



BENEMÉRITA UNVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

**Facultad de Estomatología
División de Estudios de Posgrado**

NEUROPLASTICIDAD EN LA CORTEZA SOMATOSENSORIAL PRIMARIA ANTE UNA COMUNICACIÓN PULPAR EXPERIMENTAL EN RATAS COMPARADO CON GRUPO CONTROL

Tesis presentada para obtener el título de:
**Maestría en Ciencias Estomatológicas con Terminal en
Pediatria**

PRESENTA:
**MARCELA HERNÁNDEZ MARTÍNEZ
RHONA GABRIELA GARCÍA ARRÓNIZ**

DIRECTORES DE TESIS:
**D.C. HORTENCIA CHÁVEZ OSEKI
D.C. ISMAEL JUÁREZ DÍAZ**

SEPTIEMBRE. 2015

El principio de la sabiduría es el temor de Jehová...

Proverbios 1:7

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos principalmente a Dios por darnos la fuerza y sabiduría en todo este tiempo de aprendizaje y crecimiento profesional.

A nuestros padres por creer en nuestras capacidades y poner en nosotras su confianza y apoyo incondicional durante todo este transcurso de estudio.

A cada miembro de nuestras familias, amigos y personas importantes en nuestras vidas que nos mostraron su amor y paciencia en esos momentos de estrés y de cansancio, donde se esforzaron por motivarnos para seguir hasta el final de nuestra meta.

A la Dra. Hortencia Chávez Oseki, Dr. Ismael Juárez Díaz y Dra. Julia Flores Tochiuitl, por brindarnos sus conocimientos, por su paciencia y dedicación que en algún momento tuvieron con nosotras. Son un ejemplo profesional y nos motivan a siempre querer y luchar por lo mejor.

Al Bioterio central de la BUAP “Claude Bernard” y laboratorio de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, así como al Dr. Gonzalo Flores Álvarez del Instituto de Fisiología por facilitarnos lo necesario para realizar el procedimiento experimental.

ÍNDICE

1. Introducción.....	6
1.1 Antecedentes generales.....	8
1.1.1 Dolor nociceptivo.....	8
1.1.2 Complejo pulpo-dentinario.....	9
1.1.3 Inervación Pulpar.....	11
1.1.4 Vía ascendente trigeminal.....	13
1.1.5 Complejo nuclear trigeminal.....	14
1.1.6. Subnúcleo caudal.....	15
1.1.7 Tálamo.....	16
1.1.8 Sistema somatosensorial.....	17
1.2 Antecedentes específicos.....	18
2. Planteamiento del problema.....	21
2.1 Pregunta de investigación.....	22
2.2 Hipótesis.....	22
3. Justificación.....	22
4. Objetivo.....	23
4.1 Objetivo general.....	23
5. Material y método.....	23
5.1 Diseño del estudio.....	23
5.2 Ubicación espacio – temporal.....	23
5.3 Estrategia de trabajo.....	23
5.4 Muestreo.....	24
5.4.1 Definición de la unidad de población.....	24
5.4.2 Selección de la muestra.....	24
5.4.3 Criterios de selección de las unidades de muestreo.....	24
5.4.3.1 Criterios de inclusión.....	24
5.4.3.2 Criterios de exclusión.....	24
5.4.3.3 Criterios de eliminación.....	24
5.4.4 Criterios de selección de las neuronas.....	25
5.4.4.1 Criterios de inclusión.....	25
5.4.4.2 Criterios de exclusión.....	25
5.4.5 Diseño de tipo de muestreo.....	25
5.4.6 Tamaño de la muestra.....	25
5.5 Definición de las variables y escala de medición.....	25
5.6 Método de recolección de datos.....	26
5.7 Técnica y procedimiento.....	26
5.7.1 Lesión pulpar.....	26
5.7.2 Tinción de Golgi.....	27

5.7.3 Solución de Golgi-Cox.....	27
5.7.4 Obtención del tejido nervioso.....	27
5.7.5 Impregnación de cerebro con la solución de Golgi- Cox.....	28
5.7.6 Análisis morfológico.....	29
5.8 Análisis de datos	30
5.9 Diseño estadístico.....	30
5.9.1 Prueba estadística.....	30
6. Bioética.....	31
7. Resultados.....	31
8. Discusión.....	35
9. Conclusión.....	39
10. Bibliografía.....	40

ABREVIATURAS

A β Fibras A-beta

A δ Fibras A-delta

C Fibras C

FNDC Factor neurotrófico derivado del cerebro

NT Neuralgia trigeminal

OA Odontalgia atípica

PRGC Péptido relacionado con el gen de la calcitonina

S1 Corteza somatosensorial primaria

S2 Corteza somatosensorial secundaria

SNC Sistema nervioso central

SP Sustancia P

TTTV Tracto trigémino talámico ventral

V Nervio trigémino

VPM Núcleo ventroposterior medial

VPL Núcleo ventral posterolateral

1. INTRODUCCIÓN

El dolor fisiológico es esencial para la preservación de la integridad del organismo ante las agresiones del medio ambiente, los estímulos nocivos son detectados por receptores sensoriales especializados llamados nociceptores, éstos son terminaciones nerviosas libres de aferentes primarias y en función de su localización se distinguen tres grupos de nociceptores: cutáneos, músculo-esqueléticos y viscerales. Estos receptores forman parte del sistema nociceptivo que es el encargado de detectar y procesar la sensación dolorosa. La nocicepción incluye cuatro procesos fisiológicos: **1). Transducción**, se lleva a cabo la conversión de los estímulos nocivos (térmicos, mecánicos o químicos) en señales eléctricas en las terminaciones nerviosas periféricas libres, las aferentes primarias nociceptivas. **2). Transmisión**, es la propagación de las señales eléctricas a lo largo de vías nociceptivas. **3). Modulación**, es la modificación de las señales nociceptivas, principalmente en el asta dorsal de la médula espinal o en el subnúcleo caudal trigeminal y es aquí donde se puede inhibir o amplificar la señal sensorial y **4). Percepción**, es el proceso por el cual se integran los impulsos nociceptivos con factores cognoscitivos y emocionales para crear la experiencia subjetiva del dolor.

Nuestra comprensión del dolor requiere un alto nivel de conocimiento de la estructura y la función de todos los elementos involucrados en las vías del dolor en el sistema nervioso. La región bucofacial representa un lugar frecuente para la ubicación del dolor agudo, dolor crónico y dolor referido, siendo el sistema trigeminal el encargado de transmitir los impulsos nociceptivos. Éste complejo está conformado por tres núcleos: mesencefálico, principal y espinal, éste último a su vez se divide en tres: oral, interpolar y caudal; el subnúcleo caudal es considerado como protagonista de la transmisión de información nociceptiva orofacial.

La señal dolorosa bucofacial es recogida por las fibras nociceptivas y enviadas hacia el sistema nervioso central pasando por varios relevos, primero la neurona de primer orden cuyo soma se encuentra ubicado en el ganglio trigeminal; ésta hace sinapsis con la neurona de segundo orden que se sitúa en el núcleo espinal, específicamente en la zona más posterior donde se encuentra el subnúcleo caudal,

cruza la línea media y asciende hasta el tálamo donde hará sinapsis con la neurona de tercer orden y así poder integrarse sucesivamente a la corteza somatosensorial. La corteza somatosensorial juega un papel crítico en la percepción sensorial y probablemente está involucrada en la localización del dolor y en la modulación de la parte subjetiva del dolor (List y cols. 2009).

Una característica común del dolor neuropático son los cambios en la sensibilidad somatosensorial. Por lo que en el presente trabajo de investigación se pretende comparar los cambios neuronales a nivel de la corteza somatosensorial ante una lesión provocada en el tejido pulpar.

Hoy en día es necesaria la comprensión de las bases del dolor bucofacial, puesto que para establecer un buen tratamiento de un individuo con dolor crónico debemos entender, desde el punto de vista fisiológico, el origen del dolor, el impacto y la percepción de este a nivel de la corteza somatosensorial.

1.1 Antecedentes generales

1.1.1 Dolor nociceptivo

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) define el dolor como "una experiencia sensorial y emocional desagradable con daño tisular actual o potencial descrito en términos de dicho daño". Esta definición considera en primer lugar que el dolor no es una experiencia puramente nociceptiva (sensorial), sino que incluye además, componentes emocionales y subjetivos asociados íntimamente a la sensación dolorosa; en segundo lugar esta definición evita decir claramente que el dolor está producido únicamente por el daño tisular, pudiendo aparecer sin causa somática que lo justifique. La naturaleza y severidad del dolor son una consecuencia de los mecanismos tanto afectivos y cognoscitivos como sensoriales, derivados del daño tisular.

En el modelo de la compuerta del control del dolor de Melzack y Wall, se sugirió que los factores cognoscitivo-evaluador y afectivo-emocional interactuaban con el fenómeno sensorial para crear la percepción del dolor (Melzack 1965). De acuerdo al modelo del control de la compuerta, la interacción entre estos factores determina la experiencia del dolor. Así tenemos que la dimensión sensorial del dolor es compleja y presenta una cualidad única y no compartida por otras modalidades sensoriales.

Podemos entender esta diferencia en las cualidades sensoriales del dolor si la comparamos con la audición; o si la piel es pellizcada, al principio la sensación es de presión, luego si éste se incrementa la sensación es descrita, por ejemplo, como un mordisco, una picadura o un ardor. En el caso del sonido, si vamos aumentando el volumen, se oirá más y más alto, pero será siempre descrito como un sonido, es decir, se mantiene la misma modalidad sensorial (Bender, 2000).

El dolor lo podemos clasificar en dos tipos distintos: el nociceptivo y el neuropático. El dolor nociceptivo, conocido como consecuencia de una lesión somática o visceral refleja nuestra capacidad para detectar la presencia de estímulos potencialmente dañinos y es esencial como mecanismo de defensa temprano. El dolor neuropático se origina por una actividad neuronal anormal por lesión del sistema

nervioso central o periférico (Hehn y cols. 2012).

En condiciones fisiológicas normales, existe un equilibrio entre lesión y dolor; sin embargo, estímulos muy intensos, prolongados o repetitivos, inducen alteración en este equilibrio dando lugar a variaciones en intensidad y duración de respuestas nociceptivas (Cruciani y cols. 2006).

