



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

POSGRADO DE ESTOMATOLOGÍA CON TERMINAL EN PEDIATRÍA

**“NEUROPLASTICIDAD DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS EN ÁREAS DEL
CIRCUITO MESOCORTICOLÍMBICO PROVOCADO POR DOLOR CRÓNICO
PULPAR”**

**Tesis para obtener el grado de:
Maestría en Estomatología con opción terminal en Pediatría.**

Presenta: L.E. Rosario Teidet Agüero Romero. Matrícula 221450010.

Director de tesis: D.C. Ismael Juárez Díaz. ID 100517019.

Asesor disciplinario: M.D.P Abigail Martínez Guerrero. ID 100528238.

Director metodológico: E.P Nila Claudia Gil Orduña. ID 100202788.

Asesor externo MC. Betsabé de la Cruz Corona. ID 26426.

Lector de Tesis: D.C Alberto Vinicio Jerezano Domínguez ID NSS524063.

Mayo 2023

I.- Dictamen de aprobación de tesis



Oficio No. FESIEP/CIFE/045/2023

C. Rosario Teidet Aguero Romero
Alumna de la Maestría en Estomatología
con opción en Terminal en Pediatría
Matrícula No.: 221450010
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, el que suscribe MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; por este medio me permito informarle a Usted, que, está Secretaría de Posgrado aprueba la impresión de la Tesis titulada:

**"Neuroplasticidad de las espinas dendríticas en áreas del circuito mesocorticolímbico
provocado por dolor crónico pulpar".**

misma que presentará para realizar su examen profesional y obtener el grado de Maestra en Estomatología con opción en Terminal en Pediatría; para su conocimiento y atención correspondiente.

Sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., 24 de mayo de 2023

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez
Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología



*Se anexa: Formato de Impresión de Tesis (Original) - p.s.c y a.

*C.c.p. Archivo

*MTRO. FJMA/DR.FADV/yaneth

Facultad
de Estomatología

31 Poniente 1304, Col. Volcanes,
Puebla, Pue. C. P. 72410
01 (222) 229 55 00 Ext. 6400

II.- Autorización de impresión

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL**

Para obtener el Grado de: **Maestra en Estomatología con opción terminal en Pediatría**

Registro CIFE: 2021167 Fecha: jueves 25 de mayo del 2023

Título de la Tesis "Neuroplasticidad de las espinas dendríticas en áreas del circuito mesocorticolímbico provocado por dolor crónico pulpar"

Nombre del alumno: Rosario Teidet Agüero Romero **Matrícula:** 221450010

Domicilio: 31 poniente #3324 Col. Santa Cruz los Ángeles.

Tel: 22*25 80 94 33

Fecha de ingreso a la Facultad: lunes 06 de enero del 2020.

Firma: _____

Director de Tesis: DC. Ismael Juárez Díaz. **Grado académico:** Doctor en Ciencias Químico-Biológicas.

Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: 100517019

TEL: 22*61 01 69 44

Firma: _____

Director Disciplinario: MEP. Abigail Martínez Guerrero

Grado académico: Maestría en Desarrollo Pedagógico

Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: 100528238

Tel: 22*24 55 33 87

Firma: _____

Director Metodológico: EP. Nila Claudia Gil Orduña

Grado académico: Especialidad en Odontopediatría

Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: 100202788

Tel: 22*22 12 67 11

Firma: _____

Lector: DC. Alberto Vinicio Jerezano Domínguez.

Grado académico: Doctor en Ciencias.

Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: NSS524063

Tel: 22*24 26 95 08

Firma: _____

Nombre y firma de aprobación del Responsable de la Maestría en Estomatología con Opción terminal en Pediatría.

MEP. José Alberto Hachity Ortega

Firma: _____

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología, autoriza la impresión de la Tesis.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez



Fecha: jueves 25 de mayo del 2023

Sello _____

III.- Oficio de aceptación de proyecto C.I.F.E



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA**

Formato D. Aceptación y registro proyecto de investigación

“Neuroplasticidad de las espinas dendríticas en el circuito Mesocorticolímbico provocado por inflamación pulpar”

Se envía al docente responsable del proyecto la siguiente documentación:

Dictamen de aceptación y número de registro con los docentes participantes en hoja membretada con número de oficio y firma S.I.E.P.

1 Anexo con algunas observaciones

- El docente responsable del proyecto, entrega al C.I.F.E., informes parciales cada seis meses (ANEXO 7)
- Cualquier modificación de título, alumnos, docentes participantes, forma de titulación, o cancelación del proyecto deberá ser informado al C.I.F.E., en oficios libres con evidencias y Vo.Bo., de los integrantes.
- El docente responsable del proyecto entregará informe final (ANEXO 8) cuando concluya el proyecto.

Fecha de envío: 26 de octubre de 2021



Facultad
de Estomatología

31 Poniente 1304, Col. Volcanes,
Puebla, Pue. C. P. 72410
01 (222) 229 55 00 Ext. 6400

Formato control interno revisado y autorizado por integrantes C.I.F.E. diciembre 2020

IV.- Reporte de similitud anti plagio

INFORME DE ORIGINALIDAD

12%	9%	9%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Bello Medina Paola Cristina. "Cambios estructurales en las neuronas de proyección del estriado relacionados con la consolidación y evocación de la memoria de un entrenamiento incrementado", TESIUNAM, 2016 Publicación	1%
2	www.elsevier.es Fuente de Internet	1%
3	www.scielo.org.mx Fuente de Internet	1%
4	repositorio.uandina.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	Submitted to CONACYT Trabajo del estudiante	<1%
6	rdu.unc.edu.ar Fuente de Internet	<1%
7	epdf.pub Fuente de Internet	<1%

V.- Evidencia de productos académicos derivados del proyecto

- Primer lugar en el IX Concurso de Investigación Internacional en Odontología, Modalidad Oral con el tema “Cambios en la Plasticidad Neuronal como Resultado del Dolor Dental”. Septiembre 2022.



- Participación en modalidad oral con el tema “Cambios en la Plasticidad Neuronal como Resultado del Dolor Dental”, en el XXX Encuentro Nacional y XXI Iberoamericano de Investigación en Odontología. ENIO 2022. Noviembre de 2022.



VI.- Agradecimientos

Agradezco a Dios por brindarme salud y energía en cada uno de los días dedicados a este estudio.

Agradezco a todos aquellos que de alguna manera contribuyeron para terminar este trabajo, tanto física como moralmente.

Agradezco a mi asesor de tesis, el DC. Ismael Juárez Díaz que dedico muchas horas para ayudarme a entender y disipar todas las dudas presentes, por los ánimos brindados y por ser un claro ejemplo de perseverancia.

Al Dr. Rosendo Carrasco, que siempre estuvo al pie para ayudarme sin importar la hora o el día, gracias por el amor a la ciencia y a sus alumnos.

Un agradecimiento muy especial a mi familia que estuvieron cada una de las noches al pendiente, dando ánimos, consejos y no dejarme rendir nunca, gracias por apoyarme siempre, esto es por ustedes, los amo infinitamente.

VII.- Índice general

Página:

11.	ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS
13.	ABREVIATURAS
14.	RESUMEN Y PALABRAS CLAVE
17.	INTRODUCCIÓN
17.	ANTECEDENTES
17.	-Antecedentes generales
29.	-Antecedentes específicos
33.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
33.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN
33.	JUSTIFICACIÓN
34.	HIPÓTESIS
34.	-Hi.
34.	-Ho.
35.	OBJETIVOS
35.	-Objetivo general
35.	-Objetivos específicos
35.	MATERIALES Y MÉTODOS
35.	-Diseño del estudio
35.	-Población y muestra
36.	-Criterios de selección
37.	-Criterios de selección de las neuronas con tinción de núcleos del circuito mesocorticolímbico
37.	-Criterios de inclusión
37.	-Criterios de exclusión
37.	-Criterios de eliminación
37.	-Criterios de selección de las espinas dendríticas
37.	-Criterios de inclusión
37.	-Criterios de exclusión
38.	-Criterios de eliminación
38.	-Variables

39.	-Concordancia y fiabilidad
39.	-Estandarización y capacitación del investigador
40.	-Ubicación espacio-temporal
40.	-Procedimientos, técnicas y fuentes de recolección
40.	-Obtención de los cortes histológicos de los cerebros
40.	-Análisis morfológico
43.	-Análisis morfológico de Sholl
44.	-Tipificación de espinas dendríticas
45.	-Análisis estadístico
45.	BIOÉTICA
46.	RESULTADOS
58.	DISCUSIÓN
63.	CONCLUSIÓN
65.	BIBLIOGRAFÍA
71.	ANEXOS

VIII.- Índice de tablas y figuras

Página:

38.	Tabla No.1: Variables dependientes.
38.	Tabla No. 2: Variables independientes.
40.	Figura No.1: Laminillas existentes, ubicadas en el Laboratorio de Fisiología FEBUAP.
41.	Figura No. 2: Análisis de las laminillas en el microscopio óptico.
41.	Figura No. 3: Laminillas de corte cerebral de 200 µm de grosor.
42.	Figura No. 4: Identificación del núcleo Hipocampo.
42.	Figura No. 5: Vista a 10x de la capa III de la CMPF.
42.	Figura No. 6: Elección de la neurona a analizar a 40x.
42.	Figura No. 7: Vista a 100x la misma neurona seleccionada.
42.	Figura 8: Reproduccion sobre papel de las espinas dendriticas identificadas en la parte distal del la dendrita de mayor orden.
43.	Tabla No. 3: Análisis de Neuronas.
44.	Figura No. 9: Método de círculos concéntricos de Sholl (1953) para el análisis dendrítico (Tomado y adaptado de Kolb <i>et al</i> ; 1998).
44.	Figura No.10: Reproducción en papel de neurona observada en el microscopio, identificando el orden de las dendritas por colores, analizada por el método de Sholl.
44.	Tabla No. 4: Análisis de Espinas Dendríticas
45.	Figura No.11: Visualización a 100x de las espinas dendríticas de a neurona seleccionada a analizar.
45.	Tabla No. 5: Análisis de datos.
46.	Tabla No. 6: Comparativo de estadística descriptiva y significancia estadística de CMPF.
47.	Gráfica No.1: Densidad de la CMPFpor grupos.
47.	Gráfica No. 2: Densidad de la CMPF porgrupos en forma de Hongo.
48.	Gráfica No. 3: Densidad de la CMPF por grupos en forma Delgadas.
49.	Gráfica No. 4: Densidad del CMPF por grupos en forma Enanas.

- 50. Tabla No. 7: Comparativo de estadística descriptiva y significancia estadística de Hipocampo (CA1).
- 50. Gráfica No. 5: Densidad del CA1 por grupos.
- 51. Gráfica No. 6: Densidad del CA1 por grupos en forma de Hongo.
- 52. Gráfica No. 7: Densidad del CA1 por grupos en forma Delgadas.
- 53. Gráfica No. 8: Densidad del CA1 por grupos en forma Enanas.
- 54. Tabla No.8: Comparativo de estadística descriptiva y significancia estadística de NACC.
- 54. Gráfica No.9: Densidad del NACC por grupos.
- 55. Gráfica No. 10: Densidad NACC ppor grupos en forma de Hongo.
- 56. Gráfica No. 11: Densidad del NACC por grupos en forma Delgadas.
- 57. Gráfica No. 12: Densidad del NACC por grupos en forma Enanas.
- 62. Diagrama No.1: Cambios de espinas dendríticas de los núcleos CMPF, NACC e Hipocampo después de una inducción nociva en ratas Sprague – Dawley a nivel pulpar.

“NEUROPLASTICIDAD DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS EN ÁREAS DEL CIRCUITO MESOCORTICOLÍMBICO PROVOCADO POR DOLOR CRÓNICO PULPAR”

IX.- Abreviaturas

- EM Microscopía electrónica
- LPS. Lipopolisacárido
- E. coli Escherichia coli
- SNC Sistema Nervioso Central
- IASP International Association for the Study of Pain
- GRD Ganglio de la Raíz Dorsal
- FDA Food and Drug Administration
- CD14 Cluster of Differentiation. Antígeno CD
- TLR4 Toll-like Receptor- Receptor tipo Toll
- MD-2 Myeloid Differentiation Factor 2
- LBP Lipopolysaccharide Binding Protein
- TIR Receptores Toll de Interleuquina 1
- VTA Área Ventral Tegmental
- NACC Núcleo Accumbens
- AMG Amígdala
- CMPF Corteza media Prefrontal
- HC Hipocampo
- LTP Potenciación a Largo Plazo
- PDS Proteínas de Densidad Postsináptica
- ACC Corteza del Cíngulo Anterior
- CFA Adyuvante completo de Freud
- BDNF Factor neurotrópico derivado del cerebro
- P. GINGIVALIS Porphyromonas gingivalis
- IL Interleucina (IL)
- NaCl Cloruro de sodio

“NEUROPLASTICIDAD DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS EN ÁREAS DEL CIRCUITO MESOCORTICOLÍMBICO PROVOCADO POR DOLOR CRÓNICO PULPAR”

1.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

El trabajo de tesis "Neuroplasticidad de las Espinas Dendríticas en Áreas del Circuito Mesocorticolímbico Provocadas por Dolor Crónico Pulpar" explora la relación entre el dolor y los cambios en la plasticidad neuronal, principalmente en la densidad de las espinas dendríticas en respuesta al dolor crónico causado por lipopolisacáridos de *E. coli*.

El dolor se define como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con o similar a un daño tisular real o potencial” e indica una respuesta inmediata a una función biológica protectora para evitar que este trauma se extienda (4).

Investigaciones basadas en lesionar y estimular eléctricamente los nervios periféricos, han demostrado el proceso de transducción nociceptivo siguiendo un camino lineal en la vía ascendente del dolor, que diverge para proyectar a estructuras del sistema límbico, en donde las neurona pueden organizar, filtrar y modular la información aferente, a partir de las espinas dendríticas y el método más preciso para llegar a esta densidad es por medio de reconstrucción de la dendrita mediante la tinción de Golgi y se visualiza a través de una microscopía electrónica tridimensional (EM), tienden diferentes configuraciones a lo largo de la vida, se agrandan o se encogen, de la misma forma se relaciona con el tipo de estimulación que estas reciban (13, 14, 15). Mediante un reconocimiento del LPS como un estímulo nocivo se inicia una respuesta innata, que genera un proceso inflamatorio, activa a las neuronas aferentes primarias y provoca potenciales de acción que serán decodificados por las neuronas de los núcleos que conforman el circuito mesocorticolímbico (25).

Este circuito neuronal, es el sistema de recompensa, su objetivo es la interpretación de la información del medio externo y la relación con las

necesidades vitales, así como mantener un equilibrio de las emociones, sensaciones y estados afectivos del ser humano (25).

El objetivo del presente trabajo de investigación es responder la siguiente pregunta, ¿existen cambios de neuroplasticidad en las espinas dendríticas del Núcleo Accumbens, Hipocampo y Corteza Media Prefrontal pertenecientes al circuito mesocorticolímbico de ratas Sprague-Dawley posterior a estímulos nocivos en la pulpa dental?

El procedimiento consistió en el análisis de muestras únicas de laminillas recolectadas de diversos cortes histológicos de núcleos de la corteza cerebral de ratas Sprague-Dawley con previo procedimiento de estímulo nocivo con LPS en pulpa dental por 28 días a 10 ratas experimentales y 10 ratas controles provocando un dolor crónico pulpar, posteriormente se realizó tinción de Golgi-Cox para la obtención de estas laminillas.

En total se analizaron 600 neuronas divididas en tres núcleos diferentes CMPF, NACC e Hipocampo, se realizó una reconstrucción de cada árbol dendrítico completo permitió cuantificar la longitud de cada dendrita mediante el método de Sholl y en la dendrita de mayor orden a nivel apical, se analizaron las espinas dendríticas para evaluar la densidad y tipificación de espinas, estudiando un total de 300 espinas dendríticas. Los datos fueron recopilados por medio de una tabla de cálculo diseñada en el programa Microsoft Excel 2019 y capturados en el programa Graphpad Prism para obtener los resultados en gráficas. Se utilizó de inicio estadística descriptiva y para determinar diferencias entre los grupos se utilizó la prueba U de Mann Whitney.

Los resultados mostraron diferencias significativas en la densidad de las espinas dendríticas en los núcleos CMPF y NACC, pero no en la region CA1 del Hipocampo. Las dendritas distales de la CMPF muestran que los animales experimentales tienen menor cantidad de espinas dendríticas que las estructuras de animales control con una $p=0.01$. Estos resultados nos permiten inferir que la experiencia nociceptiva provocó una reorganización con un debilitamiento de las conexiones sinápticas, es decir una poda selectiva. Los cambios más

pronunciados fueron encontrados en las espinas delgadas con una $p= 0.05$, estas al ser estadios inmaduros crean contactos sináptico debiles, por consiguiente, se piensa que el efecto inducido por el LPS indujo estímulos nociceptivos en la pulpa dental pero que probablemente no fue el suficiente para inducir cambios permanentes en la morfología de las espinas dendríticas en CMPF.

En el análisis del Núcleo Accumbens se reporta que hay mayor densidad de espinas dendríticas Enanas en el grupo experimental con una $p= 0.00$, este núcleo se asocia con la actividad motora y motivacional, al realizar una interfase entre áreas límbicas y motoras, también se sabe que participa en conductas como la ingesta, sexual, la recompensa, la auto administración de drogas y respuesta al estrés. Por lo que un cambio en la densidad de espinas dendríticas en neuronas del Núcleo Accumbens inducidas por un proceso inflamatorio en cámara pulpar podría generar cambios en la manera en que el sujeto de experimentación podría responder a estímulos aversivos.

