleculares que el etanol (Cruz et al., 2000).

Se ha demostrado que los inhalables como el benceno, m-xileno, etilbenceno, propilbenceno y 1,1,1-tricloroetano son afines a canales iónicos, como lo son los NMDA e inhiben de manera reversible este tipo de receptores expresados en ovocitos de *Xenopus* (Cruz et al., 2000). Por su parte, Lopreato et al. (2003) probaron la hipótesis de que los agentes inhalados de los que comúnmente se abusa, como el tolueno, disolvente con estructura química similar al xileno y al benceno, mejoran la función del receptor de serotonina subtipo 3. Los inhalables potencian significativa y reversiblemente, de manera dosis dependiente, las corrientes activadas por serotonina mediadas por receptores de serotonina-3_A de ratón expresados en ovocitos de *Xenopus*.

Los resultados hasta el momento indican que tanto los canales iónicos activados por voltaje como los activados por ligandos son sensibles a las concentraciones de inhalables, como el tolueno, que son asociadas con la inhalación voluntaria de estas sustancias. Estos hallazgos sugieren que existen diferentes sitios de acción para los inhalables en las subunidades de los canales individuales y aluden a que las diferencias regionales y anatómicas en la expresión de las subunidades son factores importantes de la acción del disolvente (Cruz et al., 2009).

2.5 Receptores serotoninérgicos

El sistema serotoninérgico se extiende por todo el SNC y el tracto gastrointestinal (GI). En el SNC, la serotonina (5-HT, 5-hidroxitriptamina) modula un amplio espectro de funciones, que incluyen el estado de ánimo, la cognición, la ansiedad, el aprendizaje, la memoria, el procesamiento de recompensas y el sueño. Estos procesos están mediados por la unión de 5-HT a receptores 5-HT (5-HTR) y se clasifican en siete grupos distintos: 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ y 5-HT₇ (Mahsa et al., 2021).

Los receptores 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ y 5-HT₇ pertenecen al grupo de los receptores acoplados a proteína G (GPCR). Los GPCR serotoninérgicos están formados por una estructura común y contienen siete hélices alfa transmembrana (7-TM), que están conectadas

por tres bucles extracelulares y tres intracelulares (Adayev et al., 2005; Filip y Bader, 2009; Engel et al., 2013; Locher et al., 2017).

2.5.1 Receptores 5-HT₃

Los receptores 5-HT₃ son canales iónicos controlados por ligandos, por lo que estos difieren de todos los demás receptores 5-HT, cuyas acciones están mediadas por proteínas G. Su estructura y función los ha colocado en la familia Cys-loop de canales iónicos controlados por ligandos (Figura 4). Al igual que otros miembros de la familia, el receptor 5-HT₃ está compuesto por cinco subunidades dispuestas simétricamente que rodean un poro central conductor de iones. La subunidad del receptor 5-HT_{3A} es capaz de formar receptores homoméricos funcionales y también se combina con la subunidad 5-HT_{3B}, clonada más recientemente, para crear heteropentámeros que muestran distintas propiedades eléctricas y farmacológicas (Thompson y Lummis, 2006).

Cuando la 5-HT se une a los 5-HT₃R, se abre el canal y el receptor se vuelve permeable a los iones Na⁺, K⁺ y Ca²⁺. El Ca²⁺ disminuye las corrientes de Na⁺ inducidas por 5-HT de una manera dependiente de la concentración sin afectar la alteración interna de la relación corriente/voltaje (Adayev et al., 2005; Filip y Bader, 2009; Engel et al., 2013; Locher et al., 2017).

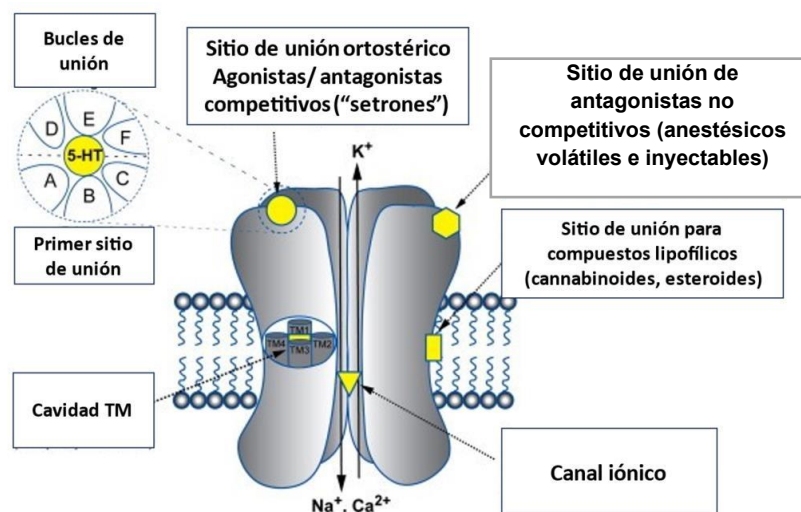


Figura 4. Estructura de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃. Una subunidad fue removida para poder apreciar el canal iónico. Los cuatro dominios transmembranales también se muestran (TM). Modificado de Walstab et al., 2010.

2.6. Efectos del xileno y del benceno sobre la nocicepción

Existe poca información sobre el efecto del xileno y del benceno sobre la nocicepción en animales. Sin embargo, hay estudios que han utilizado modelos de nocicepción diferentes al que se utiliza en este proyecto.

En un estudio comparativo, se evaluó el efecto de diversos disolventes de abuso sobre la nocicepción, para ello utilizaron el modelo de la plancha caliente, el cual consiste en colocar un ratón en una plancha que se calienta de 53 ± 0.5 °C y luego se registra la latencia en la que se presenta una respuesta característica, ya sea lamida de pata, escape o flexión de la pata. Un incremento en la latencia de la respuesta se considera como un efecto antinociceptivo, mientras que una disminución es considerada como un efecto pronociceptivo. Los resultados de estos estudios demostraron que la exposición a tolueno (500-8000 ppm) durante 30 minutos induce una hiperalgesia térmica dependiente de la dosis en ratones sometidos a la prueba de la plancha caliente (nocicepción aguda) (López-Ruvalcaba et al., 2000; Cruz et al., 2001). De igual manera, en el mismo modelo de la plancha caliente se expusieron ratones a diferentes disolventes: tolueno, benceno, 1,1,1-tricloroetano, fluorotil y éter dietílico, y se observó que el tolueno y el tricloroetano produjeron un aumento en la nocicepción de manera dependiente a la concentración, lo cual se observó como una disminución en la latencia para presentar la primera lamida de pata, mientras el benceno y el éter dietílico no tuvieron efecto (Páez-Martínez et al., 2003).

Por otro lado, existen estudios que demuestran que el m-xileno y el benceno producen antinocicepción en ratas adolescentes macho en la prueba de umbral de choque y en la prueba de la plancha caliente (Armenta-Reséndiz et al., 2019).

Toda la evidencia acumulada sobre el efecto del xileno y del benceno sobre la nocicepción es escasa y ha sido probada en modelos diferentes de nocicepción, pero ningún estudio ha utilizado el modelo de nocicepción inflamatorio causado por formalina. Los únicos estudios que han utilizado este tipo de modelo fueron probados con tolueno, donde se comprobó que el tolueno tiene un efecto pronociceptivo a través de la activación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ (Cervantes-Duran et al., 2017).

2.7 Dolor

El dolor es un síntoma que frecuentemente se observa en la población mexicana, considerándose un problema de salud pública no sólo a nivel nacional sino también globalmente (Covarrubias-Gómez y Guevara-López, 2006).

En México, las principales causas de morbilidad se encuentran asociadas a la presencia de dolor (Covarrubias-Gómez, 2007).

El dolor es la causa más frecuente de consulta médica y el motivo más habitual de solicitud de medicamentos sin receta. Tanto su prevalencia como su intensidad son mayores en las mujeres y también aumentan con la edad (Arco, 2015).

2.7.1 Definición del dolor

La IASP (Asociación Internacional para el Estudio del Dolor) en 2020 propuso una nueva definición: El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada o similar a la asociada con daño tisular real o potencial (IASP, 2020).

Las siguientes consideraciones fueron tomadas en cuenta para la nueva definición:

- El dolor es una experiencia personal influenciada en diferentes grados por factores biológicos, psicológicos y sociales.
- El dolor y la nocicepción son fenómenos diferentes. El dolor no puede ser inferido solamente por la actividad de las neuronas sensoriales.
- Las personas aprenden el concepto de dolor a través de las experiencias de vida.
- Si una persona manifiesta una experiencia dolorosa, ésta debe ser respetada.
- Aunque el dolor usualmente cumple una función adaptativa, puede tener efectos adversos sobre la funcionalidad y el bienestar social y psicológico.
- Una de las maneras para expresar dolor es por la descripción verbal; la incapacidad para comunicarse no niega la posibilidad de que un humano o animal experimente dolor.

2.7.2 Clasificación del dolor

El dolor se puede dividir ampliamente en tres clases:

1. El dolor nociceptivo: Dolor que surge de un daño real o un daño que amenaza al tejido no neural y se debe a la activación de los nociceptores (IASP, 2021). Este tipo de dolor es el más frecuente y se divide en somático y visceral (Woolf, 2010):
 - A. Somático: Se produce por la excitación anormal de los nociceptores somáticos superficiales o profundos (piel, músculo esquelético o vasos sanguíneos). Es un dolor localizado, punzante y que se irradia siguiendo trayectos nerviosos. El tipo de dolor somático más frecuente es el dolor óseo producido por metástasis óseas (Puebla, 2006).
 - B. Visceral: Se produce por la excitación anormal de nociceptores viscerales (Puebla, 2006). Este tipo de dolor no es generado por todas las vísceras y puede no estar asociado a lesión directa de las mismas. Esto se debe a las propiedades funcionales de los receptores periféricos encargados de dotar a dichas vísceras de inervación, cuya activación no desencadena percepción consciente, lo que implica que no constituyen propiamente receptores nociceptivos (Cervero, 2014). El dolor visceral suele presentarse en otros sitios diferentes del foco de la afección, incluso en lugares remotos, es difuso, pobremente localizado (Cervero, 2014; Grundy, 2019) y está acompañado de reflejos motores y autonómicos potenciados (Jänig, 2014; Cervero, 2014). Son ejemplos de dolor visceral los dolores de tipo cólico, metástasis hepáticas y cáncer pancreático. Este dolor responde bien al tratamiento con opioides (Puebla, 2006).
2. El dolor inflamatorio: Se asocia con daño tisular y la infiltración de células inmunes, puede promover la reparación al causar hipersensibilidad al dolor hasta que se produce la curación. Este tipo de dolor también es adaptativo y protector. Al aumentar la sensibilidad sensorial después de un daño tisular inevitable, este dolor ayuda a la curación de la parte del cuerpo lesionada al crear una situación que desalienta el contacto físico y el movimiento. La hipersensibilidad al dolor, o sensibilidad, reduce el riesgo de daño y promueve la recuperación, como después de una herida quirúrgica o en una articulación inflamada, donde estímulos normalmente inocuos ahora provocan dolor. Este dolor es causado por la activación del sistema inmunológico por una lesión o infección tisular y, por lo tanto, se llama dolor inflamatorio; el dolor es una de las características cardinales de la inflamación (Woolf, 2010).

3. El dolor patológico es un estado causado por un daño al sistema nervioso (neuropático) o por su función anormal (nociplástico) (Woolf, 2010; IASP, 2021).

A. Neuropático: Dolor causado por una lesión o enfermedad del sistema nervioso somatosensorial. El dolor neuropático es una descripción clínica (no un diagnóstico) que requiere una lesión demostrable o una enfermedad que satisfaga los criterios de diagnóstico neurológico establecidos (IASP, 2021).

B. Nociplástico: Existe dolor sustancial sin la presencia de estímulo aparente, inflamación periférica, ni daño al SNC (IASP, 2021). Un ejemplo de dolor nociplástico es la fibromialgia (Alcantará, 2024).

2.7.3 Nocicepción

La nocicepción es el proceso neuronal de codificación de estímulos nocivos. Las consecuencias de la codificación pueden ser autonómicas (por ejemplo, presión arterial elevada) o conductuales (reflejo motor de abstinencia o comportamiento nocifensivo más complejo). La sensación de dolor no está implicada en la nocicepción (IASP, 2021). En la nocicepción, la intensa estimulación química, mecánica o térmica (calor y frío) de las terminales nerviosas sensoriales, llamados nociceptores, produce una señal que viaja a lo largo de una cadena de fibras nerviosas a través de la médula espinal hacia el cerebro (Greenstein et al., 1998).

La nocicepción desencadena una variedad de respuestas fisiológicas y conductuales y, por lo general, da como resultado un estado de experiencia subjetiva del dolor en los seres sintientes (Portenoy et al., 1994).

Para que nuestro cuerpo pueda percibir el dolor es necesario que ocurran 4 elementos fundamentales dentro de la nocicepción: 1) transducción, 2) transmisión, 3) modulación y 4) percepción (Loeser y Treede, 2008; Basbaum et al., 2009) (Figura 5).

1. Transducción: es el proceso que convierte un estímulo doloroso en una señal eléctrica. Para que el estímulo nocivo sea convertido se requiere de la activación de los nociceptores (Loeser y Treede, 2008; Basbaum et al., 2009). Los nociceptores son receptores especializados en la detección de estímulos nocivos, por lo tanto, son terminaciones periféricas de fibras aferentes primarias sensoriales (neuronas de primer orden) (Woolf y Ma, 2007). Una vez que se genera la señal eléctrica, ésta se conduce hacia la médula espinal donde ocurre la transmisión (Rodríguez-Palma y Granados-Soto, 2020).

2. Transmisión: es la propagación de la señal eléctrica a lo largo de la vía nociceptiva desde la periferia hasta la corteza somatosensorial y otras áreas cerebrales (Loeser y Treede, 2008). La piel está inervada por diferentes tipos de nociceptores, entre los que destacan las fibras A δ , fibras A β y las fibras C. Cada una de estas fibras codifica información sensorial y son diferencialmente sensibles a los distintos estímulos, tanto nocivos como inocuos. Bajo condiciones fisiológicas, las únicas fibras que transmiten la información dolorosa son las fibras C y A δ (Rodríguez-Palma y Granados-Soto, 2020)
3. Modulación: la médula espinal no sólo se encarga de transmitir la información sensorial proveniente de la periferia hacia el cerebro, sino que también es capaz de alterar las señales dolorosas (inhibir o amplificar el estímulo nocivo), lo que se conoce como modulación de la información nociceptiva (Basbaum et al., 2009). La modulación del dolor inicia en el SNP (sistema nervioso periférico) a nivel de las terminaciones nerviosas libres (nociceptores); sin embargo, la principal capacidad de modulación se encuentra en el SNC (Wen et al., 2020).
4. Percepción: se define como la decodificación de la señal eléctrica, donde se integran los estímulos nociceptivos con factores cognitivos y emocionales para crear la experiencia del dolor, es decir, el dolor no depende únicamente de los estímulos físicos, sino que está influenciado por experiencias previas y/o emociones (Tracey y Mantyh, 2007).

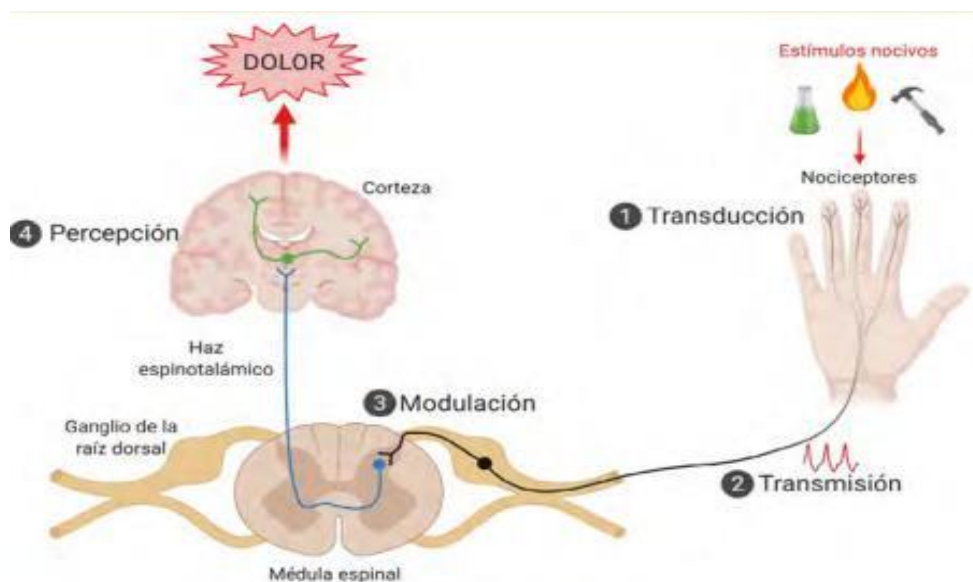


Figura 5. Vía del dolor y los procesos que participan en la experiencia del dolor. Figura creada con biorender.com. Basada en Yam et al., 2018.

2.7.4 Nociceptores

Un nociceptor es un receptor neuronal que se activa ante un estímulo nocivo (de intensidad alta), pero no inocuo (de intensidad baja) y de distintas naturalezas (químicos, térmicos, mecánicos). Estos nociceptores se encuentran localizados en la piel o en cualquier otro órgano del cuerpo (Loeser y Treede, 2008).

Hay dos clases principales de nociceptores:

1. El primero incluye aferentes mielinizados ($A\delta$) de diámetro medio (2-5 μm) que median el “primer” dolor agudo, bien localizado o rápido. Estas aferencias mielinizadas difieren considerablemente de las fibras $A\beta$ de mayor diámetro y de conducción rápida que responden a una estimulación mecánica inocua; es decir, un toque ligero. Los estudios electrofisiológicos han subdividido los nociceptores $A\delta$ en dos clases principales:
 - El tipo I (HTM: “high-threshold mechanical” o nociceptores mecánicos de umbral alto) responde a estímulos mecánicos y a temperaturas mayores a 50°C, que son detectadas a través de los receptores TRPV2. Sin embargo, si se mantiene el estímulo térmico, estos aferentes responderán a temperaturas más bajas y se sensibilizarán, es decir, el umbral térmico o mecánico disminuirá en caso de lesión tisular.
 - Los nociceptores $A\delta$ de tipo II tienen un umbral de calor mucho más bajo (40-45°C), son sensibles a la capsaicina y se expresan a través de los receptores TRPV1. Es casi seguro que la actividad de esta aferencia media la “primera” respuesta de dolor agudo al calor nocivo. De hecho, el bloqueo por compresión de las fibras nerviosas periféricas mielinizadas elimina el primer dolor, pero no el segundo (Basbaum et al., 2009).
2. Las fibras C amielínicas son polimodales, es decir, que son tanto térmica como mecánicamente sensibles (Perl, 2007). Son de gran interés las aferencias amielínicas sensibles al calor, pero mecánicamente insensibles (llamadas nociceptores silenciosos) que desarrollan sensibilidad mecánica sólo en el contexto de una lesión (Schmidt et al., 1995). Estos aferentes responden mejor a los estímulos químicos (capsaicina o histamina) en comparación con los CMH (“polimodal afferents sensitive to mechanical, thermal and chemical stimuli” o aferentes polimodales sensibles a estímulos mecánicos, térmicos y químicos) y probablemente entran en juego cuando el medio químico de la inflamación altera sus propiedades. Subconjuntos de estos aferentes también responden a una variedad de pruritogénicos que producen picazón. Hay que destacar que no todas

las fibras C son nociceptores. Algunos responden al enfriamiento, y otra población de aferentes amielínicos responde a caricias inocuas de la piel con vello, pero no al calor ni a la estimulación química. Estas últimas fibras parecen mediar un tacto agradable (Olausson et al., 2008).

Cuando se produce una lesión superficial en la piel, se perciben dos clases de dolores:

- Dolor primario: es el dolor inicial, es rápido, de corta duración, bien localizado y es debido a la actividad de las fibras A δ .
- Dolor secundario: es de aparición más tardía, lento, persistente y difuso y es debido a la actividad de las fibras C (Moreno y Prada, 2004).

2.7.5 Sensibilización

La sensibilización es un proceso de daño en el tejido periférico que incrementa la intensidad del dolor en respuesta a un estímulo lesivo (hiperalgesia) e induce dolor después de estímulos inocuos (alodinia) (Sasaki et al., 2006).

Existen 2 tipos de hiperalgesia:

- Hiperalgesia primaria: provocada por estímulos tanto térmicos como mecánicos, generando sensibilización de las fibras aferentes primarias (Cervero et al., 2003; Treede et al., 1992). Se considera hiperalgesia primaria debido a que se produce directamente en los tejidos dañados (Cervero, 2008).
- Hiperalgesia secundaria: es provocada por estímulos mecánicos, alterando los nociceptores y aumenta la excitabilidad en la médula espinal y el cerebro (sensibilización central) (Costigan y Woolf, 2000; Sasaki et al., 2006; Woolf y Ma, 2007). Se considera hiperalgesia secundaria debido a que se produce en los tejidos circundantes no dañados (Cervero, 2008).

La sensibilización periférica representa una forma de plasticidad de las fibras aferentes primarias. La sopa inflamatoria (citocinas, cininas, prostaglandinas, óxido nitroso, radicales libres, ATP, 5-HT, etc.) provoca una reducción del umbral de la activación de las fibras aferentes primarias y aumentan su capacidad de respuesta, los estímulos de baja intensidad pueden acceder a la vía nociceptiva y producen dolor (Woolf y Ma, 2007; Du et al., 2019).

La sensibilización central es otra forma de plasticidad cerebral en el sistema somatosensorial, donde algunas lesiones tisulares accionan un aumento de la excitabilidad de las neuronas de la médula espinal (Woolf y Ma, 2007), esto es originado por acumulación de potenciales sinápticos subumbrales, estimulando receptores NMDA. Esta plasticidad modifica

la sensibilización del SNC, alterando las funciones químicas, electrofisiológicas y farmacológicas, generando una percepción exagerada de los estímulos, incluso no dolorosos, magnificando así la información sensorial que llega del medio externo (Graven-Nielsen y Arendt-Nielsen, 2002; Winkelstein, 2004; Woolf, 1983; Woolf y Ma, 2007).

2.7.6 Hiperalgnesia y alodinia

La hiperalgnesia es el aumento de la sensación de dolor por un estímulo que normalmente es doloroso. La hiperalgnesia refleja un aumento del dolor con la estimulación por encima del umbral. Para el dolor provocado por estímulos que normalmente no son dolorosos, se prefiere el término alodinia, mientras que hiperalgnesia se utiliza más apropiadamente para casos con una respuesta aumentada en un umbral normal o en un umbral aumentado, por ejemplo, en pacientes con neuropatía. La evidencia actual sugiere que la hiperalgnesia es una consecuencia de la perturbación del sistema nociceptivo con sensibilización periférica o central, o ambas, pero es importante distinguir entre los fenómenos clínicos, que enfatiza esta definición, y la interpretación, que bien puede cambiar a medida que avanza el conocimiento. Se puede observar hiperalgnesia después de diferentes tipos de estimulación somatosensorial aplicada a diferentes tejidos (IASP, 2021).

La hiperalgnesia es una respuesta aumentada en un modo específico, es decir, dolor. En la alodinia, el modo de estímulo y el modo de respuesta difieren, a diferencia de la situación con la hiperalgnesia (Figura 6). Esta distinción no debe confundirse con el hecho de que la alodinia y la hiperalgnesia pueden superponerse a lo largo del mismo continuo de intensidad física en determinadas circunstancias, por ejemplo, con la presión o la temperatura (IASP, 2021).

La alodinia es el dolor debido a un estímulo que normalmente no provoca dolor. Este estímulo provoca una respuesta inesperadamente dolorosa. La alodinia se puede observar después de diferentes tipos de estímulos somatosensoriales aplicados a muchos tejidos diferentes (IASP, 2021).

En la alodinia hay una pérdida de la especificidad de la modalidad sensitiva (Loeser y Treede, 2008). Un ejemplo de alodinia sería un ligero toque de pluma (que sólo debería producir propiocepción) que cause dolor. La alodinia es diferente de la hiperalgnesia, que es una respuesta exagerada a un estímulo normalmente doloroso, aunque ambas pueden coexistir y constantemente lo hacen (He y Kim, 2022).

La alodinia puede deberse a una enfermedad subyacente, como la alodinia táctil neuropática inducida por diabetes, o puede ser el proceso primario de la enfermedad en sí, como

en la neuralgia posherpética. A menudo se clasifica por el tipo de estímulo que causa la nocicepción, como la alodinia táctil, térmica, dinámica o estática, o por el sitio principal de la nocicepción, como la alodinia cutánea (Woolf, 2011). Se considera que la alodinia se aplica a afecciones que pueden dar lugar a sensibilización de la piel, por ejemplo, quemaduras solares, inflamación o traumatismos (He y Kim, 2022).

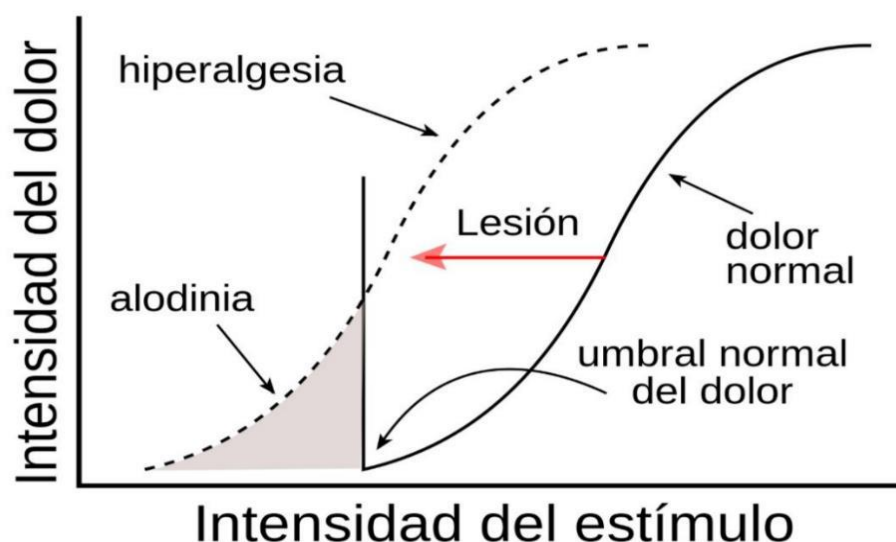


Figura 6. Diagrama que ilustra los cambios en la sensación de dolor inducida por una lesión (Cervero y Laird, 1996).