Dentro de las etiologías de dolor orofacial se debe resaltar la neuralgia del trigémino, un trastorno de localización típicamente unilateral en el 96% de los casos, que se presenta con más frecuencia entre la quinta y la séptima década, con una predilección por el sexo femenino (Neira, 2010).

La International Headache Society considera que la odontalgia es un tipo de dolor orofacial persistente de tipo idiopático. La región bucofacial representa un lugar frecuente para la ubicación de dolor agudo, crónico, y referido; éste es un síntoma de suma importancia en la práctica estomatológica y particularmente en lo concerniente a las alteraciones de la pulpa dentaria.

1.1.2 Complejo pulpo-dentinario

Se habla de un complejo pulpo-dentinario porque las células periféricas de la papila dentaria tienen un mismo origen embriológico y se diferencian en odontoblastos. Las prolongaciones citoplasmáticas de estos odontoblastos van formando parte de la dentina, ya que alrededor de éstas se va depositando la dentina mineralizada (túbulos dentinarios), y entre estos la dentina peritubular (Seltzer, 1987).

El espacio entre la pared del túbulo dentinario y la prolongación (espacio periprocesal), es ocupado por el líquido pulpo-dentinario, producido por un ultrafiltrado de los vasos sanguíneos de la pulpa, que mantiene la vitalidad de la dentina. La pulpa es un tejido conjuntivo laxo especializado, de consistencia gelatinosa, ubicada en una cavidad de paredes rígidas rodeada por dentina y cemento. Este tejido responde a cualquier agresión por medio de una respuesta inflamatoria, la cual adquiere una característica especial en la pulpa al estar confinada a una cavidad de paredes mineralizadas y con irrigación sanguínea terminal (Gusman y cols. 2003; Sessle, 1994; Worthen y cols. 2011).

Es importante considerar que el tejido pulpar no experimenta una extinción o muerte repentina ante procesos de inflamación, sino que sucumbe paulatinamente. La evolución de las condiciones pulpares se clasifican de la siguiente manera: pulpitis reversible, pulpitis transicional, pulpitis irreversible y pulpa necrótica. (Bender, 2000).

El complejo pulpo-dentinario es uno de los tejidos más densamente innervados en el organismo, que al realizar interacciones con otras células pulpares tales como odontoblastos, fibroblastos, vasos sanguíneos, y células inmunocompetentes, contribuyen a la supervivencia pulpar. Este complejo puede experimentar dolor por medio de dos mecanismos, el primero es la sensibilidad dentinaria y el segundo es inflamación pulpar. Cuando existe un daño a la pulpa, puede alterar de distinta manera estos mecanismos del dolor. Estímulos inocuos o superficiales como el frío, el calor y la vibración no suelen dañar la dentina o pulpa pero pueden causar cambios en el flujo sanguíneo pulpar y presión del líquido intersticial que genera sensaciones de dolor leve, sin embargo cuando existe la aplicación de uno de estos estímulos a la dentina hipersensible, induce dolor que en muchos casos puede llegar a una intensidad muy alta, provocar una pulpitis irreversible y ésta a su vez proceder a una necrosis pulpar con sólo síntomas leves. La calidad del dolor puede variar en función del tipo de estímulos aplicados y pueden variar de dolor agudo, punzante a sordo (Seltzer, 1987).

Se sabe que existen terminaciones nerviosas libres en todos los tejidos bucofaciales, esto incluye la piel, la mucosa bucal, la articulación temporomandibular, el periodonto, la pulpa dentaria, el periostio y los músculos; éstas están asociadas a la conducción aferente primaria de las fibras sensoriales. Muchas de las terminaciones nerviosas libres actúan como nociceptores en la cara y la boca. En función de su localización y de sus distintas características, se distinguen tres grupos de nociceptores: cutáneos, musculares- articulares, y viscerales. La característica esencial de un nociceptor es su capacidad para diferenciar entre estímulos inocuos y estímulos nocivos. Esto es debido al hecho de que los nociceptores son capaces de activarse frente a estímulos de una determinada intensidad, mientras que no responden o responden irregularmente a estímulos de baja intensidad (Sessle, 2006).

Debido a su capacidad de responder a estímulos dolorosos, los nociceptores han sido llamados también “receptores del dolor”. Ellos proveen la información

sensorial-discriminadora acerca de la calidad, intensidad, localización y duración del estímulo nervioso. Todo este proceso se lleva a cabo cuando los nociceptores son despolarizados por estímulos nocivos como agentes térmicos, mecánicos o químicos. Tienen campos receptores relativamente pequeños. Algunos son activados por sólo un tipo de estímulo (p. ej., los mecanorreceptores de umbral alto), mientras que otros responden a más de un tipo (nociceptores polimodales). Cuando las fibras nociceptivas son estimuladas, se despolarizan en relación directa con la intensidad del estímulo y la frecuencia con la que se aplica, es decir, el umbral de estimulación de los nociceptores no es constante, sino que también depende del tejido donde se encuentre; la despolarización se transmite pasivamente a lo largo de la membrana del receptor que alcanza un umbral y genera un potencial de acción que se propaga a lo largo de la membrana axónica (Seltzer, 1987).

1.1.3 Inervación Pulpar

La inervación sensorial de los órganos dentarios termina principalmente en la capa coronal de odontoblastos, predentina, y tercio interno de la dentina, morfológicamente se compone de por lo menos tres diferentes tipos de fibras nerviosas, cada una de las cuales tiene una ubicación preferida.

Fibras A-beta (A β): son fibras mielinizadas que inervan principalmente la dentina y la frontera dentina-pulpa cerca de la punta del cuerno pulpar, éstas son más sensibles a la estimulación mecánica (hidrodinámica) y la estimulación de la dentina, con velocidades de conducción entre 30 y 70 metro/segundo.

Fibras A-delta (A δ): abundan entre un 25% a 50%, son mielínicas, su velocidad de conducción es entre 12-30 metro/segundo y poseen un bajo umbral de excitación. La mayor parte de la inervación A- δ se concentra en la dentina cerca de los cuernos pulpares, es progresivamente menos frecuente hacia la región cervical y menos prevalente en la dentina radicular. Éstas fibras contienen péptidos relacionados con el gen de calcitonina (PRGC) y expresan receptores para la mayoría de estos (González y cols. 1999).

Tanto las Fibras A- δ como A β , tienen la particularidad de convertirse en

terminaciones libres modificadas en los órganos dentarios al penetrar en la zona odontoblástica y perder su vaina de mielina.

Fibras C son fibras amielínicas, de pequeño grosor, de baja velocidad de conducción (0.5 a 2 metro/segundo), con un alto umbral de excitación. Ellas son polimodales y sensibles a la capsaicina y a mediadores inflamatorios tales como histamina y bradiquinina. Expresan neuropéptidos tales como sustancia P (SP), PRGC, o neuroquinina. Terminan en la pulpa coronaria o radicular a lo largo de los vasos sanguíneos, y la mayoría son activadas por daño a la pulpa, lo cual expresan dolor de tipo lento y quemante.

Es muy importante saber cuáles receptores en las terminales nerviosas pulpares están involucrados y cómo estos receptores median el dolor pulpar, a fin de comprender los mecanismos neuronales del dolor y su respuesta inflamatoria. El adenosín trifosfato (ATP) es conocido como uno de los importantes neuro-moduladores implicados en los procesos de lesión e inflamación pulpar. (Adachi y cols. 2010).

Los mediadores químicos endógenos están involucrados en el aumento de la sensibilidad, por ejemplo, en el incremento de la excitación de los nociceptores aferentes luego de una lesión pequeña, donde predominan tres tipos de agentes químicos, que son los siguientes:

1. La bradiquinina y la serotonina que pueden activar a los nociceptores de manera relativamente directa.
2. Las prostaglandinas que facilitan la evocación del dolor por estímulos físicos y químicos.
3. La sustancia P que es liberada en los tejidos periféricos como resultado de una lesión, esto provoca la liberación en los tejidos de agentes que incrementan la actividad de fibras aferentes pequeñas y provocan dolor (Rodd y cols. 2000).

Las fibras nerviosas no sólo envían señales rápidas al ganglio y a las vías de dolor central, sino que también liberan neuropéptidos desde sus terminales periféricas que regulan la vasodilatación y la invasión de leucocitos a la zona de la lesión. Por lo tanto, si la inervación sensorial ha sido removida antes de la lesión, la pulpa es menos capaz de defenderse, promoviendo la inflamación o su falta de capacidad para sanar

después de una exposición pulpar.

Por tanto el sistema nociceptivo es el encargado de detectar y procesar la sensación dolorosa. En este caso, el dolor dental es convertido en señales eléctricas a través de los nociceptores que transmiten dicha señal de dolor a través de la vía espinotalámica y trigeminal para integrarla hasta la corteza somatosensorial.

1.1.4 Vía ascendente trigeminal

El nervio trigémino es el quinto par craneal mixto conformado por ramas tanto motoras como sensitivas, se conforma por fibras somáticas que conducen impulsos exteroceptivos. El sistema trigeminal con neuronas aferentes de primer orden en el ganglio trigeminal, transmite información de la mayoría de los tejidos craneofaciales tales como meninges, articulación temporomandibular y órganos dentarios. Muchas condiciones comunes de dolor crónico tales como migrañas, dolores de articulación temporomandibular, neuralgias trigeminales u odontalgias son mediadas por las vías nociceptivas trigeminales, incluso la primera estación para las fibras aferentes pulpares está representada por el mismo núcleo sensorial trigeminal del bulbo (Tarsa y cols. 2010).

Además de proporcionar información somatosensorial general de las estructuras orofaciales, las neuronas aferentes primarias trigeminales están involucradas en numerosas respuestas de comportamiento relacionados con la integración sensorio-motora en todos los niveles del neuroeje, como por ejemplo la coordinación de los movimientos de la cabeza y cuello con otras partes del cuerpo.

La mayoría de las neuronas aferentes primarias relacionadas con la función somatosensorial de la cara, son componentes del nervio trigémino. Las fibras del nervio trigémino se originan en los cuerpos celulares en el ganglio de Gasser (Capra y cols. 1992).