Los cambios en la densidad y tipos de espinas dendríticas encontrados en nuestros sujetos de experimentación fueron en estructuras que tienden a devolucionar cuando el estímulo ya no está presente, esto significa que el cerebro discrimina información que no es relevante y mantienen una cito-arquitectura que permite estar listo para futuros estímulos nociceptivos y no estar precondicionado.

Estos hallazgos son de particular interés en odontopediatría, porque un manejo oportuno y adecuado en los procesos inflamatorios que tienen como consecuencia procesos dolorosos, evitarían sensaciones nocivas es así como de un paciente no copoperador se puede volver un paciente cooperador.

Palabras clave: Dolor, Circuito mesocorticolímbico, espinas dendríticas, Lipopolisacárido, CMPF, Hipocampo, NACC, neuroplasticidad, Depresión a Largo Plazo.

2.- INTRODUCCIÓN.

La busca de respuestas para entender el dolor es desafiante, debido a todos los componentes involucrados, en especial los aspectos afectivos y emocionales, que los convierte en una experiencia subjetiva y compleja, al mismo tiempo, puede llegar a resultar en una sensación desagradable, principalmente cuando dicha sensación es crónica, al verse involucrada la calidad de vida del paciente y provocar emociones negativas, como miedo, ansiedad y depresión.

El circuito mesocorticolímbico es el encargado de reconocer las sensaciones de recompensa y placer tal motivo, se tiene el objetivo de relacionar las emociones dolorosas, así como sus cambios a nivel neuronal, principalmente en las espinas dendríticas de dicho circuito y estudiar los cambios de densidad ante la presencia de un dolor crónico generado a través de un LPS de *E. coli*.

La importancia de los cambios estructurales a nivel de las espinas dendríticas cobra relevancia, al ser los principales sitios de los componentes postsinápticos excitatorios dentro del SNC.

Es necesario mencionar que aún no existe una investigación que relacione el circuito mesocorticolímbico y el dolor crónico a nivel de la pulpa dental, de modo que el presente estudio ayudará a generar nuevos conocimientos en el área de la salud, principalmente a los estomatólogos para comprender y permitir mejorar soluciones de tratamiento y manejo en el control de la ansiedad así como el miedo cuando el paciente se encuentre ante esta situación, en especial los pacientes pediátricos difíciles de tratar.

3.- ANTECEDENTES.

3.1.- Antecedentes Generales.

Dolor.

Inicialmente, la experiencia de dolor se consideraba como una sensación diferente entre cada persona, algunos consideraban que el dolor corporal era penetrante y agudo (1), posteriormente el dolor se asoció con el sistema

inmunológico por parte de Celso, quien fue el que identificó el dolor, a mediados del siglo XX, como un signo cardinal de la inflamación aguda. Así en el año de 1970 logra relacionar que el dolor presenta síntomas asociados con la hiperalgesia al ser paralelo a una enfermedad sistémica, también con presencia de letargo, depresión y ansiedad; gracias al desarrollo de estudios e investigaciones sabemos que el dolor puede transformarse o potencializarse y ser percibido aún más o todo lo contrario; cuando este estímulo no existe puede desarrollarse esta sensación desagradable, un ejemplo claro es el miedo al acudir a consulta dental, el paciente se anticipa a esta sensación, dando como ejemplo, que el dolor es una sensación multimodal y tiene el objetivo de informar al cerebro la existencia de estados nocivos en el ambiente externo e interno, para proteger y limitar las consecuencias de daño hacia el organismo como mecanismo de supervivencia (2).

Definición de dolor.

En el año de 1978, el Subcomité de Taxonomía de la Asociación Internacional Para el Estudio del Dolor (IASP), dirigido por el profesor Harold Mersker y colaboradores, determinan la definición de dolor como, “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular potencial descrito en términos de dicho daño” (3) y en noviembre de 2019, el mismo consejo, aprueba las recomendaciones para la actualización de la definición de dolor, como: “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con o similar a un daño tisular real o potencial” (4).

CLASIFICACIÓN DEL DOLOR SEGÚN EL TIEMPO DE DURACIÓN.

Dolor agudo.

Se define como “una experiencia desagradable y compleja con factores cognitivos y sensoriales que suceden como respuesta a un trauma tisular” (51) e indica una respuesta inmediata a una función biológica protectora para evitar que este trauma se extienda. Una característica importante del dolor agudo que se diferencia del dolor crónico es la intensidad y la causa por la que se presenta, así como su evolución; en el caso del dolor agudo, la evolución de este es disminuir progresivamente y desaparecer una vez que el trauma tisular esté

sano. El dolor agudo aparte de ser causado por un trauma tisular también suele ser ocasionado por procedimientos médicos, como una cirugía y algunas enfermedades agudas (51).

Dolor Crónico.

Se define como un dolor que persiste o se repite durante más de 3 meses, es una fuente importante de sufrimiento, afecta la calidad de vida de la persona que lo padece, así como interfiere con actividades diarias al disminuir la energía física e incluso ocasiona ausencia de ella y se tiene como consecuencia una sensación de angustia (52).

La Clasificación Internacional de Funcionalidad, Discapacidad y la Salud, menciona que la discapacidad que genera el dolor crónico, suele ser un fenómeno multifactorial, ya que altera la parte psicológica, emocional, física e incluso la parte social de una persona (53).

Entonces el concepto más aceptado, el dolor es relacionado con un estímulo físico, palpable y tangible, pero recientemente la comunidad científica se ha interesado en tratar de interpretar las sensaciones que expresan algunos individuos sin ninguna razón aparente. Algunos investigadores lo han referido como dolor emocional y se piensa que es gracias a que se activan algunos núcleos en el cerebro ante un estímulo nociceptivo muy intenso o repetitivo en un tiempo pasado. Por lo que el dolor emocional se genera cuando la persona recuerda el evento detonador y se activan los núcleos cerebrales expresándose como una sensación desagradable que los individuos relacionan como dolor.

Estructuras involucradas en la vía del dolor.

Fisiológicamente el dolor es un proceso activo al cumplir un camino para llevar la información nociceptiva desde los receptores periféricos hasta el cerebro. Investigaciones recientes muestran actividad en los circuitos encargados de las emociones, memoria y sensaciones en el proceso de la transmisión dolorosa, partiendo desde la medula espinal a diferentes regiones cerebrales, como son amígdala, tálamo – cortical, corteza somatosensorial y llegar a una modulación del estímulo nocivo (58).

La activación de nociceptores en la periferia da lugar a una despolarización siendo suficientemente intensa para ocasionar un potencial de acción que se dirige hacia el SNC, a su vez liberando neurotransmisores a nivel del asta dorsal de la medula espinal como el Glutamato, ocasionando potenciales sinápticos, con esta señal dentro del asta dorsal de la medula espinal, las neuronas de proyección transmiten la información a la corteza somatosensorial por medio del Tálamo, es aquí donde se inicia la interpretación sobre ubicación e intensidad del estímulo físico nocivo. En cuanto a la parte afectiva de esta experiencia es interpretada porque algunas neuronas de proyección se acoplaron a la CAC y a la corteza insular por medio de conexiones en el tallo cerebral (núcleo parabraquial) y la amígdala (59).

Indudablemente, entender esta experiencia, conlleva un gran esfuerzo, ya que sabemos que no es un circuito cerrado, sino multimodal, al estar involucrados el Sistema Nervioso Central y Sistema Nervioso Periférico, con el propósito de modular la sensación dolorosa, este proceso puede ayudar o perjudicar al propio individuo que lo padece. En el año de 1950, Noordenbos, realizó un análisis en pacientes con herpes zooster y describe que dichos pacientes experimentaron un dolor intenso cuando hay presencia de estímulos suaves dentro del área afectada. Así mismo, Noordenbos reportó que la porción de las fibras grandes de los nervios encontrados en esta área está disminuida y concluyó que estas fibras grandes inhiben los efectos de las fibras pequeñas, esta inhibición era menor en los nervios dañados (5). De hecho, estos hallazgos llevaron a proponer la teoría de la compuerta (6).

Mientras tanto Mendel y Wall, investigaron el efecto presináptico de la estimulación de fibras de tamaño pequeño y lograron medir la transmisión sináptica en un ganglio de la raíz dorsal (GRD), prueban la excitabilidad de las terminales en las fibras sensoriales. Al demostrar que existe un potencial de la raíz dorsal negativo, concluyeron que existe una inhibición presináptica y que está asociado con la despolarización de las terminaciones nerviosas y un aumento en la excitabilidad eléctrica de los terminales despolarizados (7). Posteriormente Melzack y Wall en el año 1965, establecieron la “Teoría de la compuerta”, una teoría centrada en la presencia de una “compuerta” en la asta dorsal de la médula, al aceptar que el cerebro, filtra, selecciona y modula las entradas nociceptivas con la ayuda de los cuernos dorsales encargados de inhibir, excitar y modular dichas señales nocivas (6, 8).

Esta compuerta por donde pasa el estímulo nociceptivo se altera por la activación de las fibras A-beta, por ser fibras mielinizadas y de grueso calibre inhiben la transmisión conocida como una “compuerta cerrada”, por el contrario las fibras A-delta y fibras C, son encargadas de transmitir estímulos dolorosos e inducen una “compuerta abierta” (9), además, estas fibras son las principales en la detección de estímulos nocivos de tipo mecánicos, químicos y térmicos, su activación (fibras A-delta y C) depende de la activación de los receptores del dolor (nociceptores), los cuales están ubicados en las terminales nerviosas libres. Así mismo, estas células conocidas como fibras aferentes primarias, llevan la información nociceptiva de la periferia al cuerno dorsal de la médula espinal, a su vez proyectan la información a estructuras a nivel supraespinal, lo que explica las múltiples zonas de recorrido para obtener una sensación dolorosa (10). Las neuronas que se proyectan a partir del cuerno dorsal ya sean directas o indirectas, tienen una dirección de diferentes series regiones, tales como la sustancia gris periacueductual, médula dorsal-ventral, hipotálamo y el núcleo del tracto solitario que están involucradas en la respuesta autonómica y modulación del dolor. El cuerno dorsal también transmite información nociceptiva al tálamo y este a la corteza somatosensorial primaria (s1) responsable de la información sensorial y motivacional, sumado a esto, el núcleo parabraquial, recibe algunas proyecciones más grandes del cuerno dorsal y este proyecta a la sustancia gris

periacueductal, hipotálamo, amígdala y de nuevo al cuerno dorsal, al realizar un papel primordial en las respuestas autonómicas y emocionales (11).

En vista de ello, numerosas investigaciones basados en lesionar y estimular eléctricamente los nervios periféricos, han logrado demostrar el proceso de transducción nociceptivo en la que participan canales iónicos y en el que dependen del estímulo, se puede observar un cambio en el umbral de disparo de las células postsináptica, que nos permite entender el proceso de sensibilización de la vía ascendente del dolor, que diverge para proyectar a estructuras del sistema límbico, de hecho, lo argumentado hasta el momento no nos permite exponer de manera específica la manera en que una neurona puede organizar, filtrar y modular la información aferente, por lo que se describe lo que se sabe acerca de la morfología neuronal fina.

Espinas dendríticas.

En el año de 1888 Santiago Ramón y Cajal, descubrió por primera vez la presencia de unas delgadas protuberancias emergentes de las dendritas de las neuronas, denominándolas espinas dendríticas, además, propuso que estas extensiones citoplasmáticas de las neuronas son el sitio de contacto sináptico y en el año de 1959, Gray confirma, que estas estructuras son estructuras postsinápticas, es así como se establece el concepto de sinapsis (12) y que estas se comunican entre circuitos funcionales. Actualmente, se ha reportado una densidad de espinas por micra de dendrita en corteza (*postmortem* humano), que oscila entre 0,2 y 3,5. El método más preciso para llegar a esta densidad es por medio de reconstrucción de la dendrita mediante la tinción de Golgi y se visualiza a través de una microscopía electrónica tridimensional (EM), estas espinas, tienden a tener diferentes configuraciones a lo largo de la vida, se agrandan o se encogen, así, de la misma forma se relaciona con el tipo de estimulación que estas reciban, (13, 14, 15).

Maiti en el año 2015 reporta que la neuroplasticidad de las espinas dendríticas varían de acuerdo al tipo de neurona y de diferentes factores como actividad sináptica, estado hormonal, manipulación farmacológica, tiempo de actividad neuronal, etc. (61).

Su composición estructural contiene tres elementos básicos: a) la base en el cruce con el eje dendrítico, b) el cuello y c) la cabeza que puede hacer contacto con el axón. Su longitud varía de 0,2 a 2 μm , con un volumen de 0,001 a 1 μm^3 , la cabeza de la espina llega a medir de 200 nm a 100nm de ancho (64), pero hay reportes que incluso las espinas de las neuronas piramidales del subnúcleo CA3 del Hipocampo pueden medir hasta 6 μm (61) y contiene Proteínas de Densidad Postsináptica (PSD), el citoesqueleto contiene actina, orgánulos y estructuras de membrana (65). La densidad de estas puede ser de 1 a 10 por micrómetro a lo largo de la longitud de la dendrita. Pero algunas neuronas del Hipocampo contienen miles de espinas a lo largo de la arborización dendrítica. De acuerdo a su morfología se pueden clasificar en: espinas Delgadas, espinas cortas sin cuello y espinas con cabeza ancha denominadas espinas en forma de Hongo, así como espinas en Filopodio. Durante la plasticidad sináptica el número y las formas de las espinas dendríticas sufren reorganizaciones radicales debido a la adaptación por el estímulo que se está presentando y así poder modular el flujo de información a la neurona y evitar un trastorno o una mala comunicación, evitando una enfermedad en un futuro, es decir, la forma de las espinas dendríticas es relevante para su función como compartimiento eléctrico o bioquímico de la sinapsis, pueden variar de acuerdo con su grado de madurez y la intensidad de la sinápsis (61, 62). Este constante cambio de ajustar el flujo de información para que se pueda codificar se conoce como plasticidad neuronal (16). McKinney en el año 2010, reporta en su informe, que la morfología y la densidad de las espinas dendríticas, es un papel funcional clave en la plasticidad sináptica y, en consecuencia, en los procesos de aprendizaje y memoria (17).

Las espinas dendríticas en Hongo son formas maduras de espinas, caracterizadas por tener una gran cabeza y un cuello delgado, estas espinas son ricas en F-actina y G- actina y ejecutan sinapsis más fuertes debido a la mayor superficie y densidad postsináptica, esto permite una mayor consolidación de la memoria a largo plazo. Gipson en el año 2017 reporta que la densidad y tamaño de las espinas dendríticas en forma de Hongo pueden variar en diferentes regiones del cerebro (63). Las espinas dendríticas Delgadas, como su nombre lo especifica, son espinas delgadas con mayor motilidad que las espinas maduras, no presentan cabeza visible, pueden estar bifurcadas y

multirramificadas, estas son espinas transitorias por lo que su sinapsis es débil. Las espinas dendríticas Enanas son protuberancias con una cabeza grande pero sin cuello perceptible, tienen menor estabilidad que las espinas en forma de Hongo por lo que su sinapsis es más débil. En cuanto a las espinas dendríticas en forma de Filopodio, tienen una función exploratoria, por lo que su papel es contactar axones para establecer sinapsis tempranas, independientemente de la formación final de espinas (62).

Estas complejas estructuras se han estudiado durante más de un siglo desde su visualización, esto ha sido posible a la implementación de métodos de tinción celular ideados a finales del siglo XIX por Camilo Golgi. Dichas técnicas de fijación y tinción de tejido nervioso permitieron a Santiago Ramón y Cajal proponer el rol de las dendritas en el procesamiento neuronal y fue confirmada por investigaciones electrofisiológicas que se hicieron factibles a mediados del siglo XX. Desde entonces, ha evolucionado el estudio de la estructura dendrítica. Interesantemente, al comparar las morfologías dendríticas a través de las edades, Cajal pudo describir las etapas sucesivas en el desarrollo de las dendritas y su conectividad. Durante las últimas décadas, se han revelado muchos mecanismos moleculares que controlan el desarrollo y el mantenimiento de las dendritas, en gran parte debido a los avances técnicos en biología celular y molecular (18). Se ha reportado que la morfología de las espinas puede ser modulada por la actividad neuronal *in vitro* e *in vivo* por una experiencia previa (19).

Ahora bien, en el contexto bioquímico la sinapsis subyace a la neuroplasticidad, refiriéndose a la capacidad cerebral para cambiar y adaptarse ante aquellas alteraciones funcionales y estructurales implicando cambios fisiológicos en el cerebro, como el aprendizaje, la memoria e incluso en una rehabilitación después de una lesión cerebral (20). Es decir, celularmente, la plasticidad es una modificación de la neurona debido a las características de los potenciales de acción que arriban a sus espinas dendríticas, se puede observar un progresivo incremento o decremento en la cantidad de neurotransmisores que se liberan (21). En el año 1994 Schawn, establece que, al ocurrir una lesión de algunas fibras aferentes, esperan la pérdida del equilibrio entre los diversos sistemas de

neurotransmisores y receptores, se tienden a adaptar y a predominar los elementos excitatorios sobre los inhibitorios generalmente inestables, que generan neuroplasticidad, neuroactividad y tener como resultado neurogénesis, apoptosis, brotes dendríticos y brotes axónicos (22, 23).

