



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 ENDODONCIA**

“Plasticidad morfológica en espinas dendríticas de neuronas del cíngulo, en ratas con exposición pulpar.”

PRESENTA: MARLEN ESTEFANIA ROSAS SÁNCHEZ

ID: 223450003

DIRECTOR DE TESIS: D.C. ISMAEL JUÁREZ DÍAZ

ID: 100517019

DIRECTOR DISCIPLINARIO: E.E. ALEJANDRO GERARDO MARTÍNEZ GUERRERO

ID: 100526940

DIRECTOR METODOLÓGICO: D.C. BRENDA ERÉNDIRA CASTILLO SILVA

ID: NSS525460

ASESOR EXTERNO: D.C. JULIO CÉSAR MORALES MEDINA

LECTORA: D.C. JULIA FLORES TOCHIHUITL

ID: 100228022

ABRIL, 2025



BUAP

Constancia No. FESIEP/CIFE/009/2024

DC. Ismael Juárez Díaz
Responsable del Proyecto de Investigación
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo la que suscribe MEP. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana en mi calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, y tras un detenido análisis y evaluación en el Proyecto de Investigación (Colectivo):

Nombre del Título del Proyecto:

"Plasticidad morfológica en espinas dendríticas de neuronas del cíngulo, en ratas con exposición a vulcan"

Presentado por:

Nº.	Cargos	Nombres	ID y/o Matrícula
1	Responsable del Proyecto de Investigación	DC. Ismael Juárez Díaz	100517019
2	Director Metodológica:	ME. Alejandro Gerardo Martínez Guerra	100526940
3	Directora Disciplinaria:	DC. Bertha Erendira Castillo Silva	N55526469
4	Asesor Externa:	DC. Julio César Morales Medina Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Unidad Tlaxcala (CINVESTAV)	8520
5	Estudiante de Maestría en Estomatología: Terminal en Endodoncia	C. Marlen Estefanía Rojas Sánchez	228450009

HAGO CONSTAR, que, ha sido oficialmente ACEPTADO. Este relevante proyecto, ha sido registrado ante el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.), inscrito en el libro de registros No. 09, página 01, bajo el No. de asignación 2024238, en la Secretaría de Investigación de esta Unidad Académica.

Para los fines legales que los interesados convaliden, y sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a miércoles 24 de enero de 2024

MEP. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología

C.c.p. Archivo
MCO, FJAM/MEP, GWRCO



Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
31 poniente 1304, Cal. Volcanes
Puebla, Pue.
C.P. 72410
Tel. Of. 22*22 29 55 00
Ext. 5526



BUAP

Oficio VIEP/DGI/1097/2024

Dr. Miguel Ángel Casillas Santana
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE



Por este medio, y después de haber verificado que usted es miembro del Padrón de Investigadores de la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado y que su protocolo ha sido evaluado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL), me permito informarle que se autoriza la solicitud de animales de acuerdo al cronograma adjunto, mismos que serán utilizados para la realización de los experimentos que se requieran llevar a cabo dentro el protocolo de investigación con clave: 100526485 -UALVIEP-24/1 titulada: "Plasticidad morfológica en espinas dendríticas de neuronas del cíngulo en ratas con exposición pupar", el cual tiene como equipo de trabajo a:

Responsable: DC. Miguel Ángel Casillas Santana.- ID 100526485.- Facultad de Estomatología.- BUAP
Colaboradores/as Investigadores/as de la Facultad de Estomatología.- BUAP:

DC. Ismael Juárez Díaz.- ID 100517019

DC. Brenda Eréndira Castillo Silva.- ID NSS526469

ME. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero.- ID 100526940

DC. Julio César Morales Medina. Sin ID.-Colaborador externo CINVESTAV- Tlaxcala

Estudiante participante:

Marlen Estefanía Rosas Sánchez.- Matrícula 223450003.- Estudiante de la Maestría en Estomatología con terminación en Endodoncia.

Cabe hacer mención que los animales objeto de este estudio serán criados y mantenidos en las instalaciones del Bioterio "Claude Bernard" de acuerdo a los lineamientos establecidos en la "Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio", a las especificaciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y a la Legislación Mexicana relativa vigente, debiendo ser aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, el cual le otorgará una clave que deberá usar.

De igual manera se hace constar que el protocolo ha sido avalado por el C.I.C.U.A.L. de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por lo que se le solicita aplicar todos los esfuerzos encaminados a minimizar el sufrimiento y la cantidad de animales a utilizar en el proyecto, así como los criterios de manejo, anestesia, analgesia y eutanasia vigentes.

Atentamente,

"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"

H. Puebla de Z., a 15 de abril de 2024

Dra. Rosario Hernández Huesca
Directora General de Investigación



c.c.p. MVZ. Francisco Ramos Collazo. Director del Bioterio "Claude Bernard". psc. Presente.
c.c.p. Archivo

Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado

Torre de Gestión Académica y Servicios Administrativos, piso 6.
Avenida Central, Ciudad Universitaria.
Puebla, Pue. C.P. 72570
Teléfonos: 229 55 00 Ext. 5720, 5621

D "RHH/gpe"

Dedicatoria:

A mis padres Javier y Maru, gracias por siempre respaldarme en mis decisiones con entrega y amor. Por y para ustedes.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dios y el Universo por cuidarme y protegerme, por guiarme con sabiduría en este camino.

Al Dr. Ismael Juárez Díaz por su gran paciencia y esfuerzo para que este trabajo saliera adelante. También quiero agradecer a todo el equipo del laboratorio de Fisiología de la facultad, que me ayudó con mucho esfuerzo para realizar este proyecto. Gracias especiales a Yami y Chris. Gracias al Dr. Eduardo Peñaloza, por su contribución y gran ayuda para realizar el procedimiento de exposición pulpar a los biomodelos. Gracias al Dr. Miguel Ángel Casillas Santana por su ayuda para la solicitud de los biomodelos ante CICUAL. Agradecimientos también al Dr. Francisco Collazo y al equipo del bioterio de la universidad por impartir el curso, la entrega de los biomodelos y la aportación del anestésico.

A mis docentes y coordinador. Gracias por todas sus ganas y dedicación para enseñar. Cada uno de ustedes me deja una gran enseñanza que aplicaré día con día. Han sido una parte fundamental en mi desarrollo profesional y personal. Gracias por enseñarnos desde la excelencia.

A mis compañeras y amigas de la maestría, Rox, Tania, Caro, Tere, Gio, Dany y Pris. Por siempre mantener un ambiente de apoyo y cariño mutuo. Siempre encontrarán una amiga en mí.

A mis hermanas de la maestría: Gaby, Daf, Paty y Andy. Sin ustedes esto hubiera sido completamente distinto. Gracias por siempre estar presentes, nunca dejarnos solas y apoyarnos en todo momento. Gracias porque siempre supimos convivir desde el respeto y el amor, ustedes marcaron mi vida.

A la familia Pérez Rivas, porque sin su apoyo este camino habría sido mucho más difícil, pero con su cariño todo se sintió más ligero. Gracias por creer en mí, por motivarme y, sobre todo, por adoptarme con el corazón como una más en su hogar.

A mis hermanos, por siempre apoyarme, animarme y motivarme a seguir adelante en mis sueños. A mis sobrinos Luis, Ian y Daniel, porque ustedes son una fuente inagotable de inspiración para mí. A mis papás, gracias por nunca negarme nada que contribuyera a mi crecimiento, pero, sobre todo, gracias por ser mi mayor razón para seguir esforzándome cada día.

Por último, pero con un significado inmenso y valioso, gracias a Jorge Luis Pérez Rivas por ser el mejor compañero, por tu amor y apoyo incondicional, por tu paciencia infinita, por tus palabras de aliento y motivación, y por ser siempre mi refugio en los momentos difíciles. Gracias por estar a mi lado desde el día uno, cuando todo esto era solo una idea. Eres y siempre serás alguien muy especial para mí.

1. ÍNDICE	
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	10
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	11
2. INTRODUCCIÓN	12
PALABRAS CLAVE	13
3. ANTECEDENTES	13
3.1 ANTECEDENTES GENERALES	13
3.1.1 Anatomía pulpar	13
3.1.2. Inflamación pulpar	15
3.1.3 Dolor	17
3.1.4 Dolor emocional	19
3.1.5 Corteza del cíngulo	20
3.1.6 Plasticidad de las espinas dendríticas	21
3.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	23
4. PLANTEAMIENTO Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	25
5. JUSTIFICACIÓN	26
6. HIPÓTESIS	26
6.1 Hipótesis científica	26
6.2 Hipótesis nula	27
7. OBJETIVOS	27
7.1 Objetivo general	27
7.2 Objetivos específicos	27
8. MATERIALES Y MÉTODOS	27
8.1 Diseño del estudio	27
8.2 Población y muestra	28
8.3 Criterios de selección	28
8.4 Variables	29
8.5 Concordancia y fiabilidad	30
8.6 Ubicación espacio-temporal	32
8.7.1 Cuidado de los animales	32

8.7.2 Selección de grupos	32
8.7.3 Marcaje de los animales	32
8.7.4 Comunicación pulpar	33
8.7.5 Eutanasia de los animales	36
8.7.6 Impregnación con solución de Golgi-Cox	36
8.7.7 Impregnación del tejido con solución de sacarosa	37
8.7.8 Corte del tejido nervioso	37
8.7.9 Revelado del tejido	38
8.7.11 Tipificación de espinas dendríticas.....	40
8.8 Análisis estadístico	40
8.9 Logística	41
9. BIOÉTICA.....	41
10. RESULTADOS	41
11. DISCUSIÓN.....	48
12. CONCLUSIÓN	54
13. BIBLIOGRAFÍA	55
14. ANEXOS	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Distribución de 20 ratas macho Sprague Dawley tras la asignación aleatoria.....	33
Figura 2 Administración de anestesia a los roedores	34
Figura 3 Roedor bajo anestesia general.	35
Figura 4 Comunicación pulpar con técnica asistida.	35
Figura 5 Impregnación de cerebros en solución Golgi-Cox.....	37
Figura 6 Cerebro de rata Sprague-Dawley colocado en platina del vibrotomo.....	38
Figura 7 Cerebro de rata Sprague-Dawley colocado en platina del vibrotomo.....	38
Figura 8 Localización del área de interés.....	39
Figura 9 Esquema de la morfología de las espinas dendríticas	40
Figura 10 Corteza anterior del cíngulo	42
Figura 11 Neurona von Economo.....	42
Figura 12 Neurona von Economo.....	42
Figura 13 Neurona von Economo.....	43
Figura 14 Neurona von Economo.....	43
Figura 15 Neurona von Economo.....	43
Figura 16 Dibujo de neurona von Economo de grupo control	44
Figura 17 Dibujo de neurona von Economo de grupo experimental.....	44
Figura 18 Densidad de espinas dendríticas	45
Figura 19 Densidad de espinas dendríticas tipo hongo.....	46
Figura 20 Densidad de espinas dendríticas delgadas.....	47
Figura 21 Cuantificación de espinas dendríticas cortas	48

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

TG	Ganglio trigeminal
A β	A beta
A δ	A delta
LPS	Lipopolisacáridos
LTA	Ácido lipoteicoico
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>S. sobrinus</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>
IL-1	Interleucina -1
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
CCL2	Quimiocina
SP	Sustancia P
CGRP	Péptido relacionado genéticamente a la calcitonina
NY	Neuropéptido Y
VIP	Péptido intestinal vasoactivo
IL-6	Interleucina - 6
NMDA	N-metil D-aspartato
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
NO	Óxido nítrico
IL-8	Interleucina - 8
IL-10	Interleucina - 10
LTP	Potenciación a largo plazo
LTD	Depresión a largo plazo
ACC	Corteza anterior del cíngulo
FEBUAP	Facultad de Estomatología BUAP
μ m	Micras
TRPV1	Receptor de potencial transitorio V1
VENs	Neuronas von Economo
CC	Corteza del Cíngulo
ED	Espinas dendríticas

2. INTRODUCCIÓN

La pulpa es un tejido conectivo laxo altamente vascularizado e innervado, se encuentra dentro del órgano dentario extendiéndose desde la corona hasta la raíz; su función es nutrir y mantener la vitalidad del diente. Este tejido, está protegido por esmalte, cemento y dentina; sin embargo, una vez que ocurre una disrupción de esta protección, las bacterias y sus toxinas como el ácido lipoteicoico, penetran en el órgano dentario hasta llegar a la pulpa, provocando una infección que desencadena una señalización de respuestas por la población celular, vascular y nerviosa del tejido, dando como resultado un proceso inflamatorio.

La inflamación pulpar, involucra la liberación de citocinas proinflamatorias, reclutamiento de células del sistema inmune y liberación de neuropéptidos, entre otros componentes formando una sopa inflamatoria. Puede manifestarse con síntomas como dolor agudo o punzante; sensibilidad al calor o al frío; o evolucionar a un dolor crónico que afecte la respuesta emocional del individuo.

El dolor, ya sea físico o emocional, es una sensación desagradable que sirve como señal de alerta, indicándonos que algo está fuera de equilibrio. A nivel físico, el dolor es una respuesta protectora del cuerpo ante lesiones o daños, motivándonos a tomar medidas para evitar más daños y permitiendo la curación. Sin embargo, el dolor no se limita a lo físico; las emociones también pueden causar malestar y angustia. Las emociones negativas como el miedo, la tristeza o la ansiedad pueden generar un dolor emocional profundo y tener efectos significativos en nuestra salud mental y física. Encima, la relación entre lo físico y emocional es bidireccional: ante la presencia de dolor crónico, el estado emocional de un individuo se puede ver afectado negativamente, asimismo, las emociones intensas pueden alterar la percepción del dolor.