De igual forma las fibras nerviosas en la pulpa y la dentina son componentes del sistema trigeminal que incluye también la inervación sensorial de la mucosa bucal, ligamento periodontal, lengua, labios, músculos de la masticación, y articulación temporo-mandibular; e inervación vasomotora. Cada parte del sistema contribuye con

diferentes tipos de información somatosensorial que se necesita para el uso dental y su preservación. Esas fibras nerviosas son aquellas que son capaces de ajustar respuestas para mejorar su defensa y reparación del tejido cuando se presenta alguna fase de lesión dentro de ella, regresándola a la condición normal de reposo, en función de las necesidades homeostáticas de la pulpa (Seltzer, 1987).

1.1.5 Complejo nuclear trigeminal

El complejo nuclear trigeminal está conformado por tres núcleos sensitivos: el núcleo mesencefálico, que recibe información propioceptiva predominantemente de los músculos masticadores y tercio apical del ligamento periodontal, el núcleo principal que es responsable de los mensajes recibidos por las sensaciones táctiles, y el núcleo espinal, dividido en tres subnúcleos: oral, interpolar y caudal, que recibe información nociceptiva (Woda, 2003). Imagen 1.

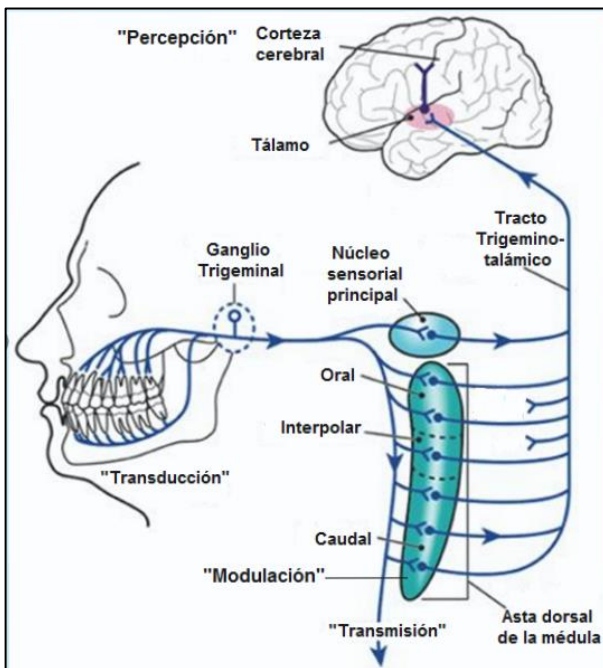


Imagen 1. Complejo nuclear trigeminal. Los núcleos sensitivos principal y espinal muestran éste último con sus subdivisiones: oral, interpolar y caudal. El procesamiento de la información nociceptiva se lleva a cabo en el núcleo espinal, principalmente en el subnúcleo caudal. La información sensorial viaja al tálamo a través de axones de neuronas de segundo orden por el tracto trigemino-talámico; y en el tálamo se establecen sinapsis con neuronas de tercer orden que llevan la información a la corteza somatosensorial. Modificado de: Kenneth y cols., 2008.

1.1.6. Subnúcleo caudal

La ramificación central de las neuronas del ganglio trigeminal entran a la protuberancia a través de la raíz sensorial del nervio trigémino y forman un haz compacto descendiendo al conocido tracto trigeminal espinal. Este tracto, se encuentra en la región dorsolateral del tronco cerebral, donde en su parte más posterior se encuentra el subnúcleo caudal. El subnúcleo caudal es considerado como el centro del tallo cerebral crucial para el procesamiento de la nocicepción orofacial, es decir, es el encargado de procesar la información del dolor cuando existe una lesión pulpar (Mandel, 2003).

Se describe al subnúcleo caudal con una similitud a la estructura del cuerno dorsal de la médula espinal, conformado por un área con un exterior marginal, intermedio gelatinoso y capas internas magnocelular es a donde llegan a proyectarse las aferentes pulpares. Clásicamente el subnúcleo caudal se ha considerado como un sitio importante de relevo de la información dolorosa trigeminal. (Capra y cols. 1992).

La información orofacial es llevada por el nervio trigémino (V) predominantemente a través del ganglio de Gasser o semilunar donde se localizan los cuerpos celulares de las neuronas aferentes primarias que detectan el estímulo nociceptivo para transformarlo en señal eléctrica, posteriormente se transmite al tallo encefálico donde se encuentra la primera sinapsis, las fibras nerviosas aferentes primarias ascienden en el tracto medular, antes de entrar al complejo nuclear sensorial V para activar las neuronas de segundo orden situadas en el subnúcleo caudal, sitio de relevo y modulación de información nociceptiva trigeminal. Los axones de las neuronas de segundo orden cruzan al lado opuesto (decusación) y penetran en el lemnisco medial, que asciende hasta el tálamo donde a nivel del núcleo ventral postero lateral (VPL) hacen sinapsis sobre neuronas de tercer orden que proyectan sus axones al área somatosensorial primaria (S1) de la corteza cerebral. (Sessle, 1994; Marín y cols. 2005).

La mayoría de las neuronas de segundo orden y superiores responden no sólo a la estimulación pulpar sino también a otra entrada aferente, esto indica que las neuronas se hacen menos específicas a medida que se asciende en el cerebro

(Bradley, 1984).

Muchas neuronas pueden llegar indirectamente a los niveles más altos del cerebro a través de conexiones con regiones adyacentes del tallo encefálico tales como la formación reticular; algunas pueden proyectarse a neuronas de la medula espinal o a neuronas en otros subnúcleos del complejo del tallo encefálico V (González y cols. 1999).

1.1.7 Tálamo

Se acepta que una importante vía para la información aferente sensorial, incluyendo la información nociceptiva, desde la periferia a la corteza es a través del tálamo. El tálamo no sólo se considera que es el segundo relevo nociceptivo, sino también un centro de procesamiento con funciones discriminatorias y moduladoras (You y cols. 2013).

Se ha reportado que el 8% de los nervios aferentes que transmiten los impulsos que evocan la sensación de dolor son fibras amielínicas C. Estas fibras conducen muy lento, entran en la columna dorsal e inmediatamente después de que hacen sinapsis cruzan hacia adelante para ascender al tálamo. (González, 1999). El tálamo es una estructura neuronal que se sitúa en el centro del cerebro, encima del hipotálamo y separado de éste por el surco hipotalámico de Monro. Esta estructura anatómica es encargada de filtrar todos los estímulos sensoriales que son dirigidos hacia la corteza, donde se decide si siguen o terminan su camino. También al estar conectado a la corteza cerebral por la vía tálamo-cortical actúa como un interconector. Si hay una disfunción en el tálamo afecta a la corteza. Tres regiones del tálamo se han involucrado en varios aspectos de la transmisión del dolor, ellas son el complejo ventrobasal, el grupo posterior y el área talámica media, sin embargo, el papel de cada una de estas regiones no está claro, las neuronas nociceptivas del tálamo asociadas al complejo ventrobasal y posiblemente al grupo posterior parecen tener propiedades relacionadas con la corteza cerebral somatosensorial en la dimensión del dolor sensorial-discriminador, en cambio, aquellas neuronas del núcleo medial parecieran estar más relacionadas al aspecto afectivo-motivacional del dolor (Neira y cols. 2010).

En el caso del dolor derivado de la pulpa dental, las neuronas A- δ y C del subnúcleo caudal ascienden conformando el tracto trigémino talámico ventral (TTTV) contralateral. Se considera que pertenece al sistema neo espinal. Proyecta de forma somatotópica sobre los núcleos ventropostero lateral (VPL) y ventropostero medial (VPM) del tálamo, sitio donde hacen sinapsis con las neuronas de tercer orden y de esta manera el último lugar a donde llega a integrarse la información nociceptiva es en la corteza somatosensorial primaria (Da Silva y cols. 2002).

1.1.8 Sistema somatosensorial

El sistema somatosensorial es el encargado de recibir, procesar y modular la información proveniente de estímulos externos tales como: el tacto, temperatura, propiocepción (posición del cuerpo) y nocicepción (dolor), dichos estímulos son decodificados al organismo por medio de receptores. La corteza somatosensorial está situada detrás de la cisura central (o de Rolando), la cual está especializada en el análisis de la información procedente del medio externo y previamente filtrada por los subnúcleos VPM y VPL del Tálamo. En ella se observa, una organización somatotópica, es decir que en la S1 hay un mapa de la superficie corporal.

La S1 se proyecta a la corteza somatosensorial secundaria (S2) (área 40 de Brodmann) y al lóbulo parietal posterior (áreas 5 y 7) (Valverde, 2002). Las áreas 5 y 7 de Brodmann de la corteza cerebral, se conocen como áreas de asociación sensitiva, dado que reciben información de una gran variedad de fuentes (de S1y S2, de los núcleos ventrobasales del tálamo, y de otras áreas del tálamo y de la corteza visual y auditiva), estableciéndose la capacidad de asociación. Se ha demostrado intervención en el procesamiento del dolor en las siguientes áreas cerebrales: corteza somatosensorial, circunvolución cingulada anterior, ínsula, corteza prefrontal y parietal inferior, forman la cuarta neurona en el procesamiento del dolor. (Worthen y cols. 2011).

En las estructuras subcorticales y corticales del encéfalo se origina la percepción consciente del dolor, actividades subconscientes y respuestas neuromoduladoras efectoras (motoras), endocrinas y emocionales, iniciadas

consciente o inconscientemente. (Pedrajas y cols. 2008)

La representación del área pulpar en la corteza somatosensorial primaria juega un papel importante en la discriminación sensorial, reconocimiento y localización de la intensidad del estímulo aplicado a la pulpa dental (Kubo y cols. 2008).

En condiciones de dolor e inflamación crónica, las áreas de mayor incremento en actividad neuronal y reorganización somatotópica fueron la corteza somatosensorial primaria, corteza cingulada anterior y corteza insular.

Finalmente cuando nos referimos a un dolor de origen pulpar podemos aclarar que esta información nociceptiva terminará por integrarse hasta la corteza somatosensorial. (Kwan-Kim y cols. 2012).