Una función más de las espinas dendríticas es contener la maquinaria postsináptica necesaria para transmitir el impulso nervioso y el potencial de acción; en esta zona postsináptica se encuentran receptores de glutamato, proteínas de densidad postsináptica (PSD) y el citoesqueleto de actina, así también la presencia de organelos como el retículo endoplásmico liso, mitocondrias y endosomas. La zona de PSD se encuentra comunmente en la parte posterior de la cabeza de la espina dendrítica, frontal a la zona activa presináptica. Su función de las PSD es organizar los diferentes grupos de moléculas de adhesión, canales iónicos, receptores y unir una compleja variedad de moléculas de señalización en la membrana postsináptica. Estas vías de señalización intracelular suelen controlar la forma de las espinas (37). Prange y cols. en el año 2000, señalan que las neuronas del Hipocampo cultivadas, al incluir una sobreexposición de PSD aumentan la densidad de las espinas dendríticas (38), por otra parte, Vickers y cols. en el año 2006, describen que la supresión de PSD, reduce parcialmente esta densidad de espinas dendríticas al mismo nivel del Hipocampo (39).

Un punto clave para entender la plasticidad sináptica se encuentra en la parte de la cabeza de la espina ya que juega un papel importante al poseer un componente molecular diferente que al eje, Holler en 2021 reporta en el análisis combinatorio de electrofisiología y luz correlativa y EM (CLEM) una línea directa entre el área de PSD y la fuerza de la sinapsis (66), por ejemplo, si existe una sinapsis fuerte (LTP) las espinas crecen y en lo contrario cuando la sinapsis es débil (Depresión a Largo Plazo) las espinas dendríticas se encogen (67).

En la plasticidad sináptica se han identificado muchas moléculas involucradas, pero el neurotransmisor clave es el Glutamato, debido a que el agrandamiento de la columna se debe a una liberación de este en ausencia de Mg^{2+} o con despolarización postsináptica en presencia de Mg^{2+} y así activar los receptores

del glutamato N-metil-D-aspartato (NMDAR); por otra parte cuando existe encogimiento de la columna es provocado por una baja liberación de glutamato en ausencia de Mg^{2+} o con despolarización postsináptica (68).

***Escherichia coli* y Lipopolisacárido.**

Las endotoxinas bacterianas, encontradas en la membrana externa de las bacterias gram negativas, son parte de una clase de fosfolípidos llamados lipopolisacáridos (LPS), su liberación de estos ocurre después de la lisis celular; un ejemplo de bacteria gram negativa, productora de estos LPS es la *E. coli*. *E. coli* es una bacteria ampliamente recurrente en la industria de la biotecnología para producción de proteínas con fines de diagnóstico, terapéuticos o vacunales debido a su accesibilidad en costo dentro del mercado y regulado por la FDA (Food and Drug Administration) para su uso dentro de la medicina (57).

Cantidades muy pequeñas de LPS liberadas por patógenos infecciosos, tienen la capacidad de empezar respuestas inmunes innatas que activan al sistema inmunológico contra nuevas infecciones. Para que se dé una respuesta innata como el dolor, tiene que haber un reconocimiento del patrón de LPS. Este procedimiento se inicia una vez liberado el LPS de la membrana como consecuencia de una multiplicación o lisis, al entrar en contacto con proteínas de unión del huésped que son las LBP y los receptores CD14, TLR4 y MD-2. En primer lugar la proteína LBP captura al LPS y se forma el complejo LPS-LBP, de esta manera se ayuda la unión de LPS con el receptor CD14, que es una glicoproteína encargada de transferir el LPS a su reconocimiento por parte de TLR4/MD2 y finalmente formar el complejo LPS-TLR4/MD2, en donde TLR4 se oligomeriza y comienza la interacción con proteínas con dominios TIR (Receptores Toll de Interleuquina 1) encargadas de la relación de TLR4 y las proteínas encargadas de la transducción del LPS, altera la permeabilidad vascular de tejidos afectados por LPS, aumenta la adhesión de leucocitos y células endoteliales (54, 55).

Es así que los cambios neuroplásticos, nos permite comprender el porqué de la hiperalgesia y la diseminación del dolor se asocia con la inflamación pulpar (24), al entender que la mayoría de los pacientes que acuden a consulta odontológica por presencia de dolor dental, específicamente, cuando existe una lesión cariosa con comunicación pulpar, se crea el ambiente idóneo para que las bacterias gram negativas puedan colonizar y liberar su endotoxina al interior de la pulpa que genera un proceso inflamatorio, activa a las neuronas aferentes primarias y provoca potenciales de acción que serán decodificados por las neuronas de los núcleos que conforman el circuito mesocorticolímbico (25).

Círculo Mesocorticolímbico.

Este circuito neuronal, es el sistema de recompensa, recibe también el nombre de sistema mesolímbico dopaminérgico, conformado por varios núcleos y regiones cerebrales conectadas en anatomía y función. Su objetivo es la interpretación de la información del medio externo y la relación con las necesidades vitales, así como mantener un equilibrio de las emociones, sensaciones y estados afectivos del ser humano (25). El sistema límbico, está compuesto por núcleos como son, Área Ventral Tegmental (VTA), Núcleo Accumbens (NACC), Amígdala (AMG), Corteza Media Prefrontal (CMPF), Hipocampo (Hc), Pálido Ventral, Tálamo Dorsomedial y Glándula Pituitaria, encargados de relacionar la información motivacional, emocional, placentera y de recompensa al guiar la conducta del individuo (26, 27).

El circuito mesocorticolímbico (sistema de recompensa) recibe su nombre porque es responsable de generar sensaciones subjetivas de placer y obtención de recompensa como su propio nombre lo dice, es activado por sensaciones de felicidad, miedo, angustia, recuerdos, por lo tanto, este circuito, además de activarse ante situaciones placenteras, también se activa ante situaciones de dolor. Actúa por medio de la liberación de neurotransmisores y el principal neurotransmisor encargado de activarlo es la dopamina y los encargados de inhibir o bloquear son los antagonistas selectivos de la dopamina (28). Además de la dopamina, se pueden observar las neuronas GABAérgicas y glutamatérgicas (29). Esto ha dado pauta a que muchos científicos realicen la

búsqueda de nuevos fármacos o métodos para el alivio del dolor. Mergel B. en 2008, señala en sus investigaciones, las teorías de Thorndike y de Skinner con base en modelos realizados por Pavlov, en el que se menciona que los fenómenos de acondicionamiento pueden tener efectos positivos o negativos, los positivos son los que generen placer y los negativos generan experiencias adversas (30).

Debido a la importancia que tiene el sistema límbico en los procesos cognitivos y emocionales, se llevan a cabo diferentes estudios para determinar la relación que existe entre la densidad dendrítica y el funcionamiento de las espinas del circuito mesocorticolímbico en presencia del dolor dental. Gracias al proceso de aprendizaje y memoria, una persona tiene la capacidad de recordar una sensación y generar un estado de alerta, así declarar dicho estímulo como una percepción dolorosa. El aprendizaje se considera como el proceso por el cual se adquieren conocimientos del ambiente y la memoria se define como aquella capacidad de retener e identificar los conocimientos una vez adquiridos y procesados durante el aprendizaje (31,32). Estos conocimientos aprendidos se encuentran relacionados con el circuito mesocorticolímbico, debido a su función de regular las emociones y adaptarlas al medio ambiente en el que se presentan, al ser canalizadas o identificadas con experiencias previas y expresar sus emociones sobre estas sensaciones provenientes de los recuerdos (25).

Es necesario dejar en claro que el sistema límbico es parte integral de la psicología del ser humano, al tener la capacidad de modificar los síntomas del dolor experimentado (56). Durante este proceso a nivel neuronal se provoca una plasticidad conocida como, Potenciación a Largo Plazo (LTP) y es el principal mecanismo celular para el aprendizaje y la memoria, al existir una interrupción a este nivel neuronal surgen problemas en la misma plasticidad y como consecuencia un daño es la relación del aprendizaje ya obtenido (33).

Kasai H y cols. en el año 2010 reportan una relación en la densidad y tamaño de las espinas dendríticas con LTP, ellos determinaron que, al observar espinas con cabezas grandes, se relacionaba con una mayor memoria (34) y en otro estudio realizado por Sarders J. y cols. en 2012, describen que la presencia de miedo se

relaciona con la densidad de las espinas, al reportar una disminución de estas (35).

3.2. Antecedentes específicos.

Las investigaciones odontológicas relacionadas con el objetivo del presente estudio no son tan amplias como se desearía, por lo que se obtuvo una cantidad de referencias bajas, debido a que las investigaciones hasta el momento se centran en áreas de la corteza cerebral diferentes al circuito mesocorticolímbico.

Es necesario ampliar los estudios científicos acerca de la relación entre un dolor de tipo dental que influya en la estructura de las espinas dendríticas del circuito mesocorticolímbico, por lo cual se describen a continuación reportes de estudios similares en donde se pueden apreciar los cambios neuronales de diferentes regiones del cerebro, tener un concepto más claro del presente trabajo y relacionar la presencia de un estímulo nocivo, estudiar sus cambios morfológicos causados, al presentarse un estímulo nociceptivo.

Quirk y cols. en 1997, describen un estudio experimental, en el que su objetivo era evaluar la rapidez de respuesta durante situaciones que provocan miedo. Su estudio se basó en ratas macho Sprague-Dawley, al administrar el anestésico nembutal vía intraperitoneal lograron implantar un disco móvil con microcables en áreas de la corteza auditiva, para mantener una conexión directa con la amígdala a nivel del núcleo lateral. Las ratas se colocaron por 5 días en una caja de prueba con suelo de rejilla electrificante y se encerraron en una cámara de atenuación de sonido, para posteriormente pasar por un proceso de miedo inducido por sonidos. Los resultados demuestran la capacidad de plasticidad de la amígdala al haber un rápido condicionamiento de las respuestas de miedo a estímulos potencialmente nocivos (40).

Por otra parte, se han realizado investigaciones en la Corteza del Cíngulo Anterior (ACC), en donde se demuestra que la activación específica de las neuronas piramidales en este sitio reduce los umbrales de dolor ante

estimulación mecánica en ratones. Sin embargo, cuando se llevó a cabo el mismo procedimiento en un estudio murino ante un estímulo nociceptivo inflamatorio inducido por infiltración de una inyección subcutánea de adyuvante completo de Freund (CFA) en una de las patas traseras de la rata, en el que los ratones ya habían reducido los umbrales nociceptivos mecánicos, la estimulación optogenética de las neuronas piramidales del ACC no bajó aún más el umbral mecánico. Esta relación entre los efectos de la estimulación optogenética y el tratamiento con CFA sugiere que la activación de las neuronas piramidales de la ACC es suficiente para mediar la hipersensibilidad. Además, se ha demostrado que la estimulación optogenética de las interneuronas GABAérgicas inhibitorias en el ACC tiene un efecto inhibitorio sobre la estimulación dolorosa (41).

Así mismo, un estudio a nivel del ganglio trigeminal, realizado por Tarsa y cols. en el año 2010, se determinó los efectos de un proceso inflamatorio periférico sobre el ganglio trigeminal. Se utilizó una inducción de inflamación en pulpa dental y ellos evaluaron los niveles del Factor Neurotrópico Derivado del Cerebro (BDNF), un señalizador de estímulos nocivos a nivel de columna vertebral, encontrado en estudios anteriores en neuronas del ganglio del trigémino de ratas neonatales y adultas. Las cavidades se prepararon en el primer y segundo molar superior derecho del grupo experimental (ratas Sprague-Dawley y ratones C57BL/6J) de 4 semanas de vida, las cavidades se mantuvieron abiertas y expuestas a la microflora de la cavidad oral. La expresión de BDNF en el ganglio trigeminal derecho se comparó con el ganglio trigeminal contralateral de la misma rata y con el ganglio trigeminal derecho de los grupos controles operados de forma ambulatoria, a los 7 y 28 días después de la preparación de la cavidad. Los resultados obtenidos, reportaron a los 28 días, una pulpa dental inflamada expuesta, así como una inducción a regulación positiva de BDNF en el ganglio trigeminal ipsilateral de los dientes afectados del grupo experimental de ratones (42).

Kramár EA y cols. en el año 2012, reportaron que la edad de las ratas interfiere en la actividad neuronal, describieron que las ratas jóvenes, de aproximadamente 2 semanas de vida, en comparación con ratas adultas, de 8

semanas de vida, tenían cambios morfológicos diferentes. En este estudio se realizó a nivel del hipocampo mediante cortes agudos, en el que ellos señalaron que las ratas jóvenes muestran una actividad inmediata, doble, mientras que las espinas dendríticas en los cortes de las ratas adultas son menos propensas a la expansión, pero cuando llegan a expandirse su actividad es deficiente ya que carecen del aumento inmediato de estas espinas, pero tienden a tener un cambio morfológico ya que su tamaño aumenta un 40% en relación con su tamaño normal (36).

Hu Y, y cols. en el año 2020, establecieron un modelo de periodontitis mediante la aplicación tópica de lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* (P. *gingivalis*-LPS) en el surco gingival palatino de los primeros molares superiores de ratas macho de 10 semanas de edad, esto lo implementaron por un período de 10 semanas. Evaluaron la resorción ósea alveolar mediante análisis de microtomografía computarizada y la capacidad de aprendizaje y memoria mediante la prueba del laberinto acuático de Morris. Una vez, determinamos los niveles de citocinas [interleucina (IL) -1 β , IL-6, IL-8 e IL-21] y LPS en la sangre periférica y la corteza, y la del receptor tipo toll 4 (TLR4). Encontraron que la periodontitis indujo un deterioro del aprendizaje y memoria en las ratas. Además, observaron que inducía una resorción ósea alveolar significativa. También, encontraron un aumento en los niveles de citocinas inflamatorias y LPS. Interesantemente, observaron que la microglía se activaba y los astrocitos presentaron una morfología de cuerpos celulares agrandados y protuberancias irregulares (43).

Al reportar antecedentes que se asocian directamente a las variables de interés en el presente trabajo de investigación, se tiene que considerar la relación que hay entre el circuito mesocorticolímbico y el dolor, así como su relación con el sistema de recompensa. Desafortunadamente no se cuentan con investigaciones específicas que tengan un objetivo similar al nuestro. Con el fin de entender y aplicar mejor el manejo de dolor en el área de odontología, en estudios recientes, aún no publicados, realizados en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por parte del laboratorio de fisiología, se investigó la relación que existe, entre la presencia de dolor crónico dental y los cambios

morfológicos a nivel neuronal del complejo basolateral de la amígdala, en el que se aplicó el lipopolisacárido de *Escherichia coli* en molares del grupo experimental (10 ratas Sprague-Dawley) y como grupo control a otras 10 ratas, como lo propuso Tazrza. En el que se examinó mediante un microscopio óptico la morfología neuronal y realizó una reconstrucción bidimensional de las neuronas, reportaron en el grupo experimental una mayor arborización ($p=0.0001$) y longitud dendrítica ($p=0.027$) en las neuronas ubicadas en la amígdala basolateral. Finalmente concluyen que existe una relación significativa entre los cambios morfológicos neuronales en la amígdala y el estado emocional inducido por un estímulo nociceptivo en pulpa dental (44).

En otra investigación realizada en un trabajo de tesis para obtener el grado de Maestría en Estomatología con opción en terminal Pediatría, por parte de la misma universidad, FEBUAP, el cual se desarrolla el tema “Cambios en la densidad de espinas dendríticas en neuronas de la corteza del cíngulo asociada con el dolor emocional inducido por un estímulo nocivo”, el objetivo fue reportar los cambios en la plasticidad y densidad de espinas dendríticas de neuronas a nivel de la corteza anterior del cíngulo, después de generar dolor mediante comunicación pulpar. Realizaron una reproducción de modelo experimental con ratas Sprague-Dawley, a las que se les indujo una inflamación mediante un LPS en la pulpa dental, las ratas del grupo experimental fueron perfundidas con 6 mg por diente, disuelto en 0.9% de NaCl y posteriormente fueron obturadas con Flitek Z350XT flow 3M (resina fluida), posteriormente las ratas del grupo control como las del grupo experimental fueron cuidadas por 28 días, al obtener y teñir el tejido nervioso fijado mediante técnica de Golgi-Cox, finalmente en la investigación se concluye con una densidad constante tanto en el grupo control como experimental, pero sí reportaron un aumento en las espinas en forma de copa (45).

4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El dolor, es una sensación desagradable, genera una larga búsqueda de información científica; es el primer motivo de consulta dental, por lo que se deben estudiar los cambios producidos así como comprender y evaluar dichos resultados de forma asertiva para tener un mejor manejo en la calidad de vida del paciente; al mismo tiempo, el dolor, representa un reto día a día de la práctica clínica, más cuando esta sensación desagradable se relaciona con sensaciones emocionales como, estrés, angustia y miedo, debido a su capacidad de influir en el aumento de la sensación o provocar de manera favorable una analgesia.

Esta relación de dolor con sensaciones emocionales, ha despertado en la comunidad científica, buscar información sobre la participación del circuito mesocorticolímbico, en específico: Núcleo Accumbens, Hipocampo y Corteza Media Prefrontal, que al presentarse dicha sensación desagradable debemos relacionar con los cambios de densidad en las espinas dendríticas de estas áreas corticales generadas por dicha sensación, los cuales aún no hay reportes amplios relacionados con el presente trabajo de investigación.

Por lo tanto, surge la siguiente pregunta de investigación:

4.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Existen cambios de neuroplasticidad en las espinas dendríticas del Núcleo Accumbens, Hipocampo y Corteza Media Prefrontal pertenecientes al circuito mesocorticolímbico de ratas Sprague-Dawley posterior a estímulos nocivos en la pulpa dental?

