



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
**FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE :  
MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON OPCIÓN TERMINAL EN PEDIATRÍA**

***“CAMBIOS EN LA PLASTICIDAD NEURONAL EN LA CORTEZA DEL  
CÍNGULO ASOCIADOS CON EL DOLOR EMOCIONAL INDUCIDO POR UN  
ESTÍMULO NOCIVO”***

PRESENTA: Paulina Aguirre Moreno Valle

DIRECTOR DISCIPLINARIO: M.E.P Alejandra Peral García

DIRECTOR METODOLÓGICO: D.C. Alberto V. Jerezano Domínguez

LECTOR: M.C. Diana del Carmen Pazos Guarneros

AGOSTO 2018

**Dedicatoria:**

A mi familia: Lupina, Gil, Liza y Dani por su amor, comprensión y su apoyo incondicional a lo largo de este tiempo. Este esfuerzo es para ustedes y llega hasta el cielo a mi abue.

## **Agradecimientos**

A Dios por todas las bendiciones que siempre me ha dado, y por ponerme a las personas indicadas en el camino para permitirme seguir adelante.

A todos los miembros del laboratorio de fisiología de la FEBUAP en especial a: Dr. Ismael, Dr. Alberto, Dra. Diana, Dr. Hortencia, Dra. Ale y Fred por su enorme conocimiento y su enseñanza que me dejan no sólo en este trabajo, si no en la vida, por su esfuerzo en ayudarme a dar lo mejor de mí.

A mis docentes por sus enseñanzas y compañeros de maestría, por que más que amigos se volvieron hermanos.  
A Emilio por todo el amor y apoyo desde el inicio hasta el final, gracias por ir conmigo de la mano siempre.

Al Bioterio Claude Bernard por su apoyo en cuanto al material biológico y cuidados animales.

Al financiamiento del trabajo de investigación proporcionado por el Laboratorio de Fisiología de la FEBUAP y la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado. (VIEP)

# 1. **INDICE**

<b>2. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>7</b>
<b>3. ANTECEDENTES GENERALES .....</b>	<b>7</b>
CONCEPTO DE DOLOR .....	7
TEORÍA MULTIDIMENSIONAL DEL DOLOR.....	8
INERVACIÓN DE LA PULPA DENTAL. ....	9
NOCICEPCIÓN EL DOLOR POR CARIES, ES UNO DE LOS TIPOS MÁS COMUNES DE DOLOR QUE SE PRODUCEN COMO HIPERALGESIA Y/O ALODINIA EN EL ÁREA OROFACIAL. UN INTENSO DOLOR DENTAL PUEDE SER CAUSADO POR LA INFLAMACIÓN DE LA PULPA, E INDUCIR ALTERACIONES EN LAS PROPIEDADES NEUROFISIOLÓGICAS DE DIFERENTES SITIOS EN EL CEREBRO YA QUE EL DOLOR NO ES SÓLO UNA RESPUESTA SENSORIAL AL DAÑO TISULAR, SINO QUE ESTÁ INTEGRADO ADEMÁS POR UN COMPONENTE EMOCIONAL. ....	10
VÍA ASCENDENTE DEL DOLOR .....	11
CORTEZA ANTERIOR DEL CÍNGULO .....	12
NEURONAS PIRAMIDALES.....	13
NEUROPLASTICIDAD.....	14
<b>4. ANTECEDENTES ESPECIFICOS.....</b>	<b>14</b>
<b>5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>16</b>
<b>6. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>7. PREGUNTA CIENTÍFICA.....</b>	<b>17</b>
<b>8. HIPÓTESIS.....</b>	<b>18</b>
HI.....	18
HO .....	18
<b>9. OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>

OBJETIVO GENERAL .....	19
OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	19
<b>10. MATERIAL Y MÉTODO .....</b>	<b>20</b>
DISEÑO DEL ESTUDIO.....	20
UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL.....	20
ESTRATEGIA DE TRABAJO.....	20
MUESTREO.....	20
<i>DEFINICIÓN DE LA UNIDAD DE POBLACIÓN .....</i>	<i>20</i>
<i>SELECCIÓN DE LA MUESTRA .....</i>	<i>21</i>
<i>CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LAS UNIDADES DE MUESTREO .....</i>	<i>21</i>
<i>CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LAS NEURONAS CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....</i>	<i>22</i>
<i>DISEÑO Y TIPO DE MUESTREO.....</i>	<i>22</i>
<i>TAMAÑO DE LA MUESTRA.....</i>	<i>22</i>
DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN .....	23
MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	24
TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS .....	24
<i>ESTÍMULO NOCIVO PULPAR.....</i>	<i>24</i>
<i>OBTENCIÓN DEL TEJIDO NERVIOSO.....</i>	<i>26</i>
<i>TINCIÓN DE GOLGI.....</i>	<i>28</i>
<i>IMPREGNACIÓN DE CEREBRO CON LA SOLUCIÓN DE GOLGI-COX .....</i>	<i>28</i>
ANÁLISIS MORFOLÓGICO.....	30
<i>ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE SHOLL .....</i>	<i>32</i>
ANÁLISIS DE DATOS.....	32
DISEÑO ESTADÍSTICO .....	33

BIOÉTICA.....	34
<b>11. RESULTADOS.....</b>	<b>35</b>
<b>12. DISCUSIÓN.....</b>	<b>41</b>
<b>13. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>46</b>
<b>14. ANEXOS.....</b>	<b>47</b>
ESTANDARIZACIÓN.....	47
ANÁLISIS DE SCHOLL.....	50
FORMATOS DE CAPTURA DE DATOS.....	51
<b>15. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>52</b>

## **2. INTRODUCCIÓN**

El dolor crónico que puede inducir la inflamación pulpar puede verse reflejada en diferentes sitios del cerebro incluida la corteza del cíngulo, que es una zona del cerebro cada vez más estudiada debido a su importancia en la percepción del dolor, así como del manejo de las emociones y respuestas ante situaciones involucradas con el miedo y la ansiedad.

Esta investigación busca generar conocimiento acerca de cómo las neuronas piramidales en la corteza del cíngulo expresan cambios morfológicos ante un estímulo doloroso constante, inducido por una inflamación pupar provocada por un lipopolisacárido, en un molar de un modelo animal (Rata Sprague Dawley).

La información sobre los cambios en la plasticidad neuronal, inducidos por lesiones periféricas, nos ayudan comprender la base neural del dolor y cómo el dolor crónico afecta no sólo la parte física, si no la parte emocional, como es el estado de ánimo y la función cognitiva en modelos animales y humanos en la Corteza Anterior del Cíngulo (CAC), junto con otras regiones del cerebro, las cuales manejan un papel importante en el componente afectivo del dolor.

## **3. ANTECEDENTES GENERALES**

### **Concepto de Dolor**

El concepto del dolor ha sido una de las más ambiciosas pretensiones del ser humano, situación que aún en nuestros días no ha quedado totalmente clara. En un primer momento se asumió un "modelo lineal" donde el dolor era un síntoma, señal de un proceso patológico y manifestación de una lesión. La intensidad del dolor, por tanto, sería proporcional a la magnitud de la lesión producida y las respuestas del individuo también tendrían que ser proporcionales a dicha lesión<sup>1</sup>.

## Teoría multidimensional del dolor

En 1968, Melzack y Casey propusieron un modelo basado en la experiencia del dolor, el cual consiste de componentes afectivos y sensoriales.<sup>2</sup> La teoría multidimensional del dolor de Melzack y Casey, es uno de los modelos teóricos del dolor más extendidos en la literatura psicológica; ésta teoría sugiere que el dolor es una experiencia compleja producida por una neuromatriz única de una red neuronal cerebral extendida, y que está integrada por los siguientes tres componentes:

**Cognitivo-evaluativo**→ Está relacionado con experiencias anteriores de dolor, creencias, expectativas, percepción de control, etc. Cuando tenemos percepción de control ante el dolor el umbral de este aumenta.

**Sensorio-discriminativo**→ Se refiere a los mecanismos anatomofisiológicos del dolor.

**Motivacional-afectivo**→ Son aquellos aspectos cualitativos de la experiencia dolorosa (sufrimiento, agrado, emociones, etc.)

Estudios posteriores, siguen confirmando esta teoría multifactorial del dolor, donde las variables de tipo afectivo y cognitivo (creencias, expectativas), contextuales y conductuales (como mantenedores de la conducta de dolor) ejercen un importante efecto en la intensidad percibida y en su mantenimiento. (Fordyce, 76; Craig, 80; McGuire, 92; Turk y Rudy, 92; Ferrer y col., 94).

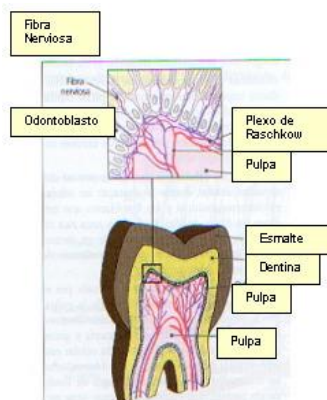
Por otro lado, hay estudios que nos indican que el dolor, principalmente el dolor crónico (el cual perdura por más tiempo aún sin la presencia de un estímulo), provoca desórdenes de tipo emocional y que la gravedad de éstos no correlaciona con el tipo de lesión (Pilowsky, 71).<sup>1</sup>

Teniendo en cuenta el aspecto multidimensional del dolor, la Asociación Internacional para el estudio del dolor (IASP, por sus siglas en inglés), lo define como: “una experiencia sensorial y emocional desagradable que se relaciona con un daño tisular real o potencial, o que se describe en términos de ese daño”.<sup>3</sup> La definición considera que el dolor puede producirse sin causa somática que lo justifique y que no sólo es una respuesta sensorial al daño tisular, sino que está integrado además por un componente emocional.

## Inervación de la pulpa dental.

La pulpa dental parece ser “insensible” ante estímulos externos en estados normales, sin embargo, en estados patológicos los estímulos térmicos, mecánicos, eléctricos y químicos logran ser captados por los nociceptores presentes en este tejido. Estos constituyen los componentes periféricos del mecanismo de dolor pulpar. El tejido pulpar es ampliamente innervado por más de 900 axones que penetran el foramen apical y que tienen su origen desde el el Ganglio Trigeminal o de Gaser.