1.2 Antecedentes específicos

En el presente proyecto se decide tomar en cuenta el modelo de estudio De **Tarsa y colaboradores** que reportaron en el año 2010 un estudio diseñado para evaluar los efectos de la inflamación periférica, analizando la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (FNDC) dentro del núcleo Trigeminal, ante una comunicación pulpar crónica expuesta a la microflora bucal en ratas Sprague Dawley. Observaron un aumento en la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro en el grupo experimental en comparación al grupo control a los 28 días posteriores al acto quirúrgico, siendo estadísticamente significativa la expresión de esta neurotrofina que es mediadora de la transmisión sináptica y plasticidad de las vías trigeminales nociceptivas, posible responsable tanto de la arborización dendrítica como de la supervivencia neuronal en procesos de inflamación crónica.

De acuerdo con algunos autores, los sitios que se involucran en la modulación, filtro e interpretación del dolor, también reflejan signos de neuroplasticidad ante efectos nociceptivos. Actualmente se desconocen los efectos específicos de la inflamación pulpar crónica en las zonas de la corteza somatosensorial primaria. Sin embargo algunos autores como **Kubo y colaboradores** reportaron en el 2008 que la representación del área pulpar en la corteza somatosensorial primaria, recibe la

entrada de estímulos provenientes de las fibras A β al área 3b de Broadman, dentro de la organización detallada del área orofacial mediante la adición de la pulpa dental al clásico “homúnculo sensorial”. Dichos autores en sus estudios registraron campos magnéticos por medio de una magnetoencefalografía en siete personas sanas a las cuales aplicaron estimulación eléctrica no dolorosa en los primeros premolares superiores derechos y de esta manera examinaron los patrones de activación cerebral ante respuestas rápidas de las aferentes sensoriales.

Otros autores como **Baad-Hansen y colaboradores** en el año 2013 reportaron de manera más específica algunas posibles alteraciones somatosensoriales en pacientes que presentan odontalgia atípica (OA) comparado con los pacientes sanos mediante pruebas intraorales cualitativas (QualST) y pruebas intraorales cuantitativas (QST) dentro de la cavidad oral. Se midieron algunas variables como pruebas térmicas, mecánicas, de vibración y de presión, así como sus correspondientes umbrales.

De acuerdo con este estudio las anomalías somatosensoriales se encontraron con respuestas más exacerbada en paciente con OA que en sanos, sobre todo cuando se aplicaron estímulos tanto mecánicos como fríos dolorosos. Esto nos indica un posible proceso de hiperalgesia que se generó ante la constante entrada de estímulos nociceptivos provocado por la OA.

De acuerdo con algunos hallazgos encontrados en la literatura, se encuentra íntimamente relacionado los procesos de alodinia e hiperalgesia con la neuroplasticidad somatosensorial, incluso es partícipe de ciertas fases de remodelación rápida neuronal en relación con diversas estructuras que sufren o se ven afectadas dentro de los procesos de dolor crónico, esto ha sido reportado por **Kwan-Kim y colaboradores** en el año 2012 que analizan los cambios neuronales a nivel de espinas dendríticas en corteza somatosensorial primaria (S1) por medio de microscopia fotónica ante una lesión periférica inducida en ratones. De modo que uno de los cambios en la plasticidad neuronal provocados por una lesión periférica es el aumento de la formación de nuevas espinas en la fase de desarrollo del dolor, y el aumento en la eliminación de las espinas previamente existentes en la fase de mantenimiento.

Los resultados que aportan estos investigadores proponen que para el mecanismo del dolor crónico la lesión periférica induce una rápida remodelación estructural y la función de las sinapsis corticales en la región S1 de la corteza somatosensorial primaria. Esto, junto con otras posibles contribuciones de las interneuronas inhibitorias, resulta en hiperexcitabilidad de las neuronas corticales S1 que podría proyectar e interactuar con otras regiones dentro del dolor como la corteza cingulada anterior (CCA) y traer como consecuencia comportamientos de dolor crónico tales como alodinia.

De igual forma los estudios de **Oberman y colaboradores** coinciden con algunos resultados del grupo de Kwan-Kim, en relación a la neuroplasticidad de la corteza somatosensorial con diversas estructuras como corteza S2, tálamo, ínsula y corteza cingulada anterior que ante procesos de inflamación crónica existe una mayor reducción volumétrica de la materia gris. En el año 2013 realizaron un estudio para identificar las regiones específicas del cerebro posiblemente asociadas con el desarrollo o mantenimiento del dolor provocado por neuralgia trigeminal (NT) utilizando imágenes de resonancia magnética (MRI) basado en voxel morfometría (VBM), esto realizado a sesenta pacientes con NT clásica comparándolo con 49 pacientes sanos. Ellos encontraron reducción de volumen en la materia gris (MG) en pacientes con NT en comparación con los controles sanos.

Los cambios observados probablemente reflejan el impacto de múltiples ataques o episodios de dolor en estos pacientes similares a los que se han descrito anteriormente en otras condiciones de dolor crónico, y puede ser interpretado como el mecanismo de la adaptación o plasticidad neuronal, concluyendo que el grado de reducción de materia gris es directamente proporcional con el grado de dolor y duración de éste.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El dolor es una experiencia totalmente personal que no puede ser compartida, ya que al aplicar estímulos dolorosos idénticos a diferentes individuos, se perciben de manera distinta y esto constituye una de las principales preocupaciones en el ser humano. El dolor orofacial es el síntoma más común por el que acuden a consulta con el estomatólogo, siendo responsable en un 40% las alteraciones de la pulpa, misma que se encarga de autoinducirse procesos de inflamación crónica como consecuencia de una lesión. Esto genera impulsos dolorosos que son enviados como información al cerebro a través de una vía trigeminal común que finalmente integra toda la información nociceptiva en la corteza somatosensorial. Ésta última es la encargada de darle la interpretación subjetiva a todas las señales dolorosas provenientes de la periferia. La información nociceptiva es previamente filtrada y modulada de manera significativa por diversas estructuras para que nuestro organismo cense de forma menos agresiva y no se genere una experiencia tan desagradable del dolor interpretada por nosotros.

Algunos autores relacionan cambios estructurales en la corteza somatosensorial ante procesos de dolor e inflamación crónica tales como disminución en la materia gris, reorganización neuronal y arborización dendrítica, lo que repercute de manera directa en la conducta neuronal e indirectamente en la interpretación del dolor. Actualmente se conoce la ubicación del área pulpar representada en la corteza S1, sin embargo los cambios neuronales a nivel de esta estructura asociada a una lesión pulpar crónica con progreso a necrosis se desconocen hoy en día, por lo que surge la necesidad de evaluar en el presente trabajo la neuroplasticidad de la corteza S1 y contribuir al conocimiento científico para un mejor entendimiento en cuanto a la captación e interpretación del dolor pulpar.

2.1 Pregunta de investigación

¿Cuáles son los cambios plásticos neuronales que se expresan en la región de la corteza somatosensorial primaria ante una comunicación pulpar experimental en ratas comparados con el grupo control?

2.3. Hipótesis

La comunicación pulpar experimental en ratas produce neuroplasticidad a nivel de la corteza somatosensorial primaria comparada con el grupo control.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que el dolor es un síntoma de extraordinaria importancia en la práctica odontológica, particularmente en lo concerniente a las alteraciones de la pulpa dental que es responsable del 40% de todos los síndromes dolorosos que se presentan en la población, es necesario comprender mejor la expresión del dolor pulpar y las estructuras que se involucran en la transmisión, percepción y modulación de éste.

Se han reportado cambios importantes de reorganización neuronal dentro de la corteza somatosensorial como consecuencia de procesos de inflamación crónica, lo que repercute de manera directa en la conducta e interpretación del dolor. La importancia de esta investigación es reportar nueva información de neuroplasticidad en la corteza somatosensorial primaria (S1) asociado a lesiones pulpares expuestas a la microflora bucal en ratas y generar conocimiento científico para tener un mayor entendimiento en cuanto a la captación, interpretación y repercusión del dolor pulpar dentro del Sistema Nervioso Central (SNC).

Es importante que los odontólogos comprendamos el origen del dolor, la integración y la función de las estructuras que se involucran en dicho proceso a nivel fisiológico debido a que el diagnóstico y tratamiento del dolor, representan una serie de habilidades básicas necesarias para la práctica exitosa de la odontología y son

especialmente importantes cuando se evalúa un paciente con odontalgia. El estudio científico de las bases del dolor es una herramienta importante para el futuro desarrollo de nuevas estrategias farmacológicas aterrizadas al área odontológica.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Comparar los cambios plásticos en longitud y arborización dendrítica de las neuronas de la corteza somatosensorial primaria después de inducir comunicación pulpar experimental en ratas contra el grupo control.

5. MATERIAL Y METODOLOGÍA

5.1 Diseño de estudio

Cuasi experimental, longitudinal, prospectivo.

5.2 Ubicación espacial-temporal

- Bioterio central de la BUAP “Claude Bernard”.
- Laboratorio de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- 15 de Enero de 2013 al 14 de Febrero de 2015.

5.3 Estrategia de trabajo

1. Establecer un modelo animal (rata), para estudiar la plasticidad neuronal inducida por lesión pulpar.
2. Inducir la lesión pulpar en los individuos de experimentación.
3. Realizar la técnica histológica de Golgi-Cox, para teñir el tejido neuronal.

4. Obtención de imágenes neuronales en papel por cámara lucida.
5. Analizar los datos morfológicos por el método de Sholl.
6. Obtención y discusión de resultados.

5.4. Muestreo

5.4.1 Definición de la unidad de población

Para el presente proyecto se utilizaron ratas de la cepa Sprague Dawley del bioterio central de la BUAP “Claude Bernard”.

5.4.2 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 control de 8 roedores (falsa lesión) y otro grupo lesionado de 6 ratas.
- Ambos grupos fueron agrupados al azar.

5.4.3 Criterios de selección de las unidades de muestreo

5.4.3.1 Criterios de inclusión:

Ratas machos de la cepa Sprague-Dawley de 28 días de edad, con un rango de peso de 60 a 110 gr, nacidas el mismo día.

5.4.3.2 Criterios de exclusión:

Todos los parámetros que no incluyan los criterios de inclusión.

5.4.3.3 Criterios de eliminación:

Desnutrición y animales que expiraron durante el desarrollo experimental.

5.4.4 Criterios de selección de las neuronas

5.4.4.1 Criterios de inclusión:

Neurona bien teñida, no fragmentada, que se encuentre lo suficientemente aislada como para poder distinguir las dendritas de la neurona elegida.

5.4.4.2 Criterios de exclusión:

Todos los parámetros que no incluyan los criterios de inclusión.