5.- JUSTIFICACIÓN.

Se conoce la capacidad del cerebro de integrar un estímulo nociceptivo y ser relacionado con la presencia de situaciones emocionales como el dolor, sin embargo es necesario explorar más la fisiopatología del dolor emocional debido a los nulos reportes de investigación en donde se desarrolle y describa cambios neuroplásticos dendríticos generados en diferentes áreas del circuito

mesocorticolímbico, provocados por dolor crónico pulpar en molares de ratas Sprague-Dawley, esto para tener un panorama amplio, tanto en el manejo de dolor como en el manejo de conducta del paciente durante las consultas dentales.

El dolor es el principal motivo de consulta dental, en especial el área de odontopediatría, donde los pacientes pediátricos están en constante presencia de afecciones pulpares que provoca modificaciones conductuales por este cambio emocional.

Por tal motivo, el objetivo del presente estudio es describir los cambios neuronales generados por el dolor, principalmente en densidad de las espinas dendríticas en núcleos del circuito mesocorticolímbico ante un estímulo nocivo, ya que esta zona representa un sitio importante para la modulación del dolor emocional. Los resultados obtenidos del presente estudio serán de gran aporte a la ciencia, ya que ayudarán a resolver dudas sobre la relación dolor-emocional, así como reportar el comportamiento de los núcleos entre sí ante el estímulo nocivo y entender la conducta del ser humano capaz de cambiar ante una situación de peligro (generado por el dolor) para relacionar y aplicar el conocimiento obtenido a la práctica clínica de odontopediatría con la finalidad de un buen manejo de conducta contra el dolor neurótico, al que pertenece el dolor emocional, obteniendo consultas preparadas clínicamente y científicamente e incluir auxiliares que capten la atención del paciente (aromaterapia, musicoterapia, terapia con imágenes) para tener una respuesta inmediata y favorable dentro de la consulta dental.

6.- HIPÓTESIS.

Hi: Las espinas dendríticas en neuronas de núcleos específicos del circuito mesocorticolímbico presentan cambios en densidad ante una comunicación pulpar en molares dentales.

Ho. Las espinas dendríticas en neuronas de núcleos específicos del circuito mesocorticolímbico no presentan cambios en densidad ante una comunicación pulpar en molares dentales.

7.- OBJETIVOS.

7.1 Objetivo general.

- Determinar los cambios en la densidad de espinas dendríticas de las neuronas del circuito mesocorticolímbico que indiquen plasticidad ante un proceso doloroso inducido en la pulpa dental de los molares de ratas Sprague-Dawley.

7.2 Objetivos específicos.

- Cuantificar la densidad de las espinas dendríticas (cada 10 μm) distales al soma del circuito mesocorticolímbico.
- Comparar los cambios de densidad de las espinas dendríticas del grupo control con las del grupo de estudio.
- Determinar el número por forma de las espinas dendríticas.

8.- MATERIALES Y MÉTODOS.

El presente trabajo de investigación se enfatiza en estudiar el estudio morfológico de las neuronas de diferentes núcleos del circuito mesocorticolímbico sobre laminillas de tejido neuronal de ratas Sprague-Dawley.

8.1 Diseño del estudio.

- Observacional, transversal, ambilectivo, analítico con muestreo no probabilístico por conveniencia de muestras ya existentes.

8.2 Población y muestra.

Para el presente estudio el tamaño de la población fue tomado de un proyecto anterior sobre la misma línea de investigación, se realizó de esta manera para obtener mayor información a partir de muestras únicas de laminillas recolectadas de diversos cortes histológicos de núcleos de la corteza cerebral, también se tomó la decisión de realizarse de esta manera para

respetar la vida de los animales, sumando la situación por la cual se encuentra el mundo que es la pandemia del SARS Covid-19, comprometiendo el acceso a los laboratorios y comprometiendo criterios importantes para la selección de la población y muestra.

A continuación, se describe el número de neuronas por grupo que se analizaron de acuerdo con el estudio de las laminillas histológicas.

- Población: 600 neuronas divididas en tres núcleos diferentes:
- Corteza media prefrontal: se analizan 10 neuronas por núcleo, al tener dos grupos diferentes (experimental y control) en cada uno de ellos 10 ratas diferentes, obteniendo 100 neuronas del grupo control y 100 del grupo experimental, en total 200 neuronas a analizar de solo este núcleo.
- Núcleo Accumbens: se analizan 10 neuronas por núcleo, al tener dos grupos diferentes (experimental y control) en cada uno de ellos 10 ratas diferentes, obteniendo 100 neuronas del grupo control y 100 del grupo experimental, en total 200 neuronas a analizar de solo este núcleo.
- Hipocampo: se analizan 10 neuronas por núcleo, al tener dos grupos diferentes (experimental y control) en cada uno de ellos 10 ratas diferentes, obteniendo 100 neuronas del grupo control y 100 del grupo experimental, en total 200 neuronas a analizar de solo este núcleo.
- Tipo de muestreo: muestreo no probabilístico por conveniencia de muestras ya existentes.

8.3 Criterios de selección.

Los siguientes criterios de selección fueron tomados en cuenta para obtener la muestra biológica, de igual forma dichos criterios de inclusión, exclusión y eliminación fueron tomados del trabajo de investigación “Cambios morfológicos en las neuronas colinérgicas de la Amígdala Basolateral durante

dolor crónico dental. Un estudio en rata Sprague-Dawley“ (44), perteneciente a la misma línea de investigación en donde ya se contaban con las laminillas histológicas teñidas de los diferentes núcleos del circuito mesocorticolímbico.

Criterios de selección de las neuronas con tinción de núcleos del circuito mesocorticolímbico.

8.3.1 Criterios de inclusión.

- Neuronas con tinción correcta.
- Neuronas completas en continuidad morfológica.
- Neuronas aisladas para la correcta ubicación de las espinas dendríticas.

8.3.2 Criterios de exclusión.

- Otra clase de neuronas diferentes a los núcleos: Accumbens, Hipocampo y Corteza Media Prefrontal, pertenecientes al circuito mesocorticolímbico.

8.3.3 Criterios de eliminación.

- Neuronas con pérdida de continuidad o fragmentadas.
- Neuronas sobrepuestas o falta de exposición a la tinción.

Criterios de selección de las espinas dendríticas.

8.3.4 Criterios de inclusión.

- Espinas ubicadas en la porción dendrítico distal.
- Espinas ubicadas en la parte superior e inferior de la dendrita.

8.3.5 Criterios de exclusión.

- Espinas ubicadas en el dendrítico proximal.
- Espinas con bifurcaciones.

8.3.6 Criterios de eliminación.

- Espinas con pérdida de continuidad.
- Espinas con morfología diferente a las reportadas en artículos.

8.4.- Variables.

En la tabla No.1 se describe las variables independientes y dependientes, con su definición conceptual, definición operacional, escala y prueba estadística respectivamente.

TABLA No. 1: VARIABLES DEPENDIENTES				
VARIABLE DEPENDIENTES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA	PRUEBA ESTADÍSTICA
Espinas dendríticas.	Espinas dendríticas son pequeñas prolongaciones citoplasmáticas, encargados de los sitios de sinapsis.	Evaluar a través de microscopía el número de espinas por cada 10 micras de longitud dendrítica.	Cuantitativa discreta.	U de Mann Whitney
Densidad de espinas dendríticas.	Cantidad disminuida o aumentada de protuberancias pequeñas, delgadas y especializadas de las espinas dendríticas, localizadas principalmente en las sinapsis excitadoras.	Evaluar a través de un microscopio focal la cantidad de espinas por cada 10 micras de longitud dendrítica a nivel distal y proximal del soma.	Cuantitativa discreta.	Descriptiva U de Mann Whitney
Fuente propia				

TABLA No. 2: VARIABLES INDEPENDIENTES				
VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA	PRUEBA ESTADÍSTICA
Neurona (en el núcleo de interés).	Unidades fundamentales de cerebro y el sistema nervioso, las células responsables de recibir información sensorial de mundo externo, de enviar comandos motores a nuestros músculos y de transformar y transmitir las señales eléctricas en todos los sentidos.	Evaluar a través de un microscopio focal a las espinas dendríticas de las neuronas por cada 10 micras de longitud dendrítica a nivel distal y proximal del soma, de las ratas control.	Cuantitativa Dimensional Continua.	Descriptiva U de Mann Whitney
Estímulo nocivo.	Respuesta del sistema inmunológico a invasores extraños tales como virus y bacterias.	Evaluar clínicamente signos de inflamación: aumento de volumen, enrojecimiento y fístula.	Nominal dicotómica Sí/No.	Xi Cuadrada.
Fuente propia				

8.5.- Concordancia y fiabilidad.

Estandarización y capacitación del investigador.

El presente proyecto de investigación no necesita una estandarización para el manejo y tratamiento de las ratas Sprague-Dawley, ya que las muestras del tejido cerebral se encontraban disponibles para continuar con el trabajo de investigación pertenecientes a la misma línea de trabajo.

Para realizar las reproducciones bidimensionales de las neuronas correspondientes a los núcleos de interés, se realizó una previa estandarización a partir de muestras controles ya existentes, la cual consistió en:

1. Se entrenó en el uso y manejo de microscopio óptico simple.
2. Se adiestró en el uso de la cámara lúcida para visualizar la imagen proyectada sobre la hoja de papel, lo cual, comienza por observar objetos sobre la mesa de trabajo, sin apartar la mirada de los oculares del microscopio.
3. Se aprendió a identificar el núcleo de interés y registrar las coordenadas de la platina, para volver a localizar la neurona y ser nuevamente dibujada por el evaluador o revisor.
4. Se realizó el dibujo de 10 neuronas y se analizaron por el método de Sholl.
5. De manera similar el experto realizó la obtención de los dibujos a partir de las células utilizadas por el alumno y una tercera persona realizó el análisis de Sholl para buscar si el proceso es reproducible o hay diferencias estadísticamente significativas en los resultados tanto del experto como del alumno.
6. Para darle validez al proceso, se realiza un análisis estadístico denominado “Coeficiente de Correlación Intraclass”, el cual es un índice que nos ayuda a indicar el grado de aceptación interrelación inter-observador y permite cuantificar el nivel del acuerdo inter-observador para disminuir la subjetividad del test de movilidad, obteniendo un CCI de 0.85. Cuando se obtiene un valor que se encuentre en el rango de 0.61 a 80, se interpreta que el alumno está estandarizado para realizar el estudio morfológico y para disminuir la variabilidad, solo el alumno responsable es el único en la obtención de los dibujos.

8.6.- Ubicación espacio-temporal.

- Laboratorio de Fisiología de la FEBUAP.
- Laboratorio de biomateriales FEBUAP.

8.7.- Procedimientos, técnicas y fuentes de recolección.

- **Obtención de los cortes histológicos de los cerebros.**

El procedimiento de lesión pulpar, obtención del tejido nervioso, tinción de Golgi-Cox, así como la impregnación del cerebro con la solución fue realizado por el estudiante antecesor perteneciente a la misma línea de investigación ubicadas y resguardadas en el Laboratorio de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla en la Facultad de Estomatología como se muestra en la figura No. 1.



Figura No.1: Laminillas existentes, ubicadas en el Laboratorio de Fisiología FEBUAP.

- **Análisis morfológico.**

Kolb en 1998, propone los siguientes criterios para la elección de neuronas para dibujar y analizar (49). Las neuronas deben presentar diferentes características a cumplir:

- Encontrarse bien teñida.
- No debe estar fragmentada.

- Debe estar lo suficientemente aislada para distinguir las dendritas de la neurona seleccionada.

Con previa estandarización intra e inter-observador se obtuvo 0.85 de Coeficiente de Correlación Intraclass el procedimiento para ir dibujando las neuronas fue:

- 1) Mediante el uso de una cámara lúcida adaptada a un microscopio Leica, DMSL se analizaron las laminillas con los cortes cerebrales de un grosor de 200 μm (Figura No. 2 y No. 3).
- 2) Localización del núcleo de interés on el objetivo 4x (Figura No. 4).
- 3) Con el objetivo 10x se localizaba la capa III y V de la CMPF (Figura No. 5).
- 4) Se eligió una neurona que tuviera las características de selección con una magnificación de 40x (Figura No. 6).
- 5) Con aceite de inmersión se observaron las espinas dendríticas de la parte distal de la neurona (eligiendo la dendrita de mayor orden previo al análisis de Sholl) a una magnificación de 100x. (Figura No. 7)
- 6) Finalmente se procedió a realizar el dibujo en una hoja de papel con ayuda de la cámara lúcida. (Figura No. 8)



Figura No. 2: Análisis de las laminillas en el microscopio óptico.



Figura No.3: Laminillas de corte cerebral de 200 μm de grosor.



Figura No. 4: Identificación del núcleo Hipocampo.

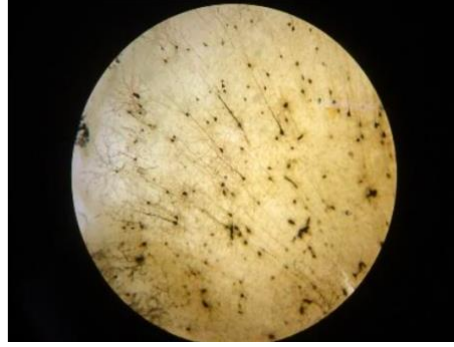


Figura No. 5: Vista a 10x de la capa III de la CMPF.

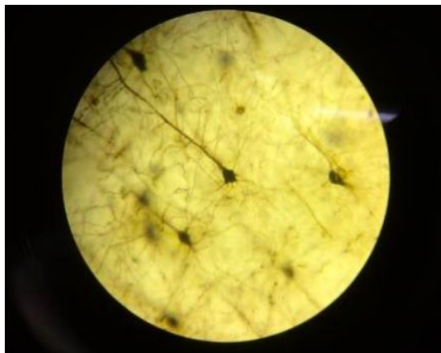


Figura No. 6: Elección de la neurona a analizar a 40x.

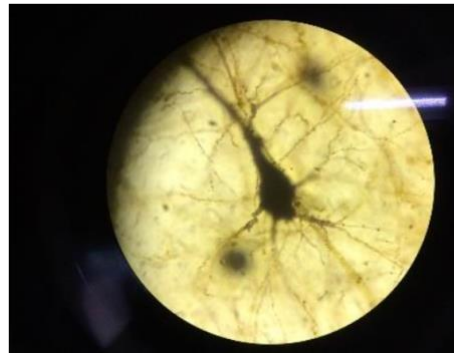


Figura No. 7: Vista a 100x la misma neurona seleccionada.

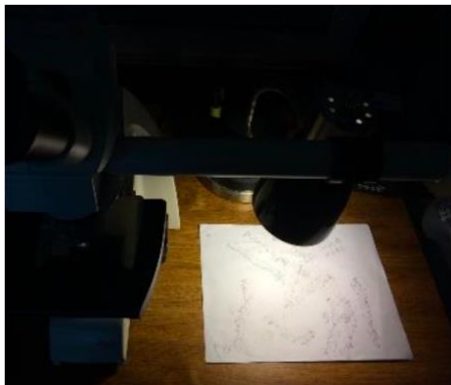


Figura No. 8: Reproducción sobre papel de las espinas dendriticas identificadas en la parte distal del la dendrita de mayor orden.

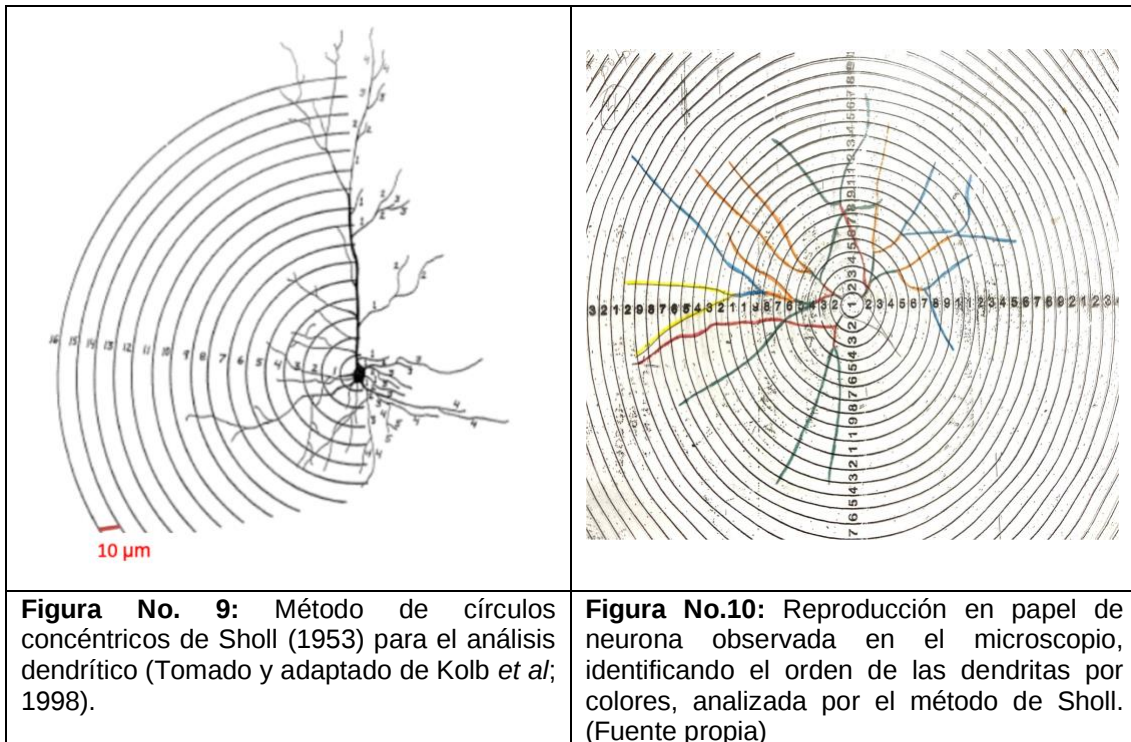
- **Análisis morfológico de Sholl.**

La reconstrucción de cada árbol dendrítico completo permitió cuantificar la longitud de cada dendrita mediante el método de Sholl (50) el cual consistió en (Figura No. 9):

1. Sobre posicionar la placa transparente de Sholl, con una serie de círculos concéntricos, equivalente de 10 μm de separación que fueron colocadas sobre el dibujo.
2. La longitud dendrítica total se estimó por el número de círculos que intercepte cada dendrita de acuerdo al orden de esta.
3. La estimación de arborización dendrítica se obtuvo de acuerdo con el número total de ramificaciones dendríticas (indicado por las bifurcaciones), fue contabilizado para cada orden que se aleje del cuerpo celular y a cada orden (primer, segundo, tercer, cuarto y quinto orden) se le asignó un color para mejor visualización de estudio como se puede observar en la figura No. 9 y 10 (44).