La corteza del cíngulo forma parte de una red neuronal llamada sistema límbico, el cual una de sus funciones clave es la regulación de las emociones y el comportamiento. Esta corteza en particular se subdivide en varias áreas con

funciones específicas, incluyendo la corteza del cíngulo anterior, una región cerebral clave que desempeña un papel fundamental en la regulación de funciones cognitivas, emocionales y sociales en los seres humanos. Esta región se ubica en la parte frontal del cerebro, justo encima del cuerpo calloso y está involucrada con la toma de decisiones, la empatía, procesamiento emocional y la percepción y regulación del dolor. Por lo tanto, puede influir en la manera en que experimentamos y respondemos al dolor tanto físico como emocional.

Las conexiones y circuitos que se establecen en el cerebro llevan al desarrollo de diferentes pensamientos, conductas y emociones. La sinapsis de tipo excitatoria se establece sobre minúsculas protuberancias llamadas espinas dendríticas, las cuales revisten a la neurona y tienen la capacidad de cambiar morfológicamente como respuesta a una gran variedad de estímulos fisiológicos, por lo mismo, la densidad, distribución y forma de las espinas dendríticas pueden tener influencia por diversos factores medioambientales como el estrés; esto puede ser llamado neuroplasticidad.

La comprensión de cómo el dolor y las emociones se entrelazan es esencial para abordar tanto el bienestar físico como el mental de manera integral, ya que ambos aspectos están interconectados en la experiencia humana.

PALABRAS CLAVE

Pulpa dental, inflamación pulpar, dolor, vía ascendente del dolor, corteza del cíngulo, neurona, dolor emocional, neuroplasticidad.

3. ANTECEDENTES

3.1 ANTECEDENTES GENERALES

3.1.1 Anatomía pulpar

La pulpa dental, es un tejido conectivo laxo altamente innervado y vascularizado de origen mesenquimático; se encuentra encapsulada por dentina, formando el

complejo dentino-pulpar (1). Este tejido está delimitado con una línea de células únicas y especializadas; los odontoblastos. Los odontoblastos, son los encargados de sintetizar y mineralizar dentina. Por otro lado, se consideran la primera línea celular en tener contacto con microorganismos o sus productos; por consiguiente, participan en la defensa del tejido (1,2).

Bajo la capa odontoblástica y una zona libre de células, se encuentran los fibroblastos, que son las células predominantes en el tejido pulpar. Su función principal consiste en la generación de la matriz extracelular. Además, existen otros tipos celulares en la pulpa, como las células mesenquimáticas de reserva y células del sistema inmune. Las células inmunitarias, constituyen el 1% de la población celular; pueden ser encontrados macrófagos, neutrófilos, linfocitos T y células dendríticas. Asimismo, en conjunto con las células madre, fibroblastos y odontoblastos, son esenciales para la iniciación de la respuesta inmune frente a los microorganismos de la cavidad bucal (2).

La pulpa, está ampliamente suplida de nutrientes por una microcirculación compuesta de vénulas, arteriolas y capilares. Las arterias de la pulpa provienen de los vasos periodontales, ingresan como pequeñas arteriolas (3 o más) y se ramifican dentro de la pulpa coronal. Su entrada se realiza a través del foramen apical, donde continúan dividiéndose y forman un plexo subodontoblástico. Este plexo es crucial para suministrar a los odontoblastos los nutrientes y el oxígeno necesarios para llevar a cabo sus funciones (3).

Los capilares sanguíneos de la pulpa evolucionan en vénulas de pared delgada y mayor amplitud, las cuales se extienden a lo largo de la región central de la pulpa. Estas vénulas, que suelen ser una o dos, disminuyen su tamaño a medida que atraviesan el conducto radicular y abandonan la pulpa a través de la abertura apical. Por otra parte, la microcirculación de la pulpa cuenta con mecanismos para llevar a cabo el control de la presión del tejido, mediante vasodilatación y absorción de líquido intersticial (1,3).

El tejido pulpar dental posee un sistema sensorial exclusivo que mayormente provoca sensaciones dolorosas en respuesta a diversos estímulos externos. Se ha

demostrado que entre el 70% y el 90% de los axones presentes en la pulpa dental son fibras "C" no mielinizadas, y la proporción restante (10-30%) comprende pequeñas fibras "A" mielinizadas (4). Las fibras nerviosas, al igual que la microcirculación entran por el foramen apical como un paquete vasculonervioso. Al llegar a la pulpa coronal, en la parte subodontoblástica, estas fibras nerviosas se diversifican, formando el plexo de Rashkow. Las terminales nerviosas del plexo de Rashkow, pueden seguir a los procesos odontoblásticos dentro de los túbulos dentinarios (1,2).

A pesar de que la mayoría de los axones dentro de la pulpa dental carecen de mielina, la mayoría de las neuronas sensoriales que proveen inervación a la pulpa dental en el ganglio trigeminal (TG) son de tamaño grande y mediano. Estas neuronas suelen estar vinculadas con las fibras mielinizadas grandes "A β " y las fibras mielinizadas pequeñas "A δ ", respectivamente (4).

Por último, las fibras simpáticas de la pulpa dental se encuentran en menor concentración y muy cerca de los vasos sanguíneos. Además, inhiben la síntesis de citocinas proinflamatorias, estimulan la producción de citocinas antiinflamatorias y tienen efecto estimulante en los odontoblastos para la producción de dentina terciaria (1).

3.1.2. Inflamación pulpar

La dentina, es una estructura que rodea al tejido pulpar, es porosa debido a la presencia de túbulos dentinarios y está compuesta por tejido conectivo mineralizado; constituido por hidroxapatita y fibras de colágeno. Una vez que se elimina el esmalte, que funciona como una barrera protectora; la dentina queda expuesta y los túbulos dentinarios funcionan como canales de difusión hacia el tejido pulpar (5).

La entrada de microorganismos en la pulpa dental se produce debido a cambios en la integridad del órgano dentario, desencadenados por diversos procesos como caries, microfracturas en el esmalte o fracturas resultantes de traumatismos (5,6).

La inflamación es la consecuencia de la reacción del organismo al daño en la pulpa, causado por la presencia de bacterias patógenas o sus subproductos. Si la inflamación persiste, puede generar dolor y, con el tiempo, llevar a la destrucción total del tejido pulpar (6).

Los lipopolisacáridos (LPS) y el ácido lipoteicoico (LTA) son generados por diversas bacterias cariogénicas como *S. mutans*, *S. sobrinus* y *Lactobacilos*, y están vinculados a la hipersensibilidad o dolor debido a su capacidad para activar el sistema inmunológico innato (5,6).

De acuerdo con Galler et al. (2021), la primera barrera de defensa de la pulpa es la capa odontoblástica que se encuentra en la periferia del tejido. Estas células, cuentan con receptores tipo Toll y tipo NOD, lo que les confiere la capacidad de reconocer patógenos y comenzar la respuesta inflamatoria. Por consiguiente, existe la liberación de citocinas proinflamatorias como interleucina – 1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que tienen la capacidad de reclutar células como neutrófilos y monocitos al sitio de infección (2). A su vez, los odontoblastos liberan quimiocinas como CCL2, que tienen como función la atracción de células dendríticas, que, de igual forma, tienen la capacidad de reclutar células inmunitarias y, además, funcionan como células fagocitarias y presentadoras de antígeno, al igual que los macrófagos (6).

Referente a Yu y Abbott (2018) y Galler et al. (2021), las fibras nerviosas y el sistema micro circulatorio presentes en la pulpa dental, tienen un papel importante en el proceso inflamatorio. La interacción de estas dos estructuras ayuda a mantener la homeostasis del tejido pulpar; a su vez, cuando el tejido se siente amenazado y es estimulado por patógenos, las fibras nerviosas (mielínicas y amielínicas) son inducidas para secretar neuropéptidos (1,2). La sustancia P (SP), péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), neuroquinina A, neuropéptido Y (NY) y péptido intestinal vasoactivo (VIP), son liberados en dirección antidrómica (1).

La liberación de CGRP y SP por las terminaciones nerviosas, conduce a una vasodilatación y aumento de permeabilidad vascular. Sin embargo, es importante

mencionar que no son las únicas funciones de los neuropéptidos, también proporciona señales paracrinas a los odontoblastos y otras células presentes para informar sobre el estado de la pulpa, participa en el control del flujo sanguíneo, así como la presión del tejido pulpar. Además, atraen y activan directamente a las células del sistema inmune y promueven la liberación de citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF- α (1).

Todos los eventos descritos anteriormente, contribuyen a una cadena de señalización que aumenta la excitabilidad de los nociceptores, siendo un importante mecanismo de dolor pulpar periférico (1,7).

3.1.3 Dolor

El dolor, es definido como una experiencia sensorial y emocional desagradable, es subjetivo, multidimensional y actúa como señal de alerta ante un daño a los tejidos del cuerpo (8,9). Se puede clasificar al dolor por su duración como agudo y crónico, o por la causa que está generándolo como nociceptivo, neuropático, inflamatorio y neurovascular (8).

El dolor agudo surge como respuesta a estímulos nocivos resultantes de un daño tisular, y su intensidad está directamente vinculada al grado de la lesión. Se caracteriza por ser repentino, fuerte y focalizado de manera precisa (8,10).

Por el contrario, el dolor crónico es una experiencia diferente ya que convierte el dolor agudo en un fenómeno que no solo afecta físicamente al paciente, sino también puede padecer estrés, ansiedad o depresión; impactando en las emociones, el trabajo o las interacciones sociales (8,10,11). Además, se caracteriza por ser sostenido, persistente, excesivo y difuso (8).

Vía ascendente del dolor

Los nociceptores periféricos, ubicados en las terminaciones nerviosas libres de las fibras A y C de las neuronas de primer orden, detectan la señalización de estímulos perjudiciales, como el daño tisular o la presencia de un proceso inflamatorio (12).

Las neuronas de primer orden, que tienen su soma en el ganglio del trigémino, realizan sinapsis con las neuronas de segundo orden en el núcleo espinal del trigémino, encontrado en el asta dorsal del tronco encefálico (8,9,11). El núcleo espinal de trigémino está compuesto por tres subnúcleos: *oralis*, *interpolaris* y *caudalis*; siendo el subnúcleo *caudalis* la región en donde se lleva a cabo la señalización entre neuronas de primer y segundo orden (8,9).

Las neuronas de segundo orden, también denominadas neuronas de amplio rango dinámico, cruzan y ascienden contra lateralmente a través del tracto espinotalámico. Transmiten la señal a las neuronas de tercer orden ubicadas en el tálamo, las cuales finalmente proyectarán hacia la corteza cerebral (8,9,11). La percepción del dolor recae principalmente en la corteza somatosensorial primaria. No obstante, hay neuronas de tercer orden que finalizan en otras estructuras, como la corteza cingular e insular, permitiendo la percepción de sensaciones dolorosas que no son localizadas, poseen un carácter sordo y resultan dolorosas (8).

Sensibilización periférica

Cuando se produce un daño, los nociceptores experimentan un aumento en la excitabilidad de las neuronas de primer orden debido a estímulos repetidos. En este contexto, tres factores pueden propiciar la sensibilización periférica: la liberación de neuropéptidos, la presencia de macrófagos y la participación de las células gliales (11,12).

Los neuropéptidos, como SP, CGRP o glutamato, modulan la actividad de neuronas del ganglio del trigémino no dañadas; aumentando la excitabilidad de los nociceptores. También, las células de la glía, se consideran componentes esenciales en la provocación de dolor después de un daño o inflamación. Por último, los macrófagos, son moduladores que inician la respuesta reparadora del tejido mediante la liberación de citocinas (IL-1, IL-6, TNF α), quimiocinas y neuropéptidos; provocando una hiper excitación (12).

Al mismo tiempo, existe un aumento de la expresión de los canales de sodio, que llevará a la disminución de los canales de potasio; por consiguiente, la evolución a un dolor crónico (12).

Sensibilización central

Cuando ocurre el daño en la fibra nerviosa o hay presencia de inflamación persistente, el bombardeo de potenciales de acción y el aumento en la liberación de SP, CGRP y glutamato de las neuronas primarias aferentes; conlleva a la disminución del umbral de potencial de acción de la neurona de segundo orden, ocasionando una reducción de síntesis de GABA, y en consecuencia un aumento de la excitabilidad de las neuronas. Un factor importante para el comienzo de la sensibilización central es la activación de receptores NMDA en las neuronas de segundo orden; estos receptores permiten la transmisión de dolor de manera ascendente (11).

La constante estimulación de las fibras nerviosas, como rangos repetidos de bajo estímulo y la acción de los neuropéptidos, células del sistema inmune y aumento en la concentración de citocinas, conducen a la hiperexcitación que se ve manifestada como hiperalgesia; dada por la despolarización y neuroplasticidad de las fibras nerviosas (9,12). Por otro lado, existe la reorganización fenotípica en la expansión del campo receptor y terminación de neuronas sensoriales mecanorreceptoras, dando como resultado la manifestación de alodinia (11).

Así mismo, el aumento de la síntesis de óxido nítrico (NO), provoca la excitabilidad alterada de las neuronas. Por ejemplo, en neuronas no dañadas, provoca la sensibilización a nivel del ganglio del trigémino; en cambio, el aumento de la excitabilidad en neuronas dañadas genera la presencia de dolor persistente (12).

3.1.4 Dolor emocional

El dolor es una experiencia multidimensional debido a que influyen factores sensoriales, emocionales, cognitivos y culturales. En consecuencia, la percepción del dolor desencadena cambios químicos en la parte cognitiva del cerebro (13,14).