5.4.5 Diseño y tipo de muestreo: Muestreo aleatorio simple.

5.4.6 Tamaño de la muestra: Población finita 14 ratas.

5.5 Definición de las variables y escalas de medición

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	CATEGORIA	ESCALA DE MEDICIÓN	ANÁLISIS ESTADÍSTICO
Longitud dendrítica	Prolongaciones protoplásmicas ramificadas, bastante cortas de la neurona dedicadas principalmente a la recepción de estímulos y, secundariamente, también a la alimentación celular.	Evaluar a través del análisis de sholl la longitud de las dendritas.	Cuantitativa, discreta, dependiente.	Número de círculos interceptados por cada dendrita (micras)	Estadística descriptiva <i>t</i> de Student.
Arborización Dendrítica	Número de prolongaciones protoplásmicas por cada cuerpo celular neuronal.	Evaluar a través del análisis de sholl el grado de arborización de las dendritas.	Cuantitativa, discreta. dependiente.	Número de orden dendrítico repetido por cada círculo	Estadística descriptiva <i>t</i> de Student.
Comunicación Pulpar	Procedimiento mediante el cual se expone el tejido pulpar a la microflora bucal.	Dividir el grupo control del experimental	Cualitativa, dicotómica, Independiente.	Con/Sin	Estadística descriptiva <i>t</i> de Student.

5.6 Método de recolección de datos: Prospectivo

5.7 Técnicas y procedimientos

5.7.1 Lesión pulpar.

Los roedores se prepararon con ayuno de 12 horas previas.

Se realizó la comunicación pulpar en las primeras y segundas molares inferiores derechas en el laboratorio de fisiología de la FEBUAP.

Se dió inicio al 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.

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 1ra y 2da molar inferior derecha con acceso oclusal. Este procedimiento requirió de una técnica de trabajo a 4 manos para el cuidado y la conservación de tejidos blandos.

Todo el procedimiento requirió 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 fue aprobado 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 lesionadas como control fueron pesadas tres veces a la semana durante 28 días.

5.7.2 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 sujetos de interés (en nuestro caso ratas).

5.7.3 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 forma.

5.7.4 Obtención del tejido nervioso

- a. Las ratas fueron anestesiadas con una sobredosis de Ketamina-Xilasina.
- b. Se perfundió con solución de cloruro de sodio al 0.9% por el ventrículo izquierdo, con la finalidad de limpiar el tejido nervioso del tejido sanguíneo y realizando un corte a la aurícula derecha para favorecer su drenaje.
- c. Se procedió a remover los cerebros para ser fijados en 20 ml de la solución de Golgi-Cox.

5.7.5 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 se reemplazó por una solución de sacarosa al 30% y se almacenó 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 grados centígrados hasta cubrir el tejido.
- c.** Se seccionó el tejido en orientación coronal de cada hemisferio con un grosor de 200µm y se fijó en laminillas previamente gelatinizada al 2% bajo presión.
- d.** Se mantuvo en las laminillas en una cámara húmeda y se procedió a revelar la tinción en total oscuridad, de la siguiente manera.
 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. Se Deshidrató 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 resguardó en oscuridad para su secado.

5.7.6 Análisis morfológico

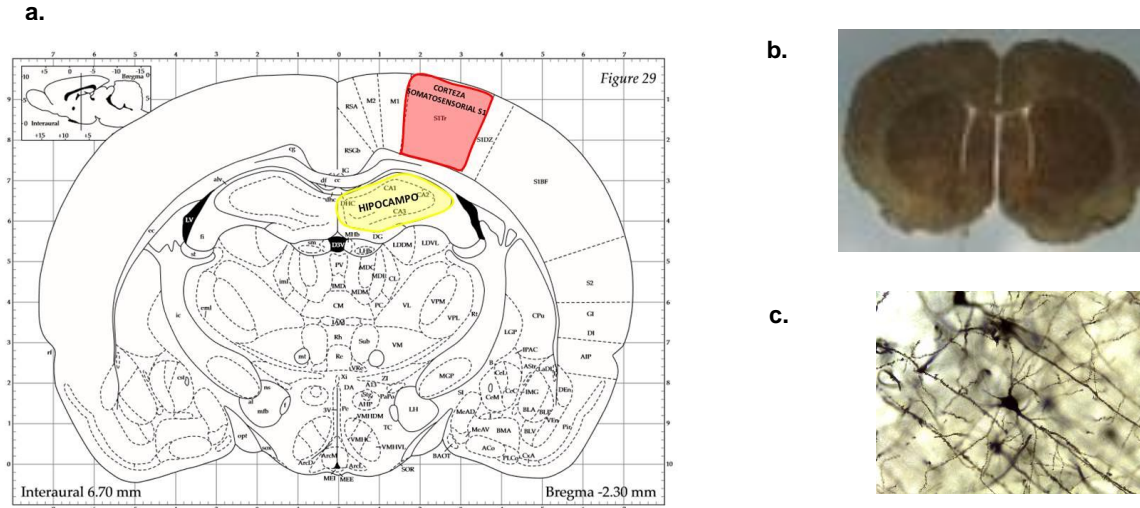
Kolb, 1998. Propone los siguientes criterios para la elección de neuronas para dibujar y analizar:

- 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.

Para inferir posible neuroplasticidad, se eligieron 10 neuronas por cada cerebro en la zona de la Corteza Somatosensorial S1 la cual se observa en un corte coronario a nivel de Bregma -2.30 mm, en la parte superior orientado a la derecha de la zona de inflexión del hipocampo (Paxinos y Watson, 1998). Imagen 2.

Se reconstruyó cada neurona con un dibujo bidimensional utilizando una cámara lúcida adaptada a un microscopio Leica DMSL. Éstas fueron analizadas con el método de Sholl (Sholl, 1953) el cual consiste en sobreponer una placa transparente con una serie de círculos concéntricos con un equivalente de 10 μm de separación, la cual es colocada sobre el dibujo. El número de círculos que intercepte cada dendrita es usado para estimar la longitud dendrítica total. Para obtener el estimado de arborización dendrítica, el número total de ramificaciones dendríticas (indicado por bifurcaciones), es contabilizado para cada orden que se aleje del cuerpo celular.

La densidad de espinas dendríticas es estimada por el dibujo del segmento más distal de la dendrita de mayor número de orden de la neurona a magnificación de 100x y se contabilizó el número de espinas en 10 μm .



Imagén 2. a) Corte coronal de cerebro a nivel de Bregma -2.30 mm, donde se muestra la ubicación del hipocampo (color amarillo), y corteza somatosensorial S1 (color rojo) (Paxinos y Watson. 1998). **b)** Corte coronal de tejido cerebral de la rata. **c)** Imagen de neurona a 40x en microscopio.

5.8 Análisis de datos

Se recopilaron los datos obtenidos de las variables por el método de Sholl en una tabla de cálculo diseñada en el programa de Microsoft Excel, posteriormente éstos se capturaron y se analizaron con el programa estadístico GRAPHPAD PRISM 5 para la presentación de resultados en gráficas.

5.9 Diseño estadístico

5.9.1 Pruebas estadísticas

- Prueba *t* de Student.
- Nivel de medición de la variable de comparación: Intervalos

6. 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.

7. RESULTADOS

El presente proyecto nos muestra que existen cambios neuroplásticos en la corteza somatosensorial S1 ante dolor crónico provocado por una comunicación pulpar experimental en ratas.

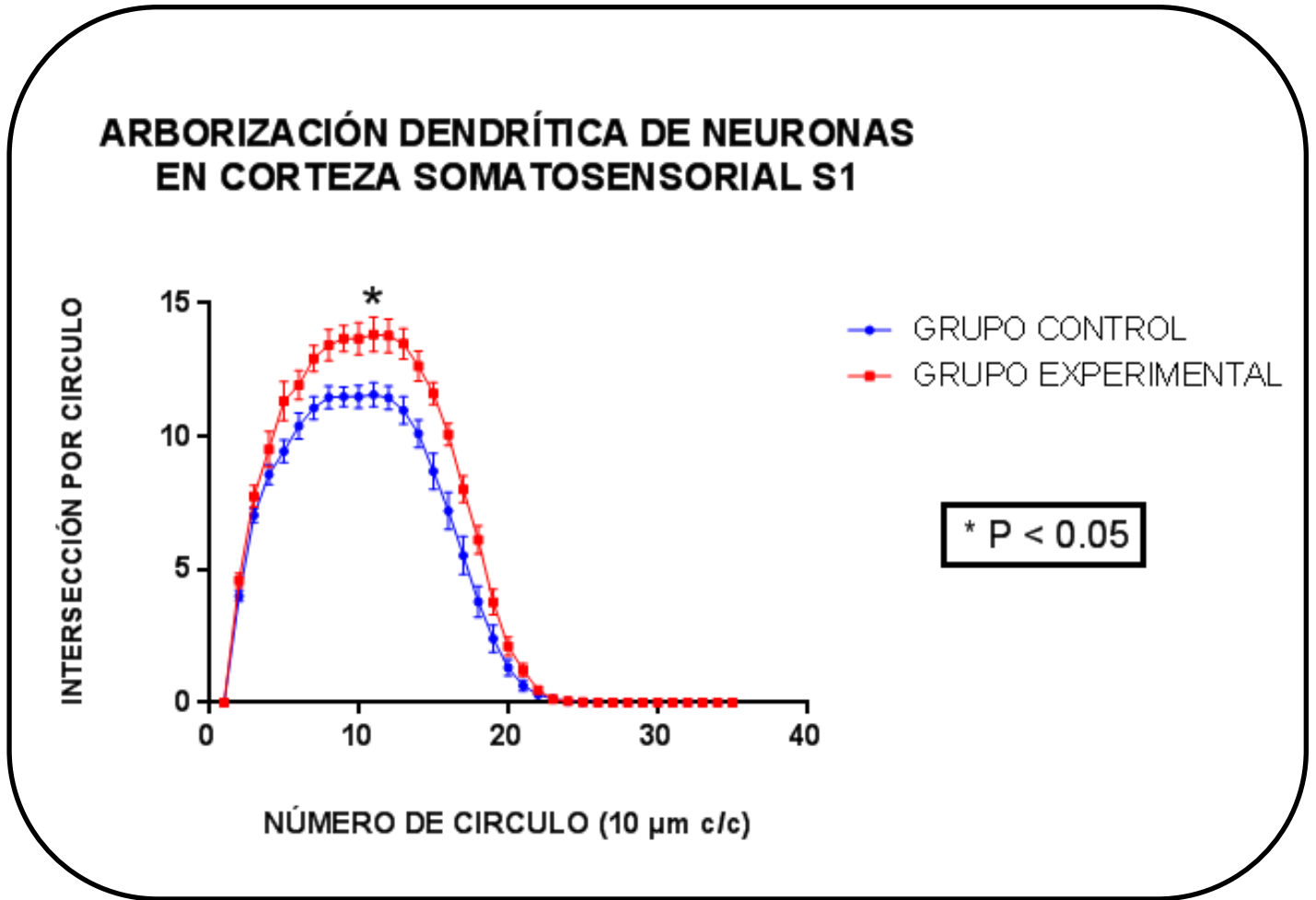
Los resultados se obtuvieron mediante el análisis estadístico T de Student con un valor de confiabilidad del 95%, que comparó 10 neuronas por cada animal tanto en grupo experimental como grupo control (Sham).