A pesar de los avances farmacológicos, el dolor continúa siendo una causa de sufrimiento en pacientes con dolor crónico. La complejidad, variación y falta de estudios diagnósticos precisos, en muchos casos inducen un mal tratamiento del paciente con dolor. Si bien hay un gran número de pacientes que experimentan mejoría con diversos tratamientos, ninguno llega a una recuperación total (Cruciani y Nieto, 2006).

2.7.7 Receptores 5HT₃ y nocicepción.

Gran parte de la investigación sobre la nocicepción se ha centrado en comprender el papel de los 5-HT_R en la transmisión del dolor. Se ha sugerido que la estimulación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT₄, 5-HT_{5A} y 5-HT₇ producen efectos analgésicos. Por el contrario, los receptores 5-HT_{2B} y 5-HT₃ dan lugar a la promoción de la nocicepción (Tao et al., 2019).

La activación del receptor neuronal 5-HT₃ causa despolarización de las terminales presinápticas, resultando en la modulación de la liberación de distintos neurotransmisores,

incluyendo GABA, glutamato, colecistocinina, acetilcolina, dopamina, noradrenalina, serotonina y sustancia P (Wolff et al., 2000; Peng et al., 2001; Fink y Göthert, 2007; Peters et al., 2010). Además, su activación está implicada en la sensibilización de nociceptores periféricos y en la modulación del dolor (Fink y Göthert, 2007; Faerber et al., 2007).

Los receptores 5-HT₃ se encuentran en sitios relacionados con el procesamiento nociceptivo (ganglios de la raíz y asta dorsal espinal) (Kidd et al., 1993; Pierce et al., 1996; Chen et al., 1998; Nicholson et al., 2003). Además, estudios sobre los receptores 5-HT_{3A} en distintos grupos de ratones KO (knockout) a los que se les sometió a distintos modelos de dolor inflamatorio agudo, como la administración abdominal de ácido acético o la administración intraplantar de serotonina o formalina, demostraron que la serotonina vía el receptor 5-HT₃ contribuye a la activación tanto de fibras Aδ y fibras C, como al proceso nociceptivo (Zeitz et al., 2002).

La evidencia acumulada demuestra que los receptores 5-HT₃ tienen una función pronociceptiva en la periferia (Moalem et al., 2005; Lang et al., 2006; Bravo-Hernández et al., 2012) y en la médula espinal (Suzuki et al., 2004; Guo et al., 2014). En este sentido, Cervantes-Durán et al. (2017) demostraron que la exposición aguda al tolueno tiene efectos pronociceptivos en la nocicepción aguda inducida por formalina y sobre la hipersensibilidad duradera. Para evaluar si los receptores 5-HT₃ participaron en el efecto pronociceptivo del tolueno en la prueba de la formalina, utilizaron el antagonista altamente selectivo del receptor 5-HT₃, alosetrón y el agonista selectivo del receptor 5-HT₃, m-CPGB. Con base en esto propusieron que el efecto pronociceptivo del tolueno depende de la activación de receptores 5HT₃ periféricos (Cervantes-Durán et al., 2017).

2.7.8 Modelos animales para el estudio de la nocicepción

Los animales se usan en investigación preclínica para estudiar la etiología y fisiopatología de la nocicepción, descifrar las vías de transducción de señales, identificar y evaluar nuevas moléculas y regiones diana, desarrollar estrategias terapéuticas, y analizar su eficacia (IASP, 2022). Como alternativa al uso de animales de experimentación, se han planteado modelos matemáticos de simulaciones de computación y cultivos celulares. Sin embargo, estos procedimientos pueden servir para reducir el número de animales en los protocolos experimentales, pero no pueden predecir con la suficiente fiabilidad el efecto de un producto químico en los sistemas de órganos combinados de un organismo con toda la complejidad requerida (Rodríguez-Yunta, 2007). La experimentación con animales ofrece la

ventaja de que los factores relevantes en la nocicepción aguda y factores implicados en el desarrollo y el mantenimiento del dolor crónico puedan ser investigados sistémicamente para encontrar relaciones causales, lo cual a menudo, no es posible en humanos (IASP, 2022).

Los resultados de la investigación con modelos animales proporcionan información necesaria para diseñar pruebas en humanos que también deben completarse para la aprobación legal de nuevos dispositivos, fármacos y procedimientos con carácter terapéutico y de diagnóstico. La Declaración de Helsinki, adoptada en 1964 por la XIII Asamblea Médica Mundial y revisada en cinco ocasiones, cita también que la investigación médica en sujetos humanos “debe estar basada en pruebas de laboratorio adecuadamente realizadas y en experimentación con animales” (Rodríguez-Yunta, 2007).

En la práctica, los investigadores que realizan este tipo de protocolos en animales deben tener en cuenta las siguientes pautas destinadas a minimizar el dolor en los animales y, al enviar un manuscrito, también indicar explícitamente que se han seguido. Las pautas se refieren a la importancia de la investigación, la gravedad y la duración del dolor (Zimmerman, 1983).

- Es esencial que los experimentos previstos sobre el dolor en animales conscientes sean revisados previamente por científicos. Es necesario demostrar el beneficio potencial de tales experimentos para nuestra comprensión de los mecanismos del dolor y su terapia. El investigador debe ser consciente de la necesidad ética de una continua justificación de sus investigaciones.
- Si es posible, el investigador debe probar el estímulo nocivo en sí mismo; este principio se aplica a la mayoría de los estímulos no invasivos que causan dolor agudo.
- Para hacer posible la evaluación de los niveles de dolor, el investigador debe evaluar cuidadosamente la desviación del animal del comportamiento normal. Para este fin, se deben medir los parámetros fisiológicos y conductuales. El resultado de esta evaluación debe incluirse en el manuscrito.
- En los estudios de nocicepción aguda o crónica en animales, se deben tomar medidas para proporcionar una garantía razonable de que el animal está expuesto al dolor mínimo necesario para los fines del experimento.
- La duración del experimento debe ser lo más breve posible y el número de animales involucrados debe mantenerse al mínimo.

2.7.9. Modelos de nocicepción inflamatoria

Existen varios modelos para estudiar la nocicepción aguda o de larga duración (Le Bars et al., 2001). Todos ellos resultan en la aplicación de un estímulo nocivo, ya sea químico, mecánico o térmico. En todos los casos se activa el sistema inmune y se liberan mediadores inflamatorios (serotonina, prostaglandinas, bradicininas, leucotrienos, etc.) que activan y sensibilizan las fibras aferentes primarias y las neuronas de órdenes superiores involucradas en la transmisión nociceptiva, contribuyendo a la aparición de hiperalgesia y alodinia (Granados-Soto et al., 2009).

Algunos de los métodos más utilizados para el estudio de la nocicepción son: la prueba de la formalina (Dubuisson y Dennis, 1977; Abbott et al., 1995), serotonina (Sufka et al., 1992) y capsaicina (Sakurada et al., 1992).

La prueba de la formalina es bien conocida como un modelo de dolor inflamatorio de corta duración (~1 h); sin embargo, varios estudios han demostrado que tiene la capacidad de inducir hiperalgesia y alodinia secundarias (Wiertelak et al., 1994; Wu et al., 2004; Sasaki et al., 2006; Godínez-Chaparro et al., 2011, Bravo-Hernández et al., 2012; Cervantes-Durán et al., 2017). La formalina produce hiperalgesia y alodinia secundarias, que pueden ser detectadas con el filamento de von Frey desde el día 1 hasta el día 12 (Granados-Soto et al., 2009; Ambriz-Tututi et al., 2009; Godínez-Chaparro et al., 2011) o 3 semanas (Fu et al., 2001) después de la administración de la formalina al 1%. Los mecanismos y sitios por los cuales la formalina produce y mantiene estas conductas pronociceptivas de largo plazo aún no se conocen completamente. Sin embargo, algunos estudios demuestran que están relacionados con su capacidad de generar sensibilización central (Coderre et al., 2004), activación de la microglía (Fu et al., 1999,2000; Wu et al., 2004) y facilitación descendente (Wiertelak et al., 1997; Vierk et al., 2008; Ambriz-Tututi et al., 2011).

La prueba de la formalina se describe con mayor profundidad en el apartado de materiales y métodos.

3. Planteamiento del problema

Es conocido que la serotonina está ligada a diversas funciones, entre las que destaca su vinculación a la nocicepción y que la activación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ en el SNC y SNP tienen un efecto pronociceptivo dependiente de la intensidad y duración del estímulo dado. En este sentido, también se ha demostrado que los inhalables, como el tolueno, afectan el funcionamiento de los receptores ionotrópicos activados por serotonina del tipo 5-HT₃, desencadenando un aumento en la respuesta pronociceptiva en ambas fases de la prueba de la formalina en ratas, así como en la hiperalgesia y en la alodinia secundarias. Sin embargo, se desconoce la participación de otros disolventes de abuso, como el xileno y el benceno, en la nocicepción o si otros disolventes comparten los efectos del tolueno sobre estos receptores. Si este tipo de disolventes resultan pronociceptivos, los pacientes que los usan como sustancias de abuso, al tener un padecimiento que incluya dolor sostenido, podrían requerir un tratamiento analgésico diferente al convencional.

4. Justificación

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (ENCODAT 2016- 2017) los inhalables ocupan la tercera posición de preferencia, después de la mariguana y la cocaína, con 1.1%. El tolueno, el xileno y el benceno son miembros representativos de los disolventes inhalables, que son consumidos voluntariamente por adolescentes, adultos, e incluso niños, ya que producen un estado alterado de conciencia (NIDA, 2022). Debido al alto consumo de estos inhalables entre poblaciones vulnerables, en situación de calle, de estratos sociales bajos y marginados, se considera como un problema de salud pública en aumento en México.

Los resultados de investigaciones previas sugieren que el tolueno (compuesto con estructura química similar al xileno y benceno) aumenta la nocicepción a través de sistemas de neurotransmisores, como el serotoninérgico (Cervantes-Duran et al., 2017). Sin embargo, no se sabe si otros sistemas de neurotransmisión están participando en estos efectos pronociceptivos. Asimismo, también se desconoce la participación de otros disolventes de abuso como el xileno y el benceno sobre la nocicepción o si otros disolventes comparten los efectos del tolueno. El conocimiento de la participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ sobre los efectos del xileno y del benceno sobre la nocicepción aguda, la alodinia y la hiperalgesia secundarias puede dar paso a nuevos blancos y estrategias terapéuticas para evitar o reducir el desarrollo de estas respuestas en pacientes que se exponen o abusan de estos disolventes, cuyo dolor inflamatorio es controlado de maneras deficientes. Por lo tanto, en el presente proyecto se pretenden estudiar los efectos del xileno y del benceno sobre la nocicepción, así como la posible participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ en los efectos pronociceptivos de ambos disolventes.

5. Hipótesis

La exposición aguda a xileno y a benceno incrementa la nocicepción, así como la hiperalgesia y la alodinia secundarias a través de la participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ en ratas.

6. Objetivos

6.1 Objetivo general

Estudiar el efecto de la exposición a xileno y a benceno sobre la nocicepción, la hiperalgesia y la alodinia, así como la participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃.

6.1.1 Objetivos particulares

1. Evaluar el efecto de la exposición aguda a xileno sobre la nocicepción, la alodinia y la hiperalgesia.
2. Evaluar el efecto de la exposición aguda a benceno sobre la nocicepción, la alodinia y la hiperalgesia.
- 3.- Evaluar la participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ en el efecto del xileno y del benceno sobre la nocicepción.

7. Materiales y métodos

El estudio se realizó en el Laboratorio de Farmacodependencia de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, el cual cuenta con disponibilidad de recursos materiales como: cámaras de exposición a disolventes, campana de extracción y una estancia para mantener a los animales, así como también con los reactivos necesarios que facilitaron realizar el trabajo. Los experimentos se llevaron a cabo durante el periodo de septiembre 2023 a marzo 2025.

7.1 Animales de experimentación

Se utilizaron ratas hembra y macho de la cepa Wistar, cuyos pesos oscilaron entre 180 a 230 g. Los animales se obtuvieron del bioterio del IIQB y de la empresa Círculo ADN y tuvieron periodos de 12 horas de luz /12 horas de oscuridad. Además, se mantuvieron en jaulas con acceso a alimento y agua *ad libitum*. Al finalizar los experimentos, los animales se sometieron a un proceso de eutanasia con dióxido de carbono (CO₂).

Todos los experimentos siguieron las pautas sobre estándares éticos para la investigación del dolor experimental en animales (Zimmermann, 1983) y la regulación mexicana (NOM-062 ZOO-1999) para el uso y cuidado de los animales de laboratorio, así como la Ley Federal de Sanidad Animal (Título tercero, Capítulo I del bienestar de los animales, el artículo 105, numeral 7, decreto por el que se reforman los artículos 106, primer párrafo y 108, segundo párrafo de la Ley Federal de Sanidad Animal), la Proclamación de la Declaración Universal de los Derechos de los Animales (a través de los 14 artículos de esta declaración); el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (específicamente en el capítulo séptimo, artículos 121 y hasta el 126); el Proyecto de Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres y la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press, 2011).

Para garantizar un adecuado uso y manejo de los animales de laboratorio, se tomó el curso “Comportamiento y bienestar de los animales” impartido por la Universidad de Edimburgo, el cual fue impartido a través de la plataforma Coursera. Asimismo, se obtuvo un certificado por haber finalizado el curso con una calificación aprobatoria, el cual se anexa en este proyecto.

Al terminar la parte experimental, las ratas fueron sujetas a eutanasia en una cámara de CO₂. Este método es indoloro, seguro y económico, es muy utilizado para inducir eutanasia en animales de experimentación, la cámara de gas debe estar cargada al 70% de CO₂ antes de introducir a los animales (Smith y Harrap, 2016).

7.2 Fármacos

El xileno se compró en Fermont (Monterrey, Nuevo León, México). El benceno se compró en Meyer (Monterrey, Nuevo León, México). 2,3,4,5- tetrahidro-5-metil-2- [(5-metil-1H-imidazol-4-il) metil]-1H- pirido[4,3-b]indol-1-clorhidrato (Alosetrón $\geq 98\%$ (HPLC), pKi = 9.5) se compró en Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). El clorhidrato de 1-(m-clorofenil)-biguanida (m-CPBG, pKi = 7.2) se compró en Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). La solución salina al 0.9% se compró a PiSA (Guadalajara, Jalisco, México). El formaldehído (37%) se compró en Merck (Darmstadt, Alemania).

7.3 Exposición a xileno y a benceno

Los animales fueron expuestos de manera individual a xileno o a benceno (exposición aguda) o a aire. Para llevar a cabo la exposición, las ratas fueron introducidas en cámaras de exposición estáticas, que son jarras cromatográficas de vidrio con un volumen de 29 litros. La cámara está compuesta por un frasco cilíndrico cromatográfico de vidrio, con una tapa acrílica con cierre hermético, un ventilador eléctrico, puertos de inyección y una malla de acero inoxidable dentro de la cámara, donde se colocó un trozo de papel filtro, para posteriormente introducir una rata en la cámara, se cerró la cámara con su tapa y se inyectó un volumen determinado de xileno o de benceno sobre el papel filtro a través de un puerto de inyección. El xileno y el benceno se volatilizaron con ayuda del ventilador, el cual distribuyó el xileno o el benceno de manera homogénea por toda la cámara. Al finalizar las exposiciones, los animales se emplearon para realizar las pruebas de nocicepción y la evaluación del efecto del agonista y el antagonista serotoninérgico.

Los vapores que fueron emitidos por el xileno y el benceno, durante la exposición de los animales en las cámaras de exposición, fueron captados por una campana o cabina de extracción, la cual funciona mediante un sistema de ventilación y filtración diseñado para capturar el aire y eliminar contaminantes presentes en el aire que se generan durante la manipulación del xileno y del benceno. Éste es un medio efectivo para captar vapores

inflamables, irritantes, corrosivos, carcinogénicos, etc., así como para prevenir de exposiciones al personal y evitar la diseminación de estos vapores en la atmósfera del laboratorio.

Los volúmenes de xileno y de benceno que se administraron en la cámara de exposición se calcularon con la ecuación de Nelson (1971):

$$V = \frac{PM * C_{ppm} * V_s * P(10^{-6})}{d * RT}$$

V= volumen de disolvente que se necesita inyectar para obtener la concentración deseada (mL)

PM= peso molecular del disolvente (g mol^{-1}) = 78.13 g mol^{-1} (benceno) y 101.16 g mol^{-1} (xileno)

C_{ppm}= concentración deseada (ppm) = xileno 6000 ppm y benceno 8000 ppm

V_s= volumen de la cámara de exposición (L) = 29 L

P = presión atmosférica = 1 atm

d = densidad del disolvente = 0.8802 g/ml xileno y 0.88 g/ml benceno

R = constante general de los gases ($\text{L atm mol}^{-1} \text{K}^{-1}$) = 0.082 $\text{L atm mol}^{-1} \text{K}^{-1}$

7.4 Nocicepción inflamatoria aguda inducida por formalina

La nocicepción inflamatoria aguda se evaluó a través de la prueba de la formalina descrita por Dubuisson y Dennis (1977), con algunas modificaciones (Wheeler-Aceto et al., 1990; Cervantes-Durán et al., 2021). Las ratas se colocaron en cilindros de acrílico transparentes con espejos en cada cilindro para permitir la observación sin obstáculos. Previo a la evaluación, los animales se colocaron en las cámaras de observación por 30 minutos para permitir que se aclimaten a su entorno; luego, se retiraron para la inyección de formalina. Las ratas se sujetaron suavemente con una toalla, mientras que el dorso de la pata trasera derecha se inyectó vía subcutánea con 50 μl de formalina diluida (1% o 0.5%) o solución salina (NaCl 0.9%) con aguja de calibre 30. Los animales se devolvieron a las cámaras y se observó el comportamiento nociceptivo inmediatamente después de la inyección de formalina. El comportamiento nociceptivo se cuantificó como el número de sacudidas de la pata inyectada durante periodos de 1 minuto, cada 5 minutos, hasta 60 minutos después de la inyección. La conducta dolorosa en este modelo es bifásica: la primera fase (0-15 min) y la segunda fase (15-60 min) después de la inyección del irritante químico (Tjolsen et al., 1992). En este modelo, la disminución en el número de sacudidas se interpretó como efecto antinociceptivo. Al finalizar el experimento, las ratas se devolvieron a sus jaulas para la evaluación de los comportamientos nociceptivos de larga duración (hiperalgesia y alodinia secundaria) 12 días después de la inyección de formalina (Fu et al., 2001; Ambríz-Tututí et al., 2009).

7.5 Hiperalgnesia sostenida y alodinia secundaria

Para realizar esta evaluaci3n, los animales se colocaron en jaulas de prueba con un fondo de malla de alambre y se dejaron aclimatar durante 40 minutos. Se utilizaron dos filamentos de von Frey (Stoeltin Co., Wood Dale, IL) con fuerzas de flexi3n de 10 mN (1 g) y 250 mN (26 g), ambos se aplicaron 10 veces en cada grupo experimental sobre la base del tercer dedo en la superficie de la planta de ambas patas (FU et al., 2001; Ambríz-Tututí et al., 2009; Godínez-Chaparro et al., 2011; Bravo-Hernández et al., 2012).

Se realizaron 3 ensayos para obtener un promedio del número de respuestas en las que hubo retiro de la pata del animal. En condiciones normales, una fuerza de 10 mN no activa los nociceptores cutáneos (Leem et al., 1993), ni provoca la retirada de la pata en animales sanos. Por lo tanto, la aparici3n de respuestas al filamento de 10 mN indica alodinia. Por otra parte, una fuerza de 250 mN o más se considera un estímulo nocivo y la hiperalgnesia se produce cuando hay una mayor respuesta al filamento de von Frey de 250 mN. La alodinia y la hiperalgnesia se consideran secundarias, ya que la estimulaci3n con los filamentos de von Frey se aplic3 en un sitio diferente al de la inyecci3n con formalina. (Castañeda-Corral et al., 2009; Godínez-Chaparro et al., 2011; Ambriz-Tututi, et al., 2009).

8. Estrategia experimental

Para determinar si el xileno y el benceno son capaces de aumentar la nocicepci3n aguda inducida por formalina o de larga duraci3n (alodinia e hiperalgnesia secundarias), se utilizaron 10 grupos de ratas hembra de la cepa Wistar, cada grupo const3 de 6 animales (n=6), donde:

Un grupo de ratas se expuso de forma aguda (30 min) a aire (control) o a xileno (6000 ppm) o a benceno (8000 ppm), de manera individual. Cinco minutos despu3s de la exposici3n, a los animales se les administr3 formalina al 1% o al 0.5% y la nocicepci3n aguda se evalu3 durante la pr3xima hora y la alodinia e hiperalgnesia secundarias de larga duraci3n fueron evaluadas los siguientes 12 días en las mismas ratas.

Para determinar si los receptores 5-HT₃ participan en el efecto del xileno o del benceno sobre la nocicepci3n, se utilizaron 3 enfoques:

1. A un grupo de animales se les administr3 vehículo (soluci3n salina) o el antagonista del receptor 5-HT₃, alosetr3n (usando dosis de 10, 30 o 100 nmol en 50 µl) en la superficie dorsal de la pata trasera derecha 10 minutos antes de la exposici3n a xileno o a benceno o a aire durante 30 minutos. Despu3s de la exposici3n se les

inyectó formalina al 1% y se evaluó la nocicepción aguda por 60 minutos y la alodinia e hiperalgesia secundarias de larga duración fueron evaluadas los siguientes 12 días en las mismas ratas.

2. Otro grupo de ratas recibió una inyección de solución salina o del agonista del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol en 50 µl) en la pata. Inmediatamente después, los animales fueron expuestos a xileno o a benceno o a aire (control) durante 30 min. Aproximadamente 5 minutos después de la exposición al disolvente o a aire, se les inyectó con formalina al 0.5% a las ratas. Se evaluó la nocicepción aguda durante los siguientes 60 minutos y la alodinia y la hiperalgesia secundarias evocadas de larga duración fueron evaluados a lo largo de 12 días en las mismas ratas.
3. Finalmente, a un grupo de ratas se les administró el antagonista del receptor 5-HT₃, alosetrón (10 nmol en 50 µl). Diez minutos más tarde, a estos animales se les administró el agonista del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol en 50 µl). Inmediatamente después, las ratas fueron expuestas a xileno o a benceno o a aire durante 30 minutos. A estas ratas se les inyectó formalina al 0.5% aproximadamente 5 min después de la exposición. Se evaluó la nocicepción aguda por los próximos 60 minutos y la alodinia y la hiperalgesia secundarias de larga duración fueron evaluadas 6 días después en las mismas ratas (Figura 7).

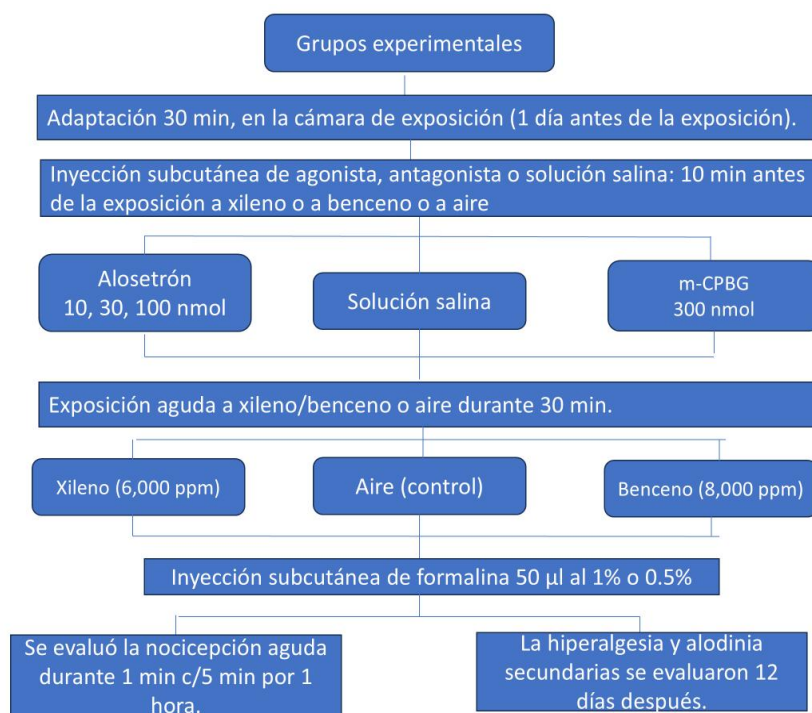


Figura 7. Estrategia experimental.

9. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se expresaron en gráficas como el promedio $\pm$ el error estándar (e.e.) de los 6 animales por grupo. Las curvas se construyeron trazando el número de sacudidas por minuto para la nocicepción o el número de retiros de la pata en función del tiempo para la hiperalgesia y la alodinia secundarias. El área bajo la curva (ABC) correspondió al número de sacudidas en función del tiempo o al área bajo la curva del número de retiros de la pata en función del tiempo, las cuales son una expresión de la duración e intensidad del efecto y que se observan en ambas fases de la prueba de la formalina en ratas previamente expuestas a disolventes o a aire, así como en la hiperalgesia y la alodinia secundarias. El ABC se calculó mediante el método de los trapecoides.