En la tabla No.3 se describe la cantidad de neuronas incluidas por núcleos correspondientes de los 3 circuitos analizados.

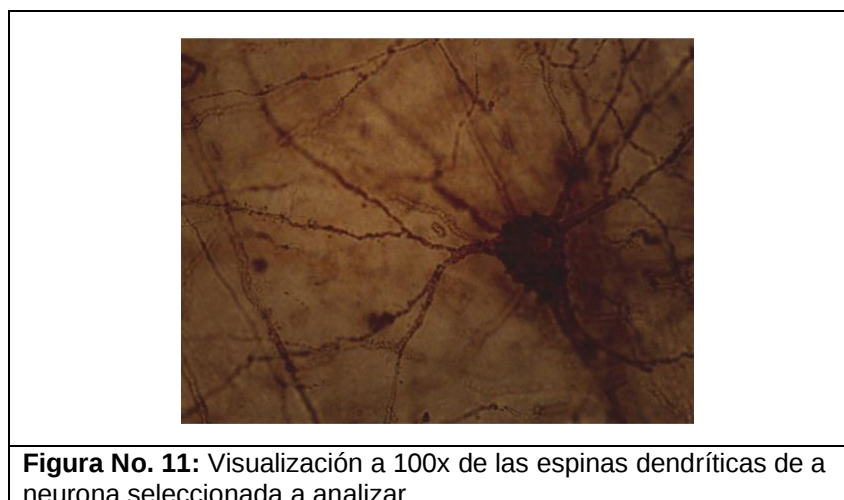
TABLA No. 3: ANÁLISIS DE NEURONAS		
NÚCLEO	NEURONA POR ANALIZAR	NÚMERO DE NEURONAS
Corteza Media Prefrontal	Se analizaron capa 3 pertenecientes a neuronas piramidales (analizando dendritas basolaterales).	10 neuronas por roedor. 10 controles y 10 problemas. En total 200 neuronas.
Núcleo Accumbens	Se analizaron neuronas medianas espinosas.	10 neuronas por roedor. 10 controles y 10 problemas. En total 200 neuronas.
Hipocampo	Se analizaron neuronas piramidales.	10 neuronas por roedor. 10 controles y 10 problemas. En total 200 neuronas.
En total se analizaron 600 neuronas.		
Fuente propia		



- **Tipificación de espinas dendríticas.**

1.- La densidad y morfología de espinas dendríticas fue 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 10µm, de igual manera de acuerdo con la tipificación de la espina se le asignó un color, café las espinas en forma de Hongo, verde a las Delgadas, rosas a las Enanas y azules a las espinas dendríticas en forma de Filopodio. En la tabla No.4 se describe la cantidad de espinas dendríticas incluidas en el analisis por núcleos correspondientes de los 3 circuitos analizados.

TABLA No. 4: ANÁLISIS DE ESPINAS DENDRÍTICAS		
NÚCLEO	ESPINAS POR ANALIZAR	NÚMERO DE ESPINAS
Corteza Media Prefrontal	Se analizaron 10 dendritas distales pertenecientes a neuronas piramidales (analizando dendritas basolaterales).	10 neuronas analizadas. 5 controles y 5 problemas. En total 100 dendritas.
Núcleo Accumbens	Se analizaron 10 dendritas medianas espinosas.	10 neuronas analizadas. 5 controles y 5 problemas. En total 100 dendritas.
Hipocampo	Se analizaron 10 dendritas piramidales.	10 neuronas analizadas 5 controles y 5 problemas. En total 100 dendritas.
En total se analizaron 300 dendritas para evaluar densidad y tipificación de espinas presentes en cada una de ellas.		
Fuente propia		



8.8.- Análisis estadístico.

Una vez realizado el análisis de Sholl de las neuronas, cuantificación y tipificación de las espinas dendríticas, los datos fueron recopilados por medio de una tabla de cálculo diseñada en el programa Microsoft Excel 2019, siendo capturados en el programa Graphpad Prism para obtener los resultados en gráficas. Se utilizó de inicio estadística descriptiva, para variables categóricas se utilizó porcentajes y gráficos correspondientes, para variables cuantitativas, también se utilizaron medidas de tendencia central, dispersión y de forma con atención especial a la asimetría y curtosis para determinar la distribución de los datos, para ser corroborados posteriormente por pruebas de normalidad (Kolmogórov-Smirnov) y para determinar diferencias entre los grupos se utilizó la prueba U de Man Whitney (Tabla No. 5)

Tabla No. 5: Análisis de datos	
Captura de datos.	Microsoft Excel 2019.
Estadística.	Graphpad Prism.
Estadística descriptiva cuantitativa.	Medidas de Tendencia Central Medidas de Dispersión y de forma.
Distribución.	Kolmogorov-Smirnov.
Comparación de medias.	U de Mann Whitney. $p \leq 0.05$
Concordancia.	Coefficiente de Correlación Intraclass (CCI).
Fuente propia	

BIOÉTICA.

El presente estudio de investigación en su parte experimental es basado y regido por:

- Norma Oficial Mexicana NOM-084-ECOL-94.
- Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente.

9.- RESULTADOS.

Se estudiaron 600 neuronas, 300 pertenecientes al grupo experimental y 300 al grupo control, para analizar a partir de ellas a 300 dendritas distales, de las cuales son 100 dendritas de la CMPF, 100 de Núcleo Accumbens y 100 de Hipocampo.

Los resultados obtenidos son para:

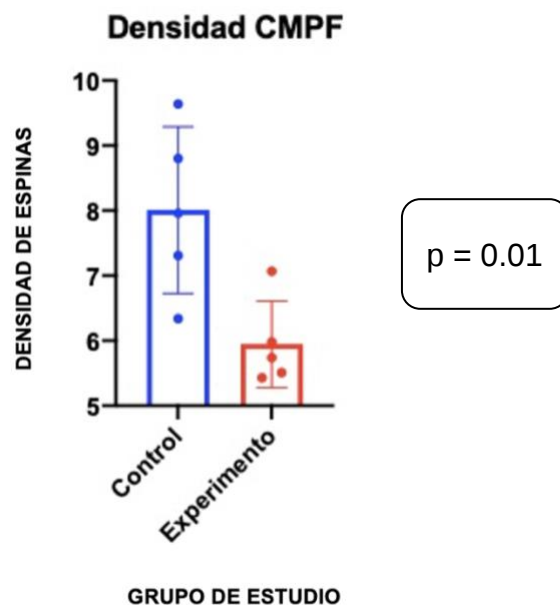
- Comparación de la CMPF control y experimental.
- Comparación del Núcleo accumbens control y experimental.
- Comparación del Hipocampo control y experimental.

Los resultados mostraron que en la CMPF que existen diferencias estadísticamente significativas en la densidad de espinas dendríticas entre los dos grupos a nivel general, con un valor de $p = 0.01$.

En la tabla número 6 se puede observar que las espinas en forma de Hongo mostraron que no existe diferencias estadísticamente significativas, $p = 0.3$, por el contrario, en las espinas Delgadas y espinas Enanas, en ambos grupos las diferencias fueron estadísticamente significativas, con un valor de $p = 0.05$ y $p = 0.0079$.

TABLA No. 6: COMPARATIVO DE ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA Y SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA DE CMPF.				
DENSIDAD	GRUPO	MEDIA	DESV. EST.	VALOR DE "P"
GENERAL	Control	8.01	1.28	0.01
	Experimental	5.74	0.66	
ESPINAS EN HONGO	Control	4.14	0.94	*0.3
	Experimental	3.37	0.61	
ESPINAS DELGADAS	Control	3.34	0.87	0.05
	Experimental	2.05	0.15	
ESPINAS ENANAS	Control	0.17	0.12	0.0079
	Experimental	0.54	0.08	
U de Mann Withney				
* Sin significancia estadística				
Fuente propia				

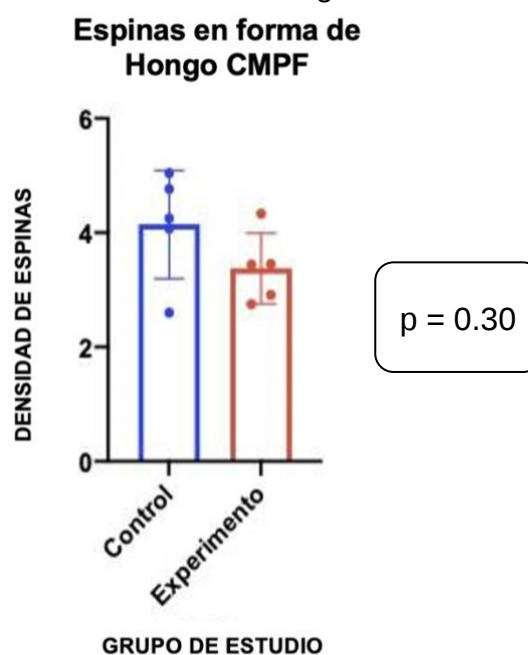
En la gráfica No. 1, se muestra la densidad de las espinas dendríticas de la CMPF de ambos grupos estudiados.



Gráfica No. 1 Densidad de la CMPF por grupos.
Fuente propia.

Gráfica No.1 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas en la CMPF, el grupo control obtuvo una media de 8.01 ± 1.28 y en el grupo experimental obtuvo una media de 5.74 ± 0.66 , se determina que entre la comparación de los grupos existe diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p = 0.01$.

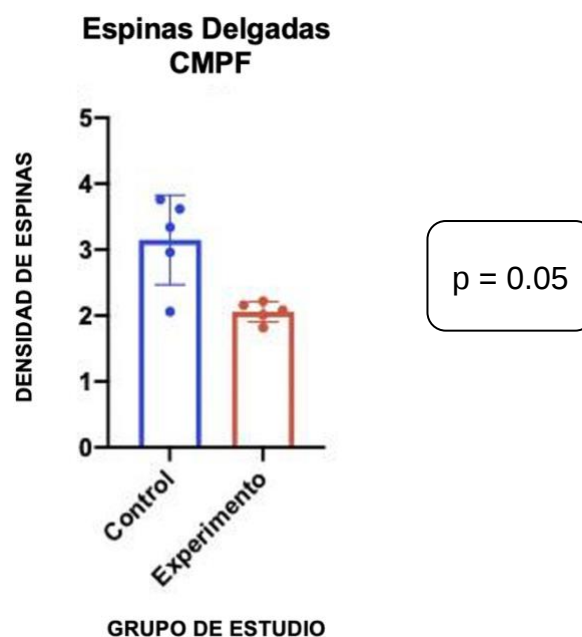
En la gráfica No. 2, se muestra la densidad de las espinas dendríticas de la CMPF de ambos grupos analizados en forma de Hongo.



Gráfica No. 2 Densidad de la CMPF por grupos en forma de Hongo.
Fuente propia.

Gráfica No. 2 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas en forma de Hongo pertenecientes a la CMPF, el grupo control obtuvo una media de 4.25 ± 0.94 y en el grupo experimental obtuvo una media de 3.44 ± 0.61 , se determina que entre la comparación de los grupos no existe diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p = 0.30$.

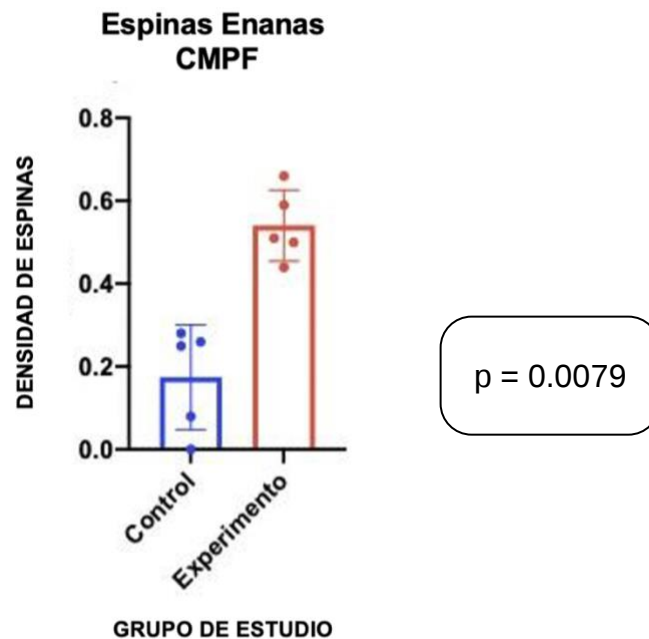
En la gráfica No. 3, se muestra la densidad de las espinas dendríticas Delgadas de la CMPF de ambos grupos.



Gráfica No. 3 Densidad de la CMPF por grupos en forma Delgadas.
Fuente propia.

Gráfica No. 3 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas Delgadas pertenecientes a la CMPF, el grupo control obtuvo una media de 3.34 ± 0.68 y en el grupo experimental obtuvo una media de 2.08 ± 0.15 , se determina que entre la comparación de los grupos existe diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p = 0.05$.

En la gráfica No. 4, se muestra la densidad de las espinas dendríticas Enanas de la CMPF de ambos grupos.



Gráfica No. 4 Densidad de la CMPF por grupos en forma Enanas.
Fuente propia.

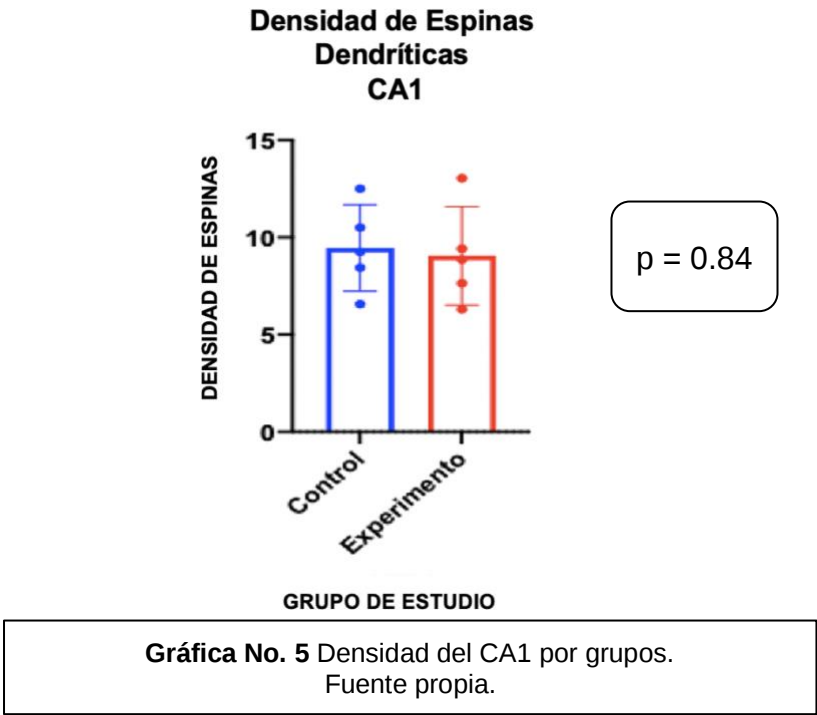
Gráfica No. 4 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas Enanas pertenecientes a la CMPF, el grupo control obtuvo una media de 0.25 ± 0.12 y el grupo experimental obtuvo una media de 0.51 ± 0.08 , se determina que entre la comparación de los grupos existe diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p = 0.0079$.

Los resultados del Hipocampo, el segundo núcleo del circuito mesocorticolímbico analizado, mostraron que no existen diferencias estadísticamente significativas en la densidad de espinas dendríticas entre los dos grupos a nivel general, con un valor de $p = 0.84$.

En la tabla No. 7 se puede observar que las espinas en forma de Hongo, Delgadas y Enanas mostraron que no existen diferencias estadísticamente significativas en los dos grupos analizados, $p= 0.84$, $p= 0.54$, $p=0.84$ y $p= 0.08$.