Muchos sistemas humorales y cognitivos son activados cada vez que percibimos dolor. En cuanto al dolor emocional, tiene la capacidad de privar al sujeto que lo padece de llevar a cabo actividades del día a día; además, junto con el estrés pueden llevar a situaciones angustiosas que exacerban o desencadenan dolor físico (13). Pongamos por caso la ansiedad relacionada con el dolor; cuenta con cuatro características: pensamientos de miedo sobre el dolor o sus consecuencias, síntomas de ansiedad cognitiva, síntomas de ansiedad somática y escape/evitación del dolor; La quinesofobia, definida como un miedo excesivo e irracional al movimiento o a la presencia de una nueva lesión, es un aspecto característico del dolor y la ansiedad (15).

Es importante mencionar que, independientemente de la fuente o carácter, el dolor proviene de un proceso inflamatorio. Es decir, la inflamación desencadena la liberación de diferentes factores como citocinas, neuropéptidos, factores de crecimiento y neurotransmisores que influyen en los cambios bioquímicos que conllevan a la percepción del dolor. En relación con el dolor físico y emocional, los cambios bioquímicos son similares; por ejemplo, se ha demostrado que personas con depresión expresan citocinas como IL-2, IL-6, IL-8, IL10 y TNF α (13).

El dolor crónico, puede generar cambios en diferentes regiones del cerebro, activando además de la percepción del dolor; la memoria y la cognición. Concretamente, dependiendo del tipo de estímulo, posición y frecuencia de los nociceptores pueden ser activadas estructuras como la corteza somatosensorial, corteza del cíngulo y cerebro anterior, estructuras relacionadas con el estrés, rechazo social y alienación (13,14). En conclusión, el dolor y las emociones tienen la capacidad de modularse e influirse mutuamente a través diferentes vías (13,15).

3.1.5 Corteza del cíngulo

La corteza del cíngulo, una estructura cerebral fundamental del sistema límbico forma parte de una red de estructuras cerebrales dedicadas a las emociones, la memoria y la toma de decisiones. Situada en la región central del cerebro, justo por encima del cuerpo calloso, la cual actúa como la estructura divisoria entre los

dos hemisferios cerebrales (16). De acuerdo con Rolls et al. (2019), la corteza del cíngulo se divide en tres partes: corteza anterior, corteza media y corteza posterior (16).

La corteza anterior del cíngulo está relacionada con el procesamiento emocional y la regulación de las respuestas emocionales; también está involucrada en la resolución de conflictos y la toma de decisiones morales. Esta región cerebral se activa en situaciones que implican la evaluación de recompensas, la detección de errores y el control cognitivo. Adicionalmente, también es activada al momento de la modulación del dolor tanto emocional como físico (16,17). Por otro lado, la corteza del cíngulo posterior juega un papel esencial en la memoria y la orientación espacial. Ayuda a integrar información sobre la ubicación del cuerpo en el espacio y está involucrada en la navegación y el recuerdo de eventos pasados (17–19).

Ambas partes de la corteza del cíngulo están interconectadas con otras regiones cerebrales, como el hipocampo, la amígdala y la corteza prefrontal, formando una red compleja de circuitos neuronales que contribuyen a las funciones emocionales y cognitivas (17,19). Además de sus funciones básicas, la corteza del cíngulo también ha sido objeto de investigación en el contexto de trastornos mentales y neurológicos, como la depresión, la ansiedad, la esquizofrenia y la enfermedad de Alzheimer (17).

3.1.6 Plasticidad de las espinas dendríticas

En 1888, Ramón y Cajal (20,21). describió un elemento fundamental en el complejo e interesante mundo de las neuronas, las espinas dendríticas. Gracias a estas pequeñas protuberancias que se encuentran en las dendritas, se puede llevar a cabo la comunicación neuronal. Cabe destacar que, la mayoría de las sinapsis de tipo excitatorio se dan sobre estas estructuras; además, el almacén de información está dado por la aparición o eliminación de estas estructuras.

En primer lugar, su morfología única permite una conexión sináptica más específica. Las espinas dendríticas son minúsculas protuberancias

protoplasmáticas que revisten la superficie de muchas neuronas. Su estructura consta de tres elementos básicos: la base que se encuentra en el cruce con el eje principal de la dendrita, el cuello y la cabeza (que entra en contacto con el axón) (20). Generalmente, estas espinas se clasifican en 4 tipos de acuerdo con su morfología:

- Espinas delgadas: tienen una cabeza pequeña y se consideran poco estables (20).
- Espinas cortas sin cuello: al carecer de un cuello distintivo, la conexión entre la espina y la dendrita es más directa, lo que potencialmente puede influir en la eficacia de la comunicación sináptica en esa región particular (20).
- Espina en forma de hongo: tiene una cabeza más grande y una base más estrecha. Se cree que las espinas en forma de hongo están asociadas con una mayor estabilidad sináptica y pueden ser cruciales para la consolidación a largo plazo de la memoria (20).
- Espinas ramificadas o en forma de copa con dos cabezas unidas a un único cuello estrecho: esta morfología específica sugiere una conexión sináptica más compleja y posiblemente una mayor capacidad de integración de señales (21).

Se ha observado que las espinas dendríticas pueden aumentar o disminuir de tamaño en respuesta a la estimulación sináptica, lo que sugiere un papel clave en la plasticidad cerebral a largo plazo. Este proceso es esencial para adaptarse a nuevas experiencias y aprendizajes, permitiendo que la red neuronal se moldee y optimice para mejorar el procesamiento de la información (21).

El cambio de forma de las espinas dendríticas, conocido como plasticidad sináptica, es un fenómeno dinámico que ocurre en respuesta a la actividad neuronal. Hay varios mecanismos involucrados en este proceso: A) actividad sináptica: La principal fuerza impulsora detrás del cambio en las espinas dendríticas es la actividad sináptica. Cuando una sinapsis es estimulada repetidamente, ya sea debido a la entrada de otras neuronas o a la activación

local, desencadena cambios en la espina. B) Potenciación a Largo Plazo (LTP): La LTP es un fenómeno en el que la estimulación repetida de una sinapsis refuerza la eficacia de la transmisión sináptica. En el contexto de las espinas dendríticas, la LTP a menudo conduce al aumento de tamaño de la espina y a la formación de nuevas sinapsis. C) Depresión a Largo Plazo (LTD): Contrariamente a la LTP, la LTD debilita la eficacia de la transmisión sináptica. Esto puede resultar en la retracción de una espina dendrítica o incluso en su eliminación. La LTD es esencial para equilibrar la fuerza de las sinapsis y para el olvido selectivo. D) Cambios en la Actividad Celular: Factores intracelulares, como la concentración de calcio en la célula, también pueden influir en la forma de las espinas dendríticas. La entrada de calcio desencadenada por la actividad sináptica juega un papel crucial en la modulación de las espinas. E) Participación de Filamentos de Actina: El citoesqueleto de actina en las espinas dendríticas es dinámico y susceptible de cambio. La remodelación de la actina es esencial para los cambios morfológicos en las espinas. La polimerización y despolimerización de los filamentos de actina permiten la expansión o retracción de las espinas (20,21).

3.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Al emprender la revisión bibliográfica en busca de antecedentes específicos relacionados con el tema de investigación, se ha constatado una escasa presencia de literatura que aborde aspectos similares al enfoque propuesto. Aunque no existan investigaciones específicas sobre este tema, se ha recurrido a estudios relacionados que, proporcionan valiosas percepciones sobre la adaptación neuronal en condiciones similares.

La interpretación cuidadosa de estos antecedentes específicos permite establecer conexiones teóricas que sugieren la posibilidad de cambios en la morfología neuronal en respuesta a estímulos similares.

Según Yang Z et al. (2018). la excitabilidad intrínseca de la capa II/III de neuronas piramidales de la corteza anterior del cíngulo en dolor neuropático, incluyendo la

curva de entrada-salida, el intervalo entre picos, el umbral de picos y el período refractario. Realizaron registros de “patch clamp” (una técnica para medir el funcionamiento celular de forma eléctrica) de células nerviosas para estudiar la transmisión sináptica y la excitabilidad intrínseca neuronal 1 semana después de la lesión nerviosa preservada o la operación simulada en ratones macho C57BL/6J. Como conclusión, el estudio demostró una mayor excitabilidad intrínseca y una menor precisión de sincronización de los picos en las neuronas piramidales de capa II/III de ACC en ratones con dolor neuropático (22).

Banerjee et al. (2011). Probaron la hipótesis de que la presencia de ácido gástrico en el esófago en los primeros años de vida da como resultado una modulación a largo plazo de la neuroplasticidad de la corteza del cíngulo. Evaluaron las subunidades del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) en tejidos rostrales de ratas Sprague-Dawley expuestas a ácido gástrico durante los días postnatales y/o de forma aguda, en adultos. Obteniendo como resultados que la exposición aguda provoca un aumento transitorio en la expresión de las subunidades del receptor NMDA (23).

Con respecto a Murugappan et al. (2019). Investigaron el rendimiento de la toma de decisiones y las alteraciones neuronales en el circuito del núcleo espinal del trigémino y el circuito neuronal de la corteza cingulada anterior (ACC) en ratas macho Sprague-Dawley con dolor neuropático crónico del trigémino. Se realizó constricción crónica del nervio infraorbitario y se evaluó la presencia de alodinia hasta 30 días después de la cirugía; se realizó un registro electrofisiológico de las respuestas al estímulo nocivo. Los resultados obtenidos indican que, la lesión y la presencia de dolor crónico condujo a una disminución de la proporción de buena toma de decisiones de las ratas. Además, los registros electrofisiológicos mostraron la potenciación sináptica de larga duración, lo que indica atrofia de las vainas de mielina (24).

4. PLANTEAMIENTO Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

El dolor se define como una sensación multidimensional y desagradable que actúa como un mecanismo de defensa, se manifiesta tanto en el ámbito físico como emocional y es interpretado de manera individual por quienes lo experimentan.

En el campo de la endodoncia, el dolor surge como la complicación principal a abordar. Este puede presentarse de manera localizada o referida, acompañado de fenómenos como alodinia e hiperalgesia. Agravando la situación, los pacientes acuden a la consulta con una carga considerable de irritabilidad emocional, dificultando la interacción debido a limitaciones en acciones cotidianas como comer o comunicarse.

En el centro de esta problemática yace la capacidad de las neuronas para modificar su morfología como respuesta al dolor. La adaptación neuronal, reflejada en cambios en las espinas dendríticas, no solo contribuye a la sensibilización, intensificando la percepción del dolor, sino que también complica el diagnóstico y tratamiento.

La conexión entre la adaptación neuronal y la vivencia emocional del paciente se rige como un elemento crucial. Las alteraciones en la morfología de las espinas dendríticas no solo impactan la transmisión de señales dolorosas, sino que también pueden ser un factor subyacente en la irritabilidad emocional observada en pacientes de endodoncia. Comprender cómo estas modificaciones contribuyen a esta dinámica compleja resulta esencial para mejorar tanto el diagnóstico como el abordaje del dolor en el contexto endodóntico.

Por lo tanto, surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Existe alteración en la morfología y densidad de las espinas dendríticas de las neuronas del cíngulo en animales con exposición pulpar?

5. JUSTIFICACIÓN

La presencia de caries profunda, fisuras o fracturas con exposición pulpar desencadena respuestas inmunológicas e inflamatorias en la pulpa dental. En el caso de una inflamación persistente, originada por la proliferación de microorganismos, se puede llegar a una necrosis pulpar.

Este proceso inflamatorio constante activa las terminaciones nerviosas en el tejido pulpar, generando una señal de dolor crónico. En el ámbito de la endodoncia, donde el dolor es un desafío diario, esta situación dificulta tanto el diagnóstico como el manejo de posibles afecciones.

El dolor, como señal de alerta, puede transformarse en un estímulo discapacitante que afecta la respuesta emocional del individuo. Es en este contexto que se vuelve crucial explorar cambios morfológicos en la corteza del cíngulo, una estructura asociada con el dolor emocional o psicológico.

La plasticidad morfológica en las espinas dendríticas de las neuronas del cíngulo se presenta como una pieza clave. Estudiar cómo estas espinas se modifican en respuesta a la exposición pulpar y al dolor crónico no solo aporta a la endodoncia, mejorando diagnósticos y tratamientos, sino que también proporciona una ventana única hacia los mecanismos adaptativos del sistema nervioso central.

Entender la relación entre la exposición pulpar, la morfología neuronal y el dolor crónico no solo amplía nuestra perspectiva sobre la respuesta al dolor, sino que también abre posibilidades de intervenciones clínicas y terapéuticas.

En resumen, este estudio no solo impactará positivamente en la práctica de la endodoncia, sino que también podría contribuir significativamente a la comprensión general de los procesos neurobiológicos asociados con el dolor crónico y su conexión con la experiencia emocional.

6. HIPÓTESIS

6.1 Hipótesis científica

Los estímulos nocivos inducidos por exposición de la pulpa dental inducen el cambio en la forma y densidad de espinas dendríticas de neuronas de la corteza anterior del cíngulo.

6.2 Hipótesis nula

Los estímulos nocivos inducidos por exposición de la pulpa dental no inducen el cambio en la forma de espinas dendríticas de neuronas de la corteza anterior del cíngulo.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

- Determinar la asociación entre la exposición de la pulpa dental y la plasticidad morfológica de las espinas dendríticas en la Corteza Anterior del Cíngulo.

7.2 Objetivos específicos

1. Inducir comunicación pulpar en los primeros y segundos molares de ratas Sprague Dawley.
2. Conducir evaluaciones de algesia previas a la eutanasia mediante pruebas específicas como el tail-flick test.
3. Evaluar la densidad dendrítica en las dendritas de las neuronas.
4. Realizar la tipificación de las espinas dendríticas, considerando sus formas tales como hongo, delgadas, enanas y filopodio.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Diseño del estudio

Diseño Experimental.

Transversal, analítico, de cohorte y prospectivo.

In- vivo

Ex- vivo

8.2 Población y muestra

Población: 20 ratas macho de la cepa Sprague Dawley.