Las diferencias que pueda haber entre cada grupo se analizaron por medio de la prueba t-Student para muestras pareadas o t-Student para muestras independientes, según corresponda. Se usó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de la prueba de Student-Newman-Keuls, mediante el uso del programa estadístico GraphPad Prism 8 en donde una $P < 0.05$ se consideró significativa.

10. Resultados

10.1. Efecto de la exposición aguda a xileno y a benceno sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas Wistar hembra.

La inyección subcutánea de formalina al 1% en la superficie dorsal de la pata trasera derecha de la rata produjo un patrón bifásico de la conducta nociceptiva (Figura 8), caracterizada por el número de sacudidas de la pata inyectada durante 60 minutos. La fase aguda inicial (0-10 minutos) presentó una respuesta nociceptiva alta seguida por un período breve quiescente. En la segunda fase (15-60 minutos) hubo un aumento gradual y prolongado de la respuesta nociceptiva, seguido de un descenso en el número de sacudidas de la pata inyectada.

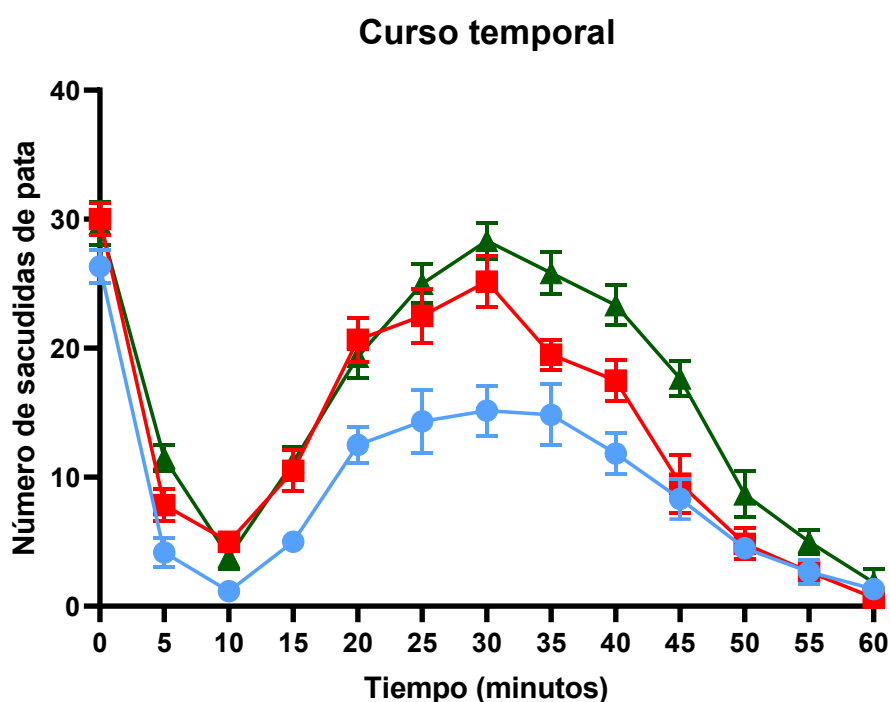


Figura 8. Curso temporal del promedio de sacudidas de la pata trasera derecha observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm) o a benceno (8,000 ppm) o a aire.

La inyección de formalina al 1% indujo un efecto bifásico nociceptivo en ausencia del xileno y del benceno. En presencia de xileno (6,000 ppm) y de benceno (8,000 ppm) se observó un efecto pronociceptivo en comparación con el grupo expuesto sólo a aire (Figura 9).

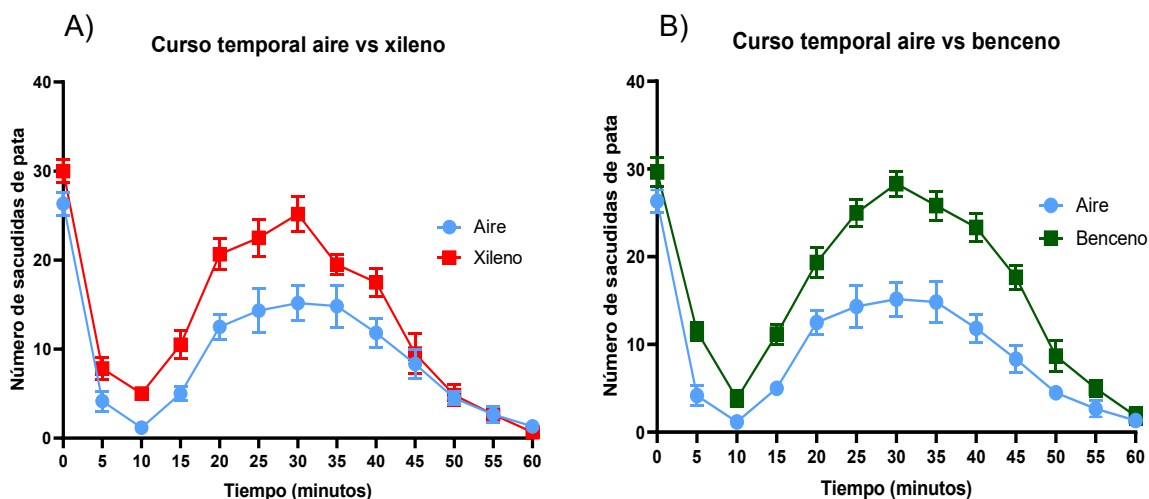


Figura 9. Curso temporal del promedio de sacudidas de la pata trasera derecha observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas previamente expuestas (A) a xileno (6,000 ppm) o (B) a benceno (8,000 ppm).

La exposición de las ratas a xileno (6,000 ppm) o a benceno (8,000 ppm) durante 30 minutos aumentó la nocicepción aguda inducida por la inyección de 50 μ l de formalina al 1%. Los efectos pronociceptivos del xileno y del benceno se observaron en ambas fases del curso temporal, donde el benceno tuvo mayor efecto sobre las ratas que el xileno (Figura 10).

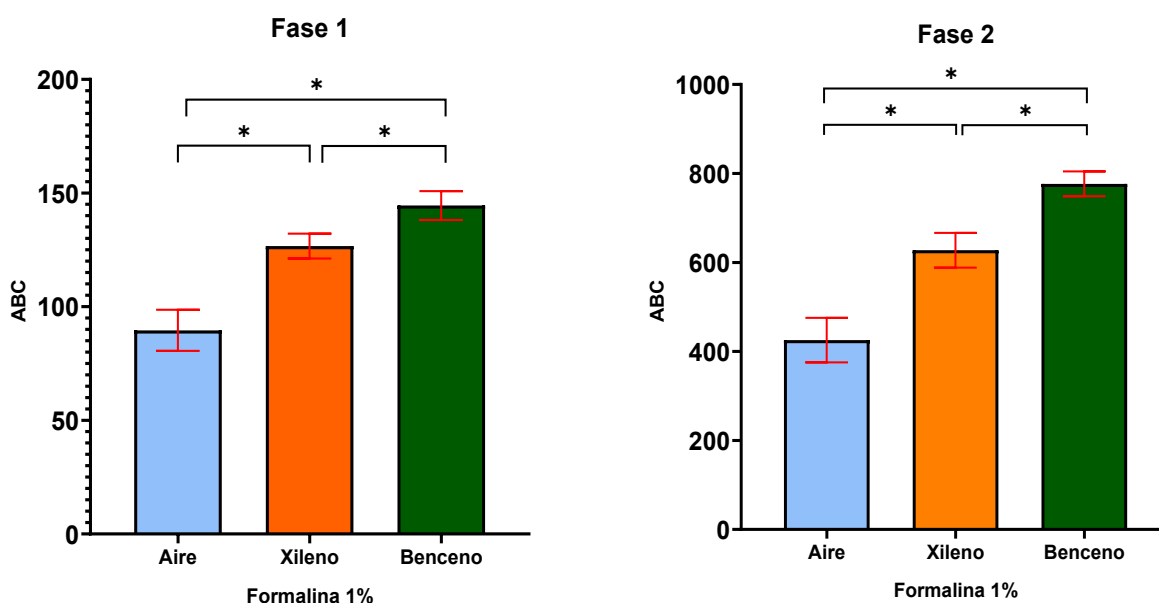


Figura 10. Área bajo la curva (ABC) de las sacudidas de pata observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm) o a benceno (8,000 ppm) o a aire. Los resultados están expresados como el promedio $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. Se observó una diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control en ambas fases, * $p < 0.05$ vs grupo aire; * $p < 0.05$ vs grupo xileno, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls.

Además del efecto pronociceptivo, que se mantuvo durante 60 minutos después de la inyección de formalina en la pata trasera derecha de las ratas previamente expuestas a xileno o a benceno, se produjo alodinia (Figura 11) e hiperalgesia (Figura 12) en ambas patas. Esta hipersensibilidad se evaluó los días 1, 3, 6, 9 y 12 y se observó como un aumento en la respuesta de retirada de la pata ipsilateral (pata derecha) luego de la aplicación de los filamentos de von Frey (1 g y 26 g). El comportamiento evocado se considera secundario debido a que la formalina se inyectó en el dorso de la pata trasera derecha y los signos de comportamiento se determinaron en la parte ventral de la misma pata y en la pata contralateral (pata izquierda).

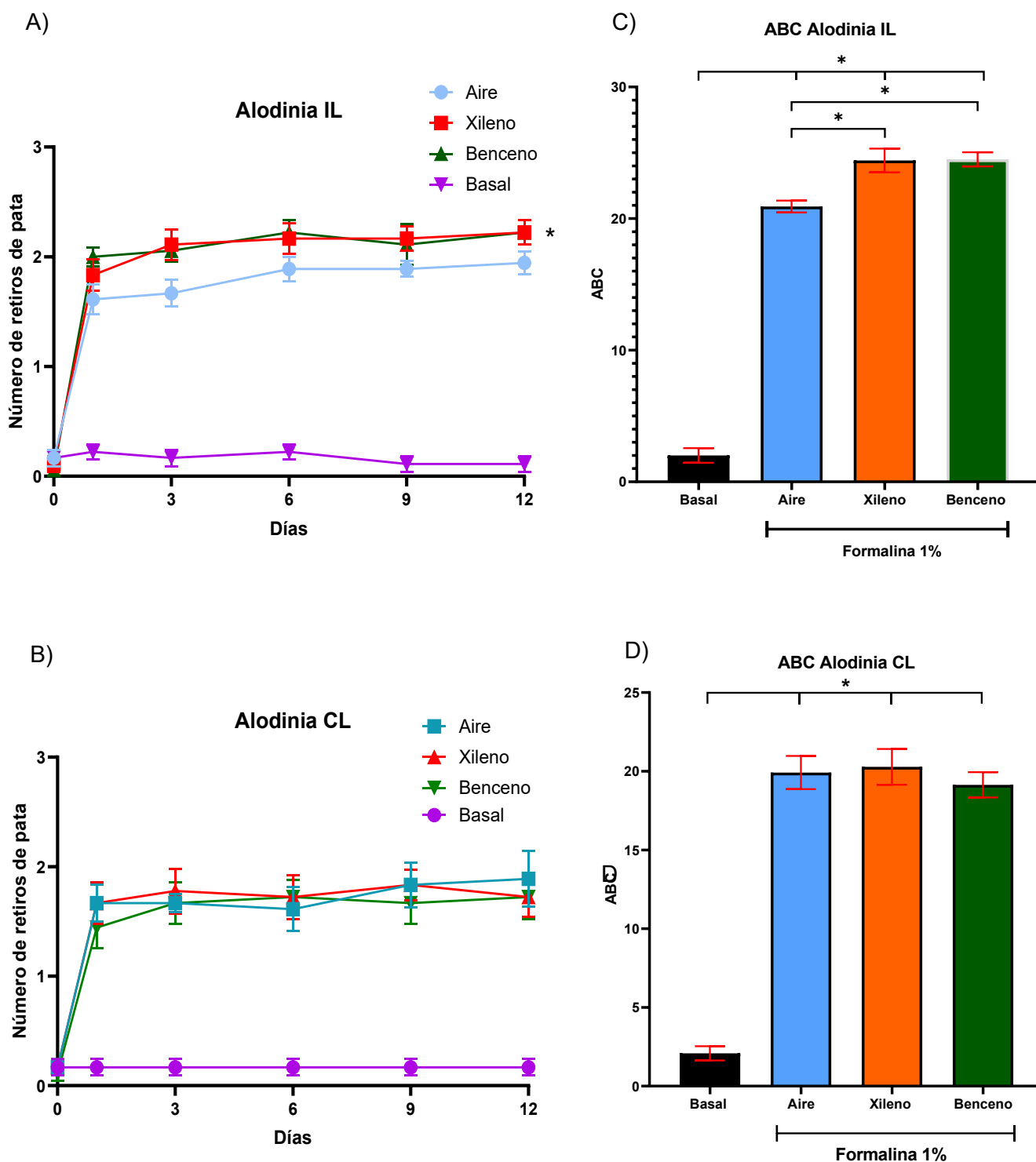


Figura 11. Curso temporal del número de respuestas ipsilaterales (IL) y contralaterales (CL) de retiro de pata después de 10 aplicaciones de los filamentos de von Frey con fuerza de flexión de 10 mN (alodinia) (panel A y B), después de la administración subcutánea de formalina al 1% (F) en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire (control). Las gráficas de barras (panel C y D) representan el área bajo la curva (ABC 0-12 días). Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la alodinia IL se observó una diferencia estadísticamente significativa de los grupos expuestos a disolvente en comparación con el grupo control, $*p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs grupo basal; $*p < 0.05$ xileno + 1% F vs aire; $*p < 0.05$ benceno + 1% F vs aire, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls. En la alodinia CL no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos expuestos a disolventes vs el grupo aire, pero se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos con formalina al 1% vs el grupo basal (panel D).

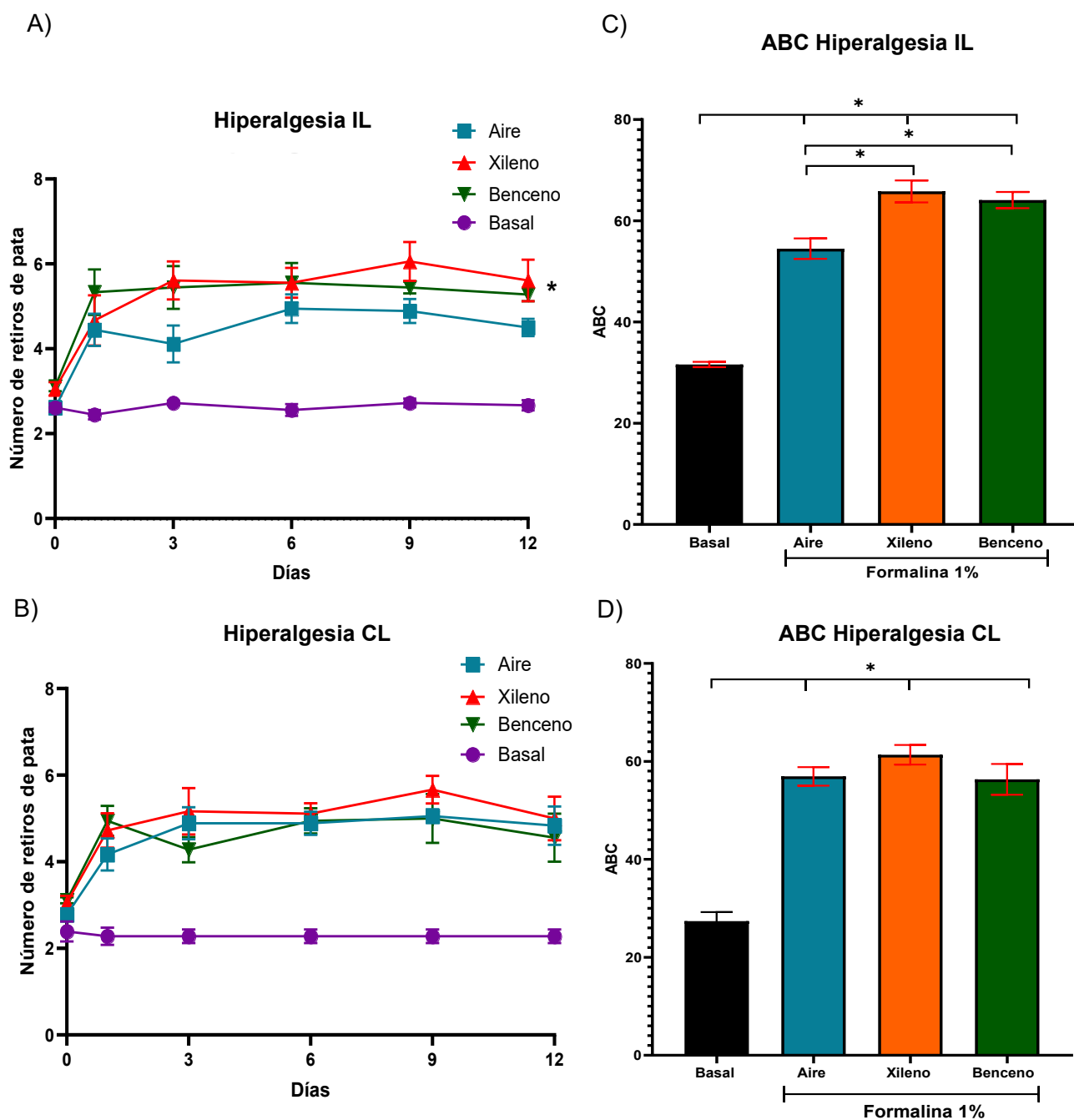


Figura 12. Curso temporal del número de respuestas ipsilaterales (IL) y contralaterales (CL) de retiro de pata después de 10 aplicaciones de los filamentos de von Frey con fuerza de flexión de 250 mN (hiperalgesia) (panel A y B), después de la administración subcutánea de formalina al 1% (F) en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire (control). Las gráficas de barras (panel C y D) representan el área bajo la curva (ABC 0-12 días). Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. Se observó una diferencia estadísticamente significativa en hiperalgesia IL de los grupos expuestos a disolvente en comparación con el grupo control, $*p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs grupo basal; $*p < 0.05$ xileno + 1% F vs aire; $*p < 0.05$ benceno + 1% F vs aire, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls. En la hiperalgesia CL no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos expuestos a disolventes vs el grupo aire, pero se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos con formalina al 1% vs el grupo basal (panel D).

10.2. Efecto de la exposición aguda a xileno y a benceno sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas Wistar macho.

Todos los experimentos mostrados anteriormente se realizaron en ratas Wistar hembras y con el fin de descartar que el sexo no fuera una variable que pudiera alterar el efecto pronociceptivo del xileno y del benceno, se realizó el mismo experimento en ratas Wistar machos del mismo rango de peso (180 g - 230 g). La inyección de formalina al 1% en ratas macho previamente expuestas a xileno (6,000 ppm) o a benceno (8,000 ppm) produjo el patrón típico de comportamiento nociceptivo dependiente del tiempo, previamente observado en ratas Wistar hembra, es decir, hubo un aumento en el número de respuestas de la pata trasera derecha en el curso temporal de la nocicepción aguda y permaneció durante 60 minutos (Figura 13).

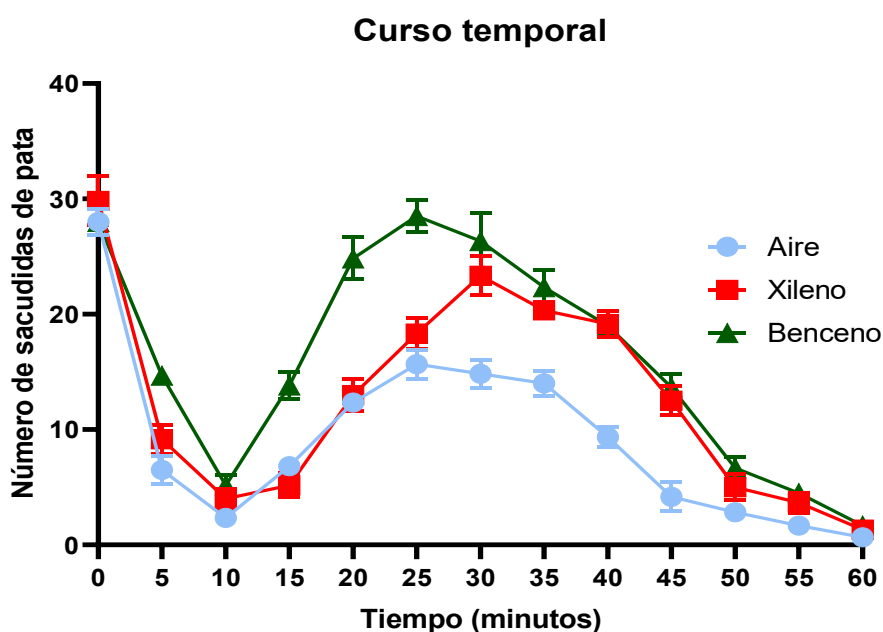


Figura 13. Curso temporal del promedio de sacudidas de la pata trasera derecha observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas Wistar macho previamente expuestas a xileno (6,000 ppm) o a benceno (8,000 ppm) o a aire.

La inyección de la formalina al 1% indujo un efecto bifásico nociceptivo en ausencia del xileno y del benceno. En presencia de xileno (6,000 ppm) y de benceno (8,000 ppm) se observó un efecto pronociceptivo, tanto en ratas Wistar hembras como en machos (Figura 14).

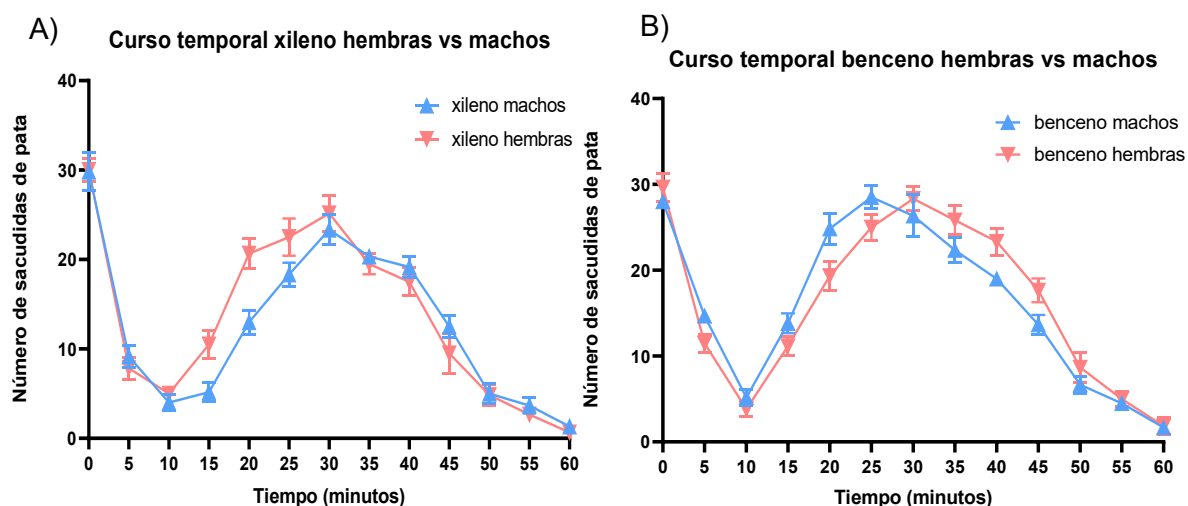


Figura 14. Comparación del curso temporal del promedio de sacudidas de la pata trasera derecha observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas Wistar hembras y machos previamente expuestas a (A) xileno (6,000 ppm) o a (B) benceno (8,000 ppm).

La exposición de las ratas macho a xileno (6,000 ppm) o a benceno (8,000 ppm) durante 30 minutos aumentó la nocicepción aguda inducida por la inyección de 50 μ l de formalina al 1%. El efecto pronociceptivo se observó en la fase uno y en la fase dos (Figura 15). No hubo diferencia significativa en el comportamiento pronociceptivo bifásico entre ratas Wistar hembras y machos (Figura 16).

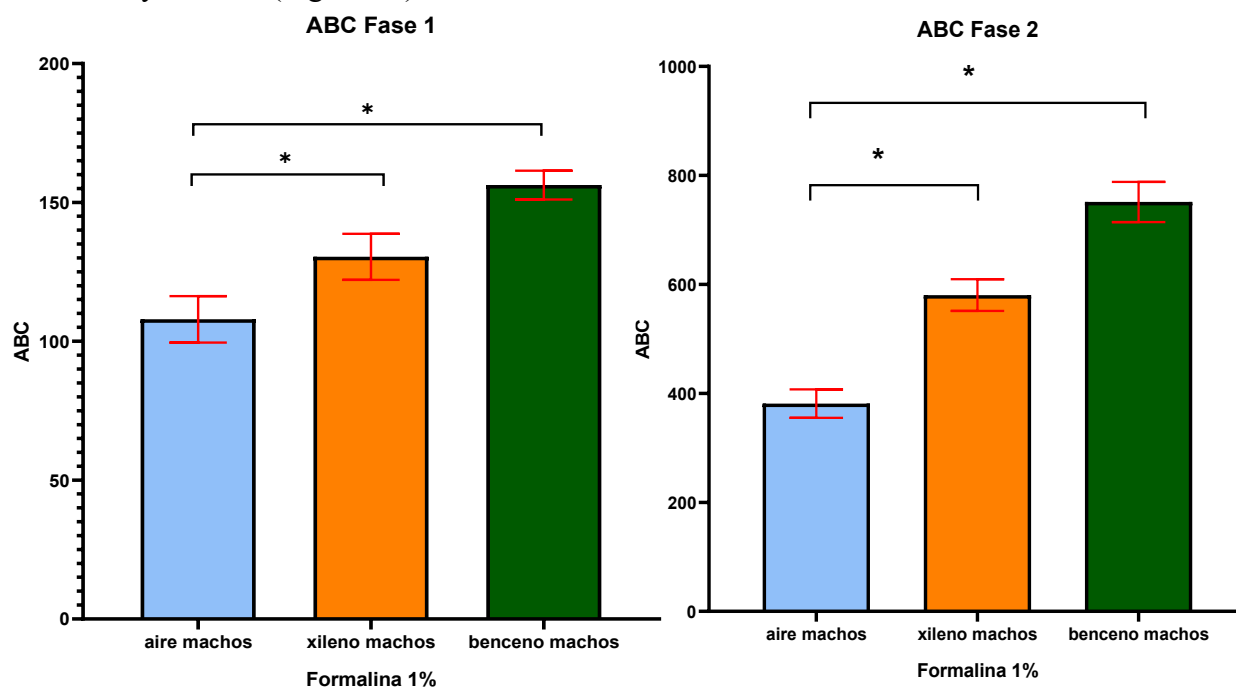


Figura 15. Área bajo la curva (ABC) de sacudidas de pata observados después de la inyección de formalina al 1% en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm) o a benceno (8,000 ppm) o a aire. Los resultados están expresados como el promedio $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. Se observó una diferencia estadísticamente significativa en ambas fases, * $p < 0.05$ vs grupo aire, prueba t-Student para muestras independientes.