TABLA No. 7: COMPARATIVO DE ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA Y SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA DE HIPOCAMPO (CA1).				
DENSIDAD	GRUPO	MEDIA	DESV. EST.	VALOR DE "P"
GENERAL	Control	9.45	2.22	*0.84
	Experimental	8.97	2.54	
ESPINAS EN HONGO	Control	4.93	1.14	*0.54
	Experimental	4.56	1.06	
ESPINAS DELGADAS	Control	4.08	1.41	*0.84
	Experimental	4.13	1.68	
ESPINAS ENANAS	Control	0.04	0.05	*0.08
	Experimental	0.31	0.27	
U de Mann Withney				
* Sin significancia estadística				
				Fuente propia

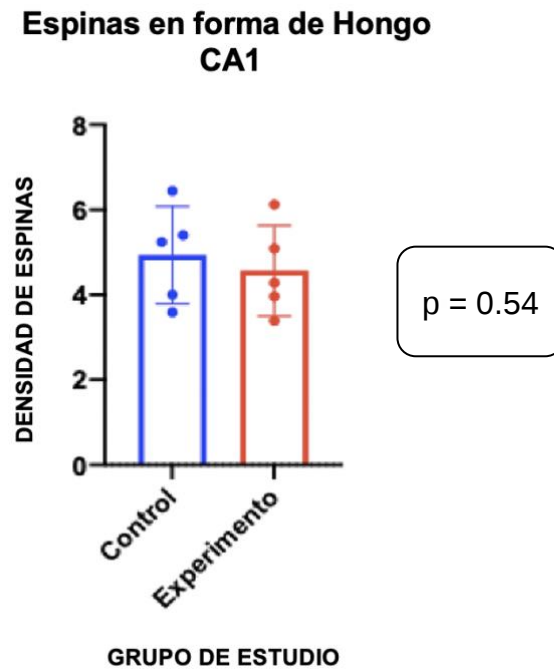
En la gráfica No. 5, se muestra la densidad de las espinas dendríticas del Hipocampo (CA1) de ambos grupos.



Gráfica No. 5 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas pertenecientes al CA1, el grupo control obtuvo una media de 9.26 ± 2.21 y el grupo experimental obtuvo una media de 8.86 ± 2.52 , se determina que entre la

comparación de los grupos no existe diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p = 0.84$.

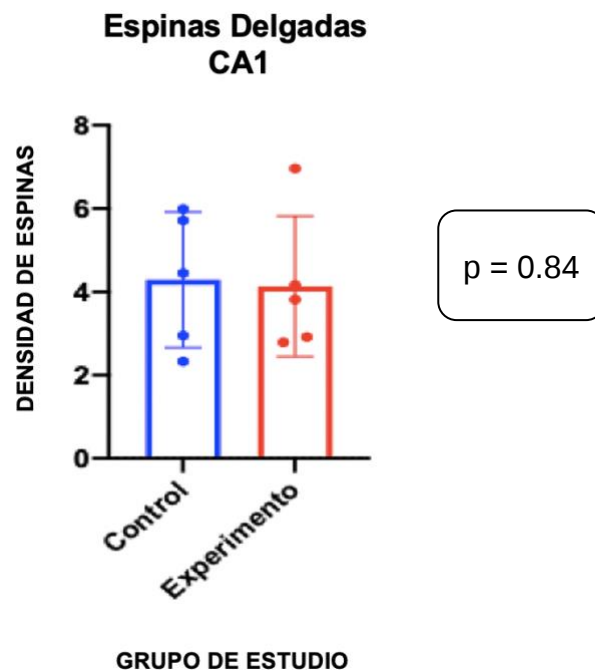
En la gráfica No. 6, se muestra la densidad de las espinas dendríticas del CA1 de ambos grupos en forma de Hongo.



Gráfica No. 6 Densidad del CA1 por grupos en forma de Hongo.
Fuente propia.

Gráfica No. 6 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas en forma de Hongo pertenecientes al CA1, el grupo control obtuvo una media de 5.24 ± 1.14 y el grupo experimental obtuvo una media de 4.28 ± 1.06 , se determina que entre la comparación de los grupos no existe diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p = 0.54$.

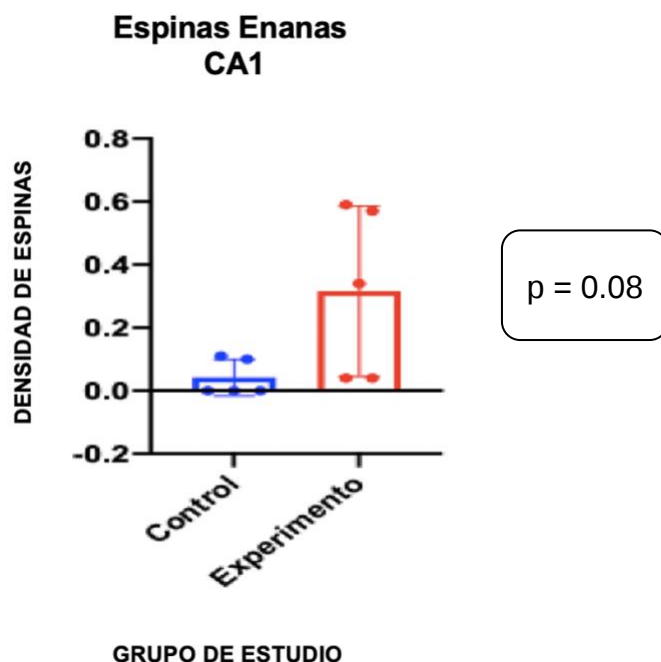
En la gráfica No. 7, se muestra la densidad de las espinas dendríticas delgadas del CA1 de ambos grupos analizados.



Gráfica No. 7 Densidad del CA1 por grupos en forma Delgadas.
Fuente propia.

Gráfica No. 7 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas Delgadas pertenecientes al CA1, el grupo control obtuvo una media de 4.45 ± 1.62 y el grupo experimental obtuvo una media de 3.82 ± 1.68 , se determina que entre la comparación de ambos grupos no existe diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p = 0.84$.

En la gráfica No. 8, se muestra la densidad de las espinas dendríticas Enanas del CA1 de ambos grupos.



Gráfica No. 8 Densidad del CA1 por grupos en forma Enanas.
Fuente propia.

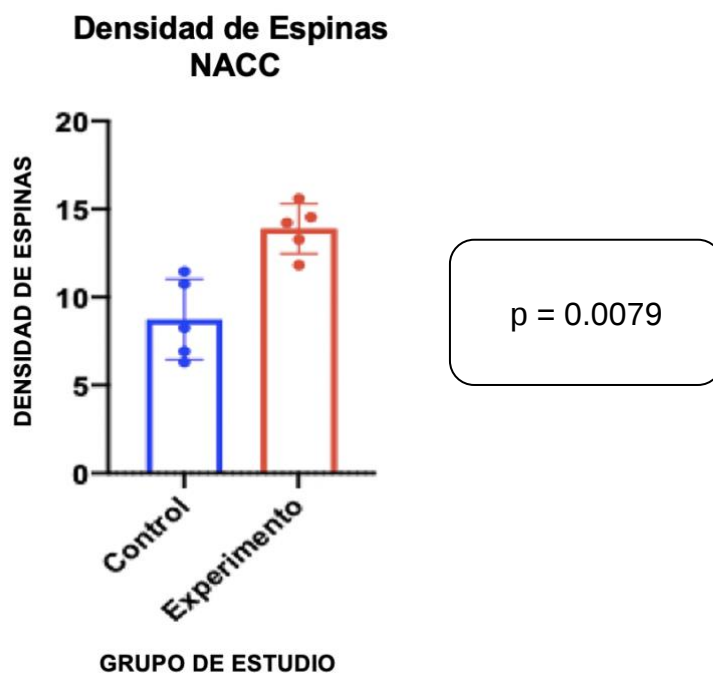
Gráfica No. 8 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas Enanas pertenecientes al CA1, el grupo control reporta una media de 0.00 ± 0.05 y el grupo experimental reporta una media de 0.34 ± 0.27 , se determina que entre la comparación de los grupos no existe diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p = 0.08$.

Los resultados del NACC, que es el tercer núcleo analizado reporta que existe diferencias estadísticamente significativas en la densidad de espinas dendríticas entre los dos grupos analizados a nivel general, con un valor de $p = 0.0079$.

En la tabla No. 8 se puede observar que las espinas en forma de Hongo y Delgadas no existen diferencias estadísticamente significativas en los dos grupos analizados, con un valor de $p = 0.54$, $p = 0.84$, por el contrario en las espinas Enanas existen diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p = 0.0079$.

TABLA No.8: COMPARATIVO DE ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA Y SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA DE NACC.				
DENSIDAD	GRUPO	MEDIANA	DESV. EST.	VALOR DE "P"
GENERAL	Control	8.23	2.29	0.0079
	Experimental	13.84	1.39	
ESPINAS EN HONGO	Control	4.93	1.49	*0.54
	Experimental	7.35	0.87	
ESPINAS DELGADAS	Control	4.14	1.57	*0.84
	Experimental	6.18	0.84	
ESPINAS ENANAS	Control	0.14	0.19	0.0079
	Experimental	0.29	0.15	
U de Mann Withney				
* Sin significancia estadística				
				Fuente: propia

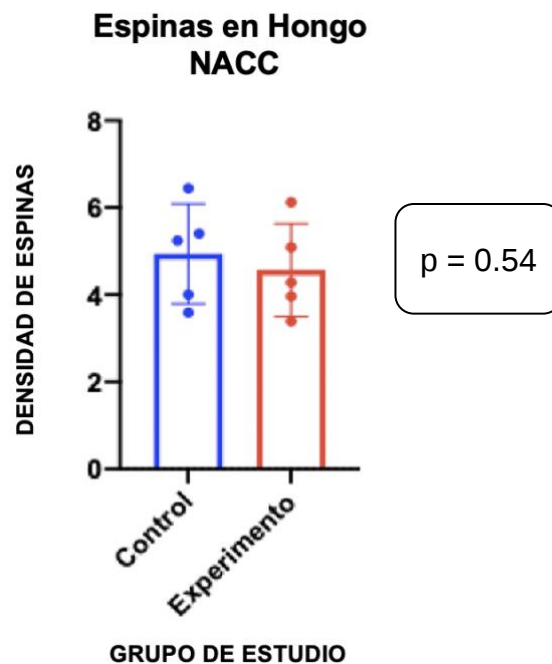
En la gráfica No.9, muestra la densidad de las espinas dendríticas del NACC de ambos grupos analizados.



Gráfica No. 9 Densidad del NACC por grupos.
Fuente propia.

Gráfica No. 9 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas del núcleo NACC, el grupo control obtuvo una media de 8.25 ± 2.28 y el grupo experimental obtuvo una media de 14.23 ± 1.41 , se determina que entre la comparación de los grupos existen diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p = 0.0079$.

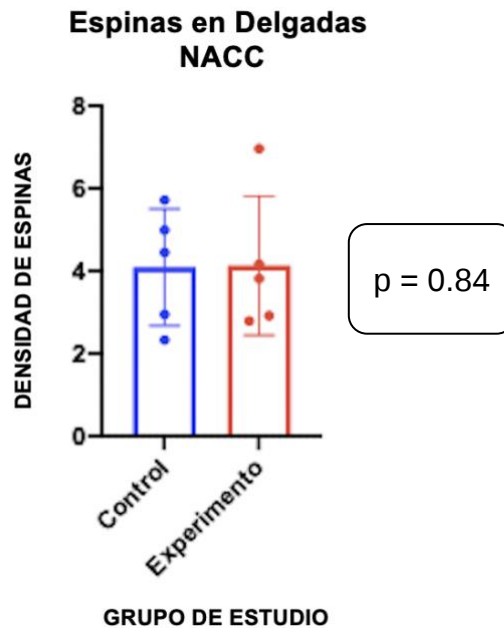
En la gráfica No. 10, se muestra la densidad de las espinas dendríticas en forma de Hongo del NACC de ambos grupos analizados.



Gráfica No. 10 Densidad NACC por grupos en forma de Hongo.
Fuente propia.

Gráfica No.10 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas del núcleo NACC, en forma de Hongo, el grupo control reportó una media de 5.24 ± 1.14 y el grupo experimental una media de 4.28 ± 1.06 , se determina que entre la comparación de los grupos no existen diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p = 0.54$.

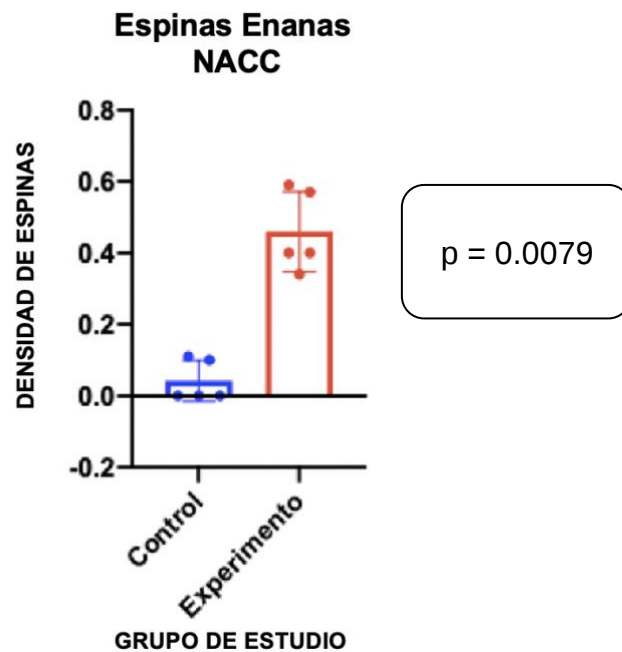
En la gráfica No.11, se muestra la densidad de las espinas dendríticas Delgadas del NACC de ambos grupos.



Gráfica No. 11 Densidad del NACC por grupos en forma Delgadas.
Fuente propia.

Gráfica No.11 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas Delgadas del núcleo NACC, el grupo control obtuvo una media de 4.45 ± 1.41 y el grupo experimental una media de 3.82 ± 1.68 , se determina que entre la comparación de los grupos no existen diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p = 0.84$.

En la gráfica No.12, se observa la densidad de las espinas dendríticas Enanas del CA1 de ambos grupos analizados.



Gráfica No. 12 Densidad del NACC por grupos en forma Enanas.
Fuente propia.

Gráfica No.12 Expresa los datos obtenidos de la densidad de espinas dendríticas Enanas del núcleo NACC, el grupo control obtuvo una media de 0.00 ± 0.05 y en el grupo experimental una media de 0.40 ± 0.11 , se determina que entre la comparación de los grupos existen diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p = 0.0079$.

10.- DISCUSIÓN.

El dolor pulpar es la principal razón por la cual los seres humanos acuden a consulta dental, con efectos adversos considerables, uno de ellos es en los procesos fisiológicos, incluyendo los procesos de aprendizaje y memoria. En el ámbito estomatológico existen diferentes afectaciones a tejidos blandos y duros que pueden generar dolor. Un daño a los órganos dentarios que comprometa a sus tejidos duros y exponga la cámara pulpar como por ejemplo una lesión de caries profunda, puede inducir inflamación del tejido pulpar e inducir activación de las células nociceptivas al generar dolor y provocar que el individuo busque atención odontológica. Además, se ha reportado que el dolor genera estrés y afecta la conducta emocional del individuo. Por lo que el objetivo del presente estudio es investigar si una pulpitis induce activación y generación de estímulos dolorosos que provoque cambios neuroplásticos a nivel de las espinas dendríticas en núcleos del circuito mesocorticolímbico.

Zhan en el 2021 reporta cambios neuronales en procesos nociceptivos pulpares y activación de células que realizan una neuromodulación pero se desconoce los posibles cambios y su consecuencia de estos en la morfología de las espinas dendríticas de los núcleos del circuito mesocorticolímbico en especial la CMPF, Hipocampo y NACC (60).

Nuestros resultados al evaluar la densidad y tipos de espinas en dendritas de núcleos que participan en el guardado de la información (memoria); modulación y ejecución de tareas como lo son el Hipocampo, el Núcleo Accumbens y la Corteza Media Prefrontal, respectivamente muestran que la región CA1 del Hipocampo no hay cambios en densidad de dendritas por unidad de longitud y tampoco por tipo de espinas en nuestros bio-modelos de experimentación lo cual se infiere que el estímulo generado no fue suficiente para provocar una potenciación a largo plazo y generar reconocimiento futuro, Olsen en el 2022 reporta que es necesario una plasticidad dependiente de actividad entre los subcampos CA1-CA3 y la circunvalación dentada del Hipocampo para que se promueva una integración de información, codificación y almacenamiento, también reporta que la potenciación a largo plazo y el factor neurotrófico derivado del cerebro son los principales medios para la promoción de

plasticidad sináptica, esto al relacionarlo con los resultados obtenidos se puede inferir que las ratas experimentales no lograron alcanzar LTP y por ende no hay neuroplasticidad.

Interesantemente, nuestros resultados en las dendritas distales de la CMPF muestran que las dendritas de los animales que se les indujo inflamación pulpar tienen menor cantidad de espinas dendríticas que las estructuras de animales control. Estos resultados nos permiten inferir que la experiencia nociceptiva provoco una reorganización con un debilitamiento de las conexiones sinápticas, es decir una poda selectiva. Además, al observar los resultados de espinas dendríticas delgadas se encontró que los sujetos experimentales tienen una marcada disminución de estas estructuras. Sin embargo, el análisis de espinas enanas reportó que los animales experimentales tienen más espinas que los sujetos control. Lo importante en este núcleo es notar que existe disminución en la densidad de espinas dendríticas, pero no en todos los tipos morfológicos.