Muestra: neuronas von Economo encontradas en la corteza anterior del cíngulo, fragmentos dendríticos.

8.3 Criterios de selección

Inclusión:

- ✓ Cepa Sprague Dawley macho de 28 días de edad.
- ✓ Tejido nervioso que no se encuentre fragmentado y que no dificulte la observación del área de interés.

Para el análisis del tejido:

- ✓ Correcta tinción de la neurona.
- ✓ Neurona no fragmentada.
- ✓ Que se encuentre lo suficientemente aislada para distinguir las dendritas de la neurona elegida.

Exclusión:

- ✓ Ratas que no pertenezcan a la cepa Sprague Dawley y aquellas cuya edad no esté dentro del rango de 28 días.
- ✓ Tejido nervioso fragmentado.

Para el análisis del tejido:

- ✓ Neurona no definida.
- ✓ Neurona fragmentada.

- ✓ Que no se encuentre lo suficientemente aislada para poder distinguir las dendritas.

8.4 Variables

Tabla 1 Variables dependientes

Variable dependiente	Definición conceptual	Definición operacional	Categoría
Neurona	Célula del sistema nervioso central que es afectada por estímulos periféricos	Localización y elección de la célula en el núcleo de interés. Buscando que esté bien teñida, completa y aislada para poder dibujarla.	Descriptiva
Tipificación de espinas dendríticas	Son pequeñas protuberancias citoplasmáticas de las dendritas, su morfología es modificada y puede sugerir la presencia de alteraciones en la comunicación sináptica.	Identificar y visualizar a través del microscopio las espinas dendríticas. Diferenciando las siguientes formas: filopodio, en hongo, delgada y cortas sin cuello.	Cuantitativa y descriptiva
Densidad de espinas dendríticas	Cantidad de espinas por cada 10 micrómetros de longitud.	Visualizar a través de un objetivo de inmersión (110x) de un microscopio Leica DM1000 las dendritas más distales de las neuronas dibujadas	Cuantitativa

previamente a 40x.

Inflamación pulpar	Respuesta del tejido pulpar ante un estímulo irritante o dañino.	Presencia y magnitud de la inflamación en la pulpa dental evaluada a través de la tinción de hematoxilina y eosina.	Cuantitativa y descriptiva
Dolor	Sensación desagradable, subjetiva y multidimensional asociado a un potencial o real daño de los tejidos y que se expresa en términos de dicho daño. (IASP,2019)	Evaluar a través de la prueba "Tail-flick".	Cuantitativa nominal Sí/No

<i>Variable independiente</i>	<i>Definición conceptual</i>	<i>Definición operacional</i>	<i>Categoría</i>
--------------------------------------	-------------------------------------	--------------------------------------	-------------------------

Tabla 2 Variable independiente

Exposición pulpar	Estímulo mecánico, químico o térmico que se vuelve nocivo ante una exposición prolongada, provocando daño tisular. Este estímulo es captado por receptores periféricos que transmiten la información a nivel central.	Realizar exposición con fresas (equipo estomatológico) en primer molar maxilar superior derecho o izquierdo; posteriormente evaluar clínicamente datos de inflamación en la zona expuesta.	Cuantitativa nominal Sí/No
--------------------------	---	--	-------------------------------

8.5 Concordancia y fiabilidad

Se aprobó un curso sobre manejo y cuidado de animales de laboratorio en el Bioterio Central “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, con el objetivo de aprender las técnicas necesarias para trabajar con los animales de laboratorio de manera adecuada.

Posteriormente, en el laboratorio de fisiología de la Facultad de Estomatología y con la guía de un experto, se realizaron las reproducciones bidimensionales de las neuronas del núcleo de interés. Para lograrlo, se llevaron a cabo las siguientes actividades:

1. Entrenamiento en el manejo y uso del microscopio óptico simple.
2. Adiestramiento en el uso de la cámara lúcida.
3. Identificación del núcleo de interés en el microscopio.
4. Realización de dibujos de 10 neuronas, y tipificación de las espinas dendríticas.
5. Comparación de los resultados obtenidos con los del experto.
6. Validación del proceso mediante el análisis estadístico denominado "Coeficiente de Correlación Intraclase", considerando que un valor entre 0.61 y 0.80 indicaba que el alumno estaba estandarizado.

9.6 Ubicación espacio-temporal

Este proyecto se realizó en el laboratorio de Fisiología de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP).

9.7 Procedimientos, técnicas y fuentes de recolección

Para este proyecto se utilizaron ratas de la cepa Sprague-Dawley, proporcionadas por el bioterio "Claude Bernard" de la BUAP.

8.7.1 Cuidado de los animales

Todos los procedimientos se realizaron conforme a lo estipulado en la norma NOM-062-ZOO para el cuidado y manejo de animales de laboratorio. Las ratas fueron criadas y mantenidas en condiciones ambientales ideales, que incluyeron:

- Temperatura: 18° a 26°C, ideal de 22°C.
- Humedad: 40-70%.
- Aire: 15 a 20 cambios por hora.
- Ruido: no más de 85 dB.
- Ciclo de luz: 12 horas de luz por 12 horas de oscuridad.
- Espacio: 150 cm² por cada 200 g de peso.

Se garantizó el libre acceso a comida y agua durante todo el proceso.

8.7.2 Selección de grupos

Se seleccionaron 20 ratas macho de la cepa Sprague Dawley, con una edad de 28 días y un rango de peso entre 80 y 120 g.

8.7.3 Marcaje de los animales



Figura 1 Distribución de 20 ratas macho Sprague Dawley tras la asignación aleatoria. Los roedores marcados con tinta azul fueron los asignados al grupo lesión, mientras que los marcados con tinta negra pertenecieron al grupo control. (Fuente propia).

Una vez seleccionadas las ratas, se les asignó un número aleatorio del 1 al 10. Diez ratas formaron el "grupo sham" (falsa lesión o control), mientras que las otras diez conformaron el "grupo lesión" (Figura 1). Posteriormente, se pesaron los 20 roedores para determinar la dosis exacta de anestésico que se administraría durante el procedimiento quirúrgico.

Ambos grupos fueron monitoreados cada día para verificar el cumplimiento de los estándares de cuidado. Además, cada rata fue pesada con la misma periodicidad para llevar un registro durante todo el proceso. El monitoreo del peso se inició después de realizar la comunicación pulpar, aunque los cuidados ambientales se implementaron desde el nacimiento de las ratas.

8.7.4 Comunicación pulpar

Se registraron los pesos de cada animal para calcular el volumen exacto de anestésico necesario. La comunicación pulpar directa se llevó a cabo en los primeros y segundos molares inferiores derechos de la mandíbula, en el laboratorio de Fisiología de la Facultad de Estomatología de la BUAP.

El procedimiento comenzó con la administración de anestesia (Ketamina/Xilacina) a una dosis de 0.2 ml/100 g de peso, administrada vía intraperitoneal (Figura 2). Las ratas fueron tratadas en orden ascendente según su numeración. En el grupo control, solo se administró anestesia sin realizar ningún procedimiento adicional. En el grupo lesión, una vez alcanzado el efecto anestésico esperado, se llevó a cabo la comunicación pulpar utilizando una pieza de alta velocidad (W&H, Austria) y una fresa de ¼ de bola de carburo (SSA White, EUA). La técnica fue asistida a cuatro manos para garantizar el cuidado y conservación de los tejidos (Figura 3) (Figura 4).

Durante el procedimiento, se mantuvieron las condiciones óptimas de temperatura y acceso a las vías aéreas para evitar el deceso de los roedores por hipotermia inducida por la anestesia.



Figura 2 Administración de anestesia a los roedores. Los roedores fueron anestesiados con Ketamina/Xilacina al 2% mediante vía intraperitoneal. (Fuente propia)



*Figura 3 Roedor bajo anestesia general. Roedor colocado en la plataforma de trabajo, previamente a la realización de la comunicación pulpar.
(Fuente propia)*



Figura 4 Comunicación pulpar con técnica asistida. Procedimiento de comunicación pulpar realizado con técnica a 4 manos para garantizar precisión y cuidado de los tejidos. (Fuente propia)

Tras la comunicación pulpar, se esperó la recuperación total de los animales antes de devolverlos al bioterio central “Claude Bernard”, donde fueron supervisados por personal capacitado. Ambos grupos fueron pesados y monitoreados diario hasta completar un periodo de 5 días con la cavidad expuesta al medio bucal.

8.7.5 Eutanasia de los animales

Al cumplir los 5 días, se procedió a realizar la eutanasia de los roedores. Para este procedimiento, se registró el peso de cada una de las ratas para calcular y administrar la solución anestésica adecuada. Las ratas fueron anestesiadas con una dosis de Ketamina/Xilacina al 2% y se llevó a cabo la técnica de fijación por perfusión, que consistió en perfundir solución salina al 0.9% a través del ventrículo izquierdo. Este procedimiento permitió la extracción del tejido nervioso, que era el objetivo del estudio.

8.7.6 Impregnación con solución de Golgi-Cox

Cada uno de los cerebros extraídos fue inmerso en 20 ml de solución Golgi-Cox, contenida en frascos ámbar individuales para evitar el paso de luz y mantener el tejido en condiciones óptimas para una correcta fijación. La impregnación con esta solución fue selectiva para las células nerviosas y sus prolongaciones dendríticas (25).

La solución de Golgi-Cox estaba compuesta por:

- Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 170 mM.
- Cloruro de mercurio ($HgCl_2$) 200 mM.
- Cromato de potasio (K_2CrO_4) 200 mM.

La impregnación del tejido se realizó durante 5 días, tras lo cual se filtró la solución para eliminar el precipitado formado. Posteriormente, los cerebros se colocaron nuevamente en la solución renovada, con un tiempo total de almacenaje de 14 días (Figura 5).

8.7.7 Impregnación del tejido con solución de sacarosa

Después de 14 días, la solución Golgi-Cox fue retirada de los recipientes y sustituida por una solución de sacarosa al 30%. Esta solución confirió flexibilidad al tejido para minimizar el riesgo de fractura durante los cortes. Al cambiar la solución, el tejido fue dividido en dos hemisferios (izquierdo y derecho) mediante un corte sagital. Los cerebros se almacenaron en completa oscuridad durante 3 días adicionales.



Figura 5 Impregnación de cerebros en solución Golgi-Cox. Cerebros inmersos en 20 ml de solución Golgi-Cox, contenida en frascos ámbar individuales para evitar el paso de luz.

8.7.8 Corte del tejido nervioso

Al finalizar el periodo de impregnación, se retiró el excedente de solución, y cada cerebro se montó en la platina de un vibrotomo motorizado modelo MA752. Este se sumergió en solución de sacarosa a temperatura ambiente hasta que el tejido quedó completamente cubierto.

El tejido fue seccionado en orientación coronal, con un grosor de 200 micras por corte, y se colocó en laminillas previamente gelatinizadas al 2% bajo presión (Figura 6, Figura 7). Las laminillas fueron mantenidas en una cámara húmeda para su posterior revelado (26).



Figura 6 Cerebro de rata Sprague-Dawley colocado en platina del vibrotomo. (Fuente propia)



Figura 7 Cerebro de rata Sprague-Dawley colocado en platina del vibrotomo. (Fuente propia)

8.7.9 Revelado del tejido

Los cortes obtenidos se sometieron a un proceso de revelado que incluyó los siguientes pasos:

1. Enjuague con agua destilada durante 1 minuto.
2. Tratamiento con hidróxido de amonio durante 30 minutos.
3. Enjuague con agua destilada durante 1 minuto.
4. Aplicación de fijador rápido Kodak al 50% durante 30 minutos.
5. Enjuague con agua destilada durante 1 minuto.

6. Deshidratación del tejido mediante concentraciones crecientes de etanol (50%, 70%, y 95%) por 1 minuto en cada una, finalizando con 5 minutos en alcohol absoluto (repetido dos veces).
 7. Sumersión en xileno durante 15 minutos.
 8. Cubrimiento del tejido con resina sintética al 60% en xilol, usando cubreobjetos.
- Finalmente, el tejido fue resguardado en oscuridad para su secado.

8.7.10 Criterios para la selección del tejido a analizar (Figura 8).

Se seleccionaron los tejidos que cumplían con los siguientes criterios:

1. Buena tinción de las neuronas.
2. Ausencia de fragmentación.
3. Aislamiento suficiente para distinguir claramente las dendritas (26).

