

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

ESCUELA NACIONAL DE MEDICINA Y
HOMEOPATÍA

SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN

EVALUACIÓN DEL EFECTO
ANTINOCICEPTIVO Y
MECANISMO DE ACCIÓN DEL
ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO
(DHA) EN UN MODELO
MURINO DE DOLOR
NEUROPÁTICO

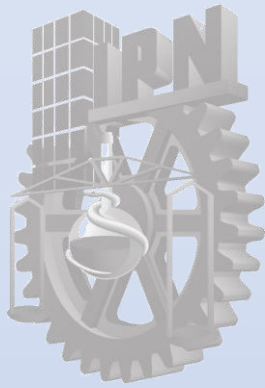
TESIS

PRESENTA:

Landa Juárez Arizai Yolia



Ciudad de México, diciembre del 2018



Directora de Tesis:

**Dra. en C. Aracely Evangelina Chávez
Piña**

Comité tutorial:

Dra. en C. Cynthia Ordaz Pichardo

Dr. en C. Juan Santiago Salas Benito

Dra. en C. Marina Galicia Moreno

Dra. en C. Francisca Pérez Severiano

ÍNDICE GENERAL

	Índice de figuras	I
	Índice de tablas	II
	Índice de gráficas	
	Índice de abreviaturas	
	Resumen	II
2	Abstract	1
	INTRODUCCIÓN	
	1.1 Diabetes mellitus y neuropatía diabética (NPD)	1
	1.2 Fisiopatología general de la NPD	2
	1.3 Dolor, nocicepción y nociceptores	3
	1.4 Dolor neuropático, definición y sintomatología	6
	1.5 Abordaje terapéutico de la NPD	10
	1.6 El estrés oxidativo como mecanismo participativo de la NPD	11
	1.6.1 La lipoperoxidación como mecanismo participativo de la NPD	12
	1.6.2 Enzimas participantes del estrés oxidativo y la NPD	13
	1.6.3 El óxido nítrico (ON) y su participación en la NPD	15
	1.7 Papel del FCN- β en la NPD	16
	1.8 Participación del TNF- α en la NPD	17
	1.9 Receptores opioides y péptidos opioides endógenos	19
	1.10 Ácido docosahexaenoico (DHA)	25
	1.10.1 Estructura del DHA	25
	1.10.2 El DHA y receptores para los ácidos grasos libres	27
	1.10.3 Efectos benéficos del DHA y vías de señalización	30
	1.11 Modelos experimentales para el estudio de la neuropatía	33
	1.11.2 Modelos experimentales de la inducción de la DM	34
2	ANTECEDENTES	36
3	JUSTIFICACIÓN	42
4	HIPÓTESIS	43
5	OBJETIVOS	44
	5.1 Objetivo general	44
	5.2 Objetivos particulares	44
6	MATERIALES Y METODOLOGÍA	45
	6.1 Animales de experimentación	45
	6.2 Reactivos	45
	6.3 Equipo	47
7	ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	48
	7.1 Estrategia experimental general	48
	7.2 Grupos de estudio	49
	7.3 Inducción de la DM con estreptozotocina	49
	7.4 Curso temporal de la realización de los experimentos	50