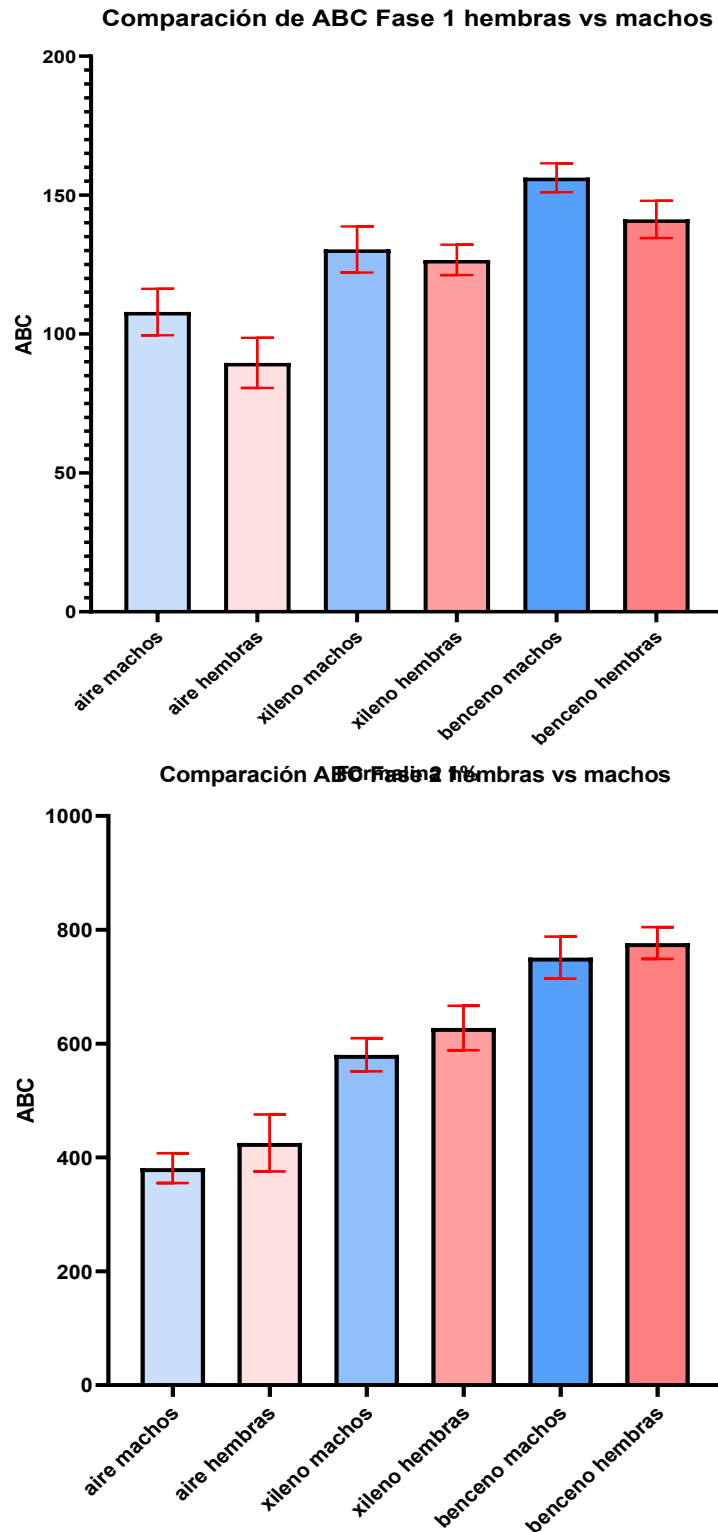


Figura 16. Comparación del área bajo la curva (ABC) de sacudidas de pata observados en el curso temporal después de la inyección de formalina al 1% en ratas Wistar hembras y machos previamente expuestas a xileno (6,000 ppm) o a benceno (8,000 ppm) o a aire. Los resultados están expresados como el promedio $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. No se observó diferencia estadísticamente significativa en el comportamiento pronociceptivo bifásico entre ratas Wistar hembras y machos.

Además del efecto pronociceptivo, que se mantuvo durante 60 minutos después de la inyección de formalina al 1% en la pata trasera derecha de las ratas previamente expuestas a xileno o a benceno, se produjo alodinia (Figura 17) e hiperalgesia (Figura 18) en ambas patas. Se observó un aumento en la respuesta de retirada de la pata ipsilateral luego de la aplicación de los filamentos de von Frey (1 g y 26 g). El comportamiento evocado se considera secundario debido a que la formalina se inyectó en el dorso de la pata trasera derecha y los signos de comportamiento se determinaron en la parte ventral de la misma pata y de la pata contralateral. No se observaron cambios significativos entre ambos sexos en la alodinia (Figura 19) ni en la hiperalgesia (Figura 20) secundarias.

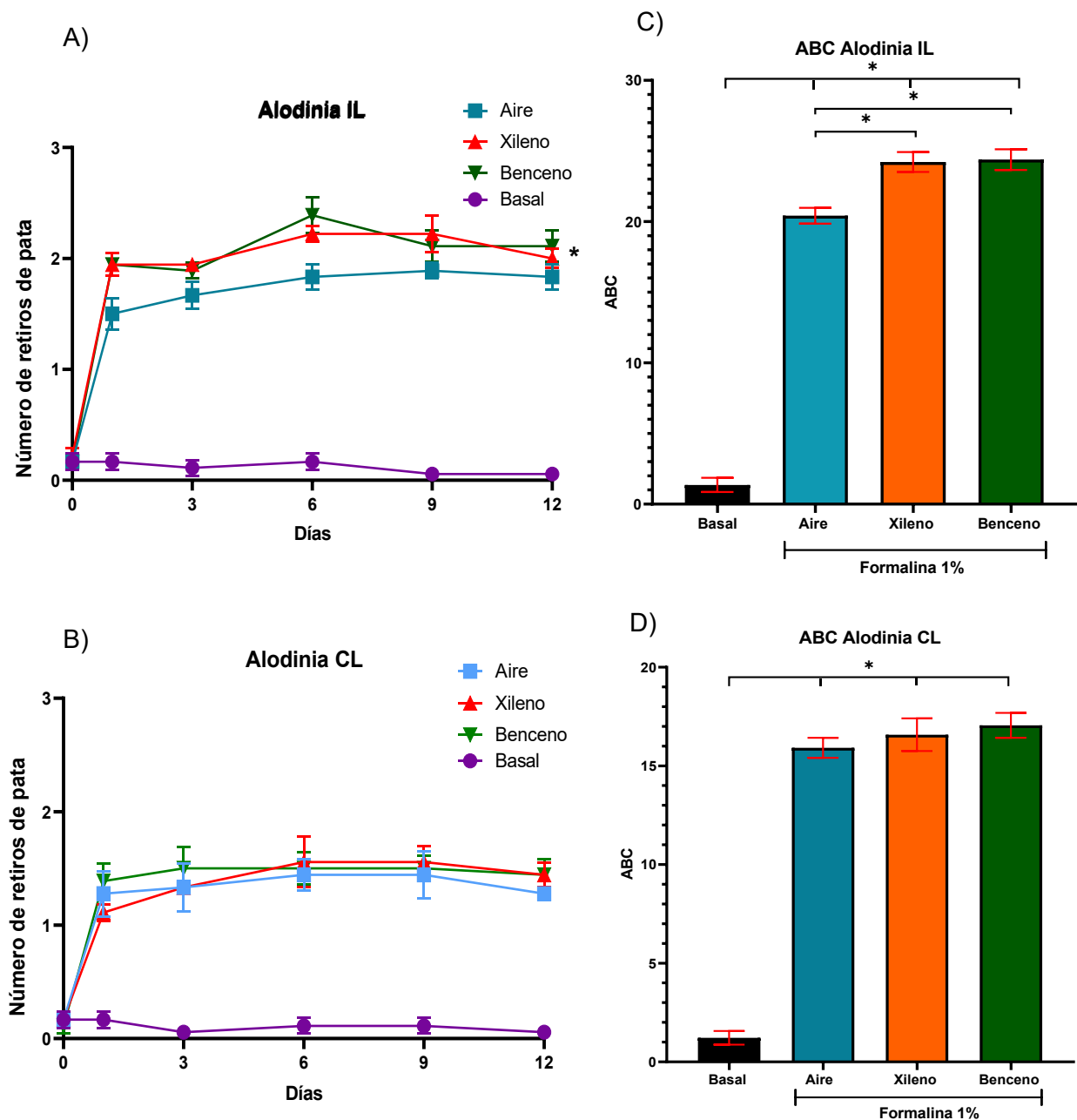


Figura 17. Curso temporal del número de respuestas ipsilaterales (IL) y contralaterales (CL) de retiro de pata después de 10 aplicaciones de los filamentos de von Frey con fuerza de flexión de 10 mN (alodinia) (panel A y B), después de la administración subcutánea de formalina al 1% (F) en ratas macho previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire (control). Las gráficas de barras (panel C y D) representan el área bajo la curva (ABC 0-12 días). Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la alodinia IL se observó una diferencia estadísticamente significativa, $*p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs grupo basal; $*p < 0.05$ xileno + 1% F vs aire; $*p < 0.05$ benceno + 1% F vs aire, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls. En la alodinia CL solo se observó una diferencia estadísticamente significativa con el grupo basal (panel D).

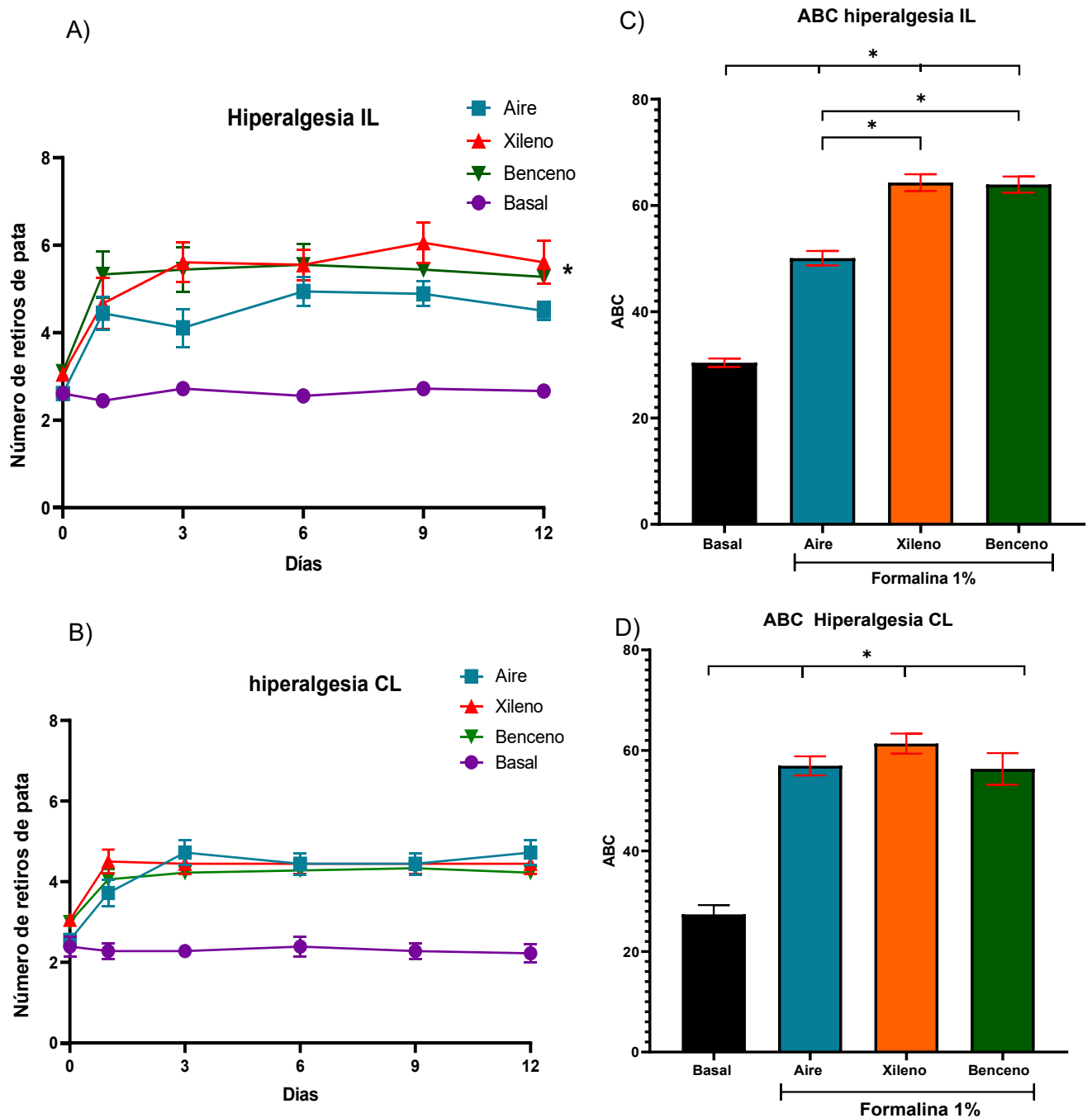
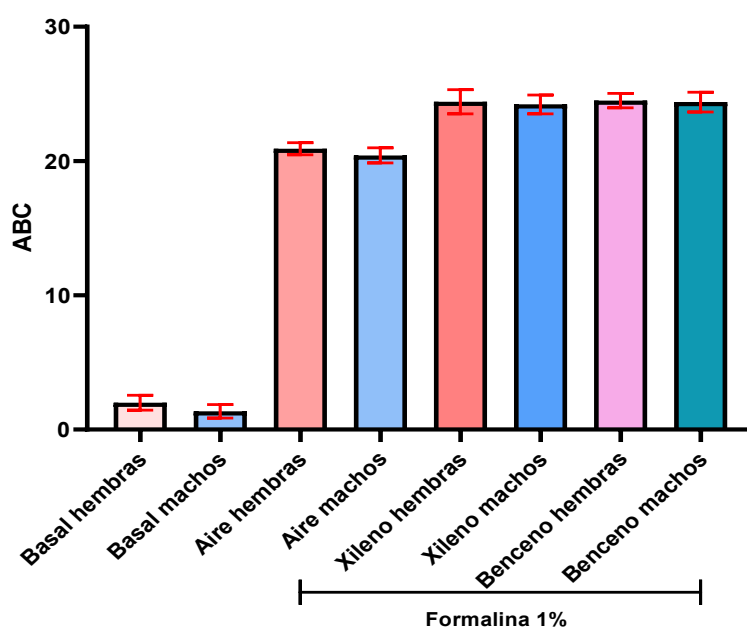


Figura 18. Curso temporal del número de respuestas ipsilaterales (IL) y contralaterales (CL) de retiro de pata después de 10 aplicaciones de los filamentos de von Frey con fuerza de flexión de 250 mN (hiperalgesia) (panel A y B), después de la administración subcutánea de formalina al 1% (F) en ratas macho previamente expuestas a xileno (6,000 ppm), a benceno (8,000 ppm) o a aire (control). Las gráficas de barras (panel C y D) representan el área bajo la curva (ABC 0-12 días). Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. Se observó una diferencia estadísticamente significativa en hiperalgesia IL, $*p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs grupo basal; $*p < 0.05$ xileno + 1% F vs aire; $*p < 0.05$ benceno + 1% F vs aire, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls. En la hiperalgesia CL se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos con formalina al 1% vs el grupo basal (panel D).

A) Comparación alodinia IL Hembras vs Machos



B)

Comparación alodinia CL Hembras vs Machos

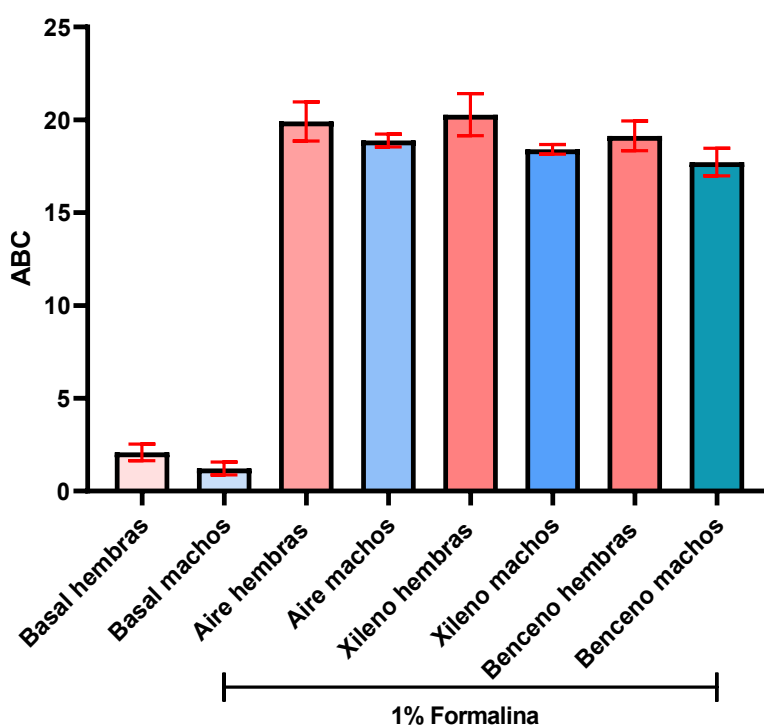


Figura 19. Comparación del área bajo la curva (ABC 0-12 días) de alodinia IL en hembras vs machos (Panel A) y de alodinia CL en hembras vs machos (Panel B). Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. No se observó una diferencia estadísticamente significativa en la alodinia IL y CL entre ambos sexos.

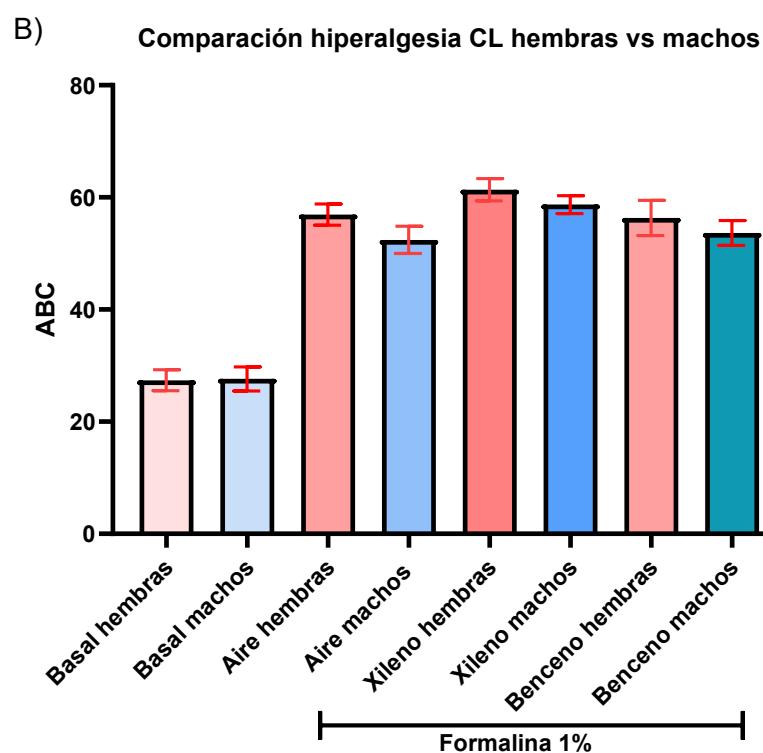
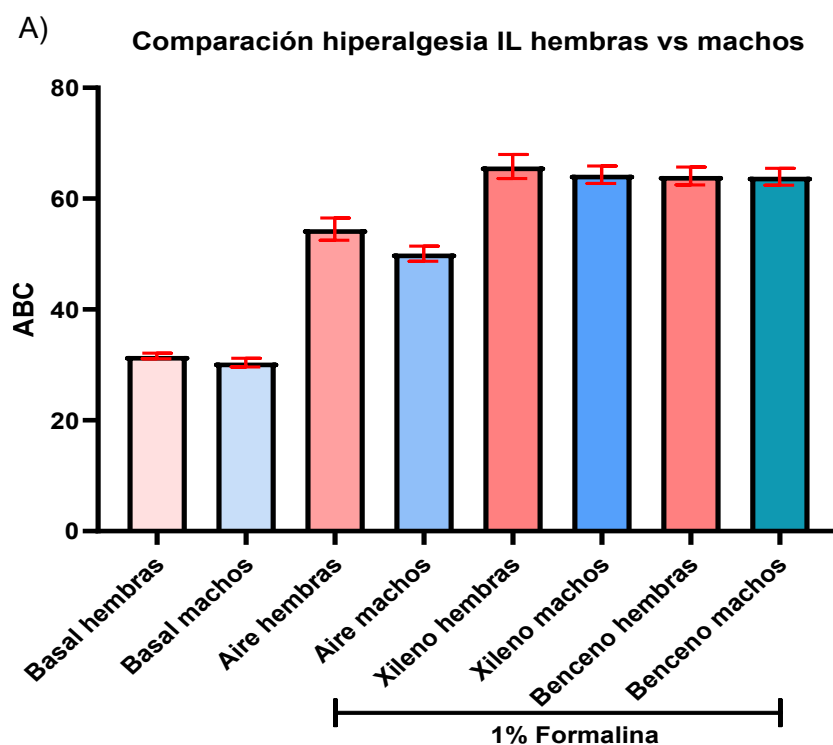
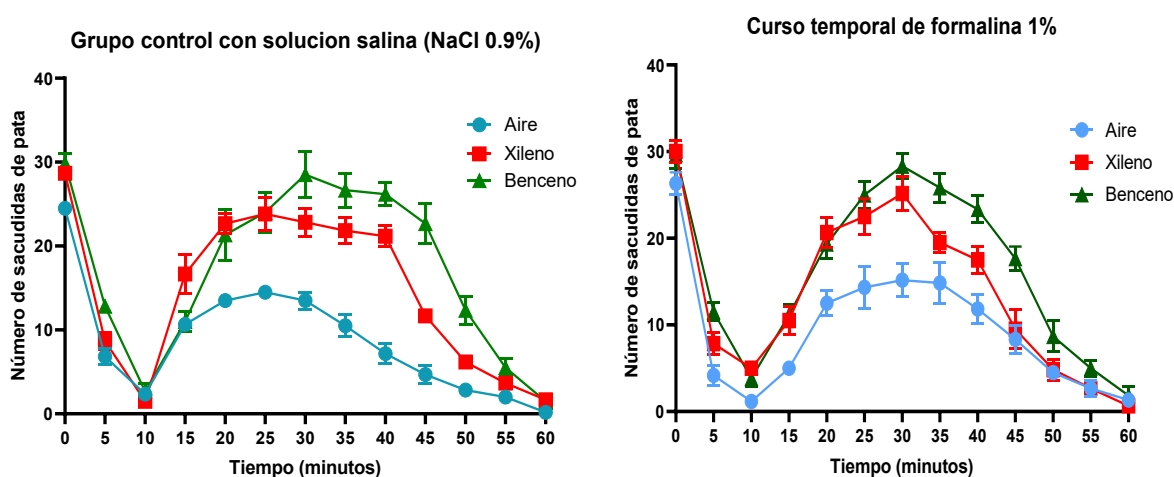


Figura 20. Comparación del área bajo la curva (ABC 0-12 días) de hiperalgesia IL hembras vs machos (Panel A) y de hiperalgesia CL hembras vs machos (Panel B). Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. No se observó una diferencia estadísticamente significativa en la alodinia IL y CL entre ambos sexos, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls.

10.3. Efecto del antagonista de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃, alosetrón sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas Wistar expuestas a xileno y a benceno de manera aguda.

Para evaluar si los receptores 5-HT₃ participan en el efecto pronociceptivo del xileno y del benceno en la prueba de formalina, se utilizó el antagonista altamente selectivo de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃, alosetrón (Hirata et al., 2007), el cual debido a sus propiedades fisicoquímicas se disolvió en solución salina (NaCl 0.9%). Para descartar que el vehículo pudiera tener algún efecto sobre la nocicepción, se realizaron grupos control expuestos a aire, a xileno y a benceno, a los cuales previamente se les administró 50 µL de solución salina vía subcutánea, 40 minutos previos a la prueba de la formalina y de esta manera poder valorar si el vehículo del antagonista alosetrón es inerte o pudiera alterar el efecto de éste (Figura 21).



Los efectos inducidos por la administración subcutánea de solución salina en la prueba de la formalina no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$). Por lo tanto, se concluye que la solución salina (NaCl 0.9%) puede usarse como vehículo, ya que no modifica el efecto de la formalina (Figura 22).