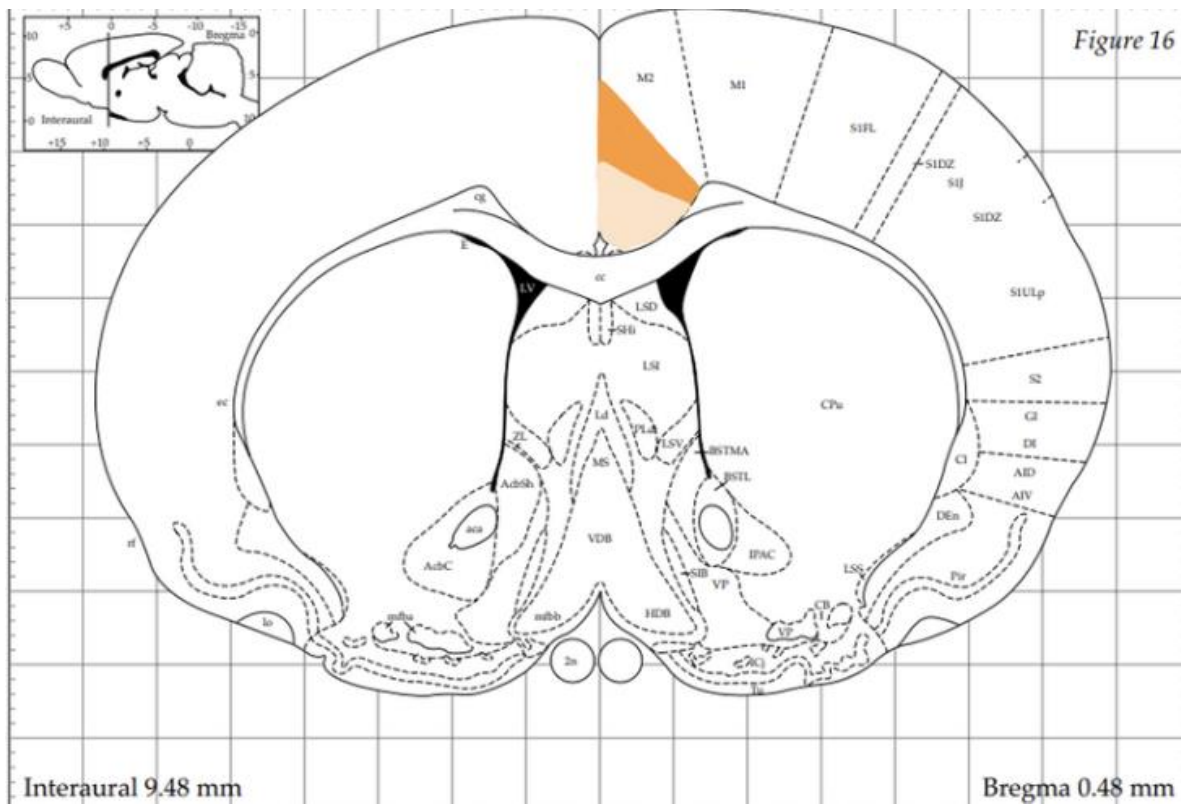


Figura 8 Localización del área de interés. Corteza anterior del cíngulo. Imagen tomada y modificada de Paxinos y Watson, 1998.

8.7.11 Tipificación de espinas dendríticas

Para cada neurona seleccionada, se analizaron la densidad y las características de las espinas dendríticas en la dendrita más distal mediante un microscopio óptico con un objetivo de inmersión (100x) de un microscopio Leica DM1000. Se clasificaron 100 espinas dendríticas según sus características morfológicas en los mismos segmentos empleados para la cuantificación de su densidad. Las espinas se dividieron en cinco grupos:

1. Filopodios.
2. Delgadas: longitud mayor al diámetro del cuello, con diámetros similares entre cabeza y cuello.
3. Hongo: diámetro del cuello menor que el de la cabeza.
4. Cortas: diámetro del cuello similar a la longitud de la espina.
5. Bifurcadas: presencia de dos cabezas (21).

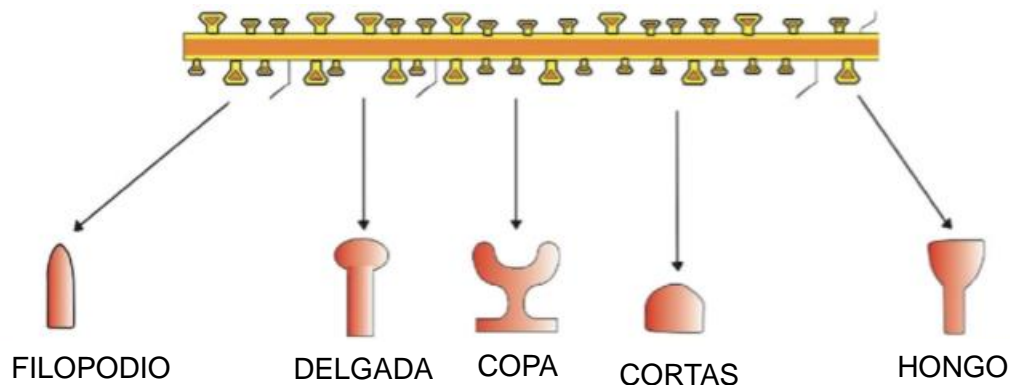


Figura 9 Esquema de la morfología de las espinas dendríticas. (Tomado y modificado de S.B. Chidambaram et al. 2019).

8.8 Análisis estadístico

Se utilizó la prueba estadística **T-student de medidas repetidas para muestras no pareadas**.

8.9 Logística

8.9.1 Recursos humanos

Este proyecto fue realizado por la alumna encargada del proyecto, el director de tesis, el director disciplinario, el director metodológico y el asesor externo.

8.9.2 Recursos materiales

Los recursos materiales fueron adquiridos por la alumna que realizó el proyecto de investigación. También, se utilizaron materiales presentes en el laboratorio de fisiología de la FEBUAP.

8.9.3 Recursos financieros

Adquiridos por la alumna que realizó la investigación.

9. BIOÉTICA

Este proyecto se realizó bajo las especificaciones de las siguientes normas:

Norma Oficial Mexicana

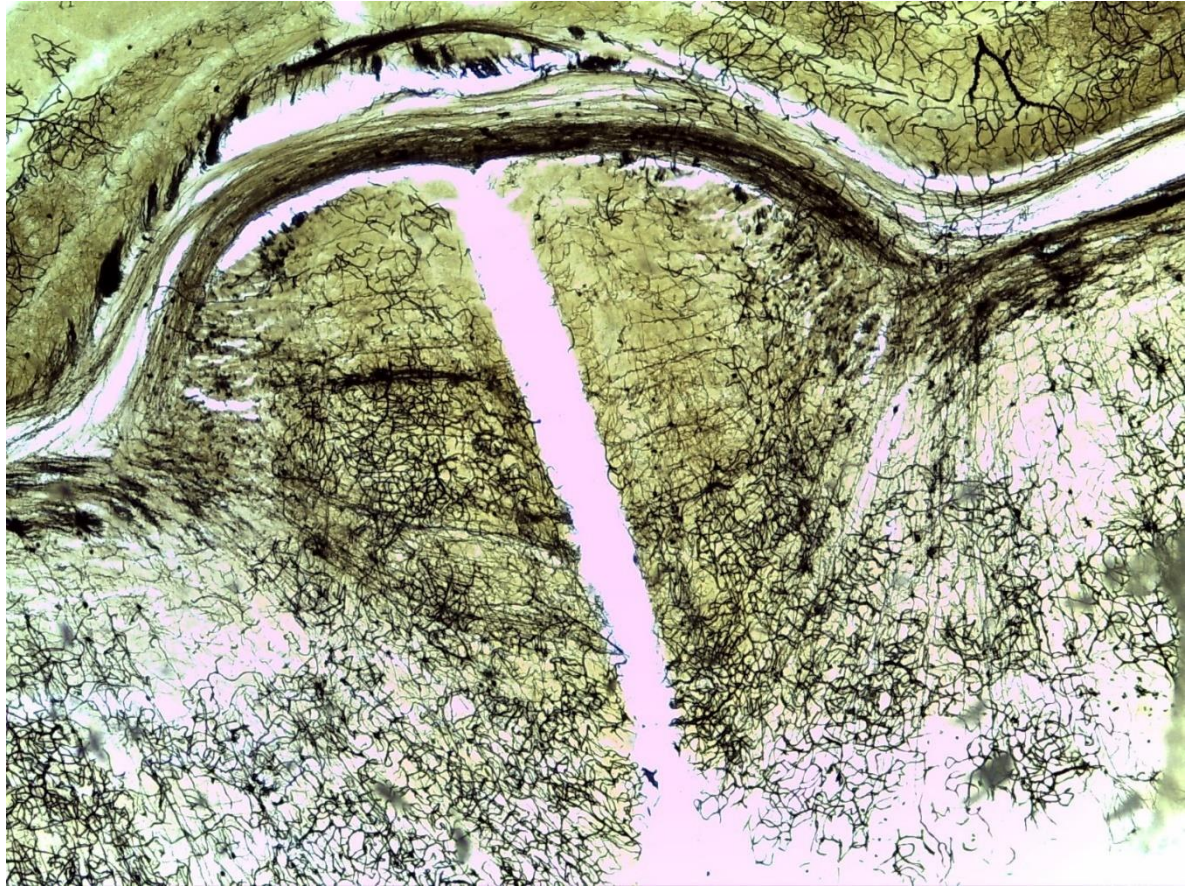
- NOM-062-ZOO-1999: cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002: Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos.

Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente.

10. RESULTADOS

A continuación, se muestran las imágenes encontradas de los cortes realizados del tejido nervioso estudiado. Se puede observar una vista panorámica de la zona de interés a analizar (Fig.10).

Figura 10 Corteza anterior del cíngulo. Se observa corte transversal del tejido nervioso de animal experimental, en donde se ve la zona a evaluar. (fuente propia)



Asimismo, se identificaron neuronas von Economo, caracteriza

das por su soma fusiforme y dos dendritas principales que emergen de manera perpendicular, tanto en el grupo control (Fig. 11, 12) como en el grupo experimental (Figs. 13 - 15).

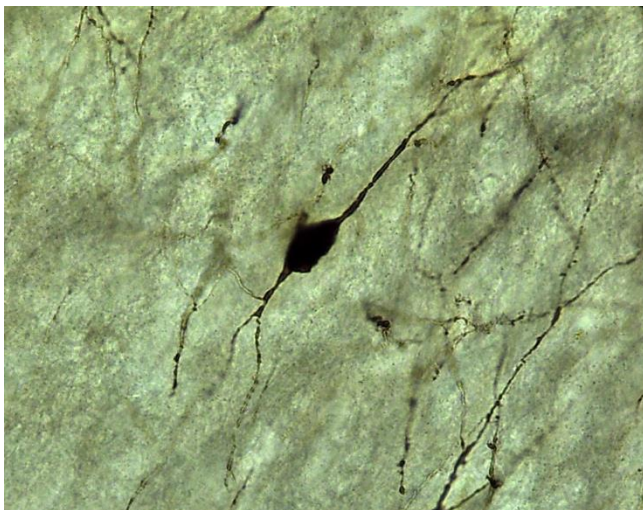


Figura 11 Neurona von Economo. Célula observada a 40x desde microscopio óptico. (Fuente propia).

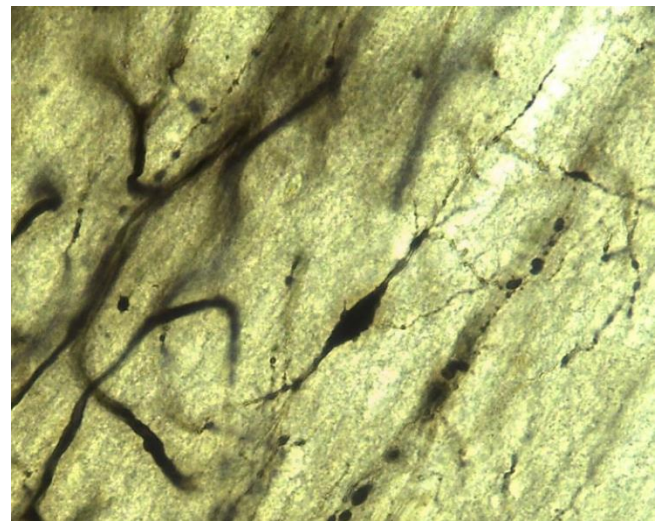


Figura 12 Neurona von Economo. Célula observada a 40x desde microscopio óptico. (Fuente propia).

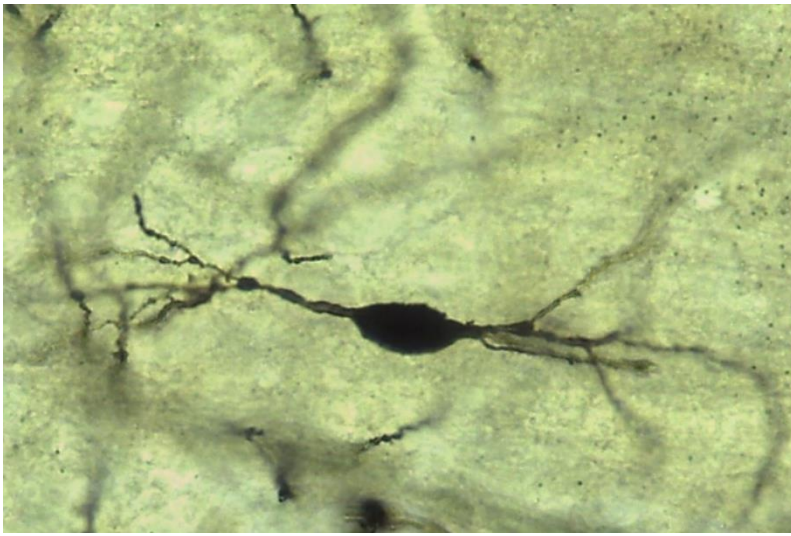


Figura 13 Neurona von Economo. Célula observada a 40x desde microscopio óptico del grupo experimental. (Fuente propia)

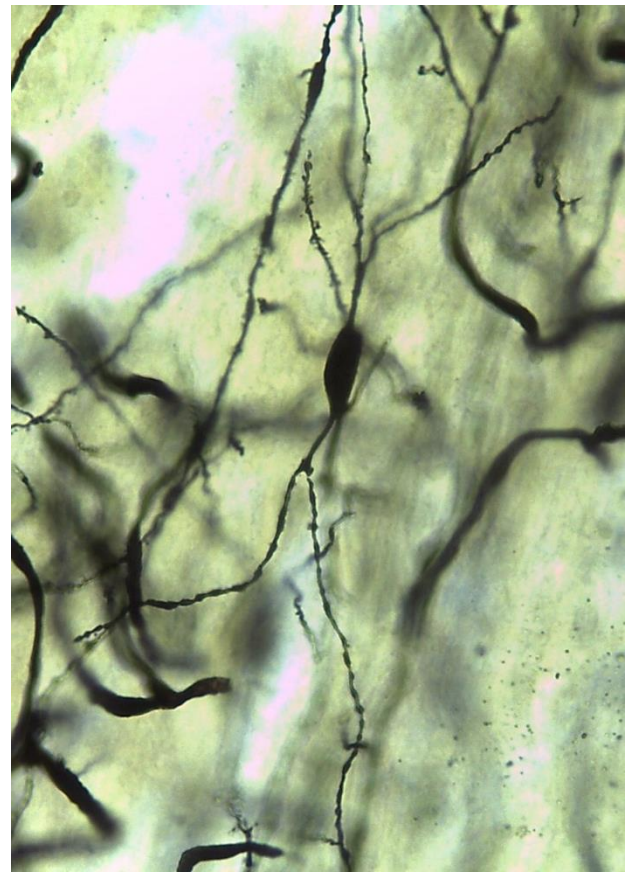


Figura 14 Neurona von Economo. Célula observada a 40x desde microscopio óptico del grupo experimental. (Fuente propia)