Los cambios más pronunciados fueron encontrados en las espinas delgadas y sabemos que son estadíos inmaduros, móviles y que la superficie de contacto sináptico es débil. Además, sabemos que el tejido nervioso es muy dinámico y elimina la información que no llega a establecerse. Por consiguiente, se piensa que el efecto inducido por el LPS indujo estímulos nociceptivos en la pulpa dental pero que probablemente no fue el suficiente para inducir cambios permanentes en la morfología de las espinas dendríticas en CMPF ni provoco una inducción para establecer nuevas sinapsis, sino al contrario, esto referido a la disminución de espinas delgadas. Hay muy pocos artículos científicos sobre la CMPF de roedores, por lo que se debe de enriquecer los conocimientos adquiridos de esta área cerebral con diversos estudios realizados, Cook y Wellman en el 2004 reportan un estudio que hay pérdida total de hasta el 30% de sinapsis axoespinosas de neuronas piramidales de la capa 3 en porción distal de dendritas apicales, debido a estrés crónico generado en ratas jóvenes (69), también Izquierdo en el 2006, reporta que incluso un estrés leve y moderado puede provocar la retracción dendrítica (70).

Es de suma importancia destacar que la literatura científica publicada reporta estudios a nivel de densidad sináptica, pero no hay reportes acerca de la tipificación de espinas dendríticas por lo que es un campo rico en explorar, estudiar y reportar.

De igual manera encontramos cambios en la densidad de espinas en las neuronas espinosas medianas del Núcleo Accumbens. Esta estructura recibe aferencias de la Amígdala, el Hipocampo, Área Ventral Tegmental y la Corteza Media Prefrontal y proyecta hacia el Pálido Ventral, que a su vez envía información al núcleo Medio Dorsal del Tálamo y finalmente llega la información a regiones pre-límbicas de la Corteza Prefrontal. Es pertinente mencionar que el Núcleo Accumbens ha sido asociado con la actividad motora y la motivación, llevando a cabo una interfase ente áreas límbicas y motoras (71). Numerosos estudios neurobiológicos han mencionado su activación por estímulos aversivos y se sabe que participa en conductas como la ingesta, sexual, la recompensa, la auto administración de drogas y respuesta al estrés (72). Por lo que un cambio en la densidad de espinas dendritas en las neuronas del Núcleo Accumbens inducidas por un proceso inflamatorio en cámara pulpar podría inducir cambios en la manera en que el sujeto de experimentación podría responder a estímulos aversivos. Dichos hallazgos generan evidencia con respecto a la salud bucal y su asociación con trastornos de las emociones. De particular importancia en odontopediatría, en la que la incidencia de caries en los pacientes es superior al 40% entre los niños de 2 a 19 años (73). Se ha comenzado un concepto de salud integral, en la que la salud oral debe ser considerada como un pilar a cuidar, en la que si existen daños o enfermedades en la boca se puede inducir cambios o trastornos en diversos órganos como el corazón y el cerebro.

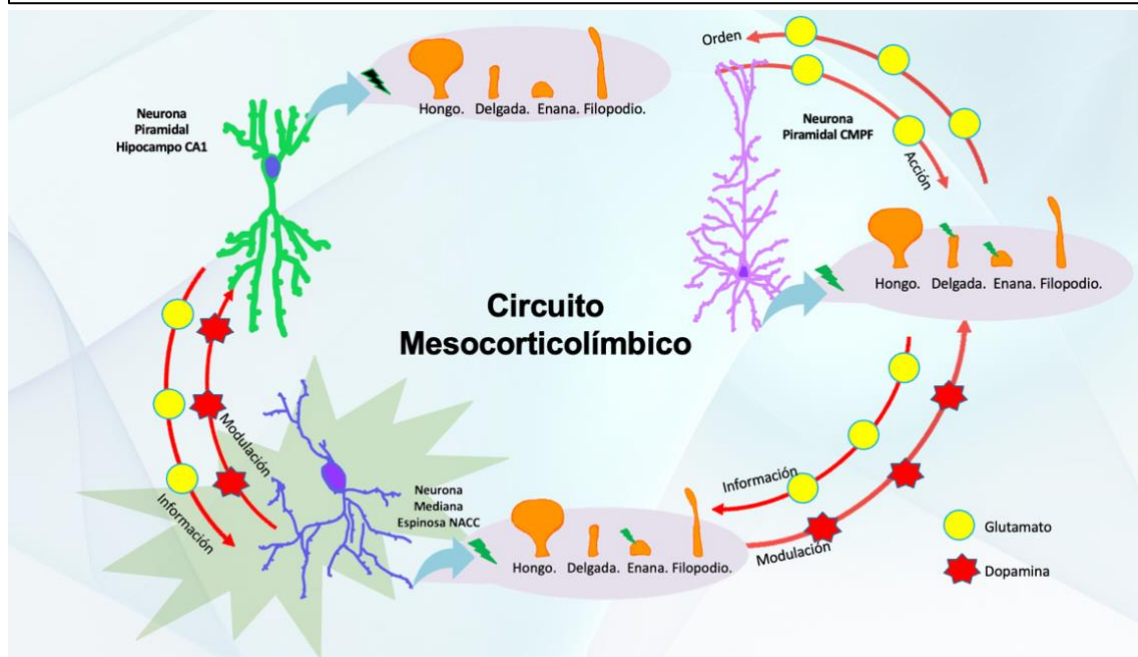
La activación de la vía termoalgésica nos permite percibir el dolor agudo, pero cuando existe un dolor persistente como el generado por una pulpitis hace que se activen núcleos del sistema límbico tal como el Núcleo Accumbens.

Para describir la asociación entre los núcleos evaluados, presentamos el diagrama No. 1: Cambios de espinas dendríticas de los núcleos CMPF, NACC e Hipocampo después de una inducción nociva en ratas Sprague – Dawley a nivel pulpar. En el cual podemos observar que no hay cambios en la región CA1 del Hipocampo, pero si disminución en la densidad de espinas dendríticas en CMPF y Núcleo Accumbens. Esto nos permite sugerir que posiblemente los animales a los cuales se les indujo una pulpitis por la infiltración de LPS fue suficiente para alterar la cantidad de sitios de contactos sinápticos y posiblemente esto haga que los individuos de experimentación sean menos tolerantes a escenarios o estímulos aversivos (inferencia por investigar con pruebas de conducta).

Interesantemente se observó que en CMPF, los cambios se observaron principalmente en espinas Delgadas, lo cual nos hace pensar que las alteraciones son reversibles y que los sistemas compensatorios hacen que el cerebro regrese a su estado inicial. Este proceso de depresión a largo plazo (DPS) de las conexiones sinápticas, es bueno, porque significa que si el estímulo doloroso no fue muy intenso y el cerebro tiene a eliminar dicha información para mantener un equilibrio en la recepción e interpretación de los estímulos periféricos. De la misma manera, los resultados en Núcleo Accumbens mostró cambios en la densidad de espinas dendríticas, con cambios en las espinas Enanas y no en las consolidadas como lo son en las cabezas en forma de Hongo.

Por lo que podemos decir que el núcleo encargado de modular la interacción entre las conductas motoras y límbicas también se reorganiza para mantener funcional el sistema mesocorticolímbico.

Diagrama No.1: Cambios de espinas dendríticas de los núcleos CMPF, NACC e Hipocampo después de una inducción nociva en ratas Sprague – Dawley a nivel pulpar.



Fuente propia.

11.- CONCLUSIÓN.

El dolor es una experiencia multidimensional compleja que incluye componentes sensoriales, discriminativos, afectivos, motivacionales y cognitivo-evaluativo, este al ser una experiencia común y de las principales causas de discapacidad y sufrimiento, se ha buscado muchas alternativas para su tratamiento tanto físico como emocional.

La importancia de utilizar un método experimental riguroso con marcadores neuronales ha producido un progreso significativo en la comprensión sobre la percepción del dolor, transmisión sensorial, modulación y neuroplasticidad cerebral.

Los cambios en la densidad y tipos de espinas dendríticas encontrados en nuestros sujetos de experimentación fueron en estructuras que tienden a devolucionar cuando el estímulo ya no está presente. Lo cual podría ser bueno porque eso significaría que el cerebro discrimina información que no es relevante y mantienen una cito-arquitectura que permite estar listo para futuros estímulos nociceptivos y no estar precondicionado, como sucede ante estímulos muy agudos y crónicos constantes. Como lo han reportados muchos autores que mencionan que hay sensibilización periférica y central expresado cómo alodinia e hiperalgesia.

Estos hallazgos son de particular interés en odontopediatría, porque el manejo oportuno y adecuado de procesos inflamatorios que tienen como consecuencia una sensación dolorosa evitarían sensaciones nociceptivas, es así como de un paciente no cooperador se puede volver paciente cooperador, sino se pudieran evitar las consultas dolorosas, buscar que el estímulo no sea duradero que pudiera inducir cambios permanentes en la memoria y por ende aberración a la experiencia vivida.

Finalmente, se reafirma que los modelos experimentales en ratas proporcionan amplias oportunidades para nuevos conocimientos sobre la neuroplasticidad, desarrollar técnicas y habilidades para consultas dentales cortas y libres de estímulos aversivos, aprovechando los últimos conocimientos de la relación del

dolor con el circuito mesocorticolímbico y hacer una invitación a seguir estudiando los cambios neuronales por experiencias nocivas.

12.- BIBLIOGRAFÍA

1. Samellas A. Public Aspects of Pain in Late Antiquity: The Testimony of Chrysostom and the Cappadocians in Their Greco-Roman Context. *J Ancient Christianity*. 2015; 19: 260–96.
2. Grace PM, Hutchinson MR, Maier SF, Watkins LR. Pathological pain and the neuroimmune interface. *Nat Rev Immunol*. 2014; 14 (4): 217-31.
3. IASP Subcommittee on Taxonomy. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. *PAIN* 1979; 6: 249–52.
4. Raja SN, Carr D, Cohen M, Finnerup N, Flor H, et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *PAIN*, 2020; 161 (9): 1976-1982.
5. Watson CPN, Deck JH, Morshead C, Van der Kooy D, Evans RJ. Post-herpetic neuralgia: further post-mortem studies of cases with and without pain. *PAIN*. 1991; 44 (2): 105-117.
6. Melzack R, Wall PD. On the nature of cutaneous sensory mechanisms. *Brain* 1962; 85: 331–356.
7. Rudomin P, Schmidt RF. Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp Brain Res*. 1999; 129 (1): 1-37.
8. Melack R. From the gate to the neuromatrix. *PAIN*. 1999; 6: S121-S126.
9. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science*. 1965; 150 (3699): 971-9.
10. Breivik H, Beverly C, Vittorio V. Survey of chronic pain in Europe: Prevalence, impact of daily life, and treatment. *EJP*. 2006; 10 (4): 287-94.
11. Strobel C, Hunt S, Sullivan R, Sun JY, Pankaj S. Emotional regulation of pain: the role of noradrenaline in the amygdala. *Science China*. 2014; 57 (4): 384-390.
12. Heck N, Benavides-Piccione R. Dendritic spines: from form to function. *Front neuroanat*. 2015; 9 (101): 1-3.
13. Benavides-Piccione R, Fernaud-Espinosa I, Robles V, Yuste R, DeFelipe J. Age-based comparison of human dendritic spine structure using complete three-dimensional reconstructions. *Cereb Cortex*. 2013; 23 (8): 1798-810.

14. Holtmaat, A. Svoboda, K. Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nat. Rev. Neurosci.* 2009; 10: 647–658.
15. Fu, M, Zuo, Y. Experience-dependent structural plasticity in the cortex. *Trends Neurosci.* 2011; 34: 177-187.
16. Chidambaram SB, Rathipriya AG, Bolla SR, Bhat A, Ray B, Mahalakshmi AM, Manivasagam T, Thenmozhi AJ, Essa MM, Guillemin GJ, Chandra R, Sakharkar MK. Dendritic spines: Revisiting the physiological role. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2019; 8 (92): 161-193.
17. McKinney RA. Participation of excitatory amino acids in the formation, maintenance, and remodeling of the dendritic column. *The Journal of Physiology.* 2010; 588: 107-116.
18. Emoto K., Wong R., Huang E., Hoogenraad C. Dendrites. Development and Disease. *Patterning Dendritic Architecture of Neurons and Their Populations. Dendrites.* 2016: 140-157.
19. Yuste R. Genesis of dendritic spines: insights from ultrastructural and imaging studies. *Nat Rev Neurosci.* 2004; 5 (1): 24-34.
20. Gulyaeva NV. Molecular Mechanisms of Neuroplasticity: An Expanding Universe. *Biochemistry.* 2017; 82 (3): 237-242.
21. Hoppa MB, Gouzer G, Armbruster M, Ryan TA. Control and plasticity of the presynaptic action potential waveform at small CNS nerve terminals. *Neuron.* 2014; 19; 84 (4): 778- 89.
22. Arnstein PM. The neuroplastic phenomenon: a physiologic link between chronic pain and learning. *J Neurosci Nurs.* 1997; 29 (3): 179-86
23. Fitzgerald M. The development of nociceptive circuits. *Nat Rev Neurosci.* 2005; 6 (7): 507-20.
24. Chiang CY, Park SJ, Kwan CL, Hu JW, Sessle BJ. NMDA receptor mechanisms contribute to neuroplasticity induced in caudalis nociceptive neurons by tooth pulp stimulation. *J Neurophysiol.* 1998; 80 (5): 2621-2631.
25. White, T., Cullen, K., Rohrer, L. M., Karatekin, C., Luciana, M., Schmidt, M., Lim, K. O. Limbic structures and networks in children and adolescents with schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin.* 2008; 34 (1): 18-29.
26. Hikosaka O, Bromberg-Martin E, Hong S, Matsumoto M. New insights on the subcortical representation of reward. *Curr Opin Neurobiol.* 2008; 18: 203-208.

27. Tindell, A. et al. Ventral pallidal neurons code incentive motivation: amplification by mesolimbic sensitization and amphetamine. *European J Of Neuroscience*. 2005; 22 (10): 2617-2634.
28. Ford C, Williams J. Mesoprefrontal Dopamine Neurons Distinguish Themselves. *Neuron*. 2008; 57: 631-632.
29. Nair-Roberts RG, Chatelain-Badie SD, Benson E, White-Cooper H, Bolam JP, Ungless MA. Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral 37 tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat. *Neuroscience*. 2008; 152: 1024-1031.
30. Mergel B. Instructional Design & Learning Theory. University of Saskatchewan. 2008: 1- 24.
31. Levitt, T., Fugelsang, J., Crossley, M. Processing Speed, Attentional Capacity, and Age-Related Memory Change. *Experimental Aging*; 2006, 32 (3): 263-295.
32. Machado, S., Portella, C. E., Silva, J. G., Velasques, B., Bastos, V. H., Cunha, M., Ribeiro, P. Learning and implicit memory: mechanisms and neuroplasticity]. *Neurology J*; 2008; 46 (9): 543-549.
33. Morgane, J. P., Galler, J. R., Mokler, J. D. A review of systems and networks of the forebrain/limbic midbrain. *Progress in Neurobiology* ; 2005; 75:143-160.
34. Kasai H, Fukuda M, Watanabe S, Hayashi-Takagi A, Noguchi J. Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends Neurosci*. 2010; 33: 121–129.
35. Sanders J, Cowansage K, Baumgärtel K, Mayford M. Elimination of dendritic spines with long-term memory is specific to active circuits. *J Neurosci*. 2012; 32: 12570–12578.
36. Kramár EA, Babayan AH, Gavin CF, Cox CD, Jafari M, Gall CM, Rumbaugh G, Lynch G. Synaptic evidence for the efficacy of spaced learning. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012; 109: 5121–5126.
37. Fregozo S, Pérez M. Participation of actin-binding proteins and signaling pathways associated with the formation and maintenance of dendritic spines. *Neurology*. 2012; 27 (7): 421-431.
38. Prange O, Murphy TH. Modular transport of postsynaptic density-95 clusters and association with stable spine precursors during early development of cortical neurons. *J Neurosci*. 2001; 21: 9325–9333.

39. Vickers CA, Stephens B, Bowen J, Arbuthnott GW, Grant SG, Ingham CA. Neurone specific regulation of dendritic spines in vivo by post synaptic density 95 protein (PSD- 95). *Brain Res.* 2006; 1090: 89 –98.
40. Quirk GJ, Armony JL, LeDoux JE. Fear conditioning enhances different temporal components of tone-evoked spike trains in auditory cortex and lateral amygdala. *Neuron.* 1997; (3): 613-24.
41. Johansen JP. Glutamatergic activation of anterior cingulate cortex produces an aversive teaching signal. *Nat Neurosci.* 2004; 7 (4): 398-403.
42. Tarsa L et al. Tooth pulp inflammation increases bdnf expression in rodent trigeminal ganglion neurons. *Neuroscience.* 2010; 167 (4): 1205–1215.
43. Hu Y, Li H, Zhang J, Zhang X, Xia X, Qiu C, Liao Y, Chen H y col. Periodontitis Induced by *P. gingivalis*-LPS Is Associated with Neuroinflammation and Learning and Memory Impairment in Sprague-Dawley Rats. *Frontiers in Neuroscience.* 2020; 14: 658.
44. González del Valle DE. Cambios morfológicos en las neuronas colinérgicas de la amígdala basolateral durante dolor crónico dental. Un estudio en rata Sprague-Dawley [tesis de maestría]. Puebla: Universidad Autónoma de Puebla; 2019.
45. Luna A. Cambios en la densidad de espinas dendríticas en neuronas de la corteza del cíngulo asociada con el dolor emocional inducido por un estímulo nocivo. [Tesis de maestría]. Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2018.
46. Camillo G. Sulla struttura della sostanza grigia del cervello. *Gazz. Medicina.* 1873; 33: 244–246.
47. Camillo G. Di una nuova reasione aparentemente nera delle cellule nervose cerebrali ottenuta col bichloruro di mercurio. *Arco. Sci. Medicina.* 1879; 3: 1–7.
48. Zhong F, Liu L, Wei JL, Dai RP. Step by Step Golgi-Cox Staining for Cryosection. *Front Neuroanat.* 2019; 19: 13 (62): 1-6.
49. Gibb R, Kolb B. A method for vibratome sectioning of Golgi-Cox stained whole rat brain. *J Neurosci Methods.* 1998; 79 (1):1-4.
50. Sholl DA. Dendritic organization in neurons of the visual and motor cortex of the cat. *J. Anat.* 1953; 87: 387- 406.
51. Carr D, Goudas L. Acute pain. *Lancet.* 1999; 353 (9169): 2051-58.