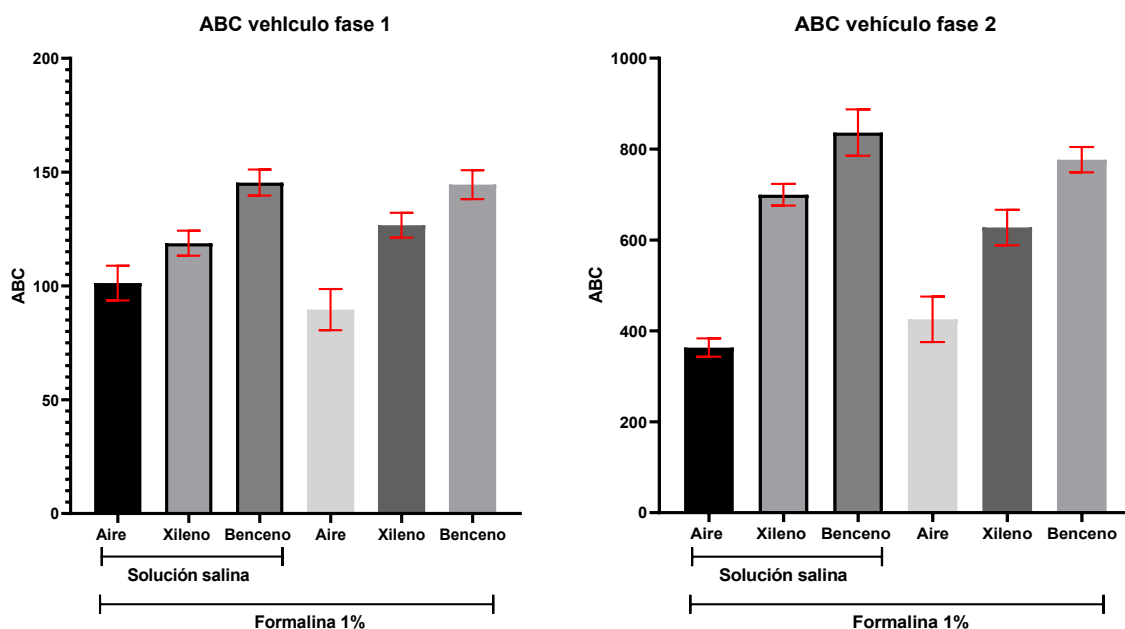


Figura 22. Área bajo la curva de sacudidas de pata observados en ambas fases después de la inyección de formalina al 1% en ratas a las que se les administró solución salina. Los resultados están expresados como el promedio $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. No se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos aire + soln. salina vs aire, xileno + soln. salina vs xileno y benceno + soln. salina vs benceno ($p > 0.05$) en ambas fases, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls.

El pretratamiento local periférico ipsilateral (-40 min) con alosetrón (10–100 nmol/pata) no redujo ($p > 0.05$) el efecto pronociceptivo del xileno (6,000 ppm) en ninguna de las dos fases de la prueba de formalina al 1% (Figura 23).

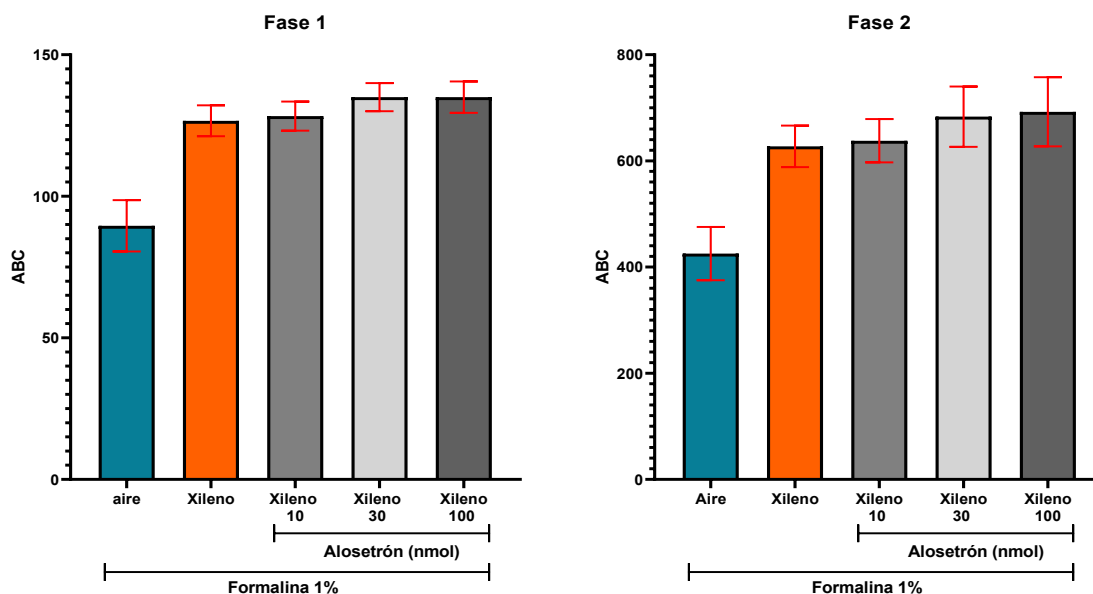


Figura 23. Efecto del antagonista del receptor 5-HT₃, alosetrón (10-100 nmol) en la nocicepción aguda inducida por formalina 1% en ratas previamente expuestas a aire o a xileno (6000 ppm). Los datos se expresan como área bajo el número de sacudidas de pata contra la curva de tiempo (ABC). No se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol), por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student-Newman-Keuls.

El alosetrón a diferentes dosis (10-100 nmol) tampoco redujo el efecto pronociceptivo en la alodinia mecánica secundaria ipsilateral ni contralateral inducida por formalina al 1% (Figura 24) ni en la hiperalgesia ipsilateral ni contralateral (Figura 25) en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm). Sin embargo, se observó una disminución en la alodinia e hiperalgesia en ausencia de xileno.

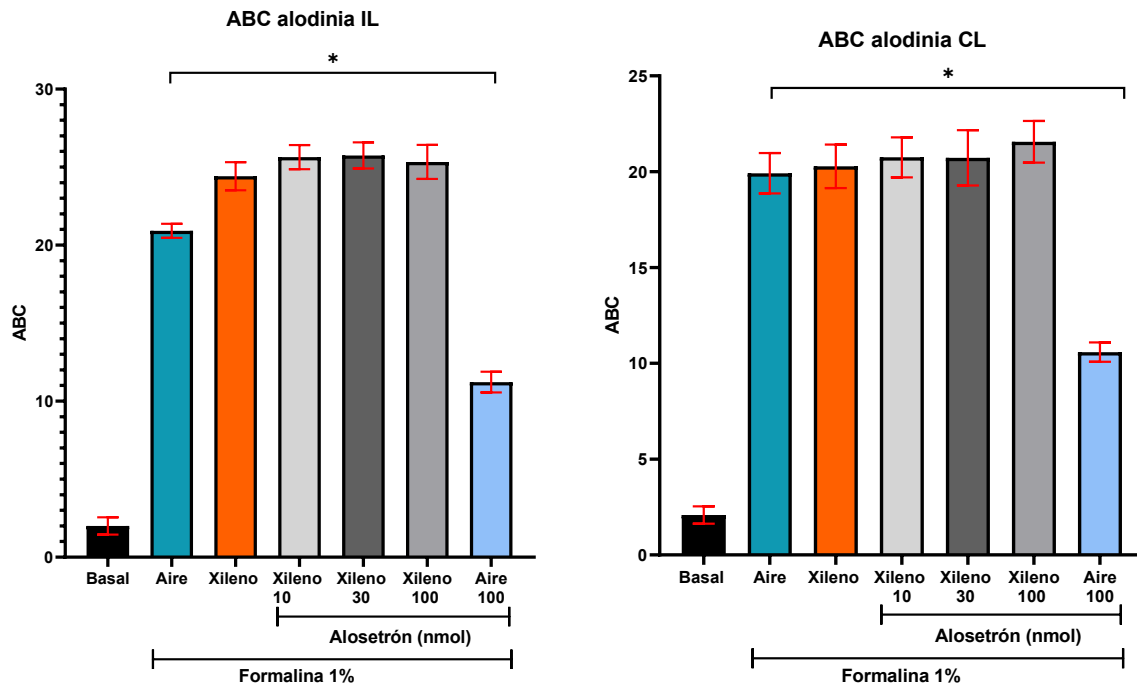


Figura 24. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire o a xileno y después de la administración de formalina 1%. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la alodinia IL no se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol). En la alodinia CL tampoco se observó una diferencia estadísticamente significativa. ($p > 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol), por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls.

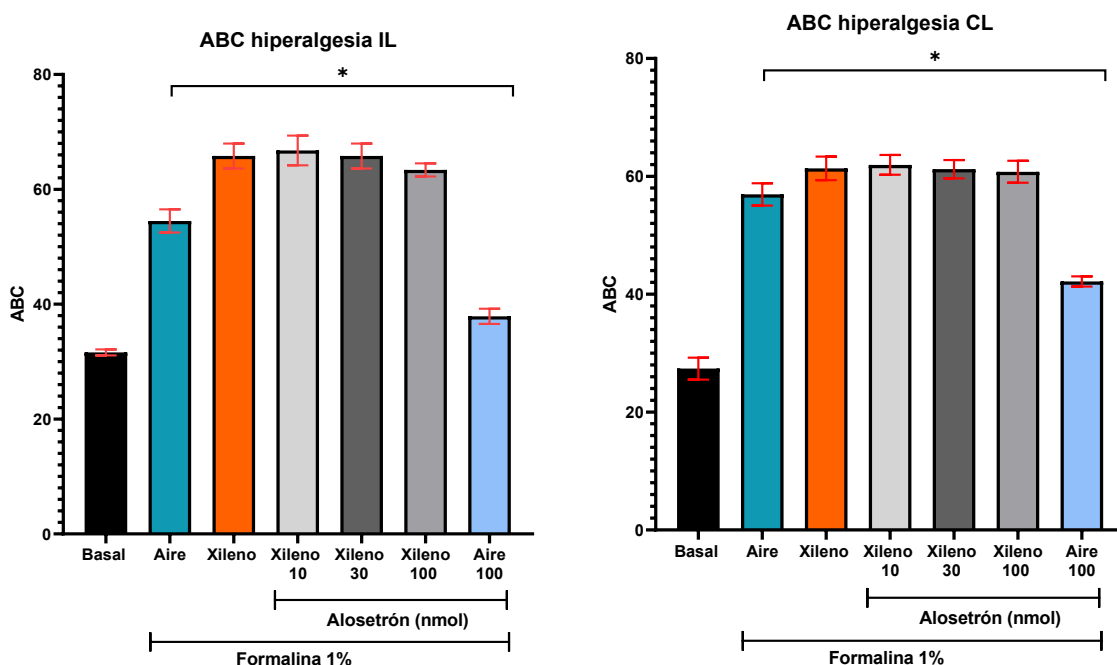


Figura 25 Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (250 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire o a xileno y después de la administración de formalina 1%. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la hiperalgesia IL no se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol). En la hiperalgesia CL tampoco se observó una diferencia estadísticamente significativa. ($p > 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol), por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman-Keuls.

El pretratamiento local periférico ipsilateral (-40 min) con alosetrón (10–100 nmol/pata) redujo ($p < 0.05$) de manera dependiente de la dosis el efecto pronociceptivo del benceno (8,000 ppm) en ambas fases de la prueba de formalina al 1% (Figura 26).

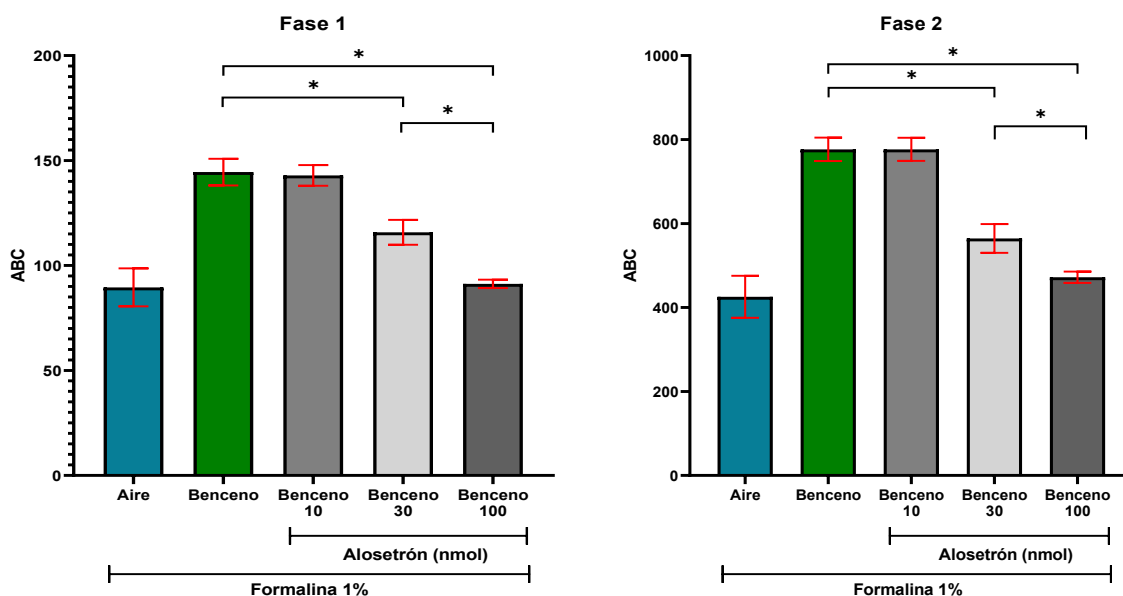


Figura 26. Efecto del antagonista del receptor 5-HT₃, alosetrón (10-100 nmol) en la nocicepción aguda inducida por formalina 1% en ratas previamente expuestas a aire o a benceno (8000 ppm). Los datos se expresan como área bajo el número de sacudidas de pata contra la curva de tiempo (ABC). Se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en ambas fases entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol), $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + 30 nmol, $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + 100 nmol, $p < 0.05$ grupo benceno + 30 nmol vs benceno + 100 nmol, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student-Newman-Keuls.

El alosetrón a diferentes dosis (10-100 nmol) también redujo el efecto pronociceptivo en la alodinia mecánica secundaria ipsilateral y contralateral inducida por formalina al 1% (Figura 27), así como también en la hiperalgesia ipsilateral y contralateral (Figura 28) en ratas previamente expuestas a benceno (8,000 ppm).

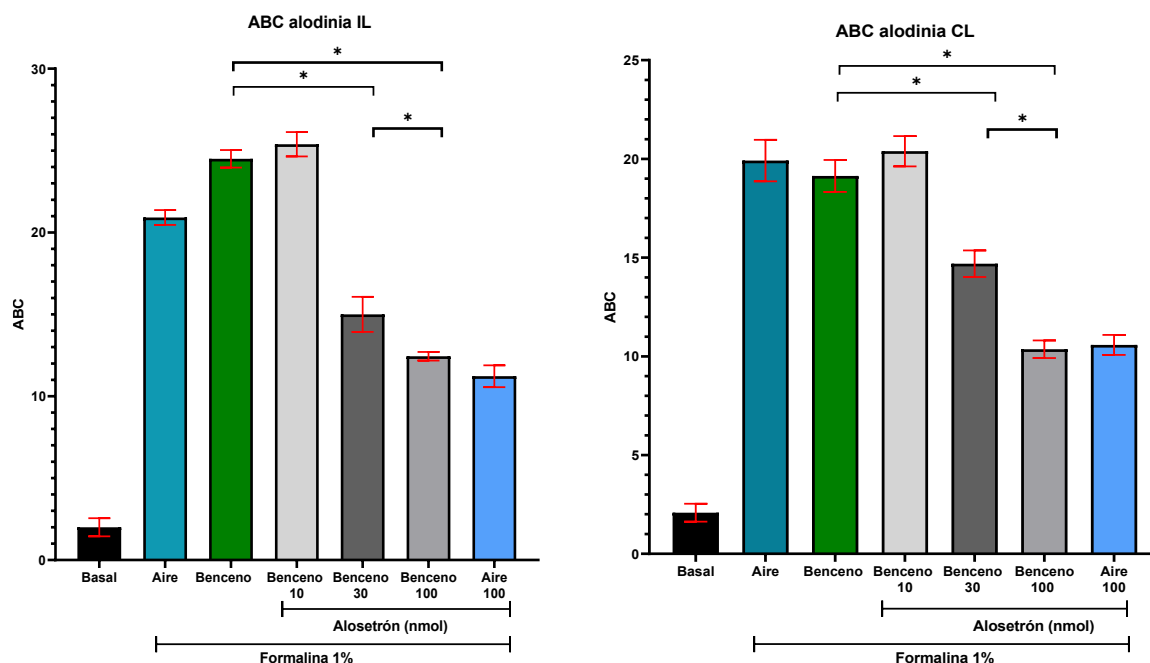


Figura 27. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas traseras de ratas previamente expuestas a aire o a benceno y después de la administración de formalina 1%. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la alodinia IL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol). $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + 30 nmol, $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + 100 nmol, $p < 0.05$ grupo benceno + 30 nmol vs benceno + 100 nmol. En la alodinia CL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol). $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + 30 nmol, $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + 100 nmol, $p < 0.05$ a grupo benceno + 30 nmol vs benceno + 100 nmol, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls.

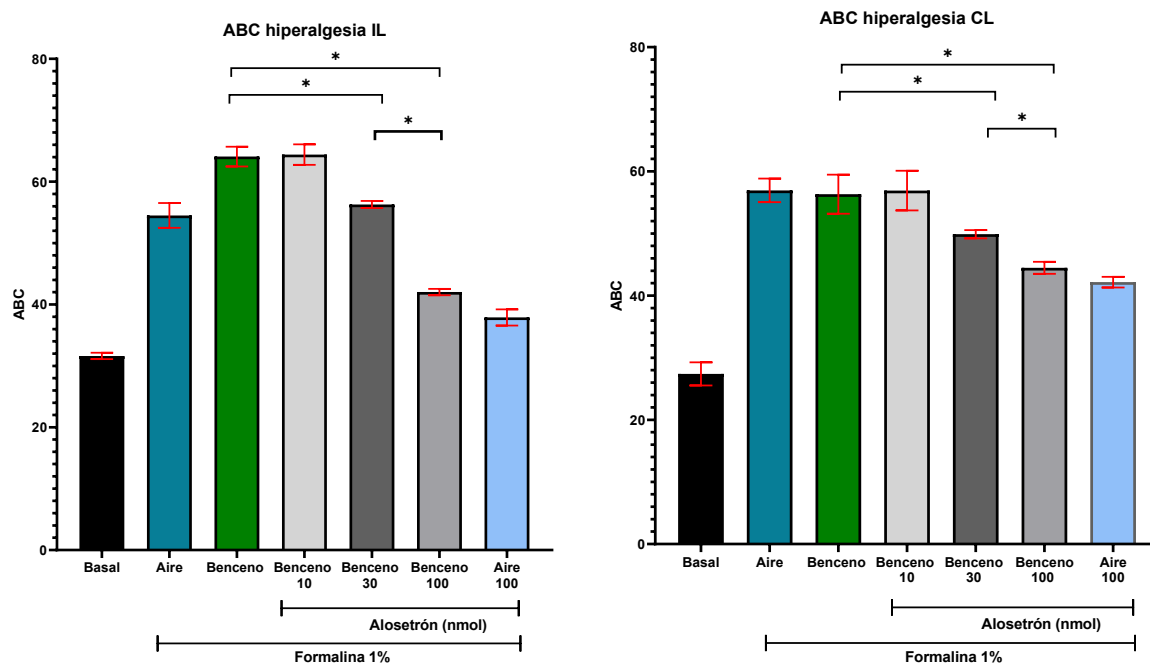


Figura 28. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (250 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire o a benceno y después de la administración de formalina 1%. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la hiperalgesia IL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol), $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + 30 nmol, $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + 100 nmol, $p < 0.05$ grupo benceno + 30 nmol vs benceno + 100 nmol. En la hiperalgesia CL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol). $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + 30 nmol, $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + 100 nmol, $p < 0.05$ grupo benceno + 30 nmol vs benceno + 100 nmol, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls

El alosetrón, en la dosis más alta probada, también fue capaz de reducir los efectos nociceptivos de la formalina al 1% en ambas fases (Figura 29) en ausencia del xileno y del benceno. Además, redujo de manera dependiente de la dosis ($p<0.05$) el efecto pronociceptivo en la alodinia mecánica secundaria inducida por formalina al 1% (Fig. 30) y en la hiperalgesia (Figura 31).

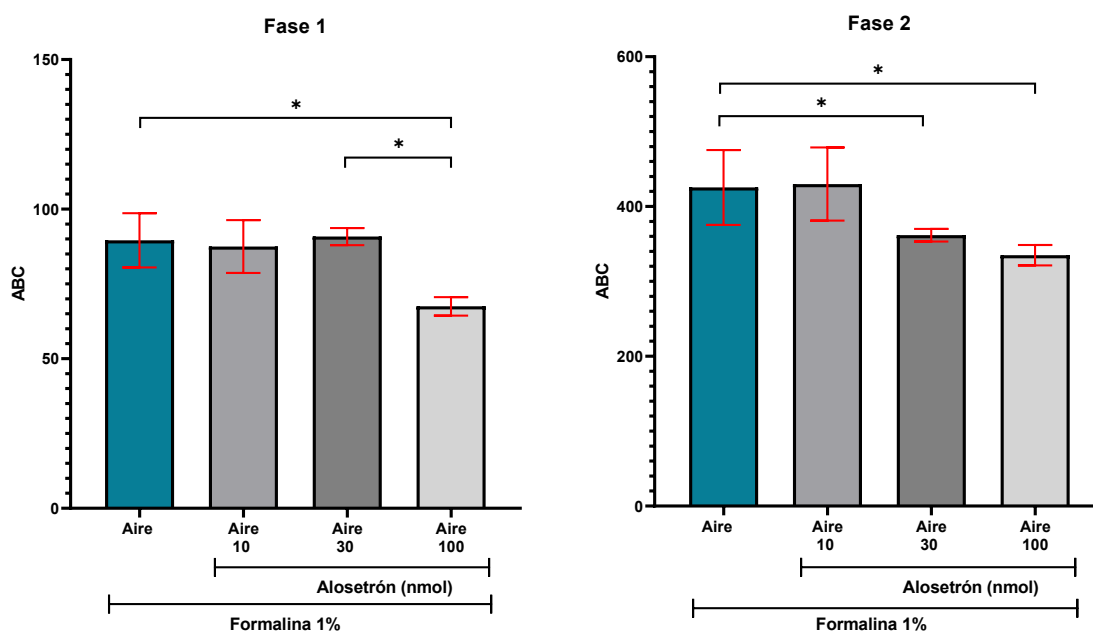


Figura 29. Efecto del antagonista del receptor 5-HT₃, alosetrón (10-100 nmol) en la nocicepción aguda inducida por formalina 1% en ratas previamente expuestas a aire. Los datos se expresan como área bajo el número de sacudidas de pata contra la curva de tiempo (ABC). Se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) en ambas fases entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol), $p<0.05$ grupo aire + 1% F vs aire + 30 nmol, $p<0.05$ grupo aire vs aire + 100 nmol, $p<0.05$ grupo aire + 30 nmol vs aire + 100 nmol, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student-Newman-Keuls.

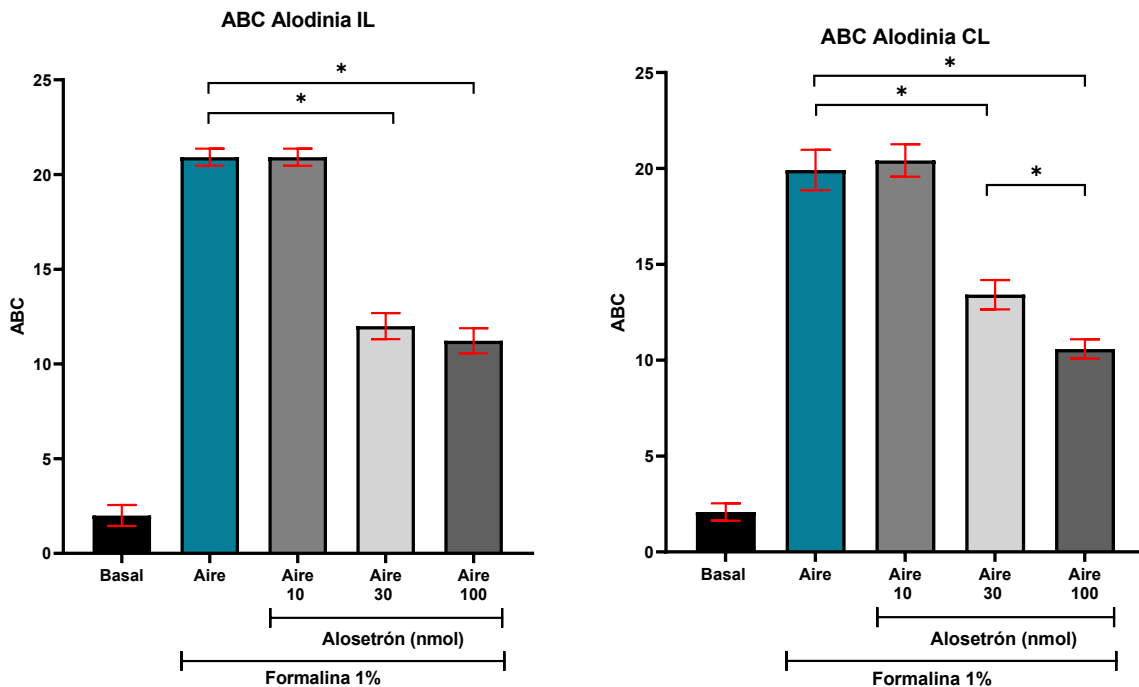


Figura 30. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas traseras de ratas previamente expuestas a aire y después de la administración de formalina 1%. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la alodinia IL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol). $p < 0.05$ grupo aire + 1%F vs aire + 30 nmol, $p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs aire + 100 nmol. En la alodinia CL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol). $p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs aire + 30 nmol, $p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs aire + 100 nmol, $p < 0.05$ aire + 30 nmol vs aire + 100 nmol, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls.