Este tejido se caracteriza por tener una doble inervación, sensitiva y autónoma. La inervación está a cargo de fibras nerviosas también conocidas como nociceptores, tipo A (mielínicas) y C (amielínicas) que llegan a la pulpa junto con los vasos sanguíneos a través del foramen apical. Las pulpas en dientes primarios y permanentes poseen 70%–90% de fibras C; fibras mielínicas principalmente del tipo A $\delta$ , y un menor número de fibras mielínicas del tipo A $\beta$ . La mayoría de fibras nerviosas terminan en la región coronal de la pulpa, para dar origen al plexo de Raskow (Ilustración 1). Un 40% de éstas atraviesan los cuerpos de los odontoblastos (fibras A $\beta$  y A $\delta$ ) y terminan entre los odontoblastos dentro de los túbulos dentinarios.<sup>456</sup>



**Ilustración 2.** Inervación pulpar. Plexo de Raschkow. (Tomado de Gómez y Campos, 1999)

## **Nocicepción**

El dolor por caries, es uno de los tipos más comunes de dolor que se producen como hiperalgesia y/o alodinia en el área orofacial. Un intenso dolor dental puede ser causado por la inflamación de la pulpa, e inducir alteraciones en las propiedades neurofisiológicas de diferentes sitios en el cerebro ya que el dolor no es sólo una respuesta sensorial al daño tisular, sino que está integrado además por un componente emocional.<sup>7</sup>

El dolor nociceptivo ocurre como consecuencia del funcionamiento normal del sistema somatosensorial cuando se activan los nociceptores. En los tejidos lesionados se liberan múltiples sustancias; algunas de estas sustancias sensibilizan a los nociceptores, mientras que otras los activan directamente.

Los sentidos somáticos son los mecanismos nerviosos que recogen la información sensorial del cuerpo y se clasifican en tres tipos:

1. Los mecanorreceptores, que comprenden las sensaciones de tacto y de posición (propiocepción), que se estimulan por los desplazamientos mecánicos de algunos tejidos corporales.
2. Los termorreceptores, que detectan el frío y el calor.
3. Los nociceptores, que se activan por cualquier factor que lesione los tejidos.

Los nervios periféricos cutáneos contienen uno o varios tipos de axones, clasificados en tres grupos principales, dependientes de su diámetro y grado de mielinización: fibras A $\beta$ , A $\delta$  y C. Las fibras A $\beta$  tienen diámetro grande (más de 10  $\mu$ m) y están densamente mielinizadas, conducen a una velocidad de 30-70 m/seg, incluyen mecanorreceptores cutáneos que responden al tacto ligero y estiramiento de los vellos. En sujetos normales la actividad de estas fibras no produce dolor. Las fibras A $\delta$  están poco mielinizadas y tienen velocidad de conducción media (12-30 m/seg), responden a estímulos térmicos extremos (>45°C y <5°C) y mecánicos intensos (termonociceptores y mecanonociceptores). Las fibras C son amielínicas y tienen una velocidad de conducción lenta (0.5-2.0 m/seg), son nociceptores polimodales que responden a estímulos nocivos térmicos, mecánicos y químicos.

Las fibras A $\delta$  y C, son terminaciones nerviosas libres. En condiciones normales solo las fibras A $\delta$  y C transmiten la información nociceptiva (Basbaum, 2000).

### **Vía Ascendente del dolor**

Periféricamente, el nervio trigémino proporciona la entrada sensorial de la parte anterior de la cabeza, incluyendo las estructuras intraorales. Los procesos que conducen a la percepción del dolor se inician por la activación de receptores periféricos, que detectan selectivamente estímulos que son dañinos al organismo. Estos receptores periféricos (nociceptores), son dendritas de aferentes primarias cuyos somas se encuentra en el ganglio de Gasser. Los impulsos aferentes de todas las fibras sensoriales viajan desde la periferia a través del ganglio de Gasser, entran en la protuberancia y descienden en el tracto para entrar al núcleo trigeminal. Una vez que las fibras han entrado en la protuberancia, están en el SNC. El núcleo trigeminal se subdivide en tres partes: el subnucleus oralis más alto, el subnucleus interpolaris medio y el subnucleus caudalis.

La mayoría de las fibras de dolor hacen sinapsis en el subnucleus caudalis.<sup>8</sup>

El daño activa a estos nociceptores y las funciones primordiales son transducir el estímulo nocivo a despolarizaciones que disparan potenciales de acción, conducir los potenciales de acción de la periferia a la sinapsis en el sistema nervioso central y convertir a los potenciales de acción en liberación del neurotransmisor en la terminal presináptica. Estas terminales presinápticas contactan neuronas en láminas específicas del subnúcleo caudal trigeminal en el tallo cerebral donde liberan Glutamato y péptidos para activar neuronas de segundo orden, cuyos axones cruzan la línea media para formar el tracto trigémino talámico, el cual termina en varias áreas del tálamo, en donde hacen contacto con neuronas de tercer orden. Un subconjunto de estas neuronas de proyección transmite información a la corteza somatosensorial a través del tálamo, proporcionando información acerca de la **ubicación y la intensidad** del estímulo doloroso. Posteriormente, otras neuronas de proyección se acoplan al Sistema Límbico, el cual contribuye al **componente afectivo** de la experiencia del dolor, involucrando regiones que median diferentes

aspectos de la experiencia del dolor como la corteza anterior del cíngulo y la corteza insular a través de conexiones en el tronco del encéfalo (núcleo parabraquial) y la amígdala.<sup>9</sup> (Figura 1)

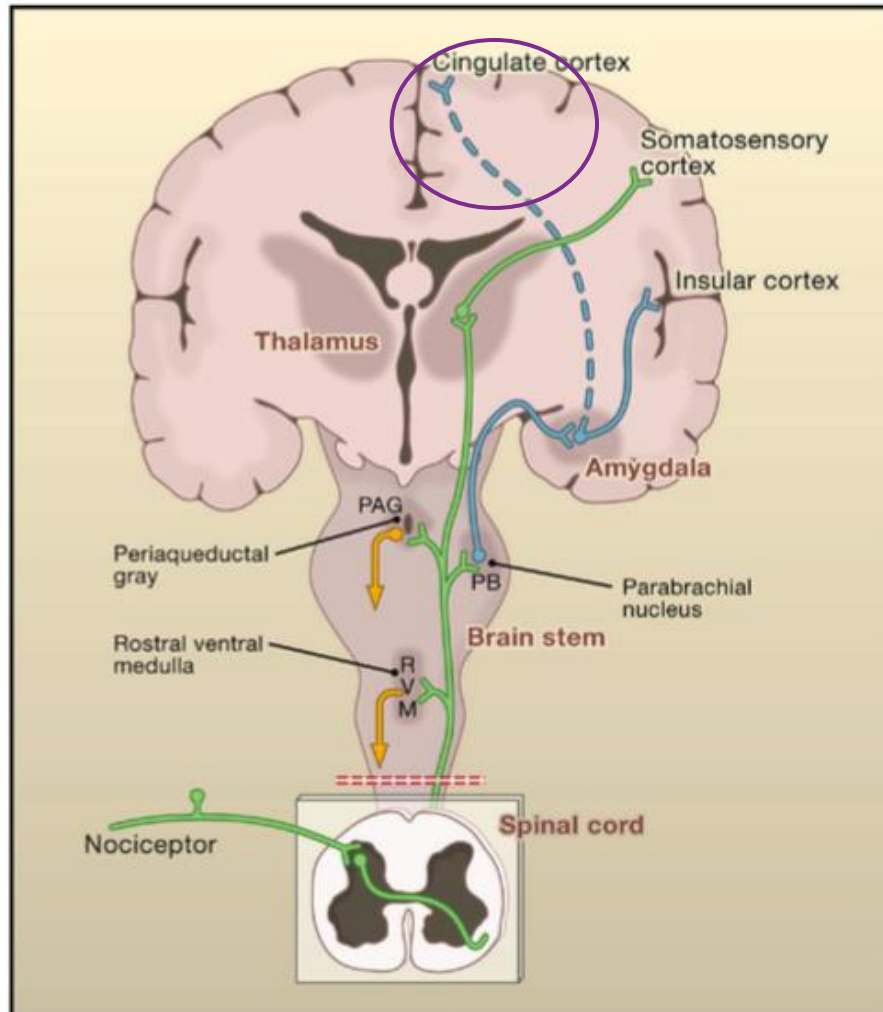


Figura 1. Anatomía de la vía del dolor. (Basbaum A. 2009)

### Corteza anterior del Cíngulo

La corteza anterior del cíngulo reside en una tira anular de tejido cerebral en el pliegue central del neocórtex que rodea los ventrículos laterales. La forma de esta región del cerebro presumiblemente inspiró a fisiólogos alemanes quienes la descubrieron para nombrarla el "cíngulo" derivado del cingulum latino, que significa cinturón, que era usado por soldados romanos para proteger su ingle. Pero al igual

que muchos grandes descubrimientos, tomó mucho tiempo para que el cíngulo atrajera a la comunidad científica conservadora.

Desde el descubrimiento de esta pequeña zona del cerebro llamada corteza del cíngulo, desde principios del siglo XIX, han progresado en su investigación. En estos últimos años, se ha encontrado que la corteza del cíngulo desempeña un papel vital en casi todas las emociones y comportamientos del humano, desde la predicción del error hasta la percepción del dolor, desde la persuasión hasta el sentimiento de optimismo.<sup>10</sup>

Estas y varias líneas de evidencia indican que la corteza anterior cíngulo (CAC) es una región cerebral crítica que es parte de la neuromatrix involucrada en el procesamiento y el recuerdo del dolor, además es un área implicada en la generación de la experiencia aversiva al dolor físico y procesos de dolor crónico <sup>11</sup>.

La corteza anterior del cíngulo (CAC) consta de capas I, II-III y V-VI tanto en roedores como en humanos; a diferencia de otras regiones corticales, el CAC carece de una capa IV. La capa I contiene interneuronas y fibras de proyección de otras regiones del SNC; algunos de estos forman conexiones con neuronas en las capas más profundas del CAC. Las capas II-III contienen predominantemente células piramidales, las capas más profundas del CAC contienen células piramidales e interneuronas y muchas de ellas envían sus proyecciones a otras áreas corticales, como la corteza insular, y a las áreas subcorticales y la médula espinal.<sup>12</sup>

### **Neuronas piramidales**

Toda la información que se genera en la periferia y tiene destino en centros superiores cerebrales es mediante comunicaciones celulares a nivel de la unidad funcional del cerebro, la neurona.