La arborización de la neurona en corteza somatosensorial S1 se cuantificó con el número de intersecciones de dendritas observadas por cada círculo concéntrico de la placa de Sholl. Debido a esto, se puede observar una mayor densidad de número de dendritas del grupo experimental comparada con el grupo control (Gráfica 1). El análisis estadístico T de student comprueba una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en la arborización de neuronas en la corteza S1 del grupo experimental comparada con el grupo control.

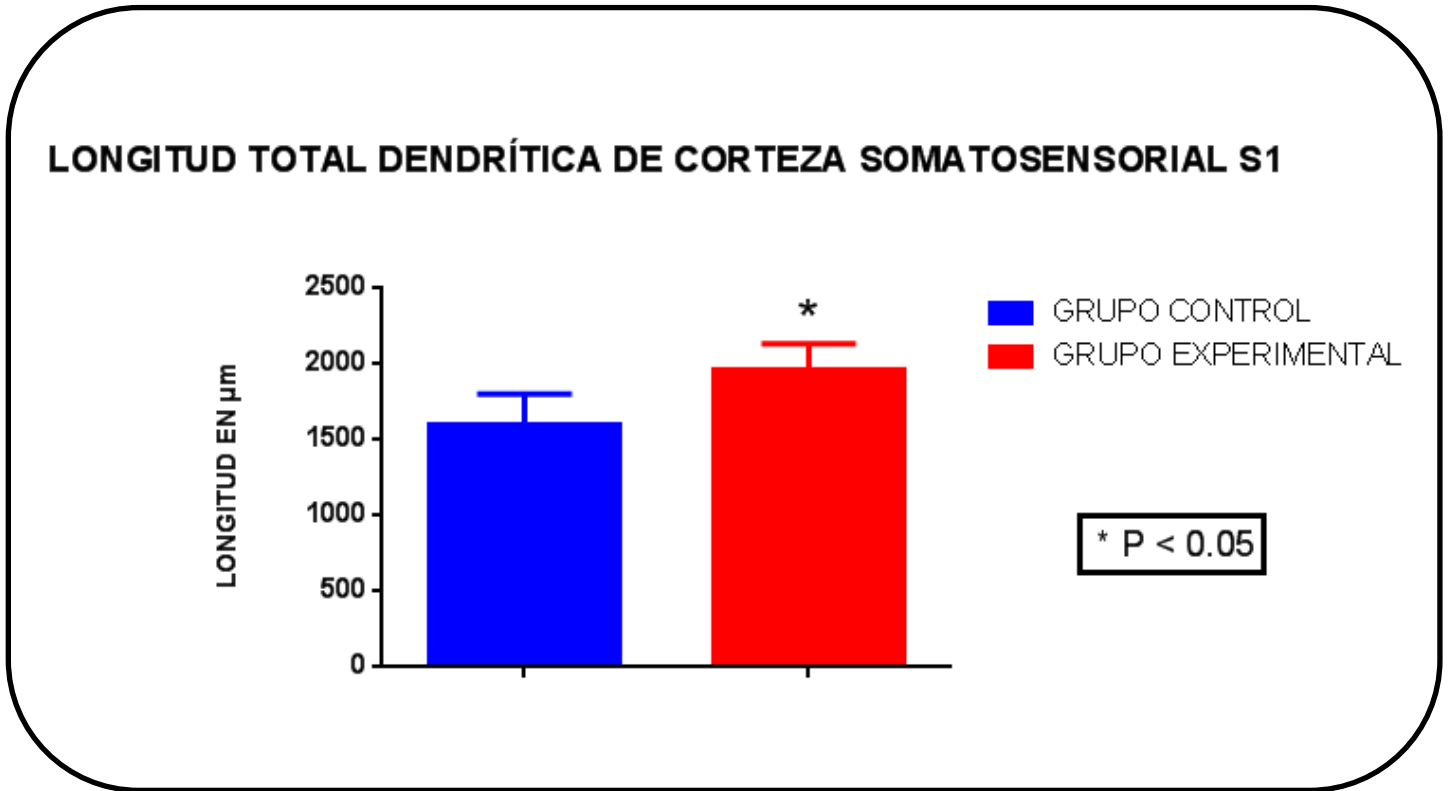
En cuanto a la longitud total dendrítica se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$) del grupo experimental comparado con el grupo control (Gráfica 2). Se midió de igual forma la longitud total dendrítica por número de orden (Gráfica 3. a) que muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en el grupo experimental y con un particular aumento en el tercer y cuarto orden dendrítico.

Se realizó el análisis estadístico específicamente del tercer y cuarto orden dendrítico del grupo experimental vs grupo control (Gráfica 3. b y c), y los resultados obtenidos muestran una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) a nivel de tercer orden dendrítico en el grupo experimental (Gráfica 3.b), sin embargo no hubo

diferencia significativa en el cuarto orden dendrítico, probablemente se deba a la amplitud de la desviación estándar (Gráfica 3.c).

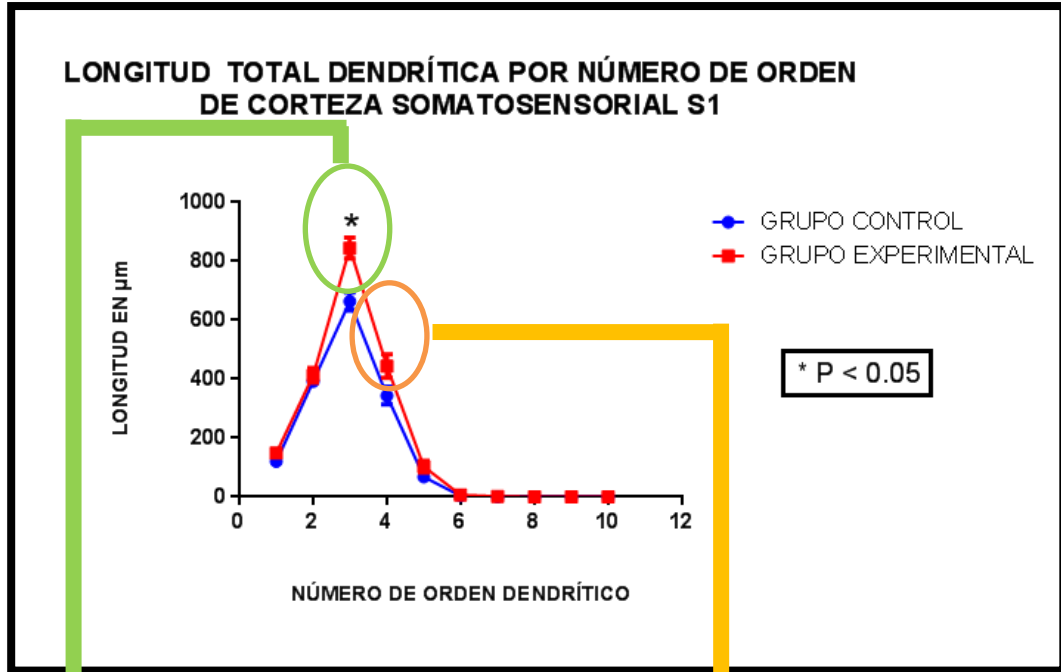


Gráfica 1. La gráfica expresa los datos obtenidos de arborización más menos desviación estándar. Se encontró diferencia significativa con la P menor igual a 0.05 del grupo experimental identificado en color rojo, en comparación con grupo control mostrado en color azul.

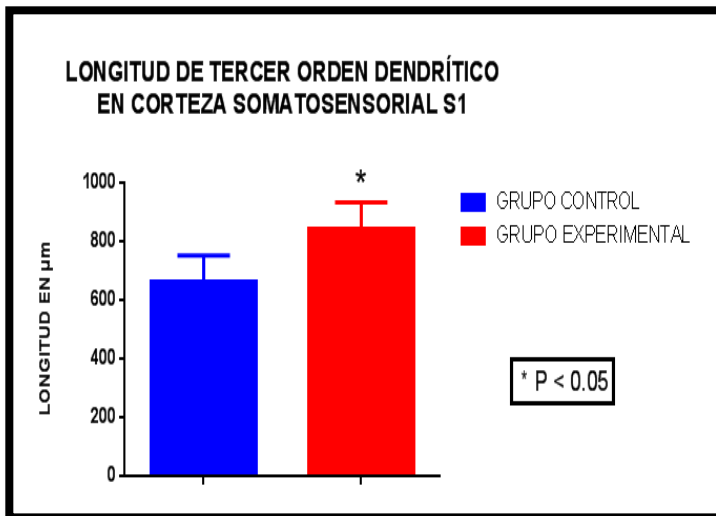


Gráfica 2. La gráfica muestra la longitud total dendrítica comparando el grupo control con el grupo experimental. Se observa que el grupo experimental presenta un aumento en la longitud dendrítica, éste aumento es estadísticamente significativo, con respecto al grupo control $P < 0.05$, con análisis estadístico t de student.