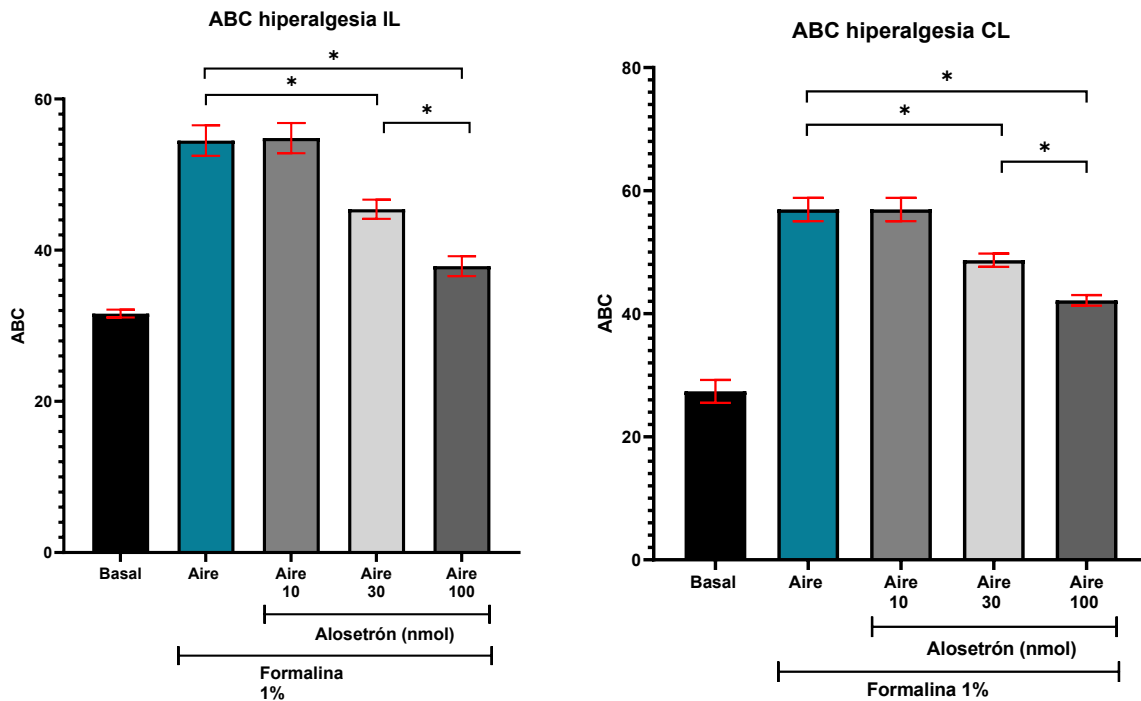


Figura 31. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (250 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire y después de la administración de formalina 1%. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la hiperalgesia IL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol), $p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs aire + 30 nmol, $p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs aire + 100 nmol, $p < 0.05$ grupo aire + 30 nmol vs aire + 100 nmol. En la hiperalgesia CL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las diferentes concentraciones administradas de alosetrón (10, 30 y 100 nmol). $p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs aire + 30 nmol, $p < 0.05$ grupo aire + 1% F vs aire + 100 nmol, $p < 0.05$ grupo aire + 30 nmol vs aire + 100 nmol, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls

10.4. Efecto del agonista de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃, m-CPBG sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas Wistar expuestas a xileno y a benceno de manera aguda.

Para evaluar más a fondo la participación de los receptores 5-HT₃ en el efecto pronociceptivo del xileno y del benceno en la nocicepción inducida por formalina, se utilizó el agonista altamente selectivo del receptor 5-HT₃, m-CPGB (Kilpatrick et al., 1990; Bravo-Hernández et al., 2012; Cervantes-Durán et al., 2017), el cual debido a sus propiedades fisicoquímicas se disolvió en solución salina (NaCl 0.9%). Para descartar que el vehículo pudiera tener algún efecto sobre la nocicepción, se realizaron grupos control expuestos a aire, a xileno y a benceno (resultados previamente mostrados en figura 21). En la dosis probada (300 mmol/pata), el pretratamiento periférico local de m-CPBG (-40 min) en ratas expuestas a xileno no aumentó la nocicepción ($p > 0.05$) aguda en ninguna de las dos fases. Sin embargo, sí hubo un aumento de la nocicepción aguda en ausencia de xileno (Figura 32).

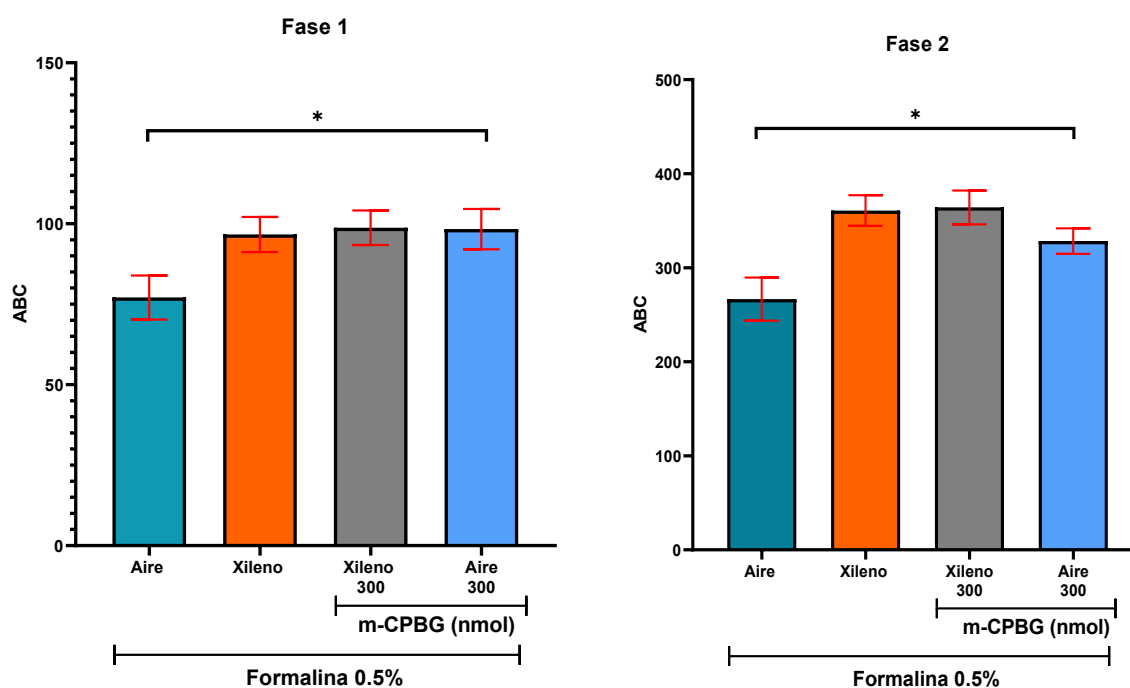


Figura 32. Efecto del agonista del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol) en la nocicepción aguda inducida por formalina 1% en ratas previamente expuestas a aire o a xileno (6000 ppm). Los datos se expresan como área bajo el número de sacudidas de pata contra la curva de tiempo (ABC). No se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre los grupos xileno vs xileno + 300 nmol m-CPBG, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student-Newman-Keuls.

El m-CPBG (300 nmol) tampoco aumentó el efecto pronociceptivo en la alodinia mecánica secundaria ipsilateral ni contralateral (Figura 33) inducida por formalina al 0.5%, ni en la hiperalgesia ipsilateral ni contralateral (Figura 34) en ratas previamente expuestas a xileno (6,000 ppm). Sin embargo, se observó un aumento en la alodinia e hiperalgesia en ausencia del xileno.

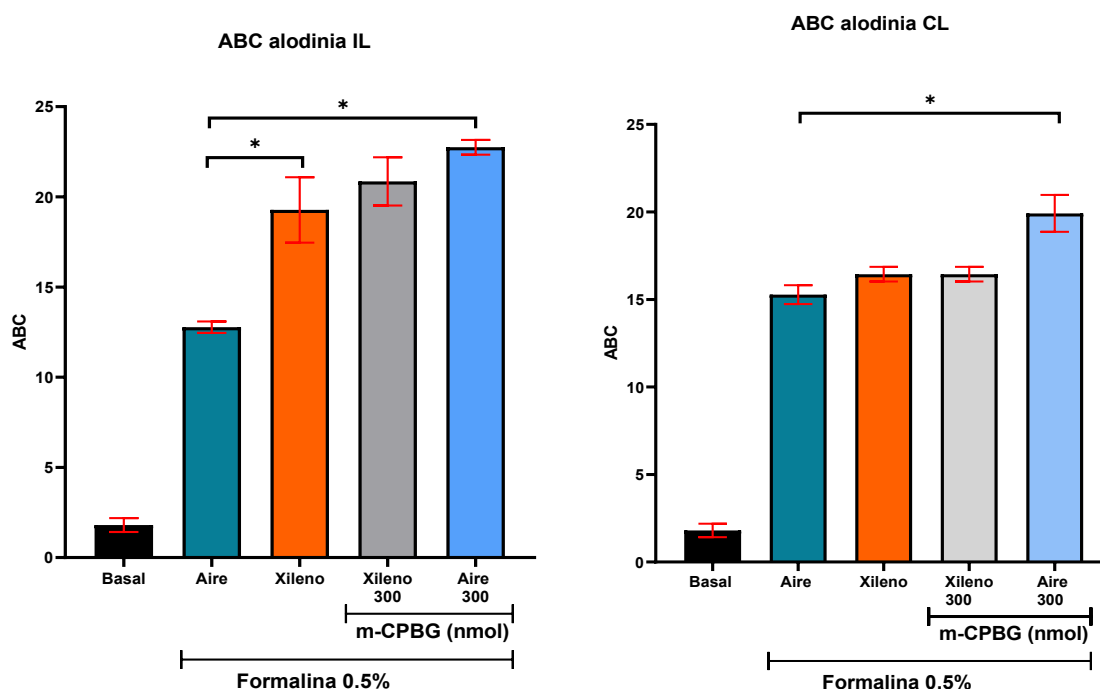


Figura 33. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire o a xileno y después de la administración de formalina 0.5%. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la alodinia IL no se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre grupo xileno vs xileno + 300 nmol. En la alodinia CL tampoco se observó una diferencia estadísticamente significativa. ($p > 0.05$) entre grupo xileno vs xileno + 300 nmol, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls.

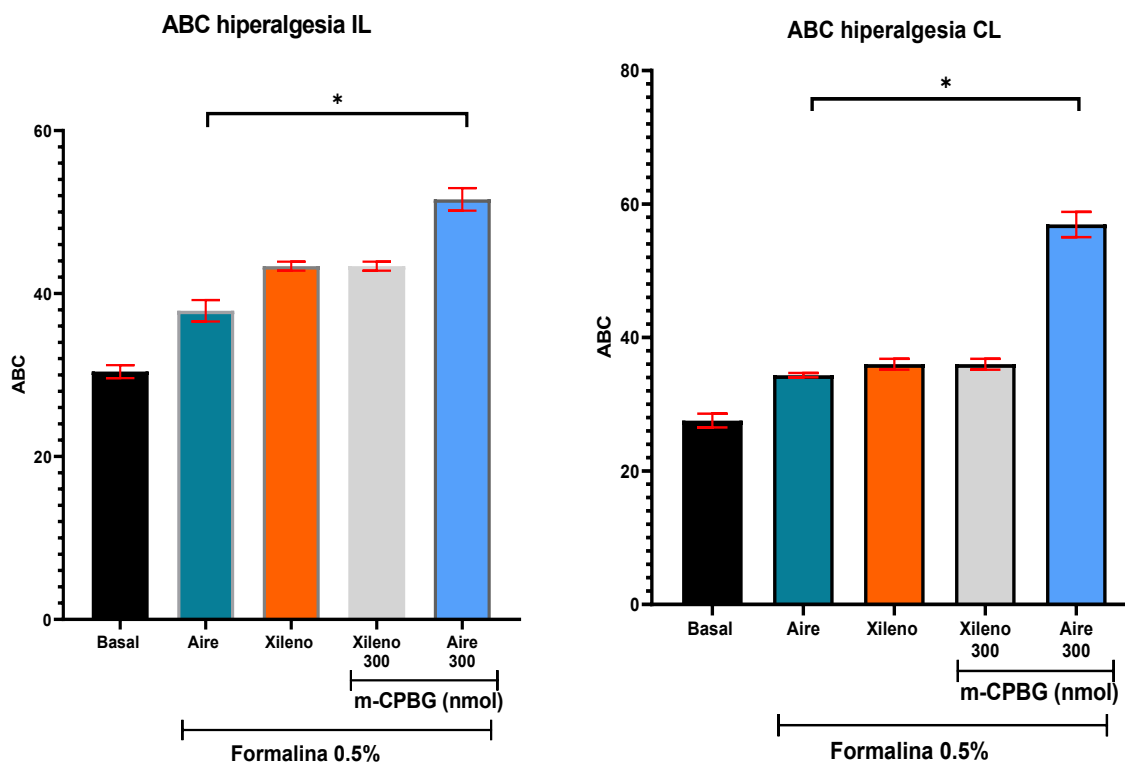


Figura 34. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (250 mN) en la superficie plantar de las patas de ratas previamente expuestas a aire o a xileno y después de la administración de formalina 0.5%. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la hiperalgesia IL no se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre grupo xileno vs xileno + 300 nmol. En la hiperalgesia CL tampoco se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre grupo xileno vs xileno + 300 nmol, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls.

El pretratamiento local periférico ipsilateral (-40 min) con m-CPBG (300 nmol/pata) aumentó ($p < 0.05$) el efecto pronociceptivo del benceno (8,000 ppm) en ambas fases de la prueba de formalina al 0.5% (Figura 35).

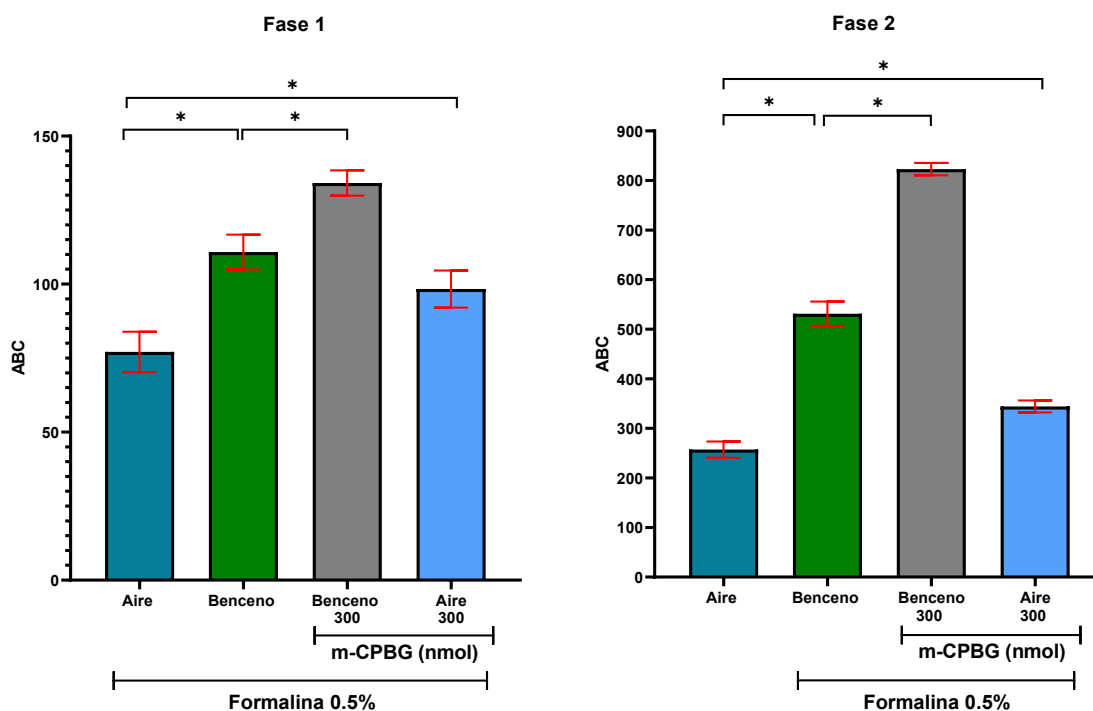


Figura 35. Efecto del agonista del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol) en la nocicepción aguda inducida por formalina 0.5% en ratas previamente expuestas a aire o a benceno (8000 ppm). Los datos se expresan como área bajo el número de sacudidas de pata contra la curva de tiempo (ABC). Se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en ambas fases entre los grupos benceno vs benceno + m-CPBG, $p < 0.05$ grupo aire + 0.5% F vs aire + m-CPBG, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student-Newman-Keuls.

El m-CPBG (300 nmol) también aumentó el efecto pronociceptivo en la alodinia mecánica secundaria ipsilateral y contralateral inducida por formalina al 0.5% (Figura 36), así como también en la hiperalgesia ipsilateral y contralateral (Figura 37) en ratas previamente expuestas a benceno (8,000 ppm).

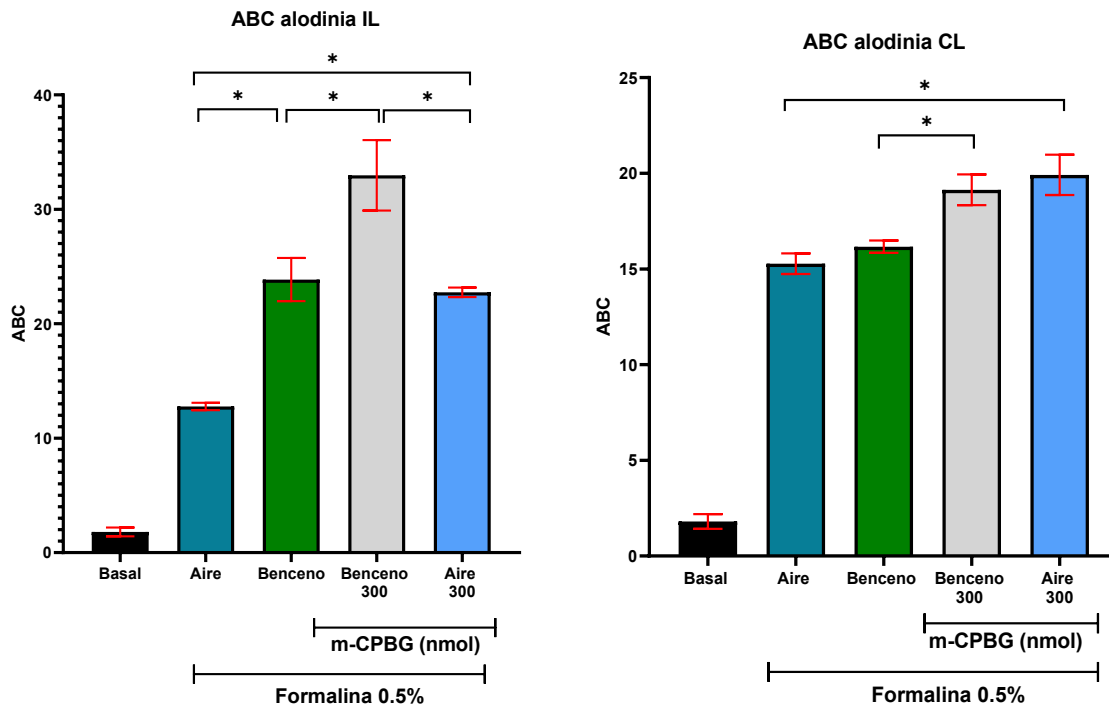


Figura 36. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas traseras de ratas previamente expuestas a aire o a benceno y después de la administración de formalina 0.5 %. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la alodinia IL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre grupo benceno + 0.5% F vs benceno + m-CPBG, $p < 0.05$ grupo aire + 0.5% F vs aire + m-CPBG. En la alodinia CL se observó una diferencia estadísticamente significativa, ($p < 0.05$) grupo benceno + 0.5% F vs benceno + m-CPBG, $p < 0.05$ grupo aire + 0.5% F vs aire + m-CPBG, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student-Newman-Keuls.

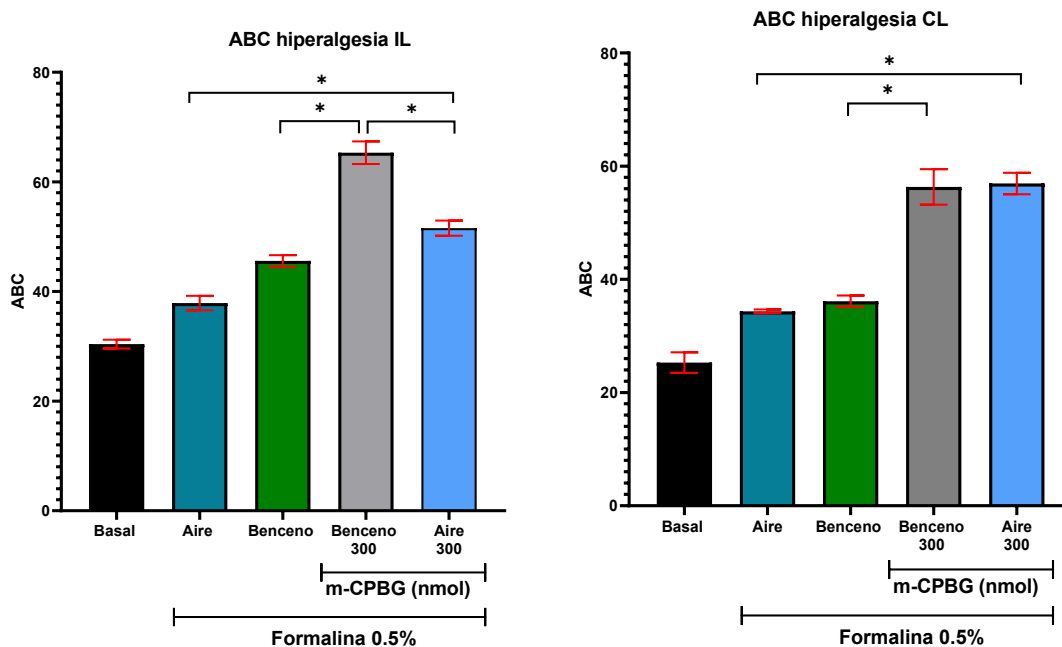


Figura 37. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (250 mN) en la superficie plantar de las patas traseras de ratas previamente expuestas a aire o a benceno y después de la administración de formalina 0.5 %. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la hiperalgesia IL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre grupo benceno + 0.5% F vs benceno + m-CPBG, $p < 0.05$ grupo aire + 0.5% F vs aire + m-CPBG. En la alodinia CL se observó una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$ grupo benceno + 0.5% F vs benceno + m-CPBG, $p < 0.05$ grupo aire + 0.5% F vs aire + m-CPBG, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student-Newman-Keuls.

10.5. Efecto de la administración periférica del antagonista de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃, alosetrón sobre el efecto pronociceptivo del agonista de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃, m-CPBG, en la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas Wistar expuestas a benceno de manera aguda.

Los efectos pronociceptivos del agonista altamente selectivo del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol/pata) en ratas expuestas a benceno (8,000 ppm) fueron bloqueados completamente por el pretratamiento local periférico ipsilateral (-40 min) con alosetrón (10 nmol/pata) (Cervantes-Duran et al., 2017), ya que redujo ($p < 0.05$) el efecto pronociceptivo del benceno en ambas fases de la prueba de formalina al 0.5% (Fig. 38).

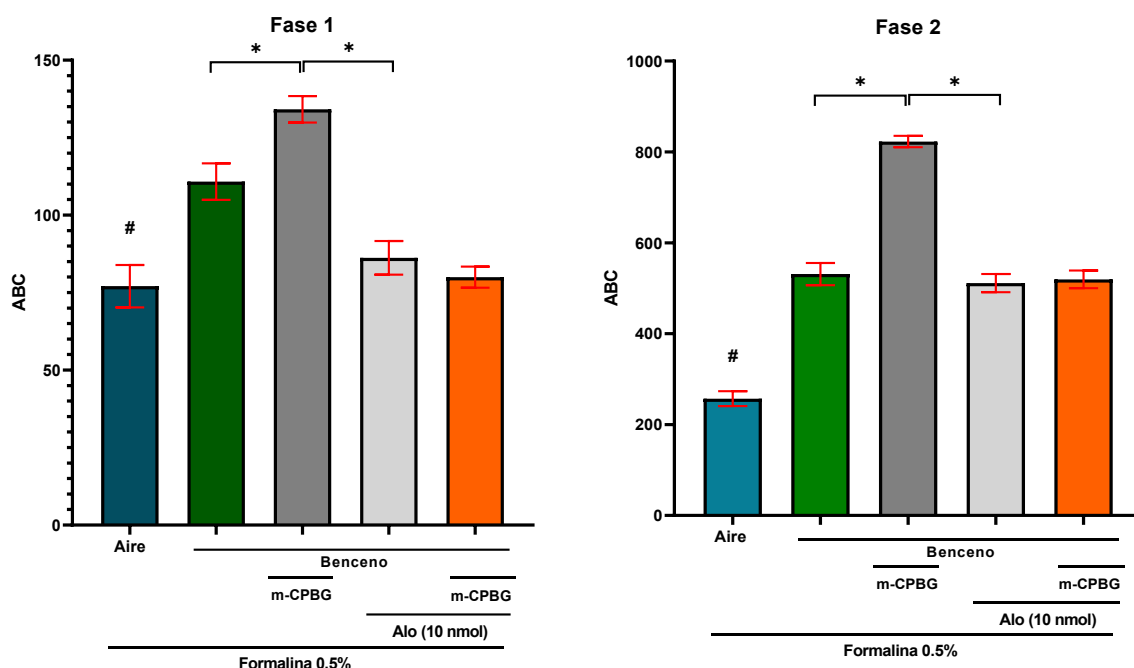


Figura 38. Efecto del antagonista del receptor 5-HT₃, alosetrón (Alo, 10 nmol) y del agonista del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol) en el efecto pronociceptivo del benceno sobre la nocicepción aguda inducida por formalina al 0.5%, en ratas expuestas previamente a benceno (8000 ppm). Los datos se expresan como área bajo la curva de número de sacudidas de pata en función del tiempo (ABC). Se observó una diferencia estadísticamente significativa #($p < 0.05$) para grupo Aire vs grupos expuestos a Benceno, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student-Newman-Keuls.