Las neuronas de la corteza cerebral se clasifican sobre la base de criterios estrictamente morfológicos, como pueden ser la forma de su cuerpo, longitud de su axón, amplitud y distribución especial del árbol dendrítico. De manera esquemática,

todas las neuronas de la corteza cerebral pueden distinguirse en dos grandes familias, la de las neuronas piramidales y la de las neuronas no piramidales.

Las neuronas piramidales constituyen alrededor de tres cuartas partes de todas las neuronas de la corteza y se localizan casi con exclusividad en los estratos II, III y V y VI. Desde el punto de vista morfológico, como característica principal su soma o cuerpo celular es en forma triangular, lo que le da el nombre a la neurona. Como función, se especializan en la recepción de un estímulo nervioso debido a la extensa dendrita apical que poseen, múltiples dendritas basales y la presencia de espinas dendríticas que representan sitios de contacto sináptico.<sup>13</sup>

La capacidad de las neuronas de funcionar dentro de los circuitos neuronales es mediada a través sitios de contacto denominados sinapsis.

### **Neuroplasticidad**

La neuroplasticidad es la potencialidad del sistema nervioso de modificarse para formar conexiones nerviosas en respuesta a la información nueva, la estimulación sensorial, el desarrollo, la disfunción o el daño.<sup>14</sup>

Hay evidencia que demuestra que las neuronas pueden cambiar para adaptarse a diversas circunstancias, no solo durante la infancia y la adolescencia, sino también durante la edad adulta e incluso en situaciones de lesión cerebral, lo que significa que el cerebro es flexible y modificable. Existe discusión sobre la autoría original del término *neuroplasticidad*, hay registros de Ernesto Lugaro, en el año 1906, como autor del término plasticidad cortical, referida a que el paso del impulso nervioso probablemente deja una huella física o química en una célula nerviosa (neurona).<sup>15</sup>

## **4. ANTECEDENTES ESPECIFICOS**

En un estudio de Yangxi Chen y cols. del 2014, trabajó con ratas macho Wistar, aplicó Lipopolisacárido (LPS) en la pulpa dental de un molar y comprobó el aumento

en la expresión de receptores purinérgicos ionotrópicos (p2X) en el ganglio trigeminal de rata, TG (división V1-V2), el porcentaje de células c-fos-IR aumentó en el grupo LPS en comparación con el grupo salino.<sup>16</sup> Evaluaron las alteraciones en las propiedades neurofisiológicas del Ganglio Trigeminal después de la inflamación pulpar. Sus resultados indican que la aplicación de LPS a la pulpa dental induce una mayor expresión de c-fos, un marcador de actividad neuronal, en el subnúcleo del trigémino. Concluyeron que el LPS también produce un comportamiento nocifensivo y alodinia mecánica.

Los estudios realizados por Tarsa y colaboradores en el año 2010, muestran que el Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) es un factor de crecimiento neuronal que es expresado en neuronas aferentes de primer orden nociceptivas a nivel del ganglio Trigémino en ratas adultas. Tarsa utilizó ratas Sprague Dawley en su experimento, a las cuales provocó necrosis pulpar en segundos molares. Se compararon los niveles de BDNF a nivel del subnúcleo caudal a los 7 y 28 días después de haber realizado la comunicación pulpar, en grupo control y experimental. Se observó un aumento en los niveles del BDNF en el grupo experimental en comparación con el grupo control, ante estos resultados se concluye que el BDNF tiene un papel muy importante ante los cambios neuroplásticos en las neuronas nociceptivas de primer orden periféricas a nivel del ganglio trigeminal durante la inflamación crónica.<sup>17</sup>

Kim et al., 2011, en un estudio para determinar el papel de la CAC en la ansiedad, microinyectaron muscimol, un potente agonista del receptor GABA selectivo (inhibor) en la Corteza Anterior del Cíngulo de ratones, en los cuales posteriormente fueron se les realizaron pruebas conductuales en el laberinto elevado, sus resultados mostraron que en los ratones, se redujo el comportamiento similar a la ansiedad.

En el estudio de Ballintine et al. (1967), se muestran estudios de imágenes cerebrales de pacientes con dolor de cáncer terminal, que reportaron consistentemente un aumento de la actividad neuronal en la corteza anterior del cíngulo precedente y durante la presentación de un estímulo agudo nocivo o durante

condiciones de dolor persistentes. 22 de los 35 pacientes con dolor de cáncer terminal estudiados, obtuvieron un alivio significativo del dolor después de ser intervenidos con la cingulotomía.<sup>18</sup>

Los mecanismos sensoriales del procesamiento del dolor son claramente importantes, pero no ponen de relieve los mecanismos subyacentes al afecto. Clínicamente, la sensación de dolor puede ser tratada mediante la reducción de la entrada sensorial, así como mediante la manipulación de factores afectivos-motivacionales y cognitivos.<sup>19</sup>

## **5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El dolor crónico que puede inducir la inflamación pulpar puede verse reflejada en diferentes sitios del cerebro.

El dolor dental por infección pulpar es una de las principales causas de visita odontológica de pacientes pediátricos. Estos estímulos nocivos generan impulsos dolorosos que son enviados como información a diferentes sitios del cerebro a través de la vía trigeminal, incluyendo el sistema límbico, el cuál es el encargado de darle una interpretación subjetivo-emocional a todas las señales dolorosas provenientes de la periferia. La corteza anterior del cíngulo forma parte del sistema límbico, que cada vez es más estudiada debido a su importancia en el manejo de las emociones y respuestas ante situaciones involucrando la ansiedad.

Actualmente se conoce la ubicación del área pulpar representada en la corteza somatosensorial primaria que se refiere a la ubicación e intensidad del estímulo, sin embargo, los cambios neuronales a nivel de la corteza anterior del cíngulo asociados con el componente emocional, ante una lesión pulpar crónica no han sido reportados.

## **6. JUSTIFICACIÓN**

Debido a que el cíngulo es un área en donde se procesan emociones, puede verse modificada la plasticidad neuronal en esa zona ante la estimulación dolorosa crónica, alterándose la percepción del dolor.

Es necesario comprender mejor la expresión del dolor pulpar y las estructuras que se ven involucradas en la trasmisión, percepción y modulación de este, por lo que surge la necesidad de evaluar en el presente trabajo los cambios morfológicos en las neuronas piramidales en la corteza anterior del cíngulo y así contribuir al conocimiento científico para mejorar el entendimiento de la captación e interpretación del dolor pulpar en cada individuo.

Es importante para el área estomatológica conocer el origen del dolor, así como el proceso a nivel fisiológico y del SNC, para lograr modular esta experiencia en el área orofacial y proveer información para el futuro desarrollo de estrategias tanto farmacológicas como dinámicas en la práctica profesional.

## **7. PREGUNTA CIENTÍFICA**

¿Los estímulos nocivos en la pulpa dental inducen cambios morfológicos en las neuronas de la corteza anterior del cíngulo?

## **8. HIPÓTESIS**

**HI:** “Los estímulos nocivos en la pulpa dental **si** inducen cambios morfológicos en neuronas de la corteza anterior del cíngulo”

**HO:** “Los estímulos nocivos en la pulpa dental **no** inducen cambios morfológicos en neuronas de la corteza anterior del cíngulo”

## **9. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Analizar los cambios morfológicos (longitud y arborización) en las neuronas de la CAC después de un estímulo nocivo (LPS) en un órgano dentario en un modelo animal (rata Sprague Dawley).

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Determinar la longitud de las dendritas de las neuronas piramidales en la corteza anterior del cíngulo.
- Determinar el grado de arborización por orden dendrítico en las neuronas piramidales de la corteza anterior del cíngulo.

## **10. MATERIAL Y MÉTODO**

### **DISEÑO DEL ESTUDIO**

- Analítico, prospectivo ex-vivo.

### **UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL**

- Bioterio Central de la BUAP “Claude Bernard”
- Laboratorio de Fisiología de la FEBUAP.

### **ESTRATEGIA DE TRABAJO**

1. Empleo de un modelo animal (Rata Sprague Dawley) para estudiar plasticidad neuronal inducido por LPS en pulpa dental.
2. Inducir un estímulo nocivo pulpar en los individuos de experimentación.
3. Realizar técnica de Golgi Cox, para teñir el tejido neuronal.
4. Obtención de imágenes neuronales en papel con cámara lúcida.
5. Analizar los datos morfológicos por el método de análisis de Sholl.
6. Obtención y discusión de resultados.

### **MUESTREO**

### **DEFINICIÓN DE LA UNIDAD DE POBLACIÓN**

- Neuronas de la corteza anterior del cíngulo de roedores.

- Ratas de la cepa Sprague Dawley del Bioterio Central de la BUAP “Claude Bernard”.

## **SELECCIÓN DE LA MUESTRA**

- Ratas machos de la cepa Sprague Dawley del bioterio central de la BUAP “Claude Bernard”
- Se mantuvieron en condiciones ambientales de temperatura y humedad controladas (18-23°C y 50-60% respectivamente), con ciclo de luz-oscuridad de 12 horas y con libre acceso a alimento y agua.
- Los animales fueron agrupados en un grupo experimental de 8 roedores (Comunicación pulpar y LPS) y otro grupo control de 6 roedores.
- Se realizó un muestreo aleatorio simple.

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LAS UNIDADES DE MUESTREO**

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Ratas machos de la cepa Sprague-Dawley de 28 días de edad, con un rango de peso de 40 a 100 gr.

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Ratas de menos peso de 40 gr
- Ratas que no cumplan con la edad.

### **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

- Animales que muestren signos de desnutrición.
- Animales que expiraron durante el desarrollo experimental.