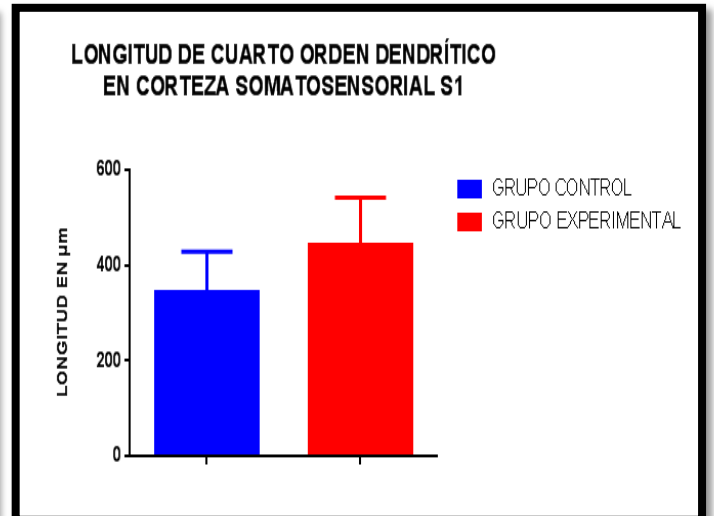
a)



b)



c)



Gráfica 3. a) Muestra la longitud total dendrítica por número de orden, grupo control (color azul) en comparación con grupo experimental (color rojo). Se observa gráficamente mayor prolongación a nivel del Tercer y Cuarto orden dendrítico. b) La gráfica presenta los resultados de la longitud de Tercer orden dendrítico del grupo control (color azul), en comparación con la longitud del Tercer orden dendrítico del grupo experimental (color rojo). Se observa que la longitud dendrítica del Tercer orden del grupo experimental es estadísticamente significativo $p < 0.05$ con el análisis estadístico t de student. c) Se observa la longitud dendrítica del Cuarto orden del grupo control (color azul), en comparación con la longitud dendrítica del Cuarto orden del grupo experimental (color rojo). Gráficamente existe una tendencia de ser diferente el grupo experimental. Pero estadísticamente no es significativo, probablemente por la amplitud de la desviación estándar.

8. DISCUSIÓN

Cuando existe una exposición pulpar ante la microflora bucal se desarrollan signos de inflamación y necrosis pulpar. Debido a la liberación de mediadores químicos de la inflamación, las Fibras C son sensibilizadas y dan inicio a la expresión de FNDC que favorecen la reparación neuronal (Behnia A y cols 2003; Ichiwata y cols 2006).

Piña A. y cols. 2012, evaluaron los cambios histológicos de la pulpa en un protocolo experimental similar al desarrollado por nosotros, encontraron signos de inflamación y necrosis pulpar, estos resultados apoyan los hallazgos mostrados por Tarsa y cols en el 2010, en el sentido de que un proceso inflamatorio pulpar favorece la expresión de factores tróficos como FNDC. En el presente trabajo nos interesó investigar qué sucedía en estructuras corticales como lo es el área somatosensorial S1 que participa en la interpretación de señales nociceptivas.

Para poder investigar los posibles cambios morfológicos en las neuronas piramidales de la región de interés, se reprodujo el protocolo experimental utilizado por los autores mencionados, lo cual se logró con éxito.

Los datos obtenidos del análisis morfológico de las neuronas a través del método de Sholl, muestran los siguientes resultados: Un aumento en la arborización y longitud dendrítica de las neuronas del grupo experimental en comparación con el grupo control. Estos cambios pueden ser debido a una gran cantidad de estímulos que se presentan a lo largo de toda la vía de proyección nociceptiva, desde la periferia hasta el centro integrador que es la corteza somatosensorial. Un posible estímulo que produjo los resultados encontrados fue el aumento de Factores Tróficos (FNDC) en el Ganglio de Gasser como lo reportaron Tarsa y cols en 2010. Por lo que nos permitimos inferir que el aumento de FNDC en esta región estaría involucrado en la regeneración y sobreexpresión de terminaciones nerviosas a nivel periférico (Pulpa dental), lo cual genera mayor cantidad de estructuras receptoras de estímulos nociceptivos (ASIC, TRPV1, TRPVA) e induce procesos tanto de alodinia como hiperalgesia (Sabine Sator, 2014.)

La plasticidad neuronal provocada por el aumento en la expresión de estas neurotrofinas no solamente se pueden observar en el Ganglio de Gasser como se

describió anticipadamente, sino también a nivel de otras estructuras de relevo sináptico como el Tálamo específicamente en la zona Vento Postero Medial (VPM) y Vento Postero Lateral (VPL), donde se lleva a cabo la modulación de la información nociceptiva. Un estudio no publicado realizado por Santiago J.G. y cols. 2014. Muestra una diferencia estadísticamente significativa en la arborización y la longitud dendrítica en el tálamo del grupo experimental hembra en comparación con el grupo macho sometido al mismo procedimiento experimental de nuestra investigación; a diferencia del actual proyecto donde sí hubo diferencia significativa de arborización y longitud dendrítica en La corteza somatosensorial primaria del grupo experimental macho. Esta información nos hace suponer que la respuesta de neuroplasticidad varía en distintos sexos de acuerdo a los diferentes relevos sinápticos y no únicamente en sitios moduladores, sino también integradores, lo cual nos sugiere explorar si existen cambios en la corteza somatosensorial en ratas hembras con comunicación pulpar.

Inclusive la presente investigación analizó de manera más específica el sitio de mayor grado de neuroplasticidad por número de orden dendrítico, el cual se suscitó en la dendrita de tercer orden (espinas con receptores a GABA). Es importante recalcar que cada uno de los órdenes dendríticos localizados en las neuronas, cuentan con un sinnúmero de espinas que poseen distintos tipos de receptores de acuerdo a su localización. La excitabilidad neuronal es mediada por un mayor número de receptores con afinidad al glutamato localizados de manera preferente en las dendritas más distales al soma, por otro lado los receptores a GABA se expresan predominantemente en dendritas proximales al soma (dendritas de primer a tercer orden), y creemos que desempeñan un efecto inhibitorio ante la entrada constante de señales nociceptivas. Así pues, concordamos con Nicoletti M.A y cols. 1995, que la correcta expresión de receptores por parte de la neurona receptora, le permite interpretar las señales aferentes para generar una adecuada respuesta.

En congruencia con lo anterior los resultados obtenidos por Kwan-kim y cols. en el año 2012 describen las distintas fases de neuroplasticidad en S1 de ratones, de acuerdo al periodo de cronicidad de dolor marcadas como fase de desarrollo, en donde existe una disminución de espinas dendríticas previamente dañadas y conexiones neuronales, seguida de una fase lenta de mantenimiento que da lugar a una

recuperación y aumento en el número de espinas dendríticas y brotes axonales, lo que nos indica un mecanismo de adecuación y adaptación neuronal en la corteza S1.

Estos resultados son una prueba de que la renovación y regeneración de espinas dendríticas son esenciales dentro de los procesos de neuroplasticidad para recibir la constante entrada de señales nociceptivas, el cese de éstas probablemente conduciría a una mala adaptación, interpretación o respuesta ineficiente ante señales dolorosas. Por lo tanto, el aumento significativo en la longitud y arborización dendrítica reportado en el presente estudio, se relaciona estrechamente con el aumento de nuevas espinas dendríticas ubicadas en la misma superficie.

Otro factor importante que relacionamos con el nivel de neuroplasticidad es el grado de dolor y la continuidad de éste; estas variables son importantes en el desarrollo de la reorganización neuronal debido a que los periodos interrumpidos de dolor dentro de procesos crónicos pueden llegar a atenuar el nivel de neuroplasticidad en S1 como lo reportado por Gustin y cols. 2012, que refutan la idea de que la neuroplasticidad es un proceso que se genera en todo tipo de dolor crónico, como por ejemplo en pacientes con trastorno temporomandibular que presentan periodos de remisión y los cuales no generan cambios neuroplásticos en muchas ocasiones. Sin embargo Vartiainen y cols. 2009, sostienen la opinión de que el dolor crónico en humanos se asocia invariablemente con la reorganización neuronal dentro de la corteza S1, independientemente de su causa, etiología y sin importar si existe algún tipo de lesión o daño en el nervio (como en pacientes con lesiones por virus del herpes simple). Por tanto no podemos concluir definitivamente la direccionalidad entre el dolor crónico y la reorganización cortical, pero se infiere que el grado del dolor es directamente proporcional al grado de neuroplasticidad. Inclusive, el dolor crónico puede causar la reorganización cortical, pero alternativamente, la propia reorganización cortical mal adaptada podría provocar o mantener el mismo dolor crónico.

Lo que sí podemos afirmar, es que el dolor pulpar crónico produce indudablemente cambios a nivel somatosensorial, cuando ya se ha creado un proceso de alodinia e hiperalgesia como en los pacientes con odontalgia atípica reportados por

Baad Hansen y cols. 2010, que ante estímulos inocuos como térmicos o mecánicos presentan anormalidades en S1.

Existe un gran interés de la comunidad científica en tratar de entender la manera en la que responde la corteza somatosensorial S1 ante estímulos nociceptivos, por esa razón Vartiainen y cols. 2009, Gustin y cols. 2012 y Baan Hansen y cols. 2010, realizaron mediciones estructurales en S1 por medio de Resonancia Magnética detectando el grado de fluidez sanguínea en el área regional de interés después de estímulos nociceptivos periféricos, estos datos nos lleva a la afirmación de existe reorganización a ese nivel. Lo interesante del actual estudio es compartir objetivos comunes con los autores mencionados, con la diferencia de que nuestro experimento realizado es puntual, ya que la medición se realiza específicamente en las neuronas del área de interés, por lo que los resultados son de mayor confiabilidad.

A pesar de que Vartiainen, Gustin y Baad Hansen realizaron sus estudios en humanos y el proyecto actual se realizó en un modelo animal, se ha comprobado que la morfología como la funcionalidad del cerebro del roedor es similar y cercano a la del humano, esto nos permite inferir que ante las conclusiones de los autores antes mencionados comparado con los resultados del actual estudio confirman que sí existe una reorganización neuronal por medio de la neuroplasticidad a nivel de la corteza somatosensorial S1 ante procesos de dolor crónico.