El alosetrón (10 nmol) también fue capaz de bloquear el efecto pronociceptivo del agonista altamente selectivo del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol/pata) en la alodinia mecánica secundaria ipsilateral y contralateral (Figura 39) y en la hiperalgesia ipsilateral y contralateral (Figura 40) inducidas por formalina al 0.5% en ratas previamente expuestas a benceno (8,000 ppm).

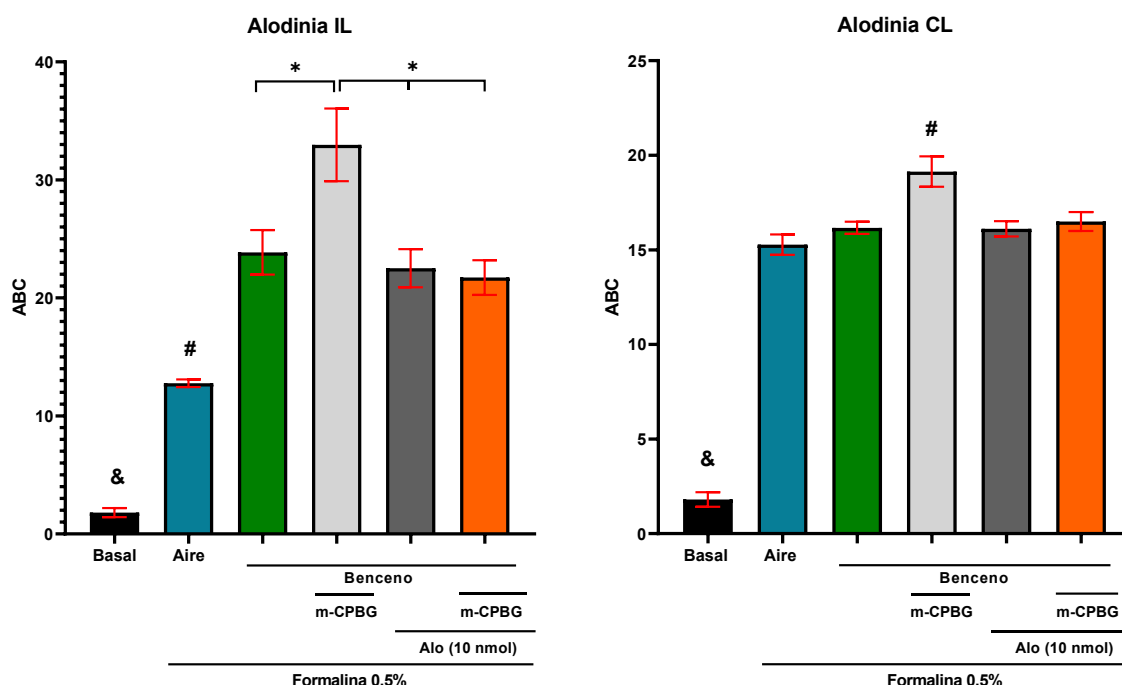


Figura 39. Efecto del pretratamiento periférico (–10 min) con el antagonista selectivo de los receptores 5-HT₃, alosetrón sobre los efectos pronociceptivos del agonista de los receptores 5-HT₃, m-CPBG en la alodinia secundaria de larga duración inducida por formalina al 0.5% en ratas. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (10 mN) en la superficie plantar de las patas traseras de ratas previamente expuestas a aire o a benceno y después de la administración de formalina 0.5%. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la alodinia IL se observó una diferencia estadísticamente significativa (* $p < 0.05$) entre grupo benceno + 0.5% F vs grupo benceno + m-CPBG, (* $p < 0.05$) entre grupo benceno + 0.5% F vs grupos benceno + Alo + m-CPBG, (* $p < 0.05$) entre grupo benceno + m-CPBG + 0.5% F vs grupo benceno + Alo, * $p < 0.05$ entre grupo benceno + m-CPBG + 0.5% F vs grupo benceno + m-CPBG + Alo, # $p < 0.05$ grupo aire + 0.5% F vs grupos expuestos a benceno, & $p < 0.05$ grupo basal vs grupos con formalina al 0.5%. En la alodinia CL se observó una diferencia estadísticamente significativa, # $p < 0.05$ grupo benceno vs benceno + m-CPBG + Alo, & $p < 0.05$ grupo basal vs grupos con 0.5% F, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student-Newman-Keuls.

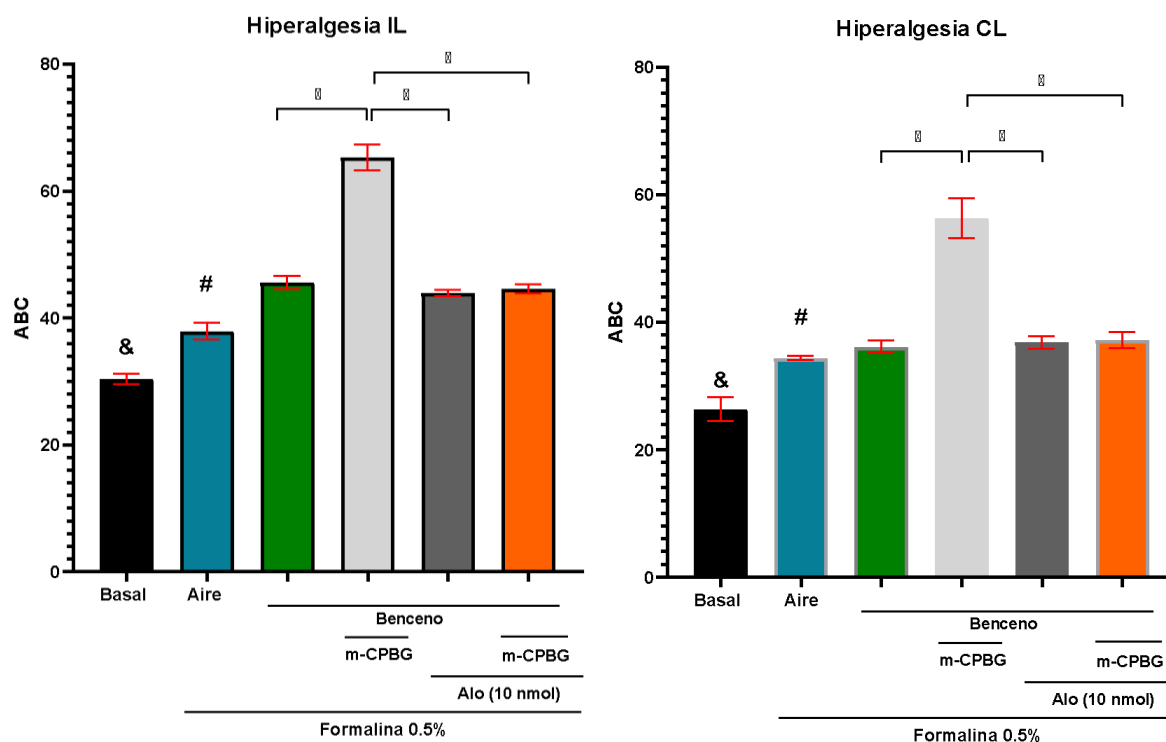


Figura 40. Efecto del pretratamiento periférico (–10 min) con el antagonista selectivo de los receptores 5-HT₃, alosetrón sobre los efectos pronociceptivos del agonista de los receptores 5-HT₃, m-CPBG en la hiperalgesia secundaria de larga duración inducida por formalina al 0.5% en ratas. Las gráficas de barras representan el área bajo la curva del número de retiros de pata contra la curva de tiempo (ABC 0-12 días) después de la aplicación de los filamentos de von Frey (250 mN) en la superficie plantar de las patas traseras de ratas previamente expuestas a aire o a benceno y después de la administración de formalina 0.5%. Los resultados se muestran como la media $\pm$ error estándar de 6 animales por grupo. En la hiperalgesia IL se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre grupo benceno + m-CPBG + 0.5% F vs grupo benceno + Alo, # $p < 0.05$ para grupo aire + 0.5% F vs grupos expuestos a benceno, & $p < 0.05$ para grupo basal vs grupos con formalina al 0.5%. En la hiperalgesia CL se observó una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$ grupo benceno + m-CPBG + 0.5% F vs benceno + m-CPBG + Alo, # $p < 0.05$ para grupo aire + 0.5% F vs benceno + m-CPBG + 0.5% F, & $p < 0.05$ para grupo basal vs grupos con 0.5% F, por ANOVA de una vía seguido por la prueba de Student- Newman- Keuls.

11. Discusión

11.1. La exposición aguda a xileno y a benceno aumenta los comportamientos nociceptivos en la prueba de la formalina.

La exposición aguda a xileno (6000 ppm) y a benceno (8000 ppm) aumenta la nocicepción aguda en ambas fases de la prueba de formalina (durante 1 h) y en la alodinia mecánica y la hiperalgesia de larga duración (durante 12 días). Hasta donde sabemos, éste es el primer estudio sobre los efectos pronociceptivos del xileno y del benceno en la hipersensibilidad aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas. Sin embargo, hay estudios que han demostrado que otros disolventes, como el tolueno (un disolvente de abuso con estructura química similar al xileno y al benceno), tiene efectos pronociceptivos, aumentando la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina (Cervantes-Durán et al., 2017).

Nuestros resultados concuerdan con observaciones previas que demostraron que la exposición a tolueno (500-8000 ppm) durante 30 minutos induce una hiperalgesia térmica dependiente de la dosis en ratones sometidos a la prueba de la plancha caliente (nocicepción aguda), el cual es un modelo diferente de medir la nocicepción al empleado en este estudio (López-Ruvalcaba et al., 2000; Cruz et al., 2001). De igual manera, en el mismo modelo de la plancha caliente se expusieron ratones a diferentes disolventes: tolueno, benceno, 1,1,1-tricloroetano, fluorotil y éter dietílico, y se observó que el tolueno y el tricloroetano produjeron un aumento en la nocicepción de manera dependiente de la concentración, lo cual se observó como una disminución en la latencia para presentar la primera lamida de pata y el benceno no presentó ningún efecto (Páez-Martínez et al., 2003).

Por el contrario, nuestros resultados no concuerdan con los que demuestran que el m-xileno y el benceno producen antinocicepción en ratas adolescentes macho en la prueba de umbral de choque y en la prueba de la plancha caliente (Armenta-Reséndiz et al., 2019). En comparación con nuestro estudio, nosotros utilizamos ratas hembra de la cepa Wistar, las cuales se expusieron de manera individual a xileno (6000 ppm) y a benceno (8000 ppm), de manera aguda, y después fueron evaluadas en el modelo de la formalina los 12 días posteriores, donde se observó que los animales expuestos a ambos disolventes presentaron un mayor número de sacudidas de pata en la nocicepción aguda y en la hiperalgesia y alodinia de larga duración, las cuales se tradujeron de manera gráfica a unidades de área bajo la curva, y este efecto se vio más pronunciado en las ratas expuestas a xileno y a benceno comparadas con el grupo control;

diferimos con Armenta-Reséndiz et al (2019) en el modelo de dolor que se usó pero coincidimos en utilizar concentraciones similares para benceno y para xileno (4000- 8000 ppm para ambos).

En cuanto a la nocicepción aguda, la alodinia y la hiperalgesia, la inyección subcutánea de 50 μ L de formalina al 0.5% y al 1% en la región dorsal de la pata posterior derecha de las ratas hembra produjo una conducta pronociceptiva bifásica reflejada como sacudidas de patas dependientes de la concentración de formalina (Dubbuissou y Dennis, 1977; Wheeler-Aceto y Cowan, 1991; Tjølsen et al., 1992; Rocha-González et al., 2005; Castañeda-Corral et al., 2009) y del disolvente al que fueron expuestas previamente. En este estudio se obtuvieron resultados similares a otros hallazgos de nuestro laboratorio (Cervantes-Durán et al., 2017), los cuales confirmaron que la exposición aguda a tolueno (6000 ppm) y la aplicación de la prueba de la formalina al 1% en modelos de roedores con inflamación producen el desarrollo de mecanismos que mantienen la alodinia y la hiperalgesia secundarias. Las respuestas al dolor alteradas, como la alodinia y la hiperalgesia, a los estímulos mecánicos y térmicos, son comunes después de una lesión tisular (Raja et al., 1984; LaMotte et al., 1991) y pueden desarrollarse en el área lesionada (respuestas primarias), así como en áreas adyacentes (respuestas secundarias). La prueba de formalina se considera un modelo de dolor inflamatorio agudo que produce dos fases de comportamiento nociceptivo (Wheeler-Aceto y Cowan, 1991; Tjølsen et al., 1992, Bravo-Hernández et al., 2012). Sin embargo, cada vez hay más evidencia que sugiere que la formalina también produce hiperalgesia mecánica y térmica secundaria a largo plazo, así como alodinia secundaria en ambas patas (Wiertelak et al., 1994; Fu et al., 2001; Vierck et al., 2008; Ambriz-Tututi et al., 2011). Ambriz-Tututi et al. (2009) demostraron que la formalina al 1% no sólo produce hiperalgesia, sino también alodinia mecánica secundaria en ambas patas. Estos datos fueron reproducidos por Ambriz-Tututi et al. (2011) y Godínez-Chaparro et al. (2011), quienes también obtuvieron evidencia de que la formalina al 0.5% induce hiperalgesia y alodinia secundarias en ambas patas desde el día 1 hasta el día 12. Cervantes-Duran et al. (2017) no sólo observaron el efecto nociceptivo de la formalina a diferentes concentraciones (0.5% y 1%), sino que también observaron el aumento de la respuesta nociceptiva de roedores previamente expuestos a disolventes de abuso, como el tolueno, en la hiperalgesia y la alodinia secundarias en ambas patas, lo cual concuerda con nuestros resultados, donde la administración de formalina al 0.5% y 1% en ratas previamente expuestas a disolventes de abuso, xileno (6000 ppm) y benceno (8000 ppm), de manera aguda produjeron un aumento en la respuesta nociceptiva en la hiperalgesia y en la alodinia secundarias en la pata derecha, pero no en la izquierda, desde el día 1 hasta al menos el día 12, lo que confirma la evidencia de que el aumento

de estas conductas nociceptivas agudas y de largo plazo son producidas por la exposición aguda a xileno y a benceno.

Algunos autores han reportado que el ciclo estral puede tener influencia sobre la conducta nociceptiva en algunos modelos de dolor (Gaumond et al., 2002; Vierck et al., 2008; Fillingim et al., 2009). Datos obtenidos por Bravo-Hernández et al. (2012) demuestran que la hiperalgesia y la alodinia secundarias inducidas por la formalina al 1% es similar, tanto en hembras como en machos. De manera similar, no se encontraron diferencias en la conducta nociceptiva de aumento en las sacudidas de pata en un modelo automatizado de formalina (Yaksh et al., 2001). Para descartar que el sexo sea una variable que pudiera alterar el efecto pronociceptivo del xileno y del benceno sobre la nocicepción aguda, la hiperalgesia y la alodinia secundarias, se realizó un control de ratas Wistar macho (180 - 230 g), a las cuales se les expuso a xileno (6000 ppm) o a benceno (8000 ppm) de manera aguda y después se les administró formalina al 1%, nuestros resultados demostraron que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre hembras y machos en el efecto del xileno y del benceno sobre la nocicepción.

En conjunto, nuestros datos indican que el xileno y el benceno son capaces de inducir efectos pronociceptivos en roedores que atraviesan por un proceso inflamatorio. Los mecanismos de acción del xileno y del benceno no están claros, y parece ser que actúan a diferentes niveles de la respuesta nociceptiva. Sin embargo, las similitudes en los efectos conductuales de los inhalables y otros depresores del SNC sugieren la posibilidad de que estos compuestos puedan compartir los mismos mecanismos de acción. Dichos mecanismos se han establecido con base en estudios electrofisiológicos realizados en canales iónicos activados por ligandos, en particular los GABA_A, glicina y NMDA (Cruz et al., 1998; Beckstead et al., 2000; Cruz et al., 2000). En este sentido, también se ha demostrado que los inhalables afectan el funcionamiento del receptor ionotrópico activado por serotonina 5-HT₃ (Lopreato et al., 2003). Debido a que estos receptores se localizan en las vías relacionadas con el dolor (Watslab, 2021), se sugiere que el efecto pronociceptivo del xileno y del benceno pudiera deberse a su influencia sobre estas proteínas membranales.

11.2. El efecto pronociceptivo del benceno en la nocicepción inducida por formalina depende en los receptores 5-HT₃.

11.2.1. El efecto del antagonista altamente selectivo de los receptores serotoérgicos 5-HT₃, alosetrón, sobre la nocicepción inducida por formalina en ratas expuestas a xileno y a benceno.

La evidencia de la participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ en el efecto pronociceptivo del benceno proviene de que el bloqueo dependiente de la dosis producido por el pretratamiento local periférico ipsilateral (-40 mins) con alosetrón (10-100 nmol/pata), antagonista altamente selectivo de los receptores 5-HT₃ (Hirata et al., 2007; Butt et al., 2024), redujo de manera dependiente de la dosis el efecto pronociceptivo del benceno (8000 ppm), pero no del xileno (6000 ppm), en ambas patas en las dos fases de la formalina al 1%.

Hay evidencia considerable de que los receptores 5-HT₃ están involucrados tanto en el proceso del dolor agudo como crónico. Kayser et al., 2007 utilizaron de manera local el granicetrón (antagonista de los receptores 5-HT₃), el cual redujo la conducta nociceptiva en la fase 2 de la prueba de la formalina en ratones *wild type*. En otro estudio, el pretratamiento periférico local con ondansetrón (300 nmol) 10 minutos antes de la formalina al 1% fue capaz de disminuir la respuesta nociceptiva en ambas fases de la prueba de la formalina, así como también fue capaz de prevenir el desarrollo de hiperalgesia y alodinia secundarias en ambas patas (Bravo-Hernández, 2012). Asimismo, hay evidencia de la participación de los receptores 5-HT₃ en el proceso nociceptivo a nivel periférico (Moalem et al., 2005; Lang et al., 2006; Bravo-Hernández et al., 2012) y a nivel espinal (Suzuki et al., 2004; Bravo-Hernández et al., 2012; Guo et al., 2014;). Además, estudios en ratones KO han confirmado la participación de los receptores 5-HT₃ en la nocicepción (Zeitz et al., 2002). Debido a esto, se sugirió la participación de los receptores 5-HT₃ en el efecto pronociceptivo del benceno y del xileno.

Existen estudios que demuestran que el benceno, m-xileno, etilbenceno, propilbenceno y 1,1,1-tricloroetano son afines a canales iónicos, como lo son los NMDA e inhiben de manera reversible este tipo de receptores expresados en ovocitos de *Xenopus* (Cruz et al., 2000). Sin embargo, no hay estudios relacionados a la participación de los receptores 5-HT₃ en el efecto pronociceptivo del xileno ni del benceno. Por otra parte, estudios han demostrado que el tolueno aumenta la actividad de receptores 5-HT₃ expresados en ovocitos de *Xenopus laevis* (Lopreato et al., 2003). Este estudio *in vivo* es el primero en probar la participación de los receptores 5-HT₃ en el efecto pronociceptivo del benceno en la hipersensibilidad aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas Wistar.

Hallazgos previos de nuestro laboratorio demostraron que la administración de alosetrón (10-100 nmol) en la pata trasera derecha de ratas Wistar, disminuyó de manera dependiente de la dosis el efecto pronociceptivo en ambas fases de la prueba de la formalina al 1% en ratas previamente expuestas a tolueno. Además, en este mismo estudio el alosetrón redujo de manera dependiente de la dosis el efecto pronociceptivo del tolueno en la hiperalgesia y en la alodinia secundarias inducida por formalina al 1% en ambas patas (Cervantes-Durán et al., 2017). Nuestros resultados concuerdan con el hecho de que se observó el mismo patrón que se expresa como la disminución del efecto pronociceptivo del benceno, el cual fue de manera dependiente de la dosis (alosestron 10-100 nmol), en ambas fases de la prueba de la formalina al 1% en ratas pretratadas con el antagonista serotoninérgico. Asimismo, el alosetrón fue capaz de reducir el efecto del benceno en la hiperalgesia y en la alodinia secundarias. Sin embargo, en el caso del xileno no se observó una disminución de su efecto pronociceptivo en ratas, en ninguna de las dosis probadas con alosetrón. De esta manera, nuestros resultados concuerdan con el hecho de que el alosetrón es capaz de disminuir los efectos pronociceptivos del benceno en la nocicepción aguda y en la hiperalgesia y la alodinia secundarias, de la misma manera en la que el alosetrón disminuyó los efectos pronociceptivos del tolueno (Cervantes-Durán et al., 2017).

El alosetrón a la dosis más alta probada (100 nmol), también fue capaz de reducir los efectos nociceptivos de la formalina en la ausencia del benceno. Cabe destacar que, a la concentración más baja utilizada (10 nmol/pata), el alosetrón no modificó las conductas nociceptivas inducidas por formalina.

A pesar de que no se observó un efecto significativo con el pretratamiento de alosetrón en ratas expuestas a xileno, procedimos a utilizar el agonista altamente selectivo de los receptores 5-HT₃, m-clorofenilbiguanida (m-CPBG) para confirmar o descartar la interacción de estos receptores en el efecto pronociceptivo del xileno y del benceno.

11.2.2. El efecto del agonista altamente selectivo de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃, m-CPBG, sobre la nocicepción inducida por formalina en ratas expuestas a xileno y a benceno.

Para evaluar más a fondo la participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ en el efecto pronociceptivo del xileno y del benceno sobre la nocicepción en ratas, utilizamos el agonista altamente selectivo de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃, m-CPBG (m-clorofenilbiguanida) (Kilpatrick et al., 1990; Bravo-Hernández et al., 2012; Cervantes-Durán et al., 2017), el cual, de acuerdo con estudios previos, se demostró que incrementa la conducta pronociceptiva en ambas fases de la prueba de la formalina (Doak y Sawynok, 1997; Bravo-Hernández et al., 2012) y que este efecto se debe al incremento de la excitabilidad de las fibras C en el nervio sural de la rata, tanto en el tejido normal como después del daño al nervio, debido a la inyección de formalina (Moalem et al., 2005).

Estudios previos utilizaron m-CPBG como agonista de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ y demostraron que la dosis a la que se alcanzó la máxima eficacia fue de 300 nmol y aumentó el comportamiento pronociceptivo en ambas fases de la prueba de la formalina al 0.5% (Bravo-Hernández et al., 2012). Asimismo, en un estudio previo de nuestro laboratorio en el que se llevó a cabo el mismo pretratamiento periférico local (-40 min) con m-CPBG (300 mmol/pata), aumentó ($p < 0.05$) el efecto pronociceptivo del tolueno en ambas fases de la prueba de formalina al 0.5 % (Cervantes-Durán, 2017). Todos estos hallazgos concuerdan con nuestros resultados, donde se observó que el pretratamiento con 300 nmol de m-CPBG (-40 min) incrementa el comportamiento nociceptivo en ambas fases de la prueba de la formalina al 0.5% en ratas expuestas a aire (control), así como en las ratas que fueron expuestas a benceno, pero no se observó este mismo efecto en ratas expuestas al xileno. Nuestros resultados difieren de los de otro estudio donde se demostró la participación de los receptores 5-HT₃ en ratones *knock out*, los cuales presentaron una reducción significativa en el comportamiento nociceptivo, en la fase II de la prueba de la formalina, después de la lesión tisular (Kayser et al., 2007).

No obstante, nuestros resultados sugieren que no sólo la activación de los receptores 5-HT₃ periféricos participan en la sensibilización periférica, sino que también están implicados en el desarrollo de la hiperalgesia y la alodinia secundarias después de la lesión del tejido. El m-CPBG también aumentó ($p < 0.05$) el efecto pronociceptivo del benceno, pero no del xileno, en la alodinia mecánica y la hiperalgesia secundarias. El pretratamiento con m-CPBG incrementó de manera significativa la hiperalgesia y la alodinia secundarias en la pata en la que se administró la formalina (pata derecha), así como en la pata izquierda. Estos datos en conjunto concuerdan con lo que observaron Cervantes-Durán et al (2017), ya que sus hallazgos

mostraron que hubo un incremento en el comportamiento nociceptivo en la hiperalgesia y la alodinia secundarias en ambas patas, de hecho, observaron una mayor respuesta nociceptiva en la pata izquierda (contralateralización) y esto se debe a que la formalina tiene la capacidad de inducir hiperalgesia y alodinia secundarias en ambas patas (Wiertelak et al., 1994; Wu et al., 2004; Sasaki et al., 2006; Godínez-Chaparro et al., 2011, Bravo-Hernández et al., 2012). Esta contralateralización aumentada se debe al efecto de la formalina, el cual fue potenciado después de exponer a los animales a tolueno (Cervantes-Durán et al., 2017). En nuestros resultados no se observó una contralateralización aumentada, el aumento de la respuesta nociceptiva se observó en la pata en la que se administró la formalina (pata derecha) a los animales expuestos a benceno.