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LAS NEURONAS**

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Que la neurona se encuentre bien teñida.
- Que la neurona no esté fragmentada.
- Que la neurona se encuentre lo suficientemente aislada como para poder distinguir las dendritas de la neurona elegida.
- Que la neurona se encuentre en la lámina II y III (exhitatorias)

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Que la neurona no sea piramidal
- Que la neurona esté fragmentada.
- Que la neurona se encuentre en láminas diferentes (inhibitorias o interneuronas)

## **DISEÑO Y TIPO DE MUESTREO**

Muestreo aleatorio simple.

## **TAMAÑO DE LA MUESTRA**

Población finita de 140 neuronas de 14 Ratas.

## DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	CATEGORÍA	ESCALA DE MEDICIÓN	ANÁLISIS ESTADÍSTICO
<b>Longitud Dendrítica</b>	Amplitud de las prolongaciones protoplásmicas ramificadas del soma de la neurona.	Medir la longitud de las dendritas por cada 10 micras	Cuantitativa discreta, <b>dependiente.</b>	Número de círculos (micras) interceptados por cada dendrita. (Sholl)	Estadística descriptiva, <i>t</i> de Student
<b>Arborización Dendrítica</b>	Número de ramificaciones dendríticas por cada cuerpo celular neuronal.	Evaluar a través del análisis de Sholl el grado de arborización de las dendritas.	Cuantitativa discreta <b>dependiente</b>	Número de orden dendrítico repetido por cada círculo de la lámina de Sholl	Estadística descriptiva, <i>t</i> de Student
<b>Estímulo nocivo</b>	Señal externa o interna capaz de producir un daño y activar los nociceptores	Provocar dolor por exposición pulpar y aplicación de LPS.	Nominal dicotómica <b>independiente.</b>	SI/NO	<i>t</i> de Student

## MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Prospectivo

## TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

### ESTÍMULO NOCIVO PULPAR.

- Los roedores se prepararon con ayuno de 12 horas previas.
- Se inició el procedimiento con la administración del anestésico para rata (Ketamina/Xilacina) con una dosis de 0.2 ml/100 mg de peso vivo vía intraperitoneal con una secuencia del 1 al 10 previamente marcadas, en intervalos de tiempo de 5 minutos. (Figura 2)

Al obtener el efecto esperado se prosiguió a la comunicación pulpar con pieza de mano dental de alta velocidad y fresa dental de  $\frac{1}{4}$  de bola de carburo de la 2da molar superior derecha con acceso oclusal en el laboratorio de Fisiología de la FEBUAP (Figura 3); una vez cohibido el sangrado, se introdujo Lipopolisacárido (*Escherichia coli*, Sigma, St. Louis, Missouri, EU) con una dosis de 6-10 mg disueltos en 0,9% NaCl y posteriormente se obturaron las molares con una resina fluida Filtek Z350XT Flow fotocurable (3M). Este procedimiento requirió de una técnica de trabajo a 4 manos para el cuidado y la conservación de tejidos blandos.

Todo el procedimiento requirió de conservar la temperatura de los roedores impidiendo su descenso por efecto de la droga administrada hasta su completa recuperación.

Todos los procedimientos descritos en este trabajo de tesis fueron aprobados por el Comité de Cuidado Animal de la BUAP y las líneas gubernamentales (Norma Oficial Mexicana NOM-062-zoo-1999).

Posterior al procedimiento quirúrgico se esperó la recuperación total de los animales para ser devueltos al bioterio Claude Bernard, donde fueron cuidados por personal capacitado.

Las ratas tanto del grupo experimental como control fueron pesadas tres veces a la semana durante 28 días.



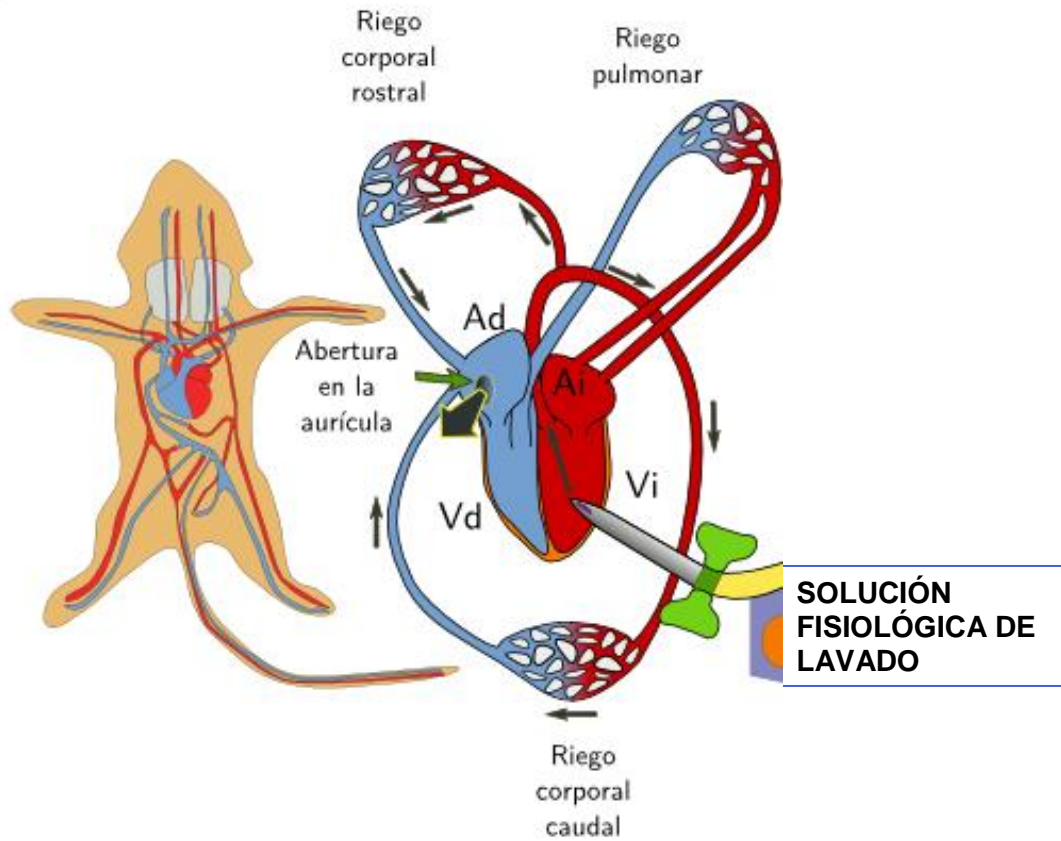
**Figura 2.** Anestesia intraperitoneal (fuente propia)



**Figura 3.** Procedimiento para realizar acceso oclusal en la molar con pieza dental de alta velocidad. (fuente propia)

## OBTENCIÓN DEL TEJIDO NERVIOSO

- a) Las ratas fueron anestesiadas con una sobredosis de Ketamina-Xilacina.
- b) Se perfundi3 con soluci3n de cloruro de sodio al 0.9% por el ventr3culo izquierdo con la finalidad de limpiar tejido nervioso de tejido sangu3neo y por medio de un corte a la aur3cula derecha se favoreci3 su drenaje. (Figura 4).
- c) Se procedi3 a remover los cerebros para ser fijados en 20 ml de la soluci3n de Golgi-Cox (Figura 5).



**Figura 4.** Atlas de Histología Vegetal y Animal. Técnicas histológicas, métodos de fijación. Universidad de vigo.2018



**Figura 5.** Encéfalo obtenido. (fuente propia)

## TINCIÓN DE GOLGI

Camilo Golgi ideó uno de los métodos de impregnación de células nerviosas, que aún mantienen un sitio de honor dentro del campo de la descripción morfofuncional del sistema nervioso. Este método permite la impregnación selectiva de las células nerviosas y su prolongación con la reacción del nitrato de plata y el dicromato de potasio o de sodio. La técnica de Golgi-Cox es un procedimiento histológico sencillo que revela la morfología neuronal completa en tres dimensiones. La técnica de Golgi-Cox es sencilla en su ejecución y generosa en la información que proporciona. Además de que nos permite establecer la relación morfológica-conductual que se presenta en los individuos de interés (en nuestro caso ratas).<sup>20</sup>

### Solución de Golgi-Cox

La solución de Golgi-Cox está compuesta por:

Dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) 170mM

Cloruro de mercurio ( $HgCl_2$ ) 200mM

Cromato de potasio ( $K_2CrO_4$ ) 200mM

Misma que se almacenó en un recipiente de vidrio ámbar por 5 días, después de este tiempo se filtró para retirar el precipitado que se formó.

## IMPREGNACIÓN DE CEREBRO CON LA SOLUCIÓN DE GOLGI-COX

a) Los cerebros se almacenaron en total oscuridad durante 14 días, después de este tiempo la solución de Golgi-Cox fue reemplazada por una solución de sacarosa al 30% (**Figura 6 a**), y se almacenaron nuevamente en total oscuridad por 5 días más, antes de seccionarlos; (este último paso por sacarosa confiere al tejido flexibilidad, por lo que es menos propenso a la fractura cuando se corta y se seca).

b) Se retiró el exceso de solución de sacarosa del cerebro para ser montado en la platina del vibratomo motorizado modelo MA752, y se

sumergió en solución de sacarosa a una temperatura de 40°C hasta cubrir el tejido. **Figura 6 b)**

c) Se seccionó el tejido en orientación coronal de cada hemisferio con un grosor de 200um y se fijó en laminillas previamente gelatinizadas al 2% bajo presión. **Figura 6 c)**

d) Las laminillas se mantuvieron en una cámara húmeda y se procedió a revelar la tinción en total oscuridad, de la siguiente manera: **Figura 6 d), e)**

1. Enjuague con agua destilada, 1 minuto.
2. Hidróxido de amonio, 30 minutos.
3. Enjuague con agua destilada, 1 minuto.
4. Fijador rápido de kodak al 50%, 30 minutos.
5. Enjuague con agua destilada, 1 minuto.
6. Deshidratación de tejido con concentraciones crecientes de etanol, 50, 70 y 95% 1 minuto en cada uno, para finalizar con 5 minutos en alcohol absoluto (2 veces).
7. 15 minutos en xileno.
8. Se cubrió el tejido con resina sintética (al 60% en xilol, marca Hycel) y se resguardaron las laminillas en oscuridad para su secado.