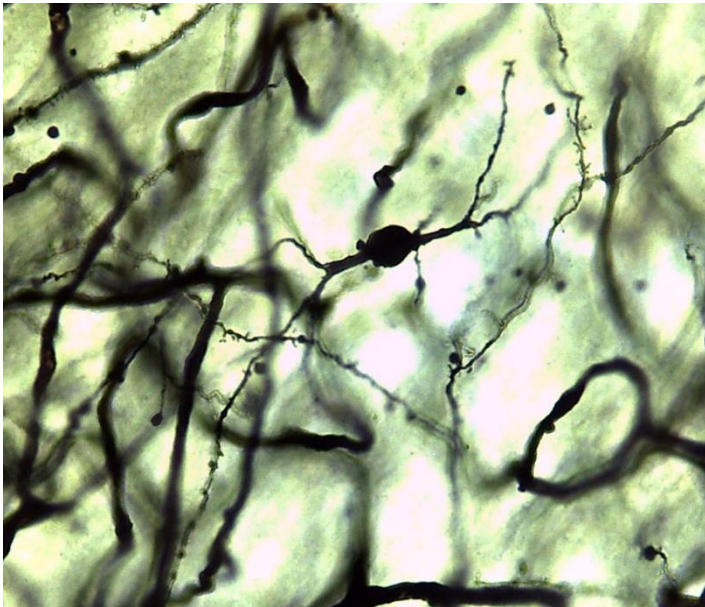


Figura 15 Neurona von Economo. Célula observada a 40x desde microscopio óptico del grupo experimental. (Fuente propia)

Se realizaron los dibujos de las neuronas von Economo y tipificación de las espinas dendríticas con ayuda de una cámara lúcida acoplada a microscopio óptico Leica DM 500. Donde posteriormente se cuantificaron las espinas dendríticas por fragmentos de 1.8 cm (equivalente a 10 micras) (Figs. 16 y 17).

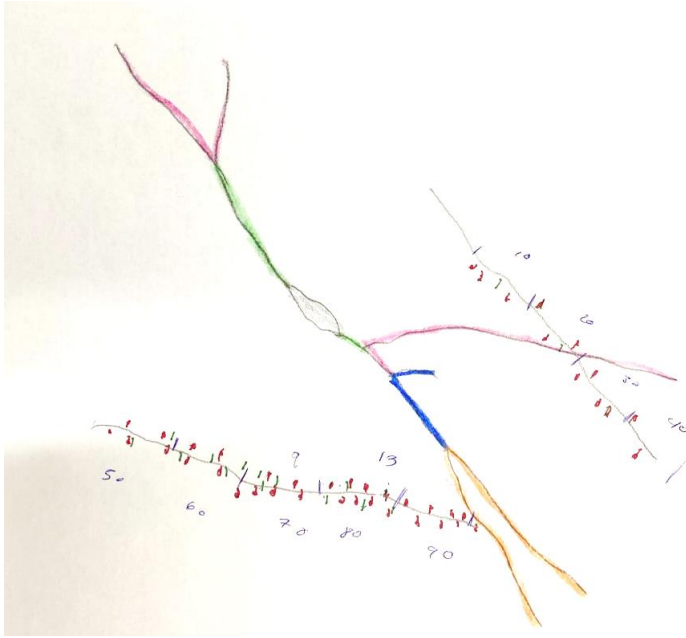


Figura 16 Dibujo de neurona von Economo de grupo experimental. Se identificaron las espinas dendríticas en dos fragmentos distintos de dendritas. (Fuente propia)

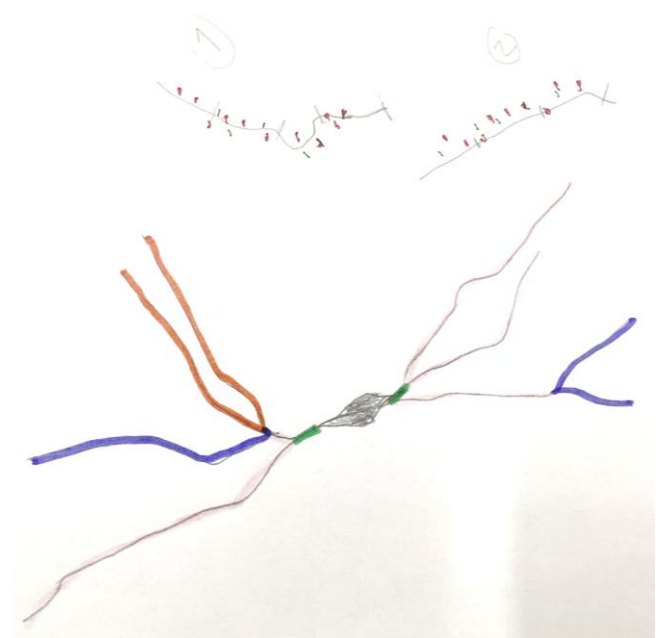


Figura 17 Dibujo de neurona von Economo de grupo control. Se identificaron las espinas dendríticas en dos fragmentos distintos de dendritas. (Fuente propia)

Densidad de espinas dendríticas

El análisis de la densidad de espinas dendríticas en neuronas von Economo de la corteza anterior del cíngulo mostró diferencias significativas entre los grupos de estudio (Figura 18). El grupo **Lesión** presentó un mayor número de espinas dendríticas por cada **10 µm de longitud** en comparación con el grupo **Control**.

La densidad media de espinas en el grupo **Control** fue de **3.419**, mientras que en el grupo **Lesión** se observó un aumento significativo, alcanzando un valor medio de **6.381**. La diferencia entre las medias fue de **2.963 ± 0.5591**, con un intervalo de confianza del 95% que oscila entre **1.745 a 4.181**.

Estos resultados evidencian que la densidad de espinas dendríticas fue significativamente mayor en el grupo **Lesión**, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.002$). Esta diferencia sugiere que la exposición pulpar en el modelo experimental induce cambios morfológicos en las espinas dendríticas de

las neuronas von Economo, reflejando la posible plasticidad estructural en respuesta a la lesión.

Densidad de espinas dendríticas de neuronas von Economo (corteza anterior del Cíngulo)

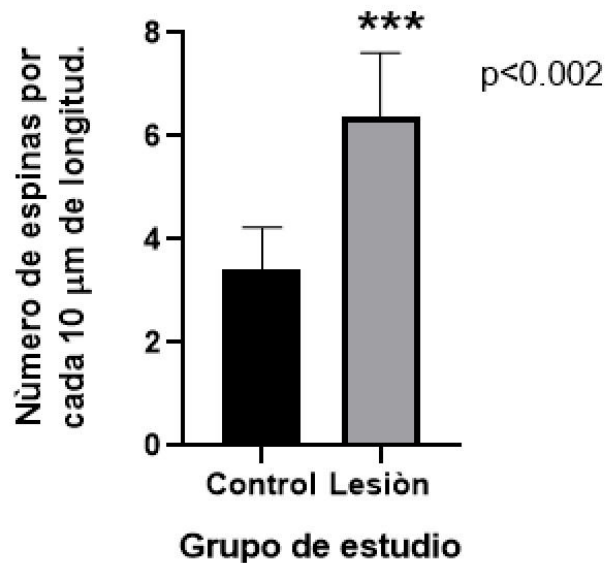


Figura 18 Densidad de espinas dendríticas. En la gráfica se muestran las barras de la cuantificación de espinas dendríticas, con una media +/- la desviación estándar, con una $p < 0.002$ (t-student). (Fuente propia)

Por otro lado, el análisis de la densidad de espinas dendríticas tipo hongo en neuronas von Economo mostró diferencias significativas entre los grupos de estudio (Figura 19). El grupo lesión presentó un mayor número de espinas dendríticas tipo hongo por cada 10 μm de longitud en comparación con el grupo control.

Se reveló una diferencia significativa entre los grupos ($p = 0.0114$). El grupo **Lesión** presentó un promedio de **3.504**, mientras que el grupo **Control** mostró un

valor de **2.138**, lo que indica una reducción de esta morfología en el grupo experimental.

Espinas dendríticas tipo cabeza de hongo medidas en dendritas de neuronas von Economo

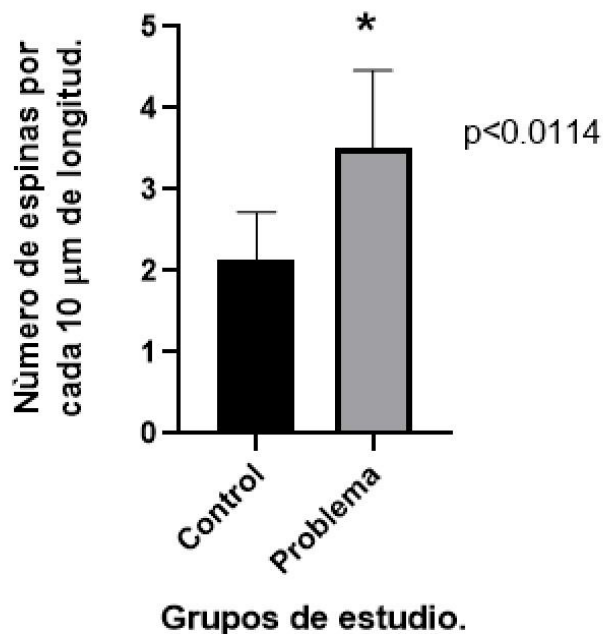


Figura 19 Densidad de espinas dendríticas tipo hongo. Se muestra en la gráfica una diferencia significativa ($p < 0.0114$) entre el grupo control y problema (lesión) (t-student).

En cuanto a la **proporción de espinas delgadas** también mostró una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.0181$) (Figura 20). El grupo **lesión** presentó un mayor número de espinas delgadas en comparación con el grupo **control**, con una diferencia media de **1.146** (IC 95%: 0.2759 - 2.016).

Estos hallazgos pueden estar relacionados con procesos de plasticidad sináptica compensatoria, donde la formación de espinas delgadas podría reflejar intentos de reorganización sináptica en respuesta al daño inducido.

En contraste con los otros tipos morfológicos, el análisis de las espinas cortas no mostró diferencias significativas entre los grupos de estudio ($p > 0.5624$). Aunque se observó una tendencia a la disminución en el grupo lesión en comparación con el grupo control, la variabilidad en los datos sugiere que este cambio no es estadísticamente relevante (Figura 21).

Espinas dendríticas tipo delgadas medidas en dendritas de neuronas von Economo

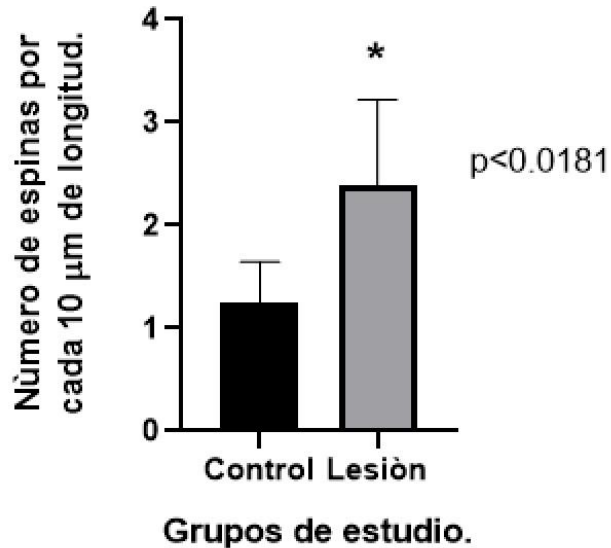


Figura 20 Densidad de espinas dendríticas delgadas. Se puede observar una diferencia significativa $p < 0.0181$ entre los grupos de estudio con una media \pm la desviación estándar (t student).

Espinas dendríticas tipo cortas medidas en dendritas de neuronas von Economo

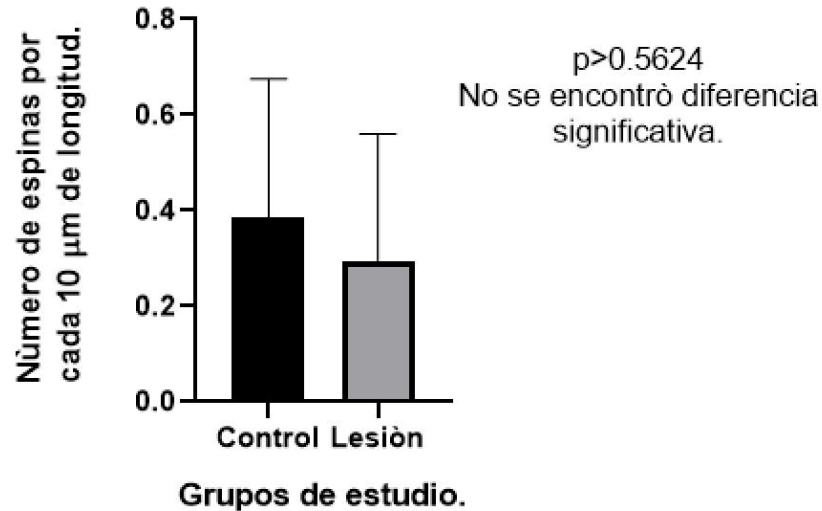


Figura 21 Cuantificación de espinas dendríticas cortas. No se observan diferencias significativas entre ambos grupos $p > 0.5624$ (t-student).

11. DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue investigar el efecto del dolor en órganos dentarios y su impacto en la corteza anterior del cíngulo. Para ello, se utilizaron ratas Sprague Dawley de 28 días de edad, a las cuales se les realizó comunicación pulpar, siguiendo el procedimiento descrito por Tarsa et al. (27). Se reprodujo de manera adecuada la técnica de comunicación pulpar.

Previo a la eutanasia, los biomodelos fueron evaluados mediante la técnica correspondiente para algesia, encontrándose que los animales con comunicación pulpar presentaron una latencia reducida significativa a la inmersión en agua caliente en comparación con el grupo control. Esto sugiere que la comunicación pulpar indujo cambios en la percepción térmica (calor a 45°C), probablemente debido a una modificación en la cantidad de receptores involucrados en la sensación de dolor por aumento de la temperatura, específicamente TRPV1

(28,29) el cual es un receptor que está involucrado en la sensación de dolor por aumento de la temperatura. Por lo tanto, se recomienda realizar estudios adicionales que evalúen la densidad de los receptores en este modelo.

El tejido nervioso fue procesado mediante la técnica de Golgi-Cox, obteniendo neuronas tipo von Economo bien teñidas, aisladas e íntegras, lo que permitió el análisis morfológico a través de una cámara lúcida acoplada a un microscopio óptico Leica DM500 (26).

Las neuronas von Economo (VENs) presentan características citomorfológicas bien definidas. Su morfología se distingue por un cuerpo celular fusiforme de gran tamaño, mayor que el de las neuronas piramidales con las que comparten su disposición en la corteza. Desde sus polos apical y basal, emergen procesos dendríticos anchos y poco ramificados, con un segmento inicial cuyo diámetro es similar al del soma, lo que les confiere una apariencia cilíndrica (30,31).

Estos procesos dendríticos se orientan perpendicularmente, con la dendrita apical proyectándose hacia la superficie pial y la dendrita basal extendiéndose hacia la sustancia blanca subcortical. Sin embargo, la disposición de la dendrita apical no es el principal rasgo diferenciador de las VENs respecto a otras neuronas. Más bien, su morfología se caracteriza por una base helicoidal y un tallo apical relativamente grueso que se va estrechando de manera progresiva (30,31).

El interés particular del estudio morfológico fue la de investigar la densidad de espinas dendríticas en las células de interés. Además, de averiguar la diferencia entre los diferentes tipos de espinas dendríticas.

Los resultados mostraron que las neuronas obtenidas de animales que tuvieron comunicación pulpar (dolor) expresan mayor cantidad de espinas en sus dendritas. Lo cual es congruente con lo reportado con *Vázquez et al.* (datos no publicados) quienes analizaron los cambios morfológicos en las neuronas Von Economo de la corteza insular en ratas Sprague-Dawley con inflamación pulpar inducida. Se observaron modificaciones en las ramificaciones dendríticas de segundo y tercer orden, sugiriendo neuroplasticidad en respuesta al proceso

inflamatorio. Aunque no se encontraron diferencias significativas en la longitud total de las dendritas, estos cambios podrían reflejar adaptaciones estructurales similares a las observadas en las neuronas del cíngulo (32). Además, *Aguirre et al.*, (33). investigó como las neuronas piramidales en la corteza del cíngulo de ratas Sprague-Dawley responden a estímulos dolorosos constantes, como la inflamación pulpar inducida por un polisacárido. El estudio encontró que el dolor crónico puede inducir cambios morfológicos en la corteza del cíngulo, afectando la percepción del dolor como el estado emocional y función cognitiva de los animales experimentales.

Para poder comprender estos resultados, recordemos que las VENs de la corteza del cíngulo están implicadas en el procesamiento de señales sociales y en la regulación de la interacción con el entorno. En particular, la ínsula anterior y la corteza del cíngulo anterior (ACC), donde se localizan estas neuronas, han mostrado activación en respuesta a errores sociales y cambios en el estado de los participantes dentro de una red social (34). Además, investigaciones han demostrado que la ACC participa en la regulación de respuestas emocionales y cognitivas asociadas al dolor (35), lo que podría explicar la relación entre la activación de estas estructuras y la hipersensibilidad térmica observada en este modelo experimental. En este sentido, la alteración en la percepción del dolor en los animales con comunicación pulpar podría estar mediada por cambios en la actividad de las neuronas von Economo, lo que refuerza la necesidad de estudios adicionales para evaluar su participación en la integración de estímulos nociceptivos y su posible relación con la plasticidad neuronal en estados de dolor persistente.

La corteza del cíngulo (CC) es una estructura clave dentro del sistema límbico, considerada evolutivamente más antigua que la neocorteza y fundamental en la integración de información sensorial, cognitiva y emocional (16). Se ha identificado que la ACC establece conexiones con múltiples regiones cerebrales, como la corteza prefrontal, la corteza premotora y motora, la corteza orbitofrontal, la ínsula y el tálamo, lo que le permite participar en procesos atencionales, emocionales y

de regulación autonómica. Dado que las VENs están implicadas en la integración de señales sociales y emocionales, y considerando que su desarrollo está relacionado con la plasticidad estructural del cerebro, es posible que los cambios observados en la densidad de espinas dendríticas en este estudio reflejen adaptaciones en la conectividad neuronal dentro de la ACC en respuesta a la exposición pulpar (34,35).

Este hallazgo refuerza la idea de que la ACC no solo está involucrada en el procesamiento del dolor, sino también en la reorganización sináptica ante estímulos que pueden generar una experiencia aversiva o alterar la homeostasis neuronal. Se ha descrito que la ACC modula la actividad neuronal asociada a la toma de decisiones, la planificación motora, la memoria a largo plazo y la regulación de emociones como la empatía, la confianza, la culpa y el miedo (35).

En conjunto, estos hallazgos refuerzan la idea de que el dolor causado por inflamación pulpar puede inducir modificaciones estructurales en las neuronas del cíngulo, pero con efectos diferenciados dependiendo del tipo de espina dendrítica. El aumento en la densidad de las espinas dendríticas podría indicar una respuesta adaptativa del sistema nervioso central ante procesos inflamatorios.

Densidad y cambios en la morfología de las espinas dendríticas

En 1888, Ramón y Cajal nombró a las espinas dendríticas (ED), describiéndolas como "protuberancias postsinápticas". Estas estructuras emergen de las dendritas y establecen contacto sináptico con las terminaciones axonales, formando parte de la porción postsináptica de las sinapsis excitatorias (36). Estas espinas presentan diferentes morfologías, entre ellas las espinas en forma de hongo, que se caracterizan por una cabeza grande y un cuello delgado, siendo consideradas formas maduras y generando sinapsis más fuertes y estables, ya que su estructura proporciona una mayor superficie de contacto (37). Por otro lado, existen espinas pequeñas y delgadas, las cuales suelen ser transitorias y formar sinapsis débiles (37). En el presente trabajo se encontró una mayor proporción de espinas en forma de hongo, lo que sugiere que el proceso inflamatorio, cinco días después de

la exposición pulpar, podría inducir señalizaciones más estables y favorecer la formación de sinapsis más fuertes.

Diversos estudios han demostrado que la densidad de espinas dendríticas varía entre diferentes tipos de neuronas. Harris et al. (1992) reportaron que, en una dendrita madura de una neurona piramidal de la región CA1 del hipocampo, independientemente de su tamaño, la densidad oscila entre 2 y 4 espinas por micrómetro (38). Además, Fiala et al. (2002) establecieron que las alteraciones en las espinas dendríticas pueden clasificarse en dos grandes categorías: aquellas que afectan su distribución y las que modifican su morfología. En cuanto a la distribución, se ha descrito un aumento o reducción en la densidad de espinas, así como su localización ectópica. Por otro lado, las alteraciones morfológicas incluyen reducción del tamaño, cambios en la forma, hipertrofia del aparato espinoso, incremento de la densidad del citoplasma y del volumen, además de la formación de sinapsis aberrantes (39). En este contexto, en el presente estudio, se observó un aumento en la densidad de espinas dendríticas en la corteza anterior del cíngulo de las ratas con exposición pulpar. Este hallazgo es relevante, ya que indica que la lesión pulpar no solo afecta la región afectada localmente, sino que también podría inducir cambios neuroplásticos en estructuras del sistema límbico relacionadas con la integración de la información nociceptiva. La mayor proporción de espinas dendríticas en forma de hongo sugiere una potenciación sináptica en esta región, lo que podría estar relacionado con la sensibilización central y la reorganización neuronal frente al estímulo nocivo prolongado.

Este tipo de plasticidad estructural ha sido documentado en otras condiciones que implican estrés fisiológico y alteraciones en la homeostasis neuronal. Raven et al. (2017) han señalado que la privación crónica del sueño, por ejemplo, puede inducir cambios en la plasticidad cerebral, afectando la densidad de espinas dendríticas en distintas regiones. En modelos animales, se ha reportado que la privación del sueño por 24 horas incrementa la densidad de espinas en la corteza prefrontal, mientras que en la región CA1 del hipocampo se observa una disminución significativa. Además, privaciones de sueño de cinco horas pueden

reducir la densidad de espinas dendríticas hasta en un 30 %, acompañadas de disminución en la longitud de las dendritas y una posible afectación en la eficacia sináptica en el hipocampo (40), lo que resalta la capacidad del sistema nervioso para remodelar sus conexiones sinápticas en respuesta a diferentes tipos de estrés. En este sentido, el aumento de espinas dendríticas observado en la corteza anterior del cíngulo de las ratas con exposición pulpar en presente estudio podría representar un mecanismo compensatorio de plasticidad sináptica, similar al reportado en otros modelos de estrés neuronal. La reorganización estructural de las espinas en esta región podría estar contribuyendo a la integración y modulación de la respuesta al dolor, lo que sugiere que la lesión pulpar no solo genera un efecto periférico, sino que también induce adaptaciones a nivel central que podrían influir en la percepción del dolor y en la respuesta del sistema nervioso a estímulos prolongados, evidenciando la interconexión entre procesos inflamatorios locales y modificaciones en la arquitectura sináptica de áreas cerebrales involucradas en la nocicepción.

La presencia predominante de espinas en forma de hongo refuerza la idea de que la ACC desempeña un papel clave en la adaptación neuronal a estímulos nocivos, lo que podría estar relacionado con la persistencia de cambios en la conectividad sináptica y la modulación de la percepción del dolor.

Los resultados de este estudio podrían tener implicaciones en la comprensión del dolor crónico orofacial. La reorganización sináptica en el cíngulo podría estar asociada con la modulación de la percepción del dolor y con el desarrollo de sensibilización central en pacientes con pulpitis irreversible o dolor persistente tras tratamientos endodónticos.

El hecho de que los cambios en la morfología de las espinas se observen en una región involucrada en la modulación emocional del dolor sugiere que las alteraciones estructurales inducidas por la inflamación pulpar podrían contribuir no solo a la percepción del dolor, sino también a sus componentes emocionales y afectivos. Esto podría explicar por qué algunos pacientes con dolor orofacial desarrollan ansiedad o hipervigilancia hacia los estímulos dolorosos.

12. CONCLUSIÓN

Los resultados de esta investigación evidencian que el dolor generado por la inflamación pulpar induce modificaciones en la morfología y densidad de las espinas dendríticas de las neuronas von Economo en la corteza del cíngulo. Se observó un aumento significativo en la densidad de las espinas tipo hongo y delgadas, lo que sugiere un mecanismo de plasticidad sináptica compensatoria en respuesta al daño. En contraste, la densidad de las espinas cortas no mostró cambios significativos, lo que indica que este subtipo morfológico podría no estar involucrado en la respuesta adaptativa a la lesión.

Como perspectiva futura, sería relevante realizar un estudio de seguimiento para evaluar la densidad y morfología de las espinas dendríticas después de 28 días, con el objetivo de determinar si el aumento observado se mantiene o disminuye con el tiempo. Además, este análisis permitiría identificar si las formas predominantes de espinas continúan siendo las mismas o si se producen nuevas modificaciones en la conectividad sináptica en respuesta a la evolución del proceso inflamatorio y su resolución.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Yu CY, Abbott P V. Pulp microenvironment and mechanisms of pain arising from the dental pulp: From an endodontic perspective. *Aust Endod J.* 2018;44:82–98.
2. Galler KM, Weber M, Korkmaz Y, Widbiller M, Feuerer M. Inflammatory response mechanisms of the dentine–pulp complex and the periapical tissues. *Int J Mol Sci.* 2021;22:1–23.
3. Kleinert A, Kleinert L, Ozimirska M, Chałas R. Endodontium — together or separately? *Folia Morphol (Warsz).* 2018;77:409–15.
4. Bae YC, Yoshida A. Morphological foundations of pain processing in dental pulp. *J Oral Sci.* 2020;62:126–30.
5. Love RM, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13:171–83.
6. Hahn C Lo, Liewehr FR. Relationships between Caries Bacteria, Host Responses, and Clinical Signs and Symptoms of Pulpitis. *J Endod.* marzo de 2007;33(3):213–9.
7. Zaky SH, Shehabeldin M, Ray H, Sfeir C. The role of inflammation modulation in dental pulp regeneration. *Eur Cell Mater.* 2021;41:184–93.
8. Rotpenpian N, Yakkaphan P. Review of literatures: Physiology of orofacial pain in dentistry. *eNeuro.* 2021;8.
9. Merrill RL. Central Mechanisms of Orofacial Pain. *Dent Clin North Am.* 2007;51:45-59.
10. Crandall JA. An Introduction to Orofacial Pain. *Dent Clin Noth Am.* 2018;62:511-23.