52. Treede RD, Rief W. et. al. Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). *Pain*. 2019; 160 (1): 19-27.
53. Merskey, H. et al. Classification of Chronic Pain. IASP Task Force on Taxonomy. 2nd edition. Seattle: IASP Press;1994.
54. Park BS, Lee JO. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Exp Mol Med*. 2013; 45 (12): e66.
55. Raetz, C. Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem*. 2002; 71: 635-700.
56. Finnerup, Nanna B. et al. Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical practice. *PAIN*. 2016; 157 (8): 1599-1606.
57. García J, et al. Estrategias de obtención de proteínas recombinantes en *Escherichia coli*. *VacciMonitor*. 2013; 22 (2): 30-39.
58. Mercer Lindsay N, et al. Brain circuits for pain and its treatment. *Sci Transl Med*. 2021;10 (13): (619).
59. Anwar K. Pathophysiology of pain. *Dis Mon*. 2016; 62 (9): 324-9.
60. Zhan, C, Huang, M, Yang, X , Hou, J. Nervios dentales: un mediador descuidado de la pulpitis. *Rev Internacional de Endodoncia*. 2021; 54: 85–99.
61. Maiti P, Manna J, Ilavazhagan G, Rossignol J, Gary L, Dunbar GL. Molecular regulation of dendritic spine dynamics and their potential impact on synaptic plasticity and neurological diseases. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2015; 59: 208-37.
62. Valencia RK, Colin Barenque, Ti Fortoul Van. Las espinas dendríticas: funcion y alteraciones. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 2018
63. Gipson CD, Olive MF. Structural and functional plasticity of dendritic spines – root or result of behavior. *Genes, Brain and Behavior*. 2017; 16: 101-17.
64. Arellano JI, Benavides-Piccione R, Defelipe J, Yuste R. Ultrastructure of dendritic spines: correlation between synaptic and spine morphologies. *Front Neurosci*. 2007; 1 (1): 131-43.
65. Sheng M, Hoogenraad CC. The postsynaptic architecture of excitatory synapses: a more quantitative view. *Annu Rev Biochem*. 2007; 76: 823-47.
66. Holler S, Köstinger G, Martin KAC, Schuhknecht GFP, Stratford KJ. Structure and function of a neocortical synapse. *Nature*. 2021; 591 (7848): 111-116.

67. Zhou Q, Homma KJ, Poo MM. Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression of hippocampal synapses. *Neuron*. 2004; 44 (5): 749-57.
68. Noguchi J, Nagaoka A, Hayama T, Ucar H, Yagishita S, Takahashi N, Kasai H. Bidirectional in vivo structural dendritic spine plasticity revealed by two-photon glutamate uncaging in the mouse neocortex. *Sci Rep*. 2019; 26; 9 (1): 13922.
69. Cook, S.C. & Wellman, C.L. Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *J Neurobiol*. 2004; 60 (2): 236-48.
70. Izquierdo A., Wellman CL., Holmes A. Brief uncontrollable stress causes dendritic retraction in infralimbic cortex and resistance to fear extinction in mice. *J Neurosci*. 2006; 26 (21): 5733-8.
71. Castro DC, Bruchas MR. A Motivational and Neuropeptidergic Hub: Anatomical and Functional Diversity within the Nucleus Accumbens Shell. *Neuron*. 2019, 8; 102 (3): 529-552.
72. Lewis RG, Florio E, Punzo D, Borrelli E. The Brain's Reward System in Health and Disease. *Adv Exp Med Biol*. 2021; 1344: 57-69.
73. Krol DM, Whelan K; AAP Section on Oral Health. Maintaining and Improving the Oral Health of Young Children. *Pediatrics*. 2023; 151 (1): e2022060417.
74. Olsen LK, Moore RJ, Bechmann N. et al. Vagus nerve stimulation-induced cognitive enhancement: Hippocampal neuroplasticity in healthy male rats. *Brain Stimulation*. 2022; 15: 1101-1110.

13.- ANEXOS.

Anexo No.1 Formato para la recolección de datos de espinas dendríticas.

CMPF-Capa 3		distal							
Rata	II	Experimental							
	Hongo		Stubby		Thin		Filopodio		
	Total	media	Total	media	Total	media	Total	media	Densidad media
Dend 1	33	5.5	0	0	8	0.16	0	0	6.8
Dend 2	18	4.5	0	0	7	1.75	6	1.5	7.75
Dend 3	19	4.75	0	0	13	3.25	0	0	8
Dend 4	20	5	3	0.75	9	2.25	0	0	8
Dend 5	15	5	1	0.33	8	2.66	0	0	8
Dend 6	20	3.3	3	0.5	10	1.66	0	0	5.5
Dend 7	15	3	5	1	11	2.2	0	0	6.2
Dend 8	15	3.75	2	0.5	10	2.5	0	0	6.75
Dend 9	15	3.75	4	1	7	1.75	0	0	6.5
Dend 10	24	4.8	2	0.4	10	2	0	0	7.2
		4.335		0.448		2.018		0.15	7.07

Anexo No. 2 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas de la CMPF y prueba U de Mann Whintey.

Descriptive statistics	A	B
	Control	Experimento
	Y	Y
Number of values	5	5
Minimum	0.000	0.3400
Maximum	0.1100	0.5900
Range	0.1100	0.2500
Mean	0.04200	0.4600
Std. Deviation	0.05762	0.1125
Std. Error of Mean	0.02577	0.05030

Mann-Whitney test	
Table Analyzed	Densidad CMPF
Column B	Experimento
vs.	vs.
Column A	Control
Mann Whitney test	
P value	0.0159
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different ($P < 0.05$)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	39 , 16
Mann-Whitney U	1
Difference between medians	
Median of column A	7.960, n=5
Median of column B	5.740, n=5
Difference: Actual	-2.220
Difference: Hodges-Lehmann	-1.980

Anexo No.3 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas en forma de Hongo de la CMPF y prueba U de Mann Whintey.

Number of values	5	5	Mann-Whitney test	
Minimum	2.600	2.750	Table Analyzed	Espinas en forma de Hongo CMPF
Maximum	5.040	4.330	Column B	Experimento
Mean	4.146	3.376	vs.	vs.
Std. Deviation	0.9481	0.6182	Column A	Control
Std. Error	0.4240	0.2765	Mann Whitney test	
Lower 95% CI of mean	2.969	2.608	P value	0.3095
Upper 95% CI of mean	5.323	4.144	Exact or approximate P value?	Exact
KS normality test			P value summary	ns
KS distance	0.2681	0.2524	Significantly different (P < 0.05)?	No
P value	> 0.10	> 0.10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	Sum of ranks in column A,B	33 , 22
P value summary	ns	ns	Mann-Whitney U	7
Sum	20.73	16.88	Difference between medians	
			Median of column A	4.250, n=5
			Median of column B	3.440, n=5
			Difference: Actual	-0.8100
			Difference: Hodges-Lehmann	-0.8100

Anexo No.4 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas Delgadas de la CMPF y prueba U de Mann Whithney.

Number of values	5	5	Mann-Whitney test	
Minimum	2.060	1.820	Table Analyzed	Espinas delgadas CMPF
Maximum	4.340	2.220	Column B	Experimento
Mean	3.348	2.058	vs.	vs.
Std. Deviation	0.8714	0.1550	Column A	Control
Std. Error	0.3897	0.06931	CMPF: mann Whitney test	
Lower 95% CI of mean	2.266	1.866	P value	0.0556
Upper 95% CI of mean	4.430	2.250	Exact or approximate P value?	Exact
KS normality test			P value summary	ns
KS distance	0.2225	0.1784	Significantly different (P < 0.05)?	No
P value	> 0.10	> 0.10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	Sum of ranks in column A,B	37 , 18
P value summary	ns	ns	Mann-Whitney U	3
Sum	16.74	10.29	Difference between medians	
			Median of column A	3.340, n=5
			Median of column B	2.080, n=5
			Difference: Actual	-1.260
			Difference: Hodges-Lehmann	-1.260

Anexo No. 5 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas Enanas del CMPF y prueba U de Mann Whitney.

Number of values	5	5
Minimum	0.0	0.4400
Maximum	0.2800	0.6600
Mean	0.1740	0.5400
Std. Deviation	0.1260	0.08573
Std. Error	0.05636	0.03834
Lower 95% CI of mean	0.01753	0.4335
Upper 95% CI of mean	0.3305	0.6465
KS normality test		
KS distance	0.3268	0.2368
P value	0.0867	> 0.10
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
P value summary	ns	ns
Sum	0.8700	2.700

Mann-Whitney test	
Table Analyzed	Espinas enanas CMPF
Column B	Experimento
vs.	vs.
Column A	Control
Mann Whitney test	
P value	0.0079
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	**
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	15 , 40
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.2500, n=5
Median of column B	0.5100, n=5
Difference: Actual	0.2600
Difference: Hodges-Lehmann	0.3600

Anexo No. 6 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas del CA1 y prueba U de Mann Whitney.

Number of values	5	5
Minimum	6.570	6.310
Maximum	12.50	13.04
Mean	9.456	8.974
Std. Deviation	2.221	2.543
Std. Error	0.9934	1.137
Lower 95% CI of mean	6.698	5.816
Upper 95% CI of mean	12.21	12.13
KS normality test		
KS distance	0.1352	0.2304
P value	> 0.10	> 0.10
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
P value summary	ns	ns
Sum	47.28	44.87

Mann-Whitney test	
Table Analyzed	Densidad CA1
Column B	Experimento
vs.	vs.
Column A	Control
Mann Whitney test	
P value	0.8413
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Significantly different (P < 0.05)?	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	29 , 26
Mann-Whitney U	11
Difference between medians	
Median of column A	9.260, n=5
Median of column B	8.860, n=5
Difference: Actual	-0.4000
Difference: Hodges-Lehmann	-0.4000

Anexo No. 7 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas en forma de Hongo del CA1 y prueba U de Mann Whitney.

Number of values	5	5	Mann-Whitney test	
Minimum	3.590	3.390	Table Analyzed	Espinas en forma de hongo CA1
Maximum	6.440	6.120	Column B	Experimento
Mean	4.934	4.568	vs.	vs.
Std. Deviation	1.146	1.063	Column A	Control
Std. Error	0.5127	0.4755	Mann Whitney test	
Lower 95% CI of mean	3.510	3.248	P value	0.5476
Upper 95% CI of mean	6.358	5.888	Exact or approximate P value?	Exact
KS normality test			P value summary	ns
KS distance	0.2052	0.2068	Significantly different (P < 0.05)?	No
P value	> 0.10	> 0.10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	Sum of ranks in column A,B	31 , 24
P value summary	ns	ns	Mann-Whitney U	9
Sum	24.67	22.84	Difference between medians	
			Median of column A	5.240, n=5
			Median of column B	4.280, n=5
			Difference: Actual	-0.9600
			Difference: Hodges-Lehmann	-0.3100

Anexo No. 8 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas Delgadas del CA1 y prueba U de Mann Whitney.

Number of values	5	5	Mann-Whitney test	
Minimum	2.330	2.790	Table Analyzed	Espinas delgadas CA1
Maximum	5.720	6.960	Column B	Experimento
Mean	4.088	4.130	vs.	vs.
Std. Deviation	1.414	1.686	Column A	Control
Std. Error	0.6322	0.7538	Mann Whitney test	
Lower 95% CI of mean	2.333	2.037	P value	0.8413
Upper 95% CI of mean	5.843	6.223	Exact or approximate P value?	Exact
KS normality test			P value summary	ns
KS distance	0.2010	0.2929	Significantly different (P < 0.05)?	No
P value	> 0.10	> 0.10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	Sum of ranks in column A,B	29 , 26
P value summary	ns	ns	Mann-Whitney U	11
Sum	20.44	20.65	Difference between medians	
			Median of column A	4.450, n=5
			Median of column B	3.820, n=5
			Difference: Actual	-0.6300
			Difference: Hodges-Lehmann	-0.1600

Anexo No.9 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas Enanas del CA1 y prueba U de Mann Whitney.

Number of values	5	5
Minimum	0.0	0.0400
Maximum	0.1100	0.5900
Mean	0.0420	0.3160
Std. Deviation	0.05762	0.2704
Std. Error	0.02577	0.1209
Lower 95% CI of mean	-0.02954	-0.01978
Upper 95% CI of mean	0.1135	0.6518
KS normality test		
KS distance	0.3670	0.2463
P value	0.0265	> 0.10
Passed normality test (alpha=0.05)?	No	Yes
P value summary	*	ns
Sum	0.2100	1.580

Mann-Whitney test	
Table Analyzed	Espinas enanas CA1
Column B	Experimento
vs.	vs.
Column A	Control
Mann Whitney test	
P value	0.0873
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Significantly different (P < 0.05)?	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	19 , 36
Mann-Whitney U	4
Difference between medians	
Median of column A	0.000, n=5
Median of column B	0.3400, n=5
Difference: Actual	0.3400
Difference: Hodges-Lehmann	0.3400

Anexo No. 10 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas del NACC y prueba U de Mann Whitney.

Number of values	4	5
Minimum	6.300	11.83
Maximum	11.46	15.59
Mean	8.235	13.84
Std. Deviation	2.298	1.393
Std. Error	1.149	0.6230
Lower 95% CI of mean	4.578	12.11
Upper 95% CI of mean	11.89	15.57
KS normality test		
KS distance	0.2474	0.2097
P value	> 0.10	> 0.10
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
P value summary	ns	ns
Sum	32.94	69.21

Mann-Whitney test	
Table Analyzed	Densidad de espinas en NACC
Column B	Experimento
vs.	vs.
Column A	Control
Mann Whitney test	
P value	0.0079
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	**
Significantly different (P < 0.05)	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	15 , 40
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	8.250, n=5
Median of column B	14.23, n=5
Difference: Actual	5.980
Difference: Hodges-Lehmann	5.030

Anexo No. 11 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas en forma de Hongo del NACC y prueba U de Mann Whitney.

Number of values	5	5
Minimum	3.790	6.080
Maximum	7.320	8.230
Mean	4.934	7.358
Std. Deviation	1.494	0.8762
Std. Error	0.6682	0.3918
Lower 95% CI of mean	3.079	6.270
Upper 95% CI of mean	6.789	8.446
KS normality test		
KS distance	0.2836	0.1950
P value	> 0.10	> 0.10
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
P value summary	ns	ns
Sum	24.67	36.79

Mann-Whitney test	
Table Analyzed	Espinas en forma de hongo NACC
Column B	Experimento
vs.	vs.
Column A	Control
Mann Whitney test	
P value	0.5476
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Significantly different (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	31 , 24
Mann-Whitney U	9
Difference between medians	
Median of column A	5.240, n=5
Median of column B	4.280, n=5
Difference: Actual	-0.9600
Difference: Hodges-Lehmann	-0.3100

Anexo No. 12 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas Delgadas del NACC y prueba U de Mann Whitney.

Number of values	5	5
Minimum	2.080	5.330
Maximum	5.900	7.060
Mean	4.142	6.180
Std. Deviation	1.578	0.8464
Std. Error	0.7056	0.3785
Lower 95% CI of mean	2.183	5.129
Upper 95% CI of mean	6.101	7.231
KS normality test		
KS distance	0.1761	0.2423
P value	> 0.10	> 0.10
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
P value summary	ns	ns
Sum	20.71	30.90

Mann-Whitney test	
Table Analyzed	Espinas delgadas NACC
Column B	Experimento
vs.	vs.
Column A	Control
Mann Whitney test	
P value	0.8413
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Significantly different (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	29 , 26
Mann-Whitney U	11
Difference between medians	
Median of column A	4.450, n=5
Median of column B	3.820, n=5
Difference: Actual	-0.6300
Difference: Hodges-Lehmann	-0.1600

Anexo No. 13 Medidas de de Tendencia Central: Densidad de espinas Enanas del NACC y prueba U de Mann Whitney.

Number of values	5	5
Minimum	0.0	0.0500
Maximum	0.4600	0.4600
Mean	0.1440	0.2980
Std. Deviation	0.1958	0.1587
Std. Error	0.08756	0.07095
Lower 95% CI of mean	-0.09909	0.1010
Upper 95% CI of mean	0.3871	0.4950
KS normality test		
KS distance	0.3198	0.2548
P value	> 0.10	> 0.10
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
P value summary	ns	ns
Sum	0.7200	1.490

Mann-Whitney test	
Table Analyzed	Espinas enanas NACC
Column B	Experimento
vs.	vs.
Column A	Control
Mann Whitney test	
P value	0.0079
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	**
Significantly different (P < 0.05)	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	15 , 40
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.000, n=5
Median of column B	0.4000, n=5
Difference: Actual	0.4000
Difference: Hodges-Lehmann	0.4000