**Figura 6.** Fuente propia  
 a) Solución de Sacarosa al 30%  
 b) Vibratomo  
 c) Laminilla con cortes  
 d) Rejilla con laminillas en cámara húmeda  
 e) Tren de soluciones para revelado

## ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Kolb (1998) propone los siguientes criterios para la elección de neuronas para dibujar y analizar:

- Que la neurona se encuentre bien teñida.

- Que no esté fragmentada.
- Que se encuentre lo suficientemente aislada como para poder distinguir las dendritas de la neurona elegida.
- Después de localizar el área de interés de acuerdo a las coordenadas establecidas por Paxinos y Watson 1998, se seleccionaron 10 neuronas por núcleo cerebral, para su reconstrucción bidimensional e inferir posible neuroplasticidad utilizando una cámara lúcida a un microscopio Leica, DMSL. (Figura 7 y 8)



Figura 7. Observación mediante microscopio. (Fuente propia)

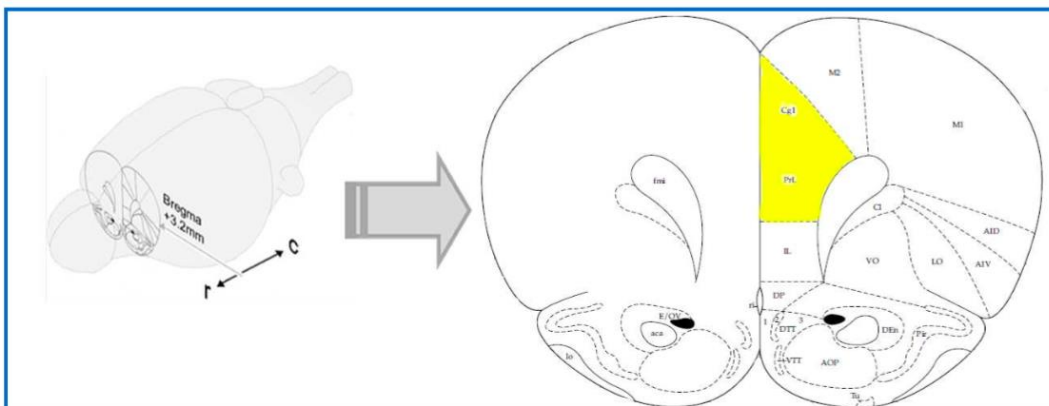


Figura 8. Localización de la corteza media prefrontal. Corte coronal de cerebro de rata, donde podemos localizar perfectamente la CmPF a Bregma 3.20mm (Paxinos y Watson, 1998)

Fuente Bringas Tobón M.E. "Tesis Maestría" 2012.

## ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE SHOLL

Una vez obtenidas las reproducciones bidimensionales de las neuronas, éstas fueron analizadas con el método de Sholl<sup>21</sup>, el cual consiste en sobreponer una placa transparente con una serie de círculos concéntricos con un equivalente de 10  $\mu\text{m}$  de separación, la cual fue colocada sobre el dibujo, centrando el soma en el círculo del centro. El número de círculos que intercepte cada dendrita es usado para determinar la longitud dendrítica total. Para obtener el estimado de arborización dendrítica, el número total de ramificaciones dendríticas (indicado por ordenes), consiste en iluminar por colores las dendritas de acuerdo a sus bifurcaciones, y así ser contabilizados para cada orden que se aleje del cuerpo celular (primer, segundo, tercer, cuarto y quinto orden).(Figura 9)



**FIGURA 8.** Neurona observada en el microscopio, reproducción en papel con colores por número de orden dendrítico, y placa de análisis de Sholl (Fuente propia)

## ANÁLISIS DE DATOS

Una vez obtenido los resultados del análisis de Sholl, estos datos se recopilaron por medio de una tabla de cálculo diseñada en el programa de Microsoft Excel, posteriormente estos se capturaron en el programa GraphPad Prism, para presentar los resultados en gráficas.

## DISEÑO ESTADÍSTICO

### 6.9.1 Prueba estadística

- Prueba T de Student para grupos independientes, para las variables Longitud dendrítica y arborización.

## BIOÉTICA

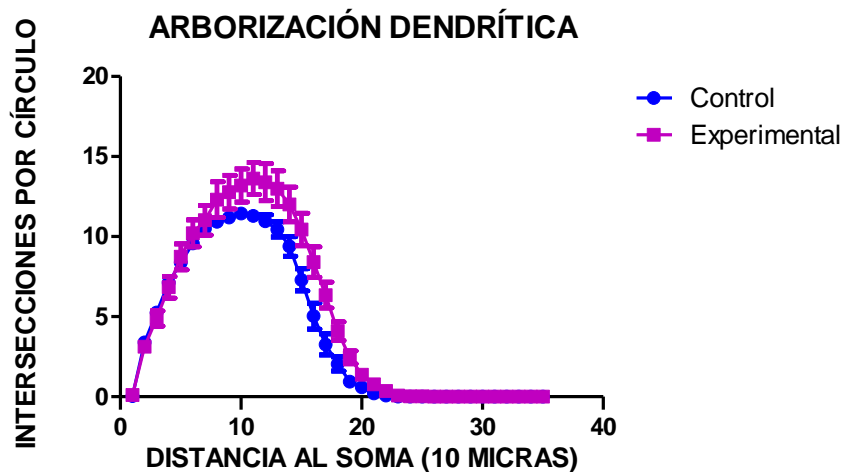
- Norma Oficial Mexicana NOM-062-zoo-1999
- Norma NOM-087-ECOL-94, así como a la Ley General del Equilibrio. Ecológico y la Protección al Ambiente.

## 11. RESULTADOS

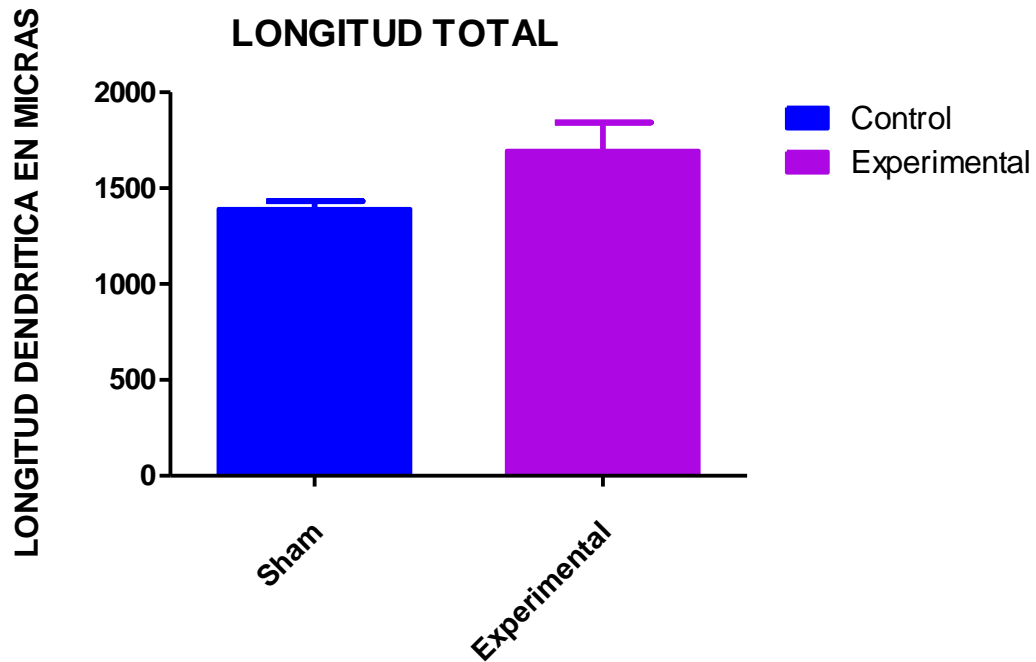
Se estudiaron 140 neuronas de 14 ratas las cuales se dividieron al azar en grupos, a las ratas del grupo experimental se les provocó un estímulo nocivo pulpar.

Utilizando el análisis estadístico de la prueba t de Student se compararon las medias de los dos grupos, el control y el experimental, y utilizando un valor de confiabilidad del 95%, los resultados mostraron que no había diferencias significativas en cuanto a la longitud total dendrítica entre los dos grupos, pero en cuanto a la arborización, si se mostraron diferencias significativas a nivel de cuarto y quinto orden dendrítico en el grupo experimental, sin embargo no hubo diferencia significativa en el segundo ni tercer orden.

En la imagen 1, se muestra el grado arborización total de los dos grupos.

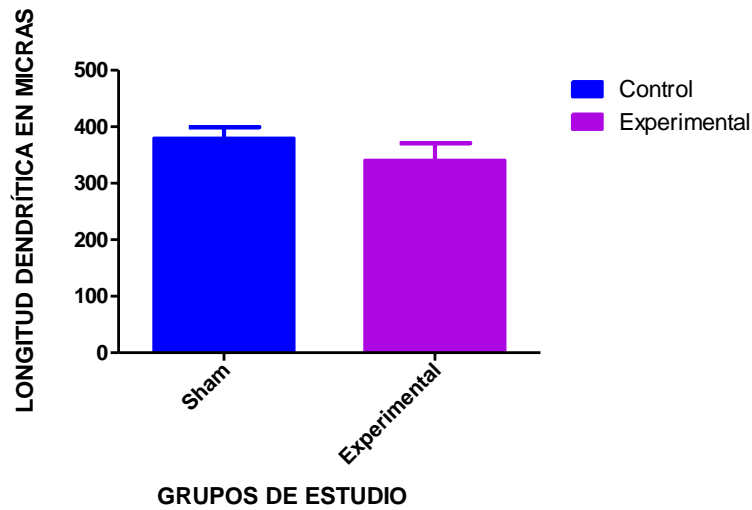


**Imagen 1.** La gráfica expresa los datos obtenidos de arborización y desviación estándar. No se encontró diferencia significativa con  $p < 0.05$  del grupo experimental identificado en color rosa. En comparación con el grupo control mostrada en color azul. (Fuente propia)