La participación de los receptores serotoninérgicos en el efecto pronociceptivo del xileno no está completamente descartada, ya que en este estudio utilizamos el reactivo de la marca Fermont (Monterrey, Nuevo León, México), el cual es una mezcla de los 3 isómeros del xileno (o-xileno, m-xileno y p-xileno). La proporción en la que está presente cada isómero en el reactivo es desconocida. La evidencia que existe sobre la participación del xileno sobre canales iónicos fue observada por Cruz y colaboradores (2000), donde demostraron que el benceno, m-xileno, etilbenceno, propilbenceno y 1,1,1-tricloroetano son afines a canales iónicos, como lo son los NMDA e inhiben de manera reversible este tipo de receptores expresados en ovocitos de *Xenopus*.

En 2004, Raines y colaboradores estudiaron algunos derivados del benceno como antagonistas de los receptores NMDA, hicieron mediciones electrofisiológicas en ovocitos de *Xenopus* y encontraron una correlación positiva entre la eficacia de estos compuestos para inhibir los receptores NMDA y su habilidad de establecer interacción entre la nube de electrones π en el anillo del benceno y las cargas electroestáticas catiónicas en los receptores NMDA (Raines et al., 2004). Debido a esto es razonable suponer que el anillo de benceno es crítico para una amplia variedad de efectos farmacológicos asociados con la exposición a disolventes (Armenta-Reséndiz et al., 2019).

Estas diferencias en conjunto abren un panorama en el que a pesar de ser disolventes de abuso que pertenecen a la misma familia y que tienen propiedades fisicoquímicas similares, pueden llegar tener efectos diferentes, así como también mecanismos de acción distintos. Para estudios posteriores se podría probar cada uno de los isómeros del xileno de manera individual para poder observar cuál de los isómeros tiene mayor afinidad por los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ o si alguno de estos isómeros participa con otros receptores.

11.2.3. El efecto del antagonista alosetrón y del agonista altamente selectivo de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃, m-CPBG, sobre la nocicepción inducida por formalina en ratas expuestas a xileno y a benceno.

Los efectos pronociceptivos agudos del agonista selectivo del receptor 5-HT₃, m-CPBG (300 nmol/pata) en ratas expuestas a 8000 ppm de benceno fueron completamente bloqueados por el pretratamiento periférico ipsilateral con alosetrón (10 nmol/pata). Es importante resaltar que esta dosis utilizada del antagonista (10 nmol/pata) *per se* no modifica la nocicepción aguda, así como tampoco modifica la hiperalgesia ni la alodinia secundarias en ratas expuestas a benceno.

Este experimento se llevó a cabo con la finalidad de aportar mayor evidencia que indicara que el efecto del agonista y del antagonista, observado en los experimentos realizados, está mediado específicamente por los receptores serotoninérgicos 5-HT₃.

El hecho de que el alosetrón, aunque fue administrado a una dosis *per se* inefectiva, fue capaz de unirse a los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ y bloquearlos y que observamos cómo no sólo bloqueó el efecto pronociceptivo inducido por el m-CPBG, lo cual sugiere que los receptores 5-HT₃ son los responsables de las conductas nociceptivas observadas, sino que también previno en cierto grado la hiperalgesia y la alodinia secundarias que son inducidas por la administración de formalina al 0.5 %. Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos por Cervantes-Durán et al., (2017), donde la administración de alosetrón a una dosis de 10 nmol/pata fue capaz de bloquear los receptores 5-HT₃ y se observó una disminución en el efecto del tolueno sobre la nocicepción aguda inducida por formalina en ratas. De esta manera se refleja que la serotonina endógena liberada por la lesión tisular que se desencadena después de la administración de la formalina (Nakajima et al., 2009) no es capaz de activar los receptores 5-HT₃ previamente bloqueados por el alosetrón, lo que reitera que los receptores 5-HT₃ periféricos son activados ante una lesión tisular y que participan en el desarrollo de la hiperalgesia y la alodinia secundaria.

Se debe mencionar que el alosetrón se ha caracterizado desde hace varios años como un antagonista altamente selectivo de los receptores 5-HT₃ (Hirata, 2007). Estudios han observado que el alosetrón tiene una afinidad y una actividad como antagonista de estos receptores con un valor de pKi de 9.5 (en ratas) y un valor de pA₂ de 7.7 (en conejillo de indias) (Clayton et al., 1999; Camilleri, 2000; Hirata, 2007). Asimismo, el alosetrón cuenta con un mayor pKi que otros miembros de la familia de los “setrones” (antagonistas de los receptores 5-HT₃), de hecho, el alosetrón presenta un pKi mayor al ondansetrón (pKi de 8.6) (Bravo-Hernández et al., 2012).

Ya que un valor de pK_i más alto indica mayor afinidad del fármaco por el receptor (Kenakin, 1981), consideramos que el alosetrón es un antagonista altamente selectivo, haciendo nuestro reporte confiable.

Además, el alosetrón fue capaz de prevenir los efectos pronociceptivos del m-CPBG en ratas expuestas a 8000 ppm del benceno en la hiperalgesia y en la alodinia secundaria de larga duración. Esto también concuerda con Cervantes-Duran et al. (2017), donde observaron que la administración de alosetrón a una dosis de 10 nmol/pata, fue capaz de bloquear los receptores 5-HT₃ y se observó una disminución en el efecto del tolueno sobre la hiperalgesia y la alodinia secundarias inducidas por formalina en ratas.

En resumen y tomando en conjunto toda nuestra evidencia, podemos sugerir que la activación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ periféricos participan en el desarrollo de la hiperalgesia y la alodinia secundarias de largo plazo inducidas por formalina en las ratas expuestas a benceno.

12. Conclusiones

1. La exposición aguda a xileno y a benceno aumentan la nocicepción aguda inducida por formalina en ratas hembra y macho de la cepa Wistar.
2. La exposición aguda a xileno y a benceno aumentan el desarrollo de la nocicepción de larga duración, hiperalgesia y alodinia, en ratas hembra y macho de la cepa Wistar.
3. Nuestros datos sugieren que los receptores periféricos 5-HT₃ participan en el desarrollo del efecto pronociceptivo del benceno en ratas hembra de la cepa Wistar.

13. Perspectivas

Los resultados obtenidos en nuestra investigación nos dan pauta para comprender más sobre el mecanismo de acción implicado en el aumento de la respuesta nociceptiva ante la exposición a disolventes, proponiendo los siguientes puntos:

1. Realizar la exposición aguda a: o- xileno, m- xileno y p- xileno, de manera individual y observar los efectos que tiene cada uno sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas.
2. Realizar exposiciones de manera subaguda a xileno y a benceno, para obtener un panorama más amplio del mecanismo de acción de ambos disolventes sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas.
3. Realizar exposiciones de manera crónica a xileno y a benceno, para obtener un panorama más amplio del mecanismo de acción de ambos disolventes sobre la nocicepción aguda y de larga duración inducida por formalina en ratas.
4. Probar la participación de otros receptores o si otros receptores están involucrados en el efecto del xileno y del benceno sobre la nocicepción.

14. Referencias

- Adayev T, Ranasinghe B, Banerjee P (2005) Transmembrane signaling in the brain by serotonin, a key regulator of physiology and emotion. *Biosci Rep* 25:363–385. <https://doi.org/10.1007/s10540-005-2896-3>
- (ATSDR). Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (2016). Resumen de Salud Pública: Xileno (Xylene). Cdc.gov. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs71.html
- (ATSDR). Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (2016). Resumen de Salud Pública: Benceno (Benzene). Cdc.gov. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs3.html
- Ambriz-Tututi, M., L. Cruz, S., Urquiza-Marín, H., y Granados-Soto, V. (2011). Formalin-induced long-term secondary allodynia and hyperalgesia are maintained by descending facilitation. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 98, 417–424.
- Arco, J. de. (2015). Curso básico sobre dolor. Tema 1. fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico| Farmacia profesional. Farmacia comunitaria. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-X0213932415727485>
- Armenta-Reséndiz, M., Ríos-Leal, E., Rivera-García, M. T., López-Rubalcava, C., y Cruz, S. L. (2019). Structure-activity study of acute neurobehavioral effects of cyclohexane, benzene, m-xylene, and toluene in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 376, 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.05.016>
- Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., y Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139(2), 267–84
- Beckstead, M.J., Weiner, J.L., Eger, E.I., Gong, D.H., y Mihic, S.J. (2000). Glycine and gamma-aminobutyric acid (A) receptor function is enhanced by inhaled drugs of abuse. *Mol Pharmacol*. pp 1199. PMID: 10825391
- Bowen, S. E., Charlesworth, J. D., Tokarz, M. E., Wright, M. J., y Wiley, A. (2007). Decreased sensitivity in adolescent vs. adult rats to the locomotor activating effects of toluene. *Neurotoxicology and Teratology*, 29, 599–606.
- Campbell, A.D. y McBride, W.J. (1995). *Pharmacol Biochem Behav.* 51, 835.
- Castañeda-Corral, G., Rocha-González, H.I., Araiza-Saldaña, C.I., Ambriz-Tututi, M., Vidal-Cantú, G.C., y Granados-Soto, V., (2009). Role of peripheral and spinal 5-HT₆ receptors according to the rat formalin test. *Neuroscience* 162, 444–452.
- Cervantes-Durán, C., Ortega-Varela, L. F., Godínez-Hernández, D., Granados-Soto, V., y Gauthereau-Torres, M. Y. (2017). Toluene exposure enhances acute and chronic formalin-induced nociception in rats: Participation of 5-HT₃ receptors. *NeuroToxicology*, 63, 97–105. doi:10.1016/j.neuro.2017.09.010.
- Cervero, F. (2014). Pathophysiology of visceral pain. *Rev Dor São Paulo*, 15(2):133-8.

Cervero, F., y Laird, J. M. (1996). From acute to chronic pain: mechanisms and hypotheses. *Progress in Brain Research*, 110, 4–10.

Clayton NM, Sargent R, Butler A, Gale J, Maxwell MP, Hunt AAE, et al. The pharmacological properties of the novel selective 5-HT₃ receptor agonist, alosetron, and its effects on normal and perturbed small intestinal transit in the fasted rat. *Neurogastroenterol Motil.* 1999;11:207–217.

Camilleri (2000). Pharmacology and clinical experience with alosetron. *Exp Opin Invest Drugs.* 9:147–159

Cruciani, R.A. y Nieto M. J. (2006). Fisiopatología y tratamiento del dolor neuropático: avances más recientes. *REv. Soc. Esp. Dolor.* 5:312-327.

Cruz, S.L., Balster, R.L., Woodward, J.J. (2000). Effects of volatile solvents on recombinant N-methyl- D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Br J Pharmacol.* 131, 1303.

Cruz S.L., y Bowen S.E. (2021). The last two decades on preclinical and clinical research on inhalant effects. *Neurotoxicology and Teratology*, 87:1-19.

Cruz, S. L., Gauthereau, M. Y., Camacho-Muñoz, C., López-Rubalcava, C., y Balster, R. L. (2003). Effects of inhaled toluene and 1,1,1-trichloroethane on seizures and death produced by N-methyl-d-aspartic acid in mice. *Behavioural Brain Research*, 140(1-2), 195–202.

Cruz, S. L., Soberanes-Chávez, P., Páez-Martínez, N., y López-Rubalcava, C. (2009). Toluene has antidepressant-like actions in two animal models used for the screening of antidepressant drugs. *Psychopharmacology*, 204(2), 279–286.

Covarrubias-Gómez A y Guevara-López U. ¿Qué son las clínicas del dolor?. *Revista Digital Universitaria* [En línea]. 2006; 7: 2-7. [Disponible en Internet: www.revista.unam.mx]. Fecha de consulta: 05 de noviembre 2023.

Dubuisson, D., y Dennis, S. (1977). The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 4, 161–174.

Evans, E.B. y Balster, R.L. (1991). CNS depressant effects of volatile organic solvents *Neurosci Biobehav Rev.* 15, 233.

Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (2017). Reporte de Drogas. México. Recuperado 14 de julio 2023 de: https://drive.google.com/file/d/1zIPBiYB3625GBGIW5BX0TT_YQN73eWhR/view?pli=1

Encuesta Nacional de Adicciones (ENA). (2011). Encuesta nacional de adicciones 2011. Recuperado 12 de junio, 2023, de <https://www.gob.mx/salud/conadic/documentos/encuesta-nacional-de-adicciones-2011-ena-2011>.

Encuesta Nacional de Consumo de Drogas en Estudiantes (ENCODE). (2014). Recuperado 15 de junio, 2023 de [gob.mx. https://www.gob.mx/salud/conadic/documentos/encuesta-nacional-de-consumo-de-drogas-en-estudiantes-2014-encode](https://www.gob.mx/salud/conadic/documentos/encuesta-nacional-de-consumo-de-drogas-en-estudiantes-2014-encode)

Estudio Básico de Comunidad Objetivo (EBCO). (2018). Recuperado 14 de junio, 2023 <http://www.cij.gob.mx/ebco2018-2024/9894/9894CSD.html>

Filip M, Bader M (2009) Overview on 5-HT receptors and their role in physiology and pathology of the central nervous system. *Pharmacol Rep* 61:761–777. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(09\)70132-x](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(09)70132-x)

Fink K y Göthert M. (2007) 5-HT receptor regulation of neurotransmitter release. *Pharmacological Reviews* 59:360-417.

Fishbein L. (1985) An overview of environmental and toxicological aspects of aromatic hydrocarbons III. Xylene. *Sci. total Environ.* 43:165–183.

Fu, K.-Y., Light, A. R., & Maixner, W. (2001). Long-Lasting Inflammation and Long-Term Hyperalgesia After Subcutaneous Formalin Injection Into the Rat Hindpaw. *The Journal of Pain*, 2(1), 2–11.

Greenstein G, Polson A. (1998) The role of local drug delivery in the management of periodontal diseases: a comprehensive review. *J Periodontol*, 69(5): 507-520.

Grundy, L. et al. (2019) Visceral Pain. *Annu Rev Physiol*, 81: 11.1-11.24.

Godínez-Chaparro, B., Barragán-Iglesias, P., Castañeda-Corral, G., Rocha-González, H.I., Granados-Soto, V., (2011). Role of peripheral 5-HT₄, 5-HT₆, and 5-HT₇ receptors in development and maintenance of secondary mechanical allodynia and hyperalgesia. *Pain* 152, 687–697.

Hawley, GG (1981) *The Condensed Chemical Dictionary*, 10^a ed., Nueva York, Van Nostrand Reinhold págs 150

He Y y Kim PY. (2022) Allodynia. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–. PMID: 30725814.

Hillard, JH (1980) Gas natural. En: Mark, HF, Othmer, DF, Overberger, CG, Seaborg, GT y Grayson, M., eds, *Enciclopedia Kirk-Othmer de tecnología química*, 3.^a ed., vol. 11, Nueva York John Wiley & Sons, págs. 630–652.

IARC (1989) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol 47; 125-156. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

IASP (2021). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain. *Pain*, 00(00), 1-7.

Jänig W. (2014) Neurobiologie viszeraler Schmerzen [Neurobiology of visceral pain]. *Schmerz*;28(3):233-51.

Kenakin, T. P. (1981). *A pharmacological method to estimate the pK_i of competitive inhibitors of agonist uptake processes in isolated tissues*. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 316(2), 89–95. doi:10.1007/bf00505300

10.1007/bf00505300

Kim S, Vermeulen R, Waidyanatha S et al. (2006). Modeling human metabolism of benzene following occupational and environmental exposures. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 15: 2246–2252. doi:10.1158/1055-9965.EPI-06-0262 PMID:17119053

Korte, F., & Boedefeld, E. (1978). Ecotoxicological review of global impact of petroleum industry and its products. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2(1), 55–103. [https://doi.org/10.1016/s0147-6513\(78\)80028-1](https://doi.org/10.1016/s0147-6513(78)80028-1)

Kosek E, Cohen M, Baron R, et al. (2016) ¿Necesitamos un tercer descriptor mecanicista para los estados de dolor crónico? *Dolor*;157: 1382e6

Kosek E, Cohen M, Baron R, et al. (2017) Responder. *Dolor*;158:180.

Leem, J. W., Willis, W. D., & Chung, J. M. (1993). Cutaneous sensory receptors in the rat foot. *Journal of Neurophysiology*, 69(5), 1684–1699.

Locher C, Koechlin H, Zion SR, Werner C, Pine DS, Kirsch I, Kessler RC, Kossowsky J (2017) Efficacy and safety of selective serotonin reuptake inhibitors, serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors, and placebo for common psychiatric disorders among children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Psychiatry* 74:1011–1020. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2017.2432>

Lopreato, GF, Phelan, R., Borghese, CM, Beckstead, MJ y Mihic, SJ (2003). Las drogas de abuso inhaladas mejoran la función del receptor de serotonina-3. Dependencia de drogas y alcohol, 70(1), 11–15. doi:10.1016/s0376-8716(02)00330-7

Loeser, J. D., Treede, R. D. (2008). The Kyoto protocol of IASP basic pain terminology. *Pain*, 137(3), 473– 477. Merskey

Marjot, R., McLeod, A. A. (1989). Chronic non-neurological toxicity from volatile substance abuse. *Human Toxicology*, 8, 301–306.

Mirkin D.B. (2007) Chapter 94 - Benzene and Related Aromatic Hydrocarbons, Haddad and Winchester's Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose (Fourth Edition), W.B. Saunders, pp 1363-1376, ISBN 9780721606934, <https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-0693-4.50099-2>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780721606934500992>)

Nacional Institute on Drug Abuse (NIDA). (2022). ¿Cómo se utilizan los inhalantes?. Recuperado de: <https://nida.nih.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/abuso-de-inhalantes/como-se-utilizan-los-inhalantes> en 2023, August 2.

National Center for Biotechnology Information (NCBI) (2023). PubChem Compound Summary for CID 241, Benzene. recuperado septiembre 9, 2023 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benzene>.

National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). (2019). Xylene. Recuperado Septiembre 9, 2023 <https://www.cdc.gov/niosh/topics/xylene/default.html>

Nordlinder R. & Ramnäs O. (1987). Exposure to benzene at different work places in Sweden. *Ann Occup Hyg*, 31: 345–355. doi:10.1093/annhyg/31.3.345 PMID:3426034

National Toxicology Program (NTP). (2005). Benzene NTP 11th Report on Carcinogens. *Rep Carcinog*, 11: 1–A32. PMID:19826456

Nedelcheva V., Gut I., Soucek P. et al. (1999). Metabolism of benzene in human liver microsomes: individual variations in relation to CYP2E1 expression. *Arch Toxicol*, 73: 33–40. doi:10.1007/s002040050583 PMID:10207612

Nelson, G.A., (1971). *Controlled Test Atmospheres*. University of California Press, pp.247.

Portenoy, Russell K.; Brennan, Michael J. In Good, David C.; Couch, James R. (1994) *Handbook of Neurorehabilitation*. Informa Healthcare; 247-822.

Pourhamzeh, M., Moravej, F. G., Arabi, M., Shahriari, E., Mehrabi, S., Ward, R., Joghataei, M. T. (2021). The Roles of Serotonin in Neuropsychiatric Disorders. *Cellular and Molecular Neurobiology*. doi:10.1007/s10571-021-01064-9

Puebla, F. (2006). Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S.: dolor iatrogénico. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352005000300006

Raines, D.E., Gioia, F., Claycomb, R.J., Stevens, R.J., 2004. The N-methyl-D-aspartate receptor inhibitory potencies of aromatic inhaled drugs of abuse: evidence for modulation by cation- π interactions. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 311, 14–21. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.069930>.

Raja SN, Carr DB, Cohen M, Finnerup NB, Flor H, Gibson S, et al (1976-1982). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain. *Pain*. 2020; 161(9).

Ransley, D.L. (1984) Xylenes and ethylbenzene. In: Mark, H.F. Othmer, D.F., Overberger, C.G., Seaborg, G.T. & Grayson, M., eds, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd ed Vol. 24, New York, John Wiley & Sons, pp. 709–744.

Rappaport SM, Kim S, Lan Q et al. (2009). Evidence that humans metabolize benzene via two pathways. *Environ*

Rodríguez Palma, E. J., & Granados Soto, V. (2020). La percepción del dolor. *Milenaria, Ciencia Y Arte*, (16), 16–18. Recuperado a partir de <https://www.milenaria.umich.mx/ojs/index.php/milenaria/article/view/136>

Sasaki, M., Obata, H., Kawahara, K., Saito, S., y Goto, F. (2006). Peripheal 5-HT_{2A} receptor antagonism attenuates primary thermal hyperalgesia and secondary mechanical allodynia after thermal injury in rats. *PAIN*, 122(1-2), 130-136. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2006.01.021>

Sittig, M. (1985) *Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens*, 2nd ed., Park Ridge, NJ, Noyes, pp. 931–933.

Sheets PL, Yost GS, Carlson GP (2004). Benzene metabolism in human lung cell lines BEAS-2B and A549 and cells overexpressing CYP2F1. *J Biochem Mol Toxicol*, 18: 92–99. doi:10.1002/jbt.20010 PMID:15122651

Smith, W., y Harrap, S. B. (2016). Behavioural and cardiovascular responses of rats to euthanasia using carbon dioxide gas pp. 379-346 <http://Dx.Doi.Org/10.1258/002367797780596130> 31(4)

Streicher HZ, Gabow PA, Moss AH, et al, (1981) Syndromes of toluene sniffing in adults. *Ann Intern Med* 1981;94:758–762.

Superintendencia de Riesgos del Trabajo (SRT). (2019). Benceno. guía de actuación y diagnóstico de enfermedades profesionales. Recuperado 6 de septiembre de 2023, de https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/14.3_benceno_0.pdf

Suzuki, R., Rahman, W., Hunt, S.P., Dickenson, A.H., (2004). Descending facilitatory control of mechanically evoked responses is enhanced in deep dorsal horn neurones following peripheral nerve injury. *Brain Res.* 1019, 68–76

Thompson, A. J., & Lummis, S. C. (2006). 5-HT₃ receptors. *Current pharmaceutical design*, 12(28), 3615–3630. <https://doi.org/10.2174/138161206778522029>

Tracey, I., Mantyh, P. W. (2007). The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron*, 55(3), 377–391.

United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). (2023). Informe Mundial sobre las Drogas 2023 de UNODC. Recuperado el 12 de junio, 2023, de: https://www.unodc.org/mexicoandcentralamerica/es/webstories/2020/2021_06_24_informe-mundial-sobre-las-drogas-2021-de-unodc_-los-efectos-de-la-pandemia-aumentan-los-riesgos-de-las-drogas--mientras-la-juventud-subestima-los-peligros-del-cannabis.html.

Valentine JL, Lee SS, Seaton MJ et al. (1996). Reduction of benzene metabolism and toxicity in mice that lack CYP2E1 expression. *Toxicol Appl Pharmacol*, 141: 205–213. PMID:8917693

Villatoro, J. A., Cruz, S. L., Ortiz, A., & Medina-Mora, M. E. (2011). Volatile substance misuse in Mexico: correlates and trends. *Substance use & misuse*, 46 Suppl 1, 40–45.

Walstab, J., Rappold, G., & Niesler, B. (2010). 5-HT₃ receptors: role in disease and target of drugs. *Pharmacology & therapeutics*, 128(1), 146–169. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.07.001>

Wheeler-Aceto, H., Porreca, F., Cowan, A., (1990). The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. *Pain* 40, 229–238

Woolf, C.J. (2011). Sensibilización central: implicaciones para el diagnóstico y tratamiento del dolor. 152 (3 suplementos): T2-S15.

Woolf, C.J. (2010). What is this thing called pain?. *Journal of clinical investigation*. 120(11), 3742-3744. <https://doi.org/10.1172/JCI45178>.

Woolf, C. J., & Ma, Q. (2007). Nociceptors--noxious stimulus detectors. *Neuron*, 55(3), 353–364.

Jutta Walstab, Gudrun Rappold, Beate Niesler, (2010) 5-HT₃ receptors: Role in disease and target of drugs, *Pharmacology & Therapeutics*, Volume 128, Issue 1, pp 146-169, ISSN 0163-7258, <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.07.001>.

Zeitz K, Guy N, Malmberg A, Dirajlal S, Martin W, Sun L, Bonhaus D, Stucky C, Julius D y Basbaum A. (2002) The 5-HT₃ subtype of serotonin receptor contributes to nociceptive processing via a novel subset of myelinated and unmyelinated nociceptors. *Neuroscience* 22:1010-1019,.

Zimmermann M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 16(2), 109–110.

Diego Alejandro Simón Nieto

Participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ en el efecto del xileno y del benceno sobre la

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

tm:oid::3117:469658663

Fecha de entrega

25 jun 2025, 8:00 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

25 jun 2025, 8:06 a.m. GMT-6

Nombre de archivo

Participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT₃ en el efecto del xileno y del benceno sobre la...pdf

Tamaño de archivo

1.4 MB

95 Páginas

28.401 Palabras

143.873 Caracteres

40% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Fuentes principales

- 40%  Fuentes de Internet
- 16%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión



Caracteres reemplazados

18 caracteres sospechosos en N.º de páginas

Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitan distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Maestría en ciencias de la salud.	
Título del trabajo	"Participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT ₃ en el efecto del xileno y del benceno sobre la nocicepción"	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Diego Alejandro Simón Nieto	1234982A@umich.mx
Director	Marcia Yvette Gauthereau Torres	marcia.gauthereau@umich.mx
Codirector	Luis Fernando Ortega Varela	luis.ortega@umich.mx
Coordinador del programa	Annel Europa Vázquez Chávez	mae.ciencias.salud@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	No	

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	No	
Traducción a otra lengua	No	
Revisión y corrección de estilo	No	
Análisis de datos	No	
Búsqueda y organización de información	No	
Formateo de las referencias bibliográficas	No	
Generación de contenido multimedia	No	
Otro	No	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Diego Alejandro Simón Nieto
Lugar y fecha	Morelia, Michoacán a 24 de junio de 2025.