Son visibles y estadísticamente comprobables los cambios neuroplásticos en el presente proyecto, incluso se logró corroborar de manera directa la neuroplasticidad en procesos de dolor crónico pulpar, sin embargo aún no podemos saber de qué manera se logró integrar la información nociceptiva a nivel S1, si la respuesta fue exacerbada o disminuida en sus distintos relevos sinápticos que incluso nos abre muchas interrogantes acerca del muy complejo funcionamiento neuronal con respecto a cómo se dio el proceso de neuroplasticidad, incluso de qué manera aumentó o disminuyó la superficie en espinas dendríticas, qué tipos de receptores neuronales se encuentran con mayor frecuencia en la dendrita de tercer orden, qué cambios neuroplásticos ocurren a los siete, catorce y veintiún días posterior a la comunicación pulpar, cómo es la contribución que tienen las células gliales corticales, astrocitos o

microglía en los cambios plásticos durante el dolor crónico, o la posible relación de causalidad entre el dolor crónico y la remodelación sináptica cortical, o qué sucede con las neuronas inhibitorias corticales y sus sinapsis durante el dolor crónico.

Esto nos abre un panorama de cómo la reorganización neuronal, dispone de un sinnúmero de estructuras para su completa adecuación, adaptación y remodelación. De manera que, para poder inferir de forma más acertada el proceso de neuroplasticidad neuronal, sería necesario evaluar las distintas estructuras sinápticas para poder entender el completo procedimiento.

Finalmente nuestra investigación se describe como la primera en analizar neuronas a nivel de S1 ante procesos de dolor crónico de la pulpa dental en un modelo animal (Ratas Sprague-Dawley). Por lo que difícilmente se puede comparar lo encontrado en esta investigación con otros estudios realizados en humanos.

9. CONCLUSIÓN

En el actual proyecto se encontraron cambios neuroplásticos a nivel del tercer orden dendrítico en las neuronas piramidales de la corteza somatosensorial S1, en el modelo animal ante un dolor crónico inducido por comunicación pulpar. Esto es un importante signo de adaptación y adecuación neuronal que permite la regeneración de dendritas previamente dañadas antes estímulos nocivos.

10. BIBLIOGRAFÍA

Adachi K, Shimizu K, Hu J. Purinergic receptors are involved in tooth-pulp evoked nocifensive behavior and brainstem neuronal activity. *Molecular Pain*. 2010; 6(1):59.

Baad-Hansen L, Pigg M, Ivanovic SE, Faris H, List T, Drangsholt M, Svensson P. Intraoral somatosensory abnormalities in patients with atypical odontalgia—a controlled multicenter quantitative sensory testing study. *Pain*. 2013; 154(8):1287-94.

Bender IB. Reversible and irreversible painful pulpitis: diagnosis and treatment. *Aust Endod J*. 2000;26(1):10-4.

Bradley RM. Fisiología oral. Bogotá: Editorial Médica Panamericana, 1984.

Benhia A, Zhang L, Charles M, Gold MS. Changes in TrkB-like immunoreactivity in rat trigeminal ganglion after tooth injury. *J Endod* 2003; 29 (2):135–140.

Capra NF, Dessem D. Central connections of trigeminal primary afferent neurons: Topographical and functional considerations. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 1992; 4(1):1-52.

Coveñas R y cols. Neuropeptidos en el núcleo espinal del trigémino. *Rev.Soc.Esp.Dolor*. 2000; 7(7): 444-452.

Cruciani RA, Nieto MJ. Fisiopatología y tratamiento del dolor neuropático: avances más recientes. *Rev. Soc. Esp. Dolor*. 2006; (5):312-27.

Da Silva Alex FM. Somatotopic Activation in the human trigeminal pain pathway. *The journal of neuroscience*.2002; 22(18):8183-8192.

Darian-Smith C, Gilbert CD . Axonal sprouting accompanies functional reorganization in adult cat striate cortex. *Nature*. 1994; (368): 737–740.

González O, Solórzano AL, Balda R, García C. Dolor bucofacial persistente. Dimensión sensorial. *Acta Odontológica*. 1999; 3 (37): 22-25.

Gusman H, Santana RB, Zhnder M. Matrix metalloproteinase levels and gelatinolytic activity in clinically healthy and inflamed human dental pulps. *Eur J Oral Sci*. 2003;111(3):289.

Gustin S, Peck C, Cheney B y cols. Pain and plasticity: Is Chronic pain Always associated with somatosensory cortex activity and Reorganization?. *The journal of Neuroscience*. 2012; 32(43): 14874-14884.

Hashemipour MA, Borna R. Incidence and characteristics of acute referred orofacial

pain caused by a posterior single tooth pulpitis in an Iranian population. *Pain pract.* 2014; 14(2):151-7.

Hu B, Chiang CY, Hu JW , Dostrovsky JO, Sessle BJ. P2X Receptors in Trigeminal Subnucleus Caudalis Modulate Central Sensitization in Trigeminal Subnucleus Oral. *J Neurophysiol.* 2002; (8):1614–1624.

Ichikawa H, Yabuuchi T, Jin HW y cols. Brain-derived neurotrophic factor-immunoreactive primary sensory neurons in the rat trigeminal ganglion and trigeminal sensory nuclei. *Brain Res* 2006; 1081(1):113–118.

Juárez I, Gratton A, Flores G. Ontogeny of altered dendritic morphology in the rat prefrontal cortex , hippocampus and nucleus accumbens following Cesarean delivery and birth anoxia. *The Journal of Comparative Neurology.* 2008; (507):1734-1747.

Kwan-Kim S. Eto K. Nabekura J. Synaptic structure and function in the Mouse Somatosensory Cortex during Chronic Pain: In vivo Two-Photon Imaging. *Neural Plasticity.* 2012: 1-8.

Kubo k, Shibukawa Y, Shintani M y cols. Cortical Representation Area of Human Dental Pulp. *J Dent Res.* 2008; 87 (4): 358-62.

List T, Leijon G, Svensson P. Somatosensory abnormalities in atypical odontalgia: A case-contral study. *Pain.* 2009;139: 333-341.

Mandel ID. Pain in the trigeminal System: from Orofacial Nociception to Neural Network Modeling. *J Dent Res.* 2003; 82 (10): 764-68.

Universidad Nacional Del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. [Internet]. Argentina: UNNE; 2 0 0 5 [Consulta en Julio del 2014]. Disponible en <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/3-Medicina/M-035.pdf>.

Melzack R, Wall PD. Pain Mechanisms: A New Theory. *Science.* 1965; 150(3699): 971-979.

Neira A, Olaya A. Manejo farmacológico del dolor orofacial. Revisión. *Rev. Med.* 2010; 18(1): 58-66.

Nicolelis M, Chapin K, Lin R. Development of direct GABAergic projections from the zona incerta to the somatosensory cortex of the rat. *Neuroscience.* 1995; 65 (2):609-631.

Oberman M, Rodriguez-Raecke R, Naegel F y cols. Gray matter volume reduction reflects chronic pain in trigeminal neuralgia. *NeuroImage.* 2013; 74:352–358.

Onodera K., Hamba M., Takahashi T. Primary afferent synaptic responses recorded from trigeminal caudal neurons in a mandibular nerve-brainstem preparation of neonatal rats. *Journal of Physiology*. 2000; 524(2): 503-512.

Pedrajas JM, Molino AM y cols. Bases neuromédicas del dolor. *Clínica y salud*. 2008; 19 (3): 277-293.

Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in stereotaxis coordinates*. 4^a ed. Estados Unidos: Editorial Academic Press. 1998.

Sator-Katzenschlager S. Pain and Neuroplasticity. *Rev Med Clin Condes*. 2014; 25(4) 699-706.

Price DD. Psychological and neural mechanisms of the affective dimension of pain. *Science*. 200; 288(5472): 1769-72.

Rodd HD, Boissonade FM. Substance P expression in human tooth pulp in relation to caries and pain experience. *Eur J Oral Sci*. 2000; 108: 467-74.

Seltzer, S. Bender, I.B. *Pulpa dental*. 3^a ed. México: Editorial el Manual Moderno. 1987.

Sessle BJ. Trigeminal pain. Nociceptive pathways and mechanisms. In: Stohler CS, Carlson DS, editores. *Biological and psychological aspects of orofacial pain*. Craniofacial Growth Series. Ann Arbor: University of Michigan; 1994: 1-34.

Sessle BJ. Role of peripheral mechanisms in craniofacial pain conditions. In: Cairns BE, ed. *Peripheral Receptor Targets for Analgesia: Novel Approaches to Pain Management*. New York: Wiley; 2009: 3-20.

Sessle BJ. Mechanisms of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates. *Journal of Oral Rehabilitation* 2006; 33; 243–261

Sholl DA. Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat. *J Anat*. 1953; 87:347-406.

Suazo IC, Cantín MG, Zavando DA. Análisis de la densidad de receptores tipo NMDA R1 en el núcleo espinal de trigémino humano. *Rev Soc Esp Dolor*. 2008; 6:371-376.

Tarsa L, Balkowiec-iskra, Kratochvil VK. Tooth pulp inflammation an increases brain-derived neurotrophic factor expression in rodent trigeminal ganglion neurons. *Neuroscience*. 2010; 167:1205-215.

Tomita A, Kato T, Sato F y cols. Somatotopic direct projections from orofacial áreas of primary somatosensory cortex to pons and medulla, especially to trigeminal sensory

nuclei complex in rats. *Neuroscience*. 2012; 200: 166-185.

List T, Leijon G, Svensson P. Somatosensory abnormalities in atypical odontalgia: a case-control study. *Pain*. 2009; 139: 333-341.

Valverde F. Estructura de la corteza cerebral: Organización intrínseca y análisis comparativo del neocórtex. *Rev Neurol*. 2002; 34 (8): 758-780.

Vartiainen N, Kirveskari E, Kallio-Laine K. Cortical Reorganization in Primary somatosensory cortex in patients with unilateral chronic pain. *The Journal of Pain*. 2009;10(8): 854-9.

Woda A. Pain in the trigeminal system: from Orofacial Nociception to Neural Network Modeling. *J Dent Res*. 2003; 82(10): 764-68.

Worthen SF, Hobson AR, Hall SD. Primary and secondary somatosensory cortex responses to anticipation and pain: a magnetoencephalography study. *European Journal of Neuroscience*. 2011; 33: 946-59.

You HJ, Lei J, Niu N, Yang L, Fan XL, Tjølsen A, Li Q. Specific thalamic nuclei function as novel 'nociceptive discriminators' in the endogenous control of nociception in rats. *Neuroscience*. 2013; 232: 53-63.