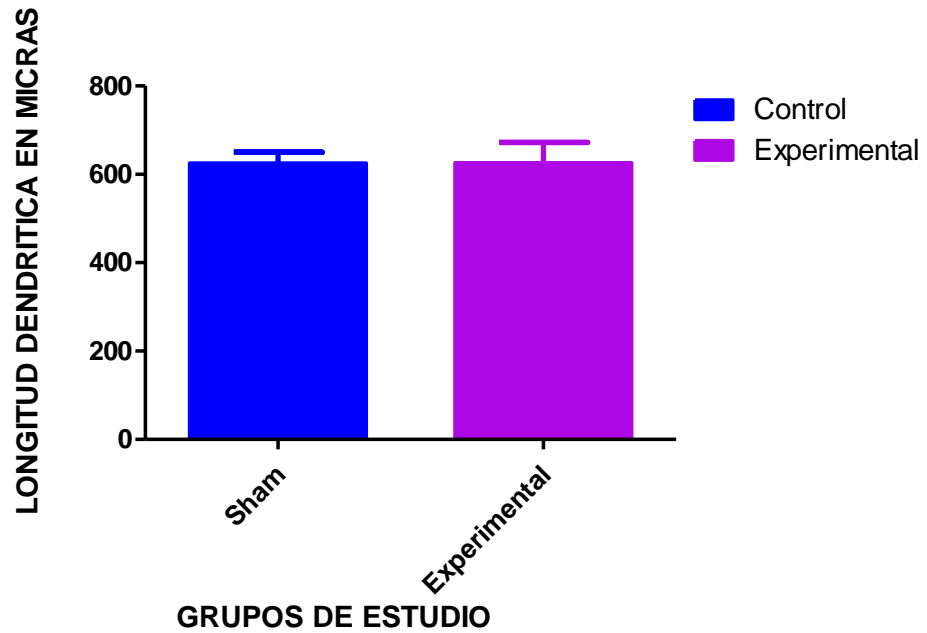
**Gráfica 1.** La gráfica muestra la longitud total dendrítica comparando el grupo control con el grupo experimental. No se observa un aumento estadísticamente significativo en la longitud dendrítica en el grupo experimental, con respecto al grupo control y  $p < 0.05$  con análisis estadístico de t de student. (Fuente propia)

## LONGITUD DENDRÍTICA DE SEGUNDO ORDEN EN NEURONAS DE CAC



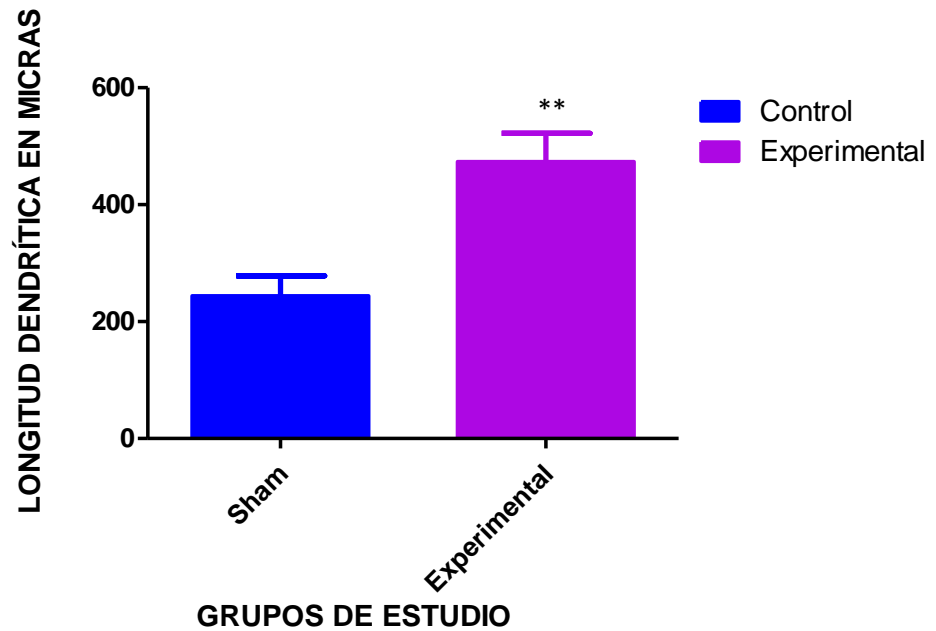
**Gráfica 2.** La gráfica muestra la longitud de segundo orden dendrítico del grupo control en color azul, en comparación con la longitud de segundo orden dendrítico del grupo experimental en color rosa. No se observan diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con el análisis estadístico de t de student. (Fuente propia)

### LONGITUD DENDRÍTICA DE TERCER ORDEN EN NEURONAS DE CAC



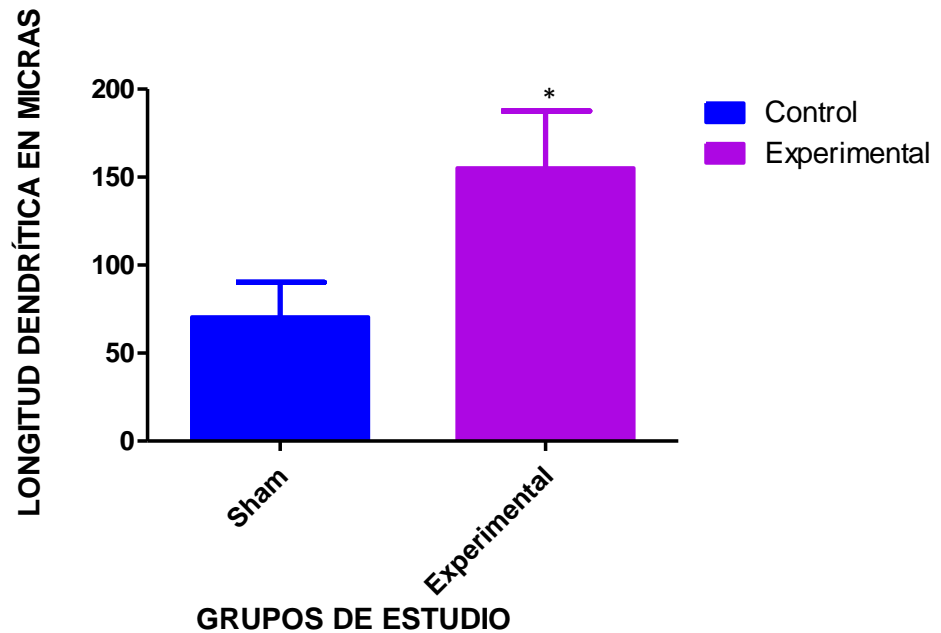
**Gráfica 3.** La gráfica muestra la longitud de tercer orden dendrítico del grupo control en color azul, en comparación con la longitud de tercer orden dendrítico del grupo experimental en color rosa. No se observan diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con el análisis estadístico de t de student. (Fuente propia)

## LONGITUD DENDRÍTICA DE CUARTO ORDEN EN NEURONAS DE CAC



**Gráfica 4.** La gráfica muestra la longitud de cuarto orden dendrítico del grupo control en color azul, en comparación con la longitud de cuarto orden dendrítico del grupo experimental en color rosa. Se observa que la longitud dendrítica del cuarto orden del grupo experimental es estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con el análisis estadístico de t de student. (Fuente propia)

## LONGITUD DENDRÍTICA DE QUINTO ORDEN EN NEURONAS DE CAC



**Gráfica 5.** La gráfica muestra la longitud de quinto orden dendrítico del grupo control en color azul, en comparación con la longitud de quinto orden dendrítico del grupo experimental en color rosa. Se observa que la longitud dendrítica del quinto orden del grupo experimental es estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con el análisis estadístico de t de Student. (Fuente propia)

## **12. DISCUSIÓN**

El propósito del presente trabajo, es la generación de nuevo conocimiento acerca de la plasticidad neuronal inducida por estímulos nocivos en tejidos periféricos, para lo cual, se indujo un estímulo nocivo en la pulpa dental de un modelo animal (rata Sprague Dawley), a través de la inoculación de una endotoxina (LPS Escherichia Coli Sigma Aldrich).

Los lipopolisacáridos (LPS), son endotoxinas y constituyentes de la mayoría de las bacterias gramnegativas, se utilizan para inducir inflamación periférica una vez en contacto con la pulpa dental, la cual está exclusivamente inervada por aferentes nociceptivos. La inflamación puede iniciar un proceso de decodificación celular para generar la respuesta eléctrica por parte de las neuronas aferentes primarias del quinto par craneal (Trigémino) en V2. Al arribo del LPS a la pulpa, esta endotoxina es detectada a través de receptores tipo Toll presentes en la superficie celular de los macrófagos, dando inicio a un proceso proinflamatorio, en el cual los macrófagos sintetizan y liberan citosinas proinflamatorias tales como, TNF- $\alpha$  e Interleucina 1 y 8, lo que da pie al proceso de diapédesis para la infiltración de Polimorfonucleares (PMN's) (neutrófilos). Con todos estos acontecimientos, se induce el incremento de la presión intrapulpar, temperatura y de señales químicas, que en conjunto son estimulantes de las terminaciones nerviosas libres de las fibras tipo C (Polimodales).

Fisiológicamente, el dolor no es un fenómeno pasivo de transferencia de una información nociceptiva desde la periferia hasta la corteza; sino un proceso activo, generado parte en la periferia y parte en el SNC por múltiples cambios neuronales y de su entorno. Se inicia en terminales periféricas (nociceptores), en donde se origina una corriente de despolarización en respuesta al estímulo nocivo, que puede ser químico, térmico o mecánico (Reichling DB 1999). Esta despolarización, si es lo suficientemente intensa, origina un potencial de acción, que se propaga hacia el SNC y origina la liberación del neurotransmisor (Glutamato) a nivel del asta dorsal de la médula espinal.

Con esta señal dentro del asta dorsal de la médula espinal, un subconjunto de neuronas de proyección transmite el impulso nervioso a la corteza somatosensorial a través del tálamo, proporcionando información sobre la ubicación y la intensidad del estímulo doloroso físico. Otras neuronas de proyección se acoplan a la CAC y a la corteza insular a través de conexiones en el tallo cerebral (núcleo parabraquial) y la amígdala, lo que contribuye al componente afectivo de la experiencia del dolor. (Basbaum, 2009).