	7.5	Selección de tiempo de administración del DHA y gabapentina	50
	7.6	Proceso de evaluación del efecto antihiperalgésico con el modelo de la formalina	51
	7.7	Proceso de evaluación del efecto antihiperalgésico térmico con el modelo de Hargreaves	53
	7.8	Proceso de evaluación del efecto antialodínico con la prueba de filamentos de von Frey	55
	7.9	Proceso de evaluación de la participación del sistema opioide con el modelo de la formalina	58
	7.10	Mecanismo de exéresis de la médula espinal	60
	7.11	Proceso general para la preparación de la muestra	61
	7.12	Determinación de especies reactivas del oxígeno (ERO) mediante diclorofluoresceína (DCF)	62
	7.13	Determinación de lipoperoxidación por fluorometría	63
	7.14	Evaluación de niveles del óxido nítrico (ON)	64
	7.15	Determinación de glutatión reducido (GSH)	65
	7.16	Proceso de evaluación de la participación del TNF- α y FCN- β	66
8		ANÁLISIS ESTADÍSTICO	68
9		RESULTADOS	69
	9.1	Glicemia capilar en ratas con DM	69
	9.2	Peso corporal en ratas con DM	70
	9.3	Modelo de la formalina en ratas no diabéticas y con DM	71
	9.4	Determinación de hiperalgnesia en ratas con DM	72
	9.5	Efecto antihiperalgésico del DHA en ratas con NPD	73
	9.6	Curva intensidad-respuesta de un estímulo térmico en ratas con NPD con el modelo de Hargreaves	75
	9.7	Determinación del desarrollo de la hiperalgnesia en ratas con neuropatía diabética en el modelo de Hargreaves	76
	9.8	Efecto antihiperalgésico térmico del DHA en ratas con NPD	77
	9.9	Desarrollo de la alodinia en ratas con NPD con el modelo de von Frey	79
	9.10	Efecto antialodínico del DHA en ratas con NPD con el modelo de von Frey	80
	9.11	Efecto antioxidante de DHA en ratas con NPD	82
	9.12	Participación del sistema opioide del DHA en ratas con NPD con el modelo de la formalina	84
	9.13	Participación del DHA a través del receptor delta (δ) con el modelo de la formalina	85
	9.14	Participación del DHA a través del receptor kappa (κ) con el modelo de la formalina	86

	9.15	Participación del DHA a través del receptor μ con el modelo de la formalina	87
	9.16	Participación del TNF- α en el efecto antinociceptivo del DHA en ratas con NPD	88
	9.17	Determinación del papel del FCN- β en el efecto antinociceptivo del DHA en ratas con hiperalgesia	89
	9.18	Determinación del papel del FCN- β en el efecto antinociceptivo del DHA en ratas con alodinia	90
	9.20	Resumen de resultados	91
10		DISCUSIÓN DE RESULTADOS	92
11		CONCLUSIONES	108
12		PERSPECTIVAS	104
13		BIBLIOGRAFÍA	105
14		ANEXOS	123
15		ARTÍCULO	124

I. Abstract

EVALUACIÓN OF THE ANTINOCICEPTIVE EFFECT AND MECHANISM OF ACTION OF DOCOSAHEXAENOIC ACID (DHA) IN A MURINE MODEL OF NEUROPATHIC PAIN

Diabetic neuropathy is not an entity of the disease, but a series of diseases or injuries with a set of symptoms and signs, where the understanding of the pathophysiology is evolving. The management of neuropathic pain can be challenging and the drugs used in the treatment of neuropathic pain as neuromodulators (gabapentin or pregabalin) are limited by the presence of significant adverse effects. Docosahexaenoic acid (DHA) is a polyunsaturated fatty acid that has shown an antinociceptive effect in multiple pain models, such as inflammatory and neuropathic pain due to chronic constriction injury in rats; however, its mechanism of action is still not well understood. Reports suggest that DHA activates opioid signaling, but there is no information on this in a neuropathic pain model. As a result, the objectives of this study were (1) to determine the antihyperalgesic and antiallodynic effect of the peripheral administration of DHA, (2) to evaluate the participation of opioid receptors in the antihyperalgesic effect of DHA on neuropathic pain induced by streptozotocin and (3) evaluate the decrease in spinal cord expression of TNF- α and FCN- β with the administration of DHA. Female Wistar female rats were injected with streptozotocin (50 mg/kg, i.p.) to induce hyperglycemia. The formalin, Hargreaves and von Frey filament tests were used to evaluate the nociceptive activity. The intraplantar administration of DHA (100-1000 μ g/paw) or gabapentin (562-1778 μ g/paw) reduced the formalin-induced hyperalgesia in diabetic rats, in a dose-dependent manner. In addition, DHA (562 μ g/paw) and gabapentin (1000 μ g/paw) reduced thermal hyperalgesia and allodynia. Local peripheral administration of naloxone (non-selective opioid receptor antagonist, 100 μ g / paw), naltrindol (selective receptor antagonist, 1 μ g/paw) and CTOP (D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-Thr-NH₂, μ receptor antagonist: 20 μ g/paw) prevented formalin-induced hyperalgesia in diabetic rats, but not by NGT1 (guanidinonaltrindole, κ receptor antagonist, 1 μ g/paw). It is suggested that peripheral DHA shows an antihyperalgesic effect in neuropathic pain in the rat. In addition, the receptors δ and μ are involved in the peripheral antihyperalgesic effect of DHA in diabetic rats