11. Pak DJ, Yong RJ, Kaye AD, Urman RD. Chronification of Pain: Mechanisms, Current Understanding, and Clinical Implications. *Curr Pain Heacha Rep*. 2018;22.
12. Shinoda M, Kubo A, Hayashi Y, Iwata K. Peripheral and Central Mechanisms of Persistent Orofacial Pain. *Front Neurosci*. 2019;13.
13. **Zil-E-Ali A, Tariq R, Aadil M, Zil-E-Ali F, Ali A, Ahmed A, et al. What is Emotional Pain? A Review of Pathophysiology and Treatment Options. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.24200/imminv.xxxxxx>**
14. Alshami AM. Pain: Is It All in the Brain or the Heart? *Curr Pain Headache Rep*. 2019;23.
15. Lumley MA, Cohen JL, Borszcz GS, Cano A, Radcliffe AM, Porter LS, et al. Pain and emotion: A biopsychosocial review of recent research. *Journal of Clinical Psychology*. 2011;67: 942–68.
16. Rolls ET. The cingulate cortex and limbic systems for action, emotion, and memory. En: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier B.V.; 2019: 23–37.
17. Vogt BA. Cingulate cortex in the three limbic subsystems. En: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier B.V.; 2019:39–51.
18. Rolls ET. The cingulate cortex and limbic systems for emotion, action, and memory. *Brain Struct Funct*. 2019;224:3001-18.
19. **Benarroch D. La amígdala Organización funcional y su participación en trastornos neurológicos. 2015.**
20. **Soria Fregozo C, Pérez Vega MI. Participación de las proteínas de unión a la actina y vías de señalización asociadas a la formación y mantenimiento de las espinas dendríticas. *Neurologia*. 2012;27:421–31.**
21. Chidambaram SB, Rathipriya AG, Bolla SR, Bhat A, Ray B, Mahalakshmi AM, et al. Dendritic spines: Revisiting the physiological role. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;92:161–93.

22. Yang Z, Tan Q, Cheng D, Zhang L, Zhang J, Gu EW, et al. The changes of intrinsic excitability of pyramidal neurons in anterior cingulate cortex in neuropathic pain. *Front Cell Neurosci.* 2018;12.
23. Banerjee B, Medda BK, Schmidt J, Lang IM, Sengupta JN, Shaker R. Neuronal plasticity in the cingulate cortex of rats following esophageal acid exposure in early life. *Gastroenterology.* 2011;141(2):544–52.
24. Murugappan SK, Hasan M, Lei Z, Iqbal Z, Ramkrishnan AS, Wong HY, et al. Trigeminal neuropathy causes hypomyelination in the anterior cingulate cortex, disrupts the synchrony of neural circuitry, and impairs decision-making in male rats. *J Neurosci Res.* el 1 de octubre de 2021;99(10):2721–42.
25. Zaqout S, Kaindl AM. Golgi-cox staining step by step. *Front Neuroanat.*2016;10.
26. Gibb R, Kolb B. A method for vibratome sectioning of Golgi-Cox stained whole rat brain. *Journal of Neuroscience Methods.* 1998;79.
27. Tarsa L, Bałkowiec-Iskra E, Kratochvil FJ, Jenkins VK, McLean A, Brown AL, et al. Tooth pulp inflammation increases brain-derived neurotrophic factor expression in rodent trigeminal ganglion neurons. *Neuroscience.* 2010;167(4):1205–15.
28. Immke DC, Gavva NR. The TRPV1 receptor and nociception. *Seminars in Cell and Developmental Biology.* Elsevier Ltd. 2006;17:582–91.
29. Palazzo E, Rossi F, Maione S. Role of TRPV1 receptors in descending modulation of pain. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2008; 286:79-83.
30. Gefen T, Papastefan ST, Rezvanian A, Bigio EH, Weintraub S, Rogalski E, et al. Von Economo neurons of the anterior cingulate across the lifespan and in Alzheimer’s disease. *Cortex.* 2018;99:69–77.

31. González-Acosta CA, Ortiz-Muñoz D, Becerra-Hernández L V., Casanova MF, Buriticá E. Von Economo neurons: Cellular specialization of human limbic cortices? *Journal of Anatomy*. 2022;241:20–32.
32. **Vázquez C. Neuroplasticidad en corteza insular ante inflamación pulpar. [Tesis maestría]. Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2024.**
33. **Aguirre P. Cambios morfológicos en las neuronas de la corteza del cíngulo asociadas con el dolor emocional inducido por un estímulo nocivo en la ulpa dental. Tesis maestría]. Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2018.**
34. Allman JM, Tetreault NA, Hakeem AY, Manaye KF, Semendeferi K, Erwin JM, et al. The von Economo neurons in the frontoinsular and anterior cingulate cortex. *Ann N Y Acad Sci*. 2011;1225(1):59–71.
35. Correa-Júnior ND, Renner J, Fuentealba-Villarreal F, Hilbig A, Rasia-Filho AA. Dendritic and Spine Heterogeneity of von Economo Neurons in the Human Cingulate Cortex. *Front Synaptic Neurosci*. 2020;12.
36. Rochefort NL, Konnerth A. Dendritic spines: From structure to in vivo function. *EMBO Reports*. 2012;13: 699–708.
37. **Segura RKV, Colín Barenque L, Fortoul Van Der Goes TI. Las espinas dendríticas, su función y algunas alteraciones.**
38. Harris, KM, Jensen, FE, Tsao B. Three-Dimensional Structure of Dendritic Spines and Synapses in Rat Hippocampus (CA1) at Postnatal Day 15 and Adult Ages: Implications for the Maturation of Synaptic Physiology and Long-term Potentiation. *The Journal of Neuroscience*. 1992;12.
39. Fiala JC, Spacek J, Harris KM. D endritic Spine Pathology: Cause or Consequence of Neurological Disorders? [Internet]. *Brain Research Reviews*. 2002;39. Disponible en: www.elsevier.com/locate/bres

40. Raven F, Van der Zee EA, Meerlo P, Havekes R. The role of sleep in regulating structural plasticity and synaptic strength: Implications for memory and cognitive function. *Sleep Medicine Reviews*. W.B. Saunders Ltd; 2018;39:3–11.

14.ANEXOS

A. Cuadro de análisis estadístico

TABLAS DE LAS DISTRIBUCIONES *t* DE STUDENT : $P(t \leq T_{n,\alpha}) = \alpha$ para cada *n* y cada α

<i>n</i>	α :	.001	.005	.01	.025	.05	.10	.15	.20	.25	.40	.60	.75	.80	.85	.90	.95	.975	.99	.995	.999
1		-318.31	-63.657	-31.82	-12.706	-6.314	-3.078	-1.963	-1.376	-1.000	-.325	.325	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.706	31.82	63.657	318.31
2		-22.326	-9.925	-6.965	-4.303	-2.920	-1.886	-1.386	-1.061	-.816	-.289	.289	.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	22.326
3		-10.213	-5.841	-4.541	-3.182	-2.353	-1.638	-1.250	-.978	-.765	-.277	.277	.765	.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	10.213
4		-7.173	-4.604	-3.747	-2.776	-2.132	-1.533	-1.190	-.941	-.741	-.271	.271	.741	.941	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	7.173
5		-5.893	-4.032	-3.365	-2.571	-2.015	-1.476	-1.156	-.920	-.727	-.267	.267	.727	.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	5.893
6		-5.208	-3.707	-3.143	-2.447	-1.943	-1.440	-1.134	-.906	-.718	-.265	.265	.718	.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.208
7		-4.785	-3.499	-2.998	-2.365	-1.895	-1.415	-1.119	-.896	-.711	-.263	.263	.711	.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.785
8		-4.501	-3.355	-2.896	-2.306	-1.860	-1.397	-1.108	-.889	-.706	-.262	.262	.706	.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	4.501
9		-4.297	-3.250	-2.821	-2.262	-1.833	-1.383	-1.100	-.883	-.703	-.261	.261	.703	.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.297
10		-4.144	-3.169	-2.764	-2.228	-1.812	-1.372	-1.093	-.879	-.700	-.260	.260	.700	.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.144
11		-4.025	-3.106	-2.718	-2.201	-1.796	-1.363	-1.088	-.876	-.697	-.260	.260	.697	.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.025
12		-3.930	-3.055	-2.681	-2.179	-1.782	-1.356	-1.083	-.873	-.695	-.259	.259	.695	.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	3.930
13		-3.852	-3.012	-2.650	-2.160	-1.771	-1.350	-1.079	-.870	-.694	-.259	.259	.694	.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.852
14		-3.787	-2.977	-2.624	-2.145	-1.761	-1.345	-1.076	-.868	-.692	-.258	.258	.692	.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.787
15		-3.733	-2.947	-2.602	-2.131	-1.753	-1.341	-1.074	-.866	-.691	-.258	.258	.691	.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.733
16		-3.686	-2.921	-2.583	-2.120	-1.746	-1.337	-1.071	-.865	-.690	-.258	.258	.690	.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	3.686
17		-3.646	-2.898	-2.567	-2.110	-1.740	-1.333	-1.069	-.863	-.689	-.257	.257	.689	.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.646
18		-3.610	-2.878	-2.552	-2.101	-1.734	-1.330	-1.067	-.862	-.688	-.257	.257	.688	.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.610
19		-3.579	-2.861	-2.539	-2.093	-1.729	-1.328	-1.066	-.861	-.688	-.257	.257	.688	.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.579
20		-3.552	-2.845	-2.528	-2.086	-1.725	-1.325	-1.064	-.860	-.687	-.257	.257	.687	.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.552
21		-3.527	-2.831	-2.518	-2.080	-1.721	-1.323	-1.063	-.859	-.686	-.257	.257	.686	.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.527
22		-3.505	-2.819	-2.508	-2.074	-1.717	-1.321	-1.061	-.858	-.686	-.256	.256	.686	.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.505
23		-3.485	-2.807	-2.500	-2.069	-1.714	-1.319	-1.060	-.858	-.685	-.256	.256	.685	.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.485
24		-3.467	-2.797	-2.492	-2.064	-1.711	-1.318	-1.059	-.857	-.685	-.256	.256	.685	.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.467
25		-3.450	-2.787	-2.485	-2.060	-1.708	-1.316	-1.058	-.856	-.684	-.256	.256	.684	.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.450
26		-3.435	-2.779	-2.479	-2.056	-1.706	-1.315	-1.058	-.856	-.684	-.256	.256	.684	.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.435
27		-3.421	-2.771	-2.473	-2.052	-1.703	-1.314	-1.057	-.855	-.684	-.256	.256	.684	.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.421
28		-3.408	-2.763	-2.467	-2.048	-1.701	-1.313	-1.056	-.855	-.683	-.256	.256	.683	.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.408
29		-3.396	-2.756	-2.462	-2.045	-1.699	-1.311	-1.055	-.854	-.683	-.256	.256	.683	.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.396
30		-3.385	-2.750	-2.457	-2.042	-1.697	-1.310	-1.055	-.854	-.683	-.256	.256	.683	.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.385
40		-3.307	-2.704	-2.423	-2.021	-1.684	-1.303	-1.050	-.851	-.681	-.255	.255	.681	.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	3.307
60		-3.232	-2.660	-2.390	-2.000	-1.671	-1.296	-1.046	-.848	-.679	-.254	.254	.679	.848	1.046	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	3.232
120		-3.160	-2.617	-2.358	-1.980	-1.658	-1.289	-1.041	-.845	-.677	-.254	.254	.677	.845	1.041	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617	3.160
∞		-3.090	-2.576	-2.326	-1.960	-1.645	-1.282	-1.036	-.842	-.674	-.253	.253	.674	.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.090

B. Tablas de almacenamiento de datos (ejemplos)

RATA 3 C							
Neurona 1							
Micras	Total	Largas	Hongo	Corta	Bifurcada	Multicabeza	
1	4	0	4	0	0	0	0
2	6	0	6	0	0	0	0
3	8	3	5	0	0	0	0
4	5	1	4	0	0	0	0
1	1	1	0	0	0	0	0
2	4	1	3	0	0	0	0
3	4	2	2	0	0	0	0
4	3	1	2	0	0	0	0
5	4	0	4	0	0	0	0

RATA 3 C							
Neurona 2							
Micras	Total	Largas	Hongo	Corta	Bifurcada	Multicabeza	
1	3	0	3	0	0	0	0
2	6	3	3	0	0	0	0
3	4	2	2	0	0	0	0
4	3	0	3	0	0	0	0
1	3	1	2	0	0	0	0
2	6	2	4	0	0	0	0
3	4	1	3	0	0	0	0

RATA 6							
Neurona 1							
Micras	Total	Largas	Hongo	Corta	Bifurcada	Multicabeza	
1	7	2	4	1	0	0	0
2	7	2	5	0	0	0	0
3	2	1	1	0	0	0	0
1	2	2	0	0	0	0	0
2	5	1	4	0	0	0	0
3	5	1	4	0	0	0	0

RATA 6							
Neurona 2							
Micras	Total	Largas	Hongo	Corta	Bifurcada	Multicabeza	
1	7	3	4	0	0	0	0
2	11	4	7	0	0	0	0
3	10	3	7	0	0	0	0
1	3	1	2	0	0	0	0
2	6	2	4	0	0	0	0
3	7	2	5	0	0	0	0

RATA 6							
Neurona 3							
Micras	Total	Largas	Hongo	Corta	Bifurcada	Multicabeza	
1	5	3	2	0	0	0	0
2	6	2	2	2	0	0	0
3	2	1	1	0	0	0	0
4							
1	10	4	5	1	0	0	0
2	8	4	2	2	0	0	0
3	3	1	2	0	0	0	0