Chen Y. y cols. 2014, evaluaron las alteraciones en las propiedades neurofisiológicas del ganglio trigeminal después de la inflamación pulpar. En este estudio, los resultados indican que la aplicación de LPS a la pulpa dental induce una mayor expresión de c-fos, un marcador de actividad neuronal, en el subnúcleo del trigémino (Chen Y. Et al 2014); lo que quiere decir que, a mayor estímulo, mayor liberación de neurotransmisor, por lo que aumentará la actividad en las neuronas. También el grupo de Chen Y., demostró que el LPS induce los fenómenos de comportamiento nocifensivo y alodinia mecánica en sus sujetos experimentales (ratas Wistar). Por lo que podemos decir que nuestros resultados son congruentes con lo reportado por este grupo, en el sentido de que el modelo experimental sí genera estímulos nociceptivos que viajan a través de las vías ascendentes termoalgésicas. (Espinal y Espino Retículo). Sin embargo, no existen estudios que muestren la respuesta de la corteza del cíngulo ante estos estímulos. Por lo anterior, el presente estudio investiga los cambios morfológicos que pueden presentar las neuronas de estructuras del sistema límbico como lo es la corteza anterior del cíngulo, que participa en la interpretación del recuerdo del dolor y su procesamiento.

Para poder investigar los posibles cambios morfológicos en las neuronas piramidales de la región de interés, en sus estructuras dendríticas, se produjo el protocolo experimental utilizado por los autores Chen (2014) y Tarsa (2010).

En cuanto a la plasticidad neuronal, como lo reportó Fiala 2008, se conoce que la forma, ramificación y extensión del árbol dendrítico, así como la cantidad de espinas, son parámetros de la morfología neuronal que se encuentran en constante cambio debido a la influencia del medio que rodea a las neuronas; al evaluar dichos parámetros, podemos inferir su plasticidad y la cantidad de conexiones neuronales. En base a lo anterior, nuestros grupos experimentales de presentan un aumento gradual de la arborización y de la longitud dendrítica, ante un estímulo doloroso crónico.

Como lo mencionan Williams S., Stuart G. 2002, las neuronas han desarrollado mecanismos que podrían actuar para equilibrar los efectos de la ubicación de las sinapsis (más alejada del axón), de esta forma poder modular la información que llegará al soma. Por lo tanto, el papel principal del árbol dendrítico es captar, modular y canalizar la información sináptica. La parte anatómica de la neurona que es plástica es la dendrita, por lo que la longitud de las dendritas es fundamental para modular la recepción de la información que puede llegar al soma.

Para cumplir con este objetivo, recordemos que se evaluaron neuronas piramidales de la CAC de animales inoculados con LPS en la cámara pulpar. Los datos obtenidos del análisis morfológico de las neuronas a través del método de Sholl en la presente investigación, nos muestran que existen cambios morfológicos en cuanto a la longitud dendrítica en las neuronas de la CAC ante un dolor crónico provocado por un estímulo nocivo (LPS) aplicado a la pulpa dental de los roedores del grupo experimental en comparación con el grupo control.

Nuestros resultados histológicos de morfología de longitud dendrítica, obtenidos a través de la técnica de análisis de Sholl, muestran que no existe diferencia estadísticamente significativa al evaluar como variable de interés a la arborización dendrítica de las neuronas analizadas de los animales experimentales comparado con las neuronas de los animales control, como lo muestra nuestra imagen 1 en su grado de arborización total. Sin embargo, se observan pequeños cambios en la parte media de la gráfica, por lo que decidimos realizar el análisis por orden

dendrítico. Encontramos diferencias significativas en dos órdenes dendríticos (cuarto y quinto) como se muestra en la gráfica 4 y 5; fueron analizados con la prueba estadística de T de student para muestras no pareadas, con un nivel de confianza del 95% con ayuda del programa GraphPad Prism, lo que nos permite inferir que la experiencia aversiva que llamamos "dolor" resulta de la activación coordinada de múltiples áreas del cerebro, comúnmente descrita como una "matriz del dolor". Esta no es una disposición fija de estructuras, sino más bien un sistema fluido compuesto de varias redes interactuantes: una "matriz nociceptiva" que incluye regiones que reciben información de sistemas nociceptivos ascendentes y asegura las características corporales del dolor físico. Un conjunto adicional de estructuras del cerebro que reciben información secundaria respalda los atributos de los estímulos nocivos, disparan controles cognitivos descendentes y, lo que es más importante, garantiza el paso de la nocicepción preconsciente al dolor consciente. Las expectativas y las creencias que llegue a presentar el paciente con dolor pulpar, todavía pueden modular la experiencia consciente del dolor a través de la actividad en regiones supramodales con proyecciones corticales diseminadas, como el área tegmental ventral en donde se libera dopamina, entre otras, la cual interviene en el proceso del recuerdo y memoria. Las respuestas de EEG (Electroencefalograma) intracorticales en humanos muestran que el procesamiento cortical nociceptivo se inicia en paralelo en áreas sensoriales, motoras y límbicas; progresa rápidamente hacia el reclutamiento de las redes insular anterior y Frontoparietal, y finalmente a la activación de estructuras como la corteza Cingular e Hipocampal, entre otras.

La conectividad funcional entre las redes sensoriales y límbicas aumenta inmediatamente posterior al estímulo, lo que puede ser determinante para el acceso a la conciencia. Se describe un modelo que avanza desde el sensoriomotor inconsciente y el procesamiento límbico de la entrada espinotalámica y espino parabraquial, hasta un sentido inmediato de conciencia, respaldado por una actividad coordinada en redes sensoriomotoras y frontoparietoinculares y que conduce a una conciencia declarativa plena, es decir en donde el individuo puede

describir lo que siente mediante la integración con recuerdos autobiográficos (experiencias) y autoconciencia (nivel cognitivo), que involucran áreas **cinguladas** posteriores y temporales medias. Esta secuencia completa solo está presente durante los estados de consciencia. Sin embargo, afirmamos que incluso en pacientes conscientes con dolor pulpar crónico, se logra la activación repetida límbica y vegetativa (Sistema Nervioso Autónomo) por estímulos dolorosos a través de vías espino-amígdalas que puede generar recuerdos de memoria implícitas y conductas anormales de estímulo-respuesta, posiblemente contribuyendo a la ansiedad prolongada durante la consulta dental con posibles síndromes hiperalgésicos.

También se encontró una diferencia al comparar las dendritas de 5to orden en las mismas neuronas piramidales de la CCA, por lo que nos atrevemos a pensar que las neuronas sufren cambios morfológicos a lo que la comunidad neuro-científica llama plasticidad neuronal, y se expresa primero para adecuarse y si el estímulo se mantiene se induce adaptación y probablemente se gestó potenciación a largo plazo para mantener eficiencia en la neuromatrix cerebral.

Según Williams y Stuart 2002, coincidiendo con nuestros datos, una posible razón por la cual la longitud y arborización de las dendritas se expandieron, es porque aumenta significativamente el área de la superficie de la neurona, lo que permite el establecimiento de un mayor número de contactos sinápticos en donde la información que llegue podrá ser captada por un mayor número de receptores. Aunque se necesitan estudios más finos como estudiar a nivel de espinas dendríticas para complementar nuestros hallazgos morfológicos de plasticidad neuronal.

### **13. CONCLUSIÓN**

Los datos obtenidos del análisis morfológico de las neuronas a través del método de Sholl en la presente investigación, nos muestran que existen cambios morfológicos en cuanto a la arborización en las dendritas de cuarto y quinto orden (más distales) en las neuronas piramidales de la corteza anterior del cíngulo ante un dolor crónico provocado por un estímulo nocivo (LPS) aplicado a la pulpa dental de los roedores del grupo experimental en comparación con el grupo control.

Con estos datos podemos concluir que debido a que las áreas más distales del árbol dendrítico permiten modular mejor la información que llegará al soma, se arborizarán de manera más significativa. Entre más alejada se encuentre la disposición de las arborizaciones con respecto al soma, la información tendrá la oportunidad de modularse de mejor manera sin saturar a la neurona.

## **14. ANEXOS**

### **Estandarización**

El experto es el responsable del proyecto, el cual realizó estudios de maestría, doctorado y pos doctorado, en los cuales realizó estudios de morfología neuronal en el laboratorio de Neuropsiquiatría del Instituto de Fisiología de la BUAP, en lo que se logró publicar en revistas arbitradas e indexadas, tales como Synapse, Journal Comparative Neurology. Y actualmente se encuentran 2 trabajos en revisión en Synapse y Schizophrenia Research. Y el responsable del proyecto será el encargado de estandarizar a los investigadores que realizan los proyectos en el laboratorio de Fisiología de la FEBUAP.

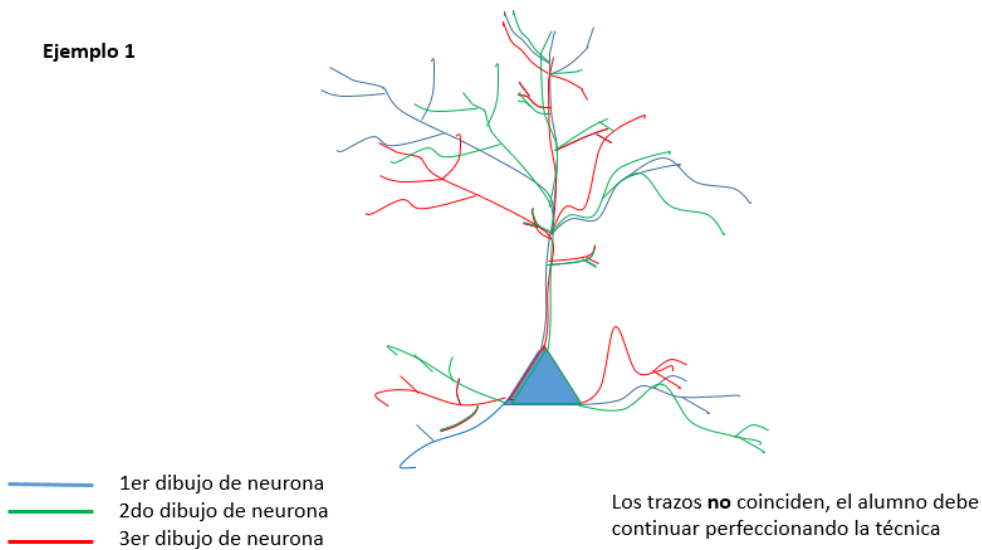
Se expresa a continuación la forma en la que el experimentador (estudiante que realizó el proyecto) fué estandarizado para realizar la obtención de dibujos en papel con la ayuda de una cámara lucida (de dibujo) acoplado a un microscopio simple de luz marca Leica DM500. Para lo cual se procede de la siguiente manera:

1. Se cuenta con laminillas de estandarización. Las cuales fueron obtenidas de proyecto de posgrado en Ciencias Fisiológicas de la BUAP, y fue publicado en la revista "Journal of Comparative Neurology", revista reconocida mundialmente en el área de morfología.
2. El investigador (Responsable del proyecto) selecciona la laminilla y las coordenadas en las que se encuentra la célula de interés.
3. Se le pide al investigador encargado de realizar los dibujos que realice la obtención del dibujo y se compara con un dibujo realizado por el experto (responsable del proyecto).

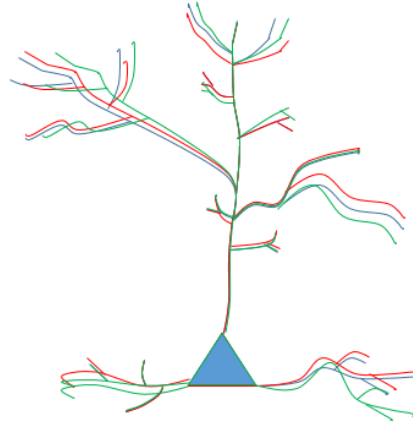
4. Para comprobar que se ha logrado la estandarización se sobreponen los dibujos del experto con los del investigador encargado de los dibujos.
5. El realiza el número de ensayos necesarios hasta que el investigador encargado reproduzca el dibujo igual que el experto.

Se practicó la reproducción bidimensional de la neurona y sus dendritas hasta lograr un duplicado lo más idéntica posible a la neurona observada.

Ejemplo 1



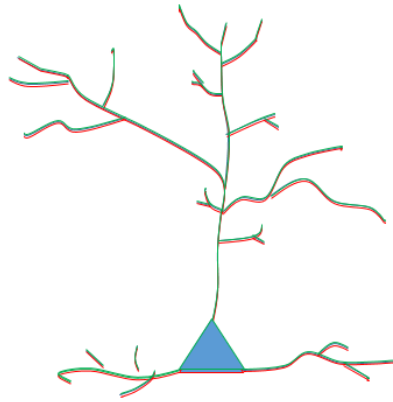
**Ejemplo 2**



- 1er dibujo de neurona
- 2do dibujo de neurona
- 3er dibujo de neurona

Los trazos **coinciden medianamente**, el alumno debe seguir perfeccionando la técnica

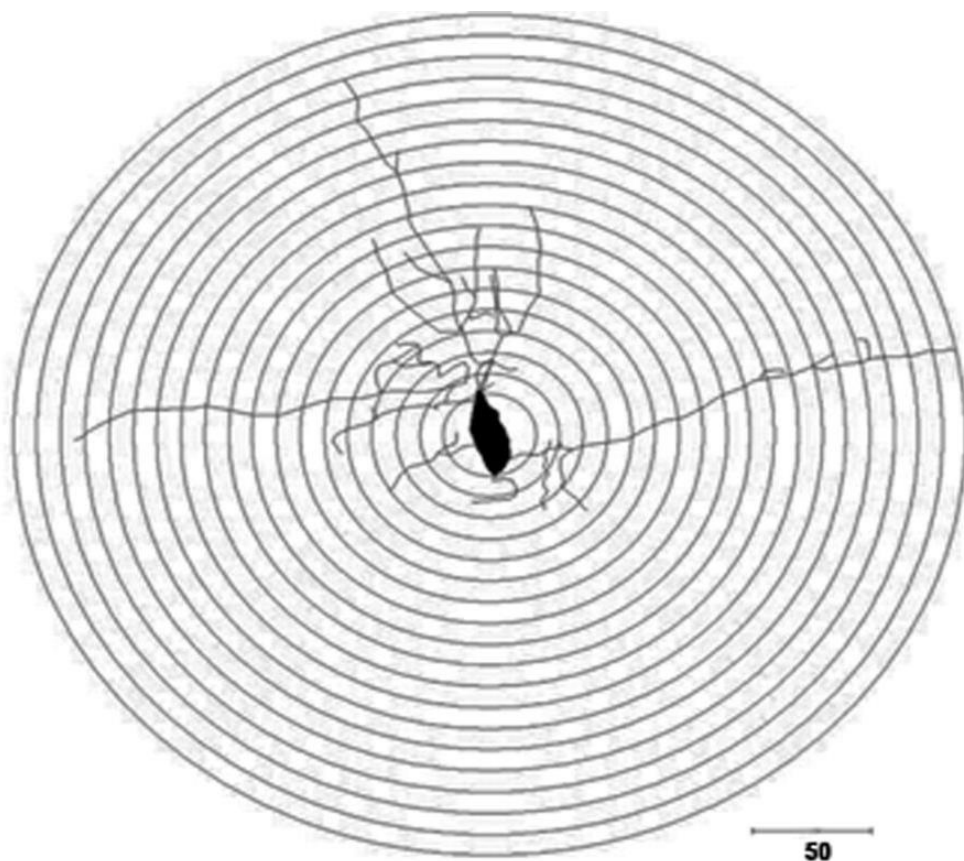
**Ejemplo 3**



- 1er dibujo de neurona
- 2do dibujo de neurona
- 3er dibujo de neurona

Los trazos coinciden completamente, el alumno esta estandarizado para realizar la técnica

## ANÁLISIS DE SCHOLL



## Formatos de captura de datos.

Total dendritas										
Cerebro:0										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(Fuente propia)

## 15. BIBLIOGRAFÍA

---

- <sup>1</sup> Cabezudo I. Aspectos Generales en la evaluación en dolor. Psicólogos en Valencia, Máster en Psicología Clínica, Formación para Psicólogos. CETECOVA. 1995.
- <sup>2</sup> Melzack R, Casey KL. Localized temperature changes evoked in the brain by somatic stimulation. *Exp Neurol*. 1967 Mar;17(3):276-92
- <sup>3</sup> Verhaak P.F, Kerssens J.J, Sorbi M.J, Bessing J.M. Prevalence of chronic benign pain disorder among adults: a review of the literatura. *Pain*. 1998. 77(33): 231-239.
- <sup>4</sup> Matthews B. Peripheral and central aspects of trigeminal nociceptive systems. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 1985 308:313-324.
- <sup>5</sup> Gómez F.E., Campos M. A. *Hitología y embriología bucodental*. Editorial Panamericana. 2da Edición, 2002. Pág 212-218.
- <sup>6</sup> Zhang W., Yelick P.C. Vital pulp therapy-current progress of dental pulp regeneration and revascularization. *International journal of dentistry*.2010.
- <sup>7</sup> Yangxi Chen. Et al. .LPS-induced dental pulp inflammation increases expression of ionotropic purinergic receptors in rat trigeminal ganglion *NeuroReport* 2014, Vol 25 No 13
- <sup>8</sup> Merrill R. L. Central Mechanisms of Orofacial Pain. *Dent Clin N Am* 51 (2007) 45–59
- <sup>9</sup> Basbaum, A. (2000). La percepción del dolor. En: Kandel E. R.; J. H Schwartz; T. M. Jessell, *Principios de Neurociencia*. Cuarta edición. McGraw Hill. USA., pp 472-491.
- <sup>10</sup> Woda A. Pain in the trigeminal system: from orofacial nociception to neural network modeling. *J Dent Res* 2003 82 (10): 764-768.
- <sup>11</sup> Petersen-Felix S. Neuroplasticity--an important factor in acute and chronic pain. *Swiss Med Wkly*. 2002 1;132(21-22):273-8
- <sup>12</sup> Bliss TV. Synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex in acute and chronic pain. *Nat Rev Neurosci*. 2016;17(8):485-96.
- <sup>13</sup> Conti F. *Fisiología médica*. McGraw Hill, 2010. Pp. 25-33
- <sup>14</sup> Garcés-Vieira MV, Suárez-Escudero JC. Neuroplasticidad: aspectos bioquímicos y neurofisiológicos. *Rev CES Med* 2014; 28(1): 119-132.

- 
- <sup>15</sup> Garcés-Vieira MV, Suárez-Escudero JC. Neuroplasticidad: aspectos bioquímicos y neurofisiológicos. *Rev CES Med* 2014; 28(1): 119-132.
- <sup>16</sup> Yangxi Chen. Et al. .LPS-induced dental pulp inflammation increases expression of ionotropic purinergic receptors in rat trigeminal ganglion *NeuroReport* 2014, Vol 25 No 13
- <sup>17</sup> Tarsa L. et al. Tooth pulp inflammation increases brain-derived neurotrophic factor expression in rodent trigeminal ganglion neurons. *Neuroscience* 2010 167: 1205-1215.
- <sup>18</sup> Fuchs et al. The anterior cingulate cortex and pain processing. *Frontiers in Integrative Neuroscience*. May 2014 | Volume 8. 35
- <sup>19</sup> Apkarian, A. V., Baliki, M. N., & Geha, P. Y. (2009). Towards a theory of chronic pain. *Progress in Neurobiology*, 87(2), 81–97
- <sup>20</sup> Zaqout, S., & Kaindl, A. M. Golgi-Cox Staining Step by Step. *Frontiers in Neuroanatomy*, 10 (2016): 38.
- <sup>21</sup> Sholl DA. Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat. *J Anat.* 1953; 87:347-406.
- <sup>22</sup> Bringas M.E. Estudio conductual y de la morfología de neuronas del Sistema Límbico de ratas expuestas a ácido valproico en la gestación como modelo de autismo. “Tesis grado Maestría”. Instituto de Fisiología BUAP. Puebla. 2012
- <sup>23</sup> Williams S. Stuart G. Synaptic Integration. *Encyclopedia of Life Sciences*. 2002. John Wiley & Sons
- <sup>24</sup> Auvray M, Myin E, Spence C. The sensory-discriminative and affective-motivational aspects of pain. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010 Feb;34(2):214-23. doi: 10.1016/j.neubiorev.2008.07.008.
- <sup>25</sup> Gómez de Ferraris M. Campos Muñoz A. *Histología y embriología bucodental*. 1era. ